Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 129 (1987)

Artikel: Getrocknetes Vollblut auf Filter-Discs zum Nachweis von IBR/IPV-Antikörpern im ELISA

Autor: Spirig, C. / Weber, H. / Kihm, U.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-593201

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 05.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Schweiz. Arch. Tierheilk. *129,* 529–535, 1987

Aus dem Eidgenössischen Vakzine-Institut, Basel[1] (Leiter: Prof. Dr. U. Kihm) und
dem Institut für Virologie der Universität Zürich[2] (Direktor: Prof. Dr. R. Wyler)

Getrocknetes Vollblut auf Filter-Discs zum Nachweis von IBR/IPV-Antikörpern im ELISA

von *Ch. Spirig*[1], *Hp. Weber*[2], *U. Kihm*[1], *H.K. Müller*[1], *L. Bruckner*[1] *und M. Ackermann*[1]*

Einleitung

Die Bekämpfung der Bovinen Infektiösen Rhinotracheitis (IBR) beruht auf der Erfassung und Ausmerzung von Tieren, welche Antikörper gegen das IBR/IPV-Virus (Bovines Herpesvirus Typ 1, BHV-1) aufweisen [1, 2, 18]. Die Reagenten werden im IBR-ELISA erkannt. In Zweifelsfällen wird das Resultat im Serumneutralisationstest (SNT) überprüft. Der ELISA kann mit Serum [5], aber auch mit Sammelmilch von maximal 5 laktierenden Rindern [19] durchgeführt werden. Das darauf basierende Bekämpfungsprogramm erwies sich bei Kühen als sehr erfolgreich. Anfangs Juli 1987 waren in der Schweiz nur noch 13 Milchviehbetriebe wegen IBR gesperrt (Erhebungen des Bundesamtes für Veterinärwesen, nicht publiziert). In einer seroepidemiologischen Untersuchung zeigte sich, dass bei nichtbovinen Paarhufern praktisch keine IBR-Reagenten vorkommen [9]. Bei Ziegen konnte ausserdem festgestellt werden, dass in den meisten serologisch IBR-positiven Fällen die Reaktion die Folge einer Infektion mit dem Ziegenherpesvirus (CapHV) war [2, 9]. Das Mastvieh – es sind noch nicht einmal alle Betriebe untersucht worden – bildet das einzige noch relevante inländische IBR-Virusreservoir. Das Risiko der Seuchenausbreitung geht demzufolge nicht nur vom Import infizierter Tiere [1, 16] oder Samen [11], sondern zweifelsohne auch von unseren eigenen Rindermastbeständen aus.

Es existieren mehrere Gründe, warum die IBR-Sanierung beim Milchvieh erfolgreich, beim Mastvieh hingegen eher schleppend vor sich geht:

i) Die Seuchenausbreitung im Milchviehbestand hat eine ganz andere Dynamik als im Rindermastbetrieb [4, 14, 15, 17]. Beim heutigen Stand der Bekämpfung sind in der Regel nur einzelne Kühe in einem Bestand positiv. Sofern nicht latent infizierte Tiere in eine IBR-freie Herde gebracht werden, kommt es nur selten zu einer erneuten Ausbreitung innerhalb eines Milchviehbestandes [4, 16]. Im Gegensatz dazu wird die Infektion in den grösseren Mastherden ständig aufrechterhalten und auf frisch eingestallte Tiere übertragen [10, Dissertation Hp. Weber, in Vorbereitung).

ii) Mit dem Milch-ELISA hat sich die Überwachung der Milchviehbestände vereinfacht und verbilligt [19]. Beim Mastvieh, insbesondere bei grösseren Stieren, ist die

* Korrespondenzadresse: Eidgenössisches Vakzine-Institut, Hagenaustrasse 74, 4025 Basel

Entnahme von venösem Blut für die Serumgewinnung nicht nur zeitraubend, sondern auch (lebens-)gefährlich.

iii) Der IBR-Bekämpfung in Mastbetrieben wurde möglicherweise auch aus finanziellen Erwägungen zuwenig Nachdruck verschafft. Zwar existiert eine Kosten/Nutzen-Analyse für die Bekämpfung der IBR [13]. Die Berechnungen bezogen sich aber auf die Sanierung von Zucht- und Milchviehbeständen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Probenerhebung so zu vereinfachen, dass die serologische Untersuchung der Mastrinder aller Altersstufen leichter durchführbar wurde. Zu diesem Zwecke wurde der ELISA zum Nachweis von IBR-Antikörpern so modifiziert, dass anstelle von Serum auch Vollblut untersucht werden konnte [3, 8, 11]. Durch mehrere Einstiche an der Unterseite der Schwanzwurzel wurde eine Blutung erzeugt und das Vollblut auf Filter-Discs aufgesaugt und getrocknet. Die IBR-Antikörper wurden dann in der ELISA-Platte eluiert und mit einem Peroxidase-Antiperoxidase-(PAP-)Nachweissystem sichtbar gemacht.

Dieser modifizierte Test soll zur Feststellung der Prävalenz der IBR-Antikörper in Mastrindern dienen und somit ein Instrument im IBR-Eradikationsprogramm werden.

Material und Methoden

1. Versuchsanordnung

Um die Serum- und Vollblut-Filter-Disc-Methoden miteinander vergleichen zu können, wurden in einem bekannten, IBR-positiven Munimastbetrieb Proben von allen Tieren erhoben. Von Tieren mit einem Gewicht bis zu ca. 300 kg Körpergewicht wurde sowohl venöses Blut zur Gewinnung von Serum als auch Vollblut für die Disc-Methode entnommen. Von schwereren Tieren wurde nur Disc-Vollblut genommen. Die Doppelproben wurden verwendet, um die Resultate des Disc-ELISA mit den Ergebnissen des Serum-ELISA und des SNT zu vergleichen. Die Discproben von den schweren Tieren dienten v. a. dazu, die Durchführbarkeit der Blutentnahme bei den nicht ungefährlichen Mastmunis zu erproben.

2. Filter für den Disc-ELISA

Die Verwendung von Whatman-1M-Filterpapier zur Gewinnung von Vollblut für den ELISA wurde von Banks [3] beschrieben. Die Filter wurden so gestanzt, dass Rechtecke mit 8 Ohren (Discs) entstanden (vgl. Bild 2). Die Grösse der Rechtecke wurde so gewählt, dass die blutgetränkten Filter zur Trocknung und Lagerung in ein Gestell passten (z. B. ein Kleinbild-Dia-Magazin). Der Durchmesser der Discs entspricht dem Durchmesser der Dellen auf der Mikro-ELISA-Platte.

3. Blutentnahmen

Venöses Blut wurde mit dem Vacutainer-System (Vacutainer®, Becton Dickinson AG, Basel) aus der V. jugularis entnommen, zu Serum verarbeitet und portionenweise eingefroren. Zur Gewinnung von Vollblut für die Disc-Methode wurden die Gefässe an der Schwanzunterseite punktiert. Dazu wurden Injektionsnadeln mit einem Innendurchmesser der Kanüle von 1,2 mm verwendet.

Die Filter wurden mit der Nummer des entsprechenden Tieres beschriftet und das austretende Blut mit den Filter-Discs aufgesaugt.

4. Laboruntersuchungen

Der Seroneutralisationstest (SNT) zum Nachweis von IBR-Antikörpern wurde, wie von *Lazarowicz et al.* beschrieben [12], durchgeführt. Der Serum-ELISA (Trachitest®) erfolgte nach der Vor-

schrift des Herstellers der Antigenplatten (Labor Dr. Bommeli, Bern). Für die Untersuchung der Filter-Discs mit dem getrockneten Blut waren einige Modifikationen notwendig:

Die Antigendellen wurden zuerst mit 200 Mikroliter Verdünnerlösung (PBS-Tween, vgl. 5, 6) beschickt. Vier Discs mit getrocknetem Blut wurden mit einer Pinzette abgedreht und direkt in je zwei Dellen mit Negativ-(= Kontroll-)Antigen bzw. mit Positiv-(= IBR-)Antigen gegeben und eine Stunde bei *R*aum*t*emperatur (RT) inkubiert. Dann wurden die Filter-Discs in den Dellen mit einem Schüttler aufgerüttelt und mit einem kräftigen Schwung samt der Verdünnerflüssigkeit verworfen. Darauf wurden die Platten wie im Serum-ELISA gewaschen. Die Antigen-Antikörper-Reaktion musste mit einem Peroxidase-Antiperoxidase-(PAP-)System verstärkt werden. Die Evaluation dieses Systems ist anderswo beschrieben (*H. K. Müller et al.,* Nachweis von IBR-Antikörpern im Rindersamen, Manuskript in Vorbereitung). Das PAP-System bestand (kurz zusammengefasst) aus einem Leitersystem von konsekutiven Antikörpern: Zunächst aus Rabbit Antibovine IgG (7S Fraktion 1:5000, 1 Stunde Inkubation bei RT, Hersteller Nordic, Tilburg, NL), dann aus Swine IgG to Rabbit Immunoglobulins (1:5000, 30 Min. bei RT, Dakopatts, DK) als Linker und PAP (soluble complex of horseradish *p*eroxidase and rabbit *a*nti horseradish *p*eroxidase, 1:5000, 30 Min. RT, Dako, DK). Schliesslich erfolgte die Visualisierung der Reaktionen durch die Zugabe von ABTS-Substrat.

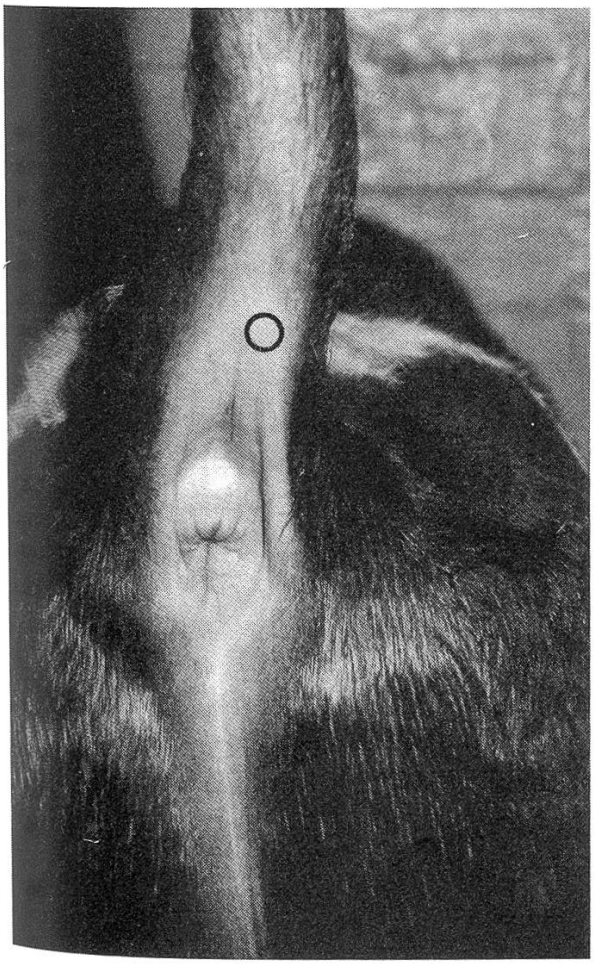

Bild 1: Durch mehrere Stiche mit einer Kanüle ca. 1 cm lateral von der Mitte der Schwanzunterseite (Kreis), kann eine genügend grosse Blutung hervorgerufen werden.

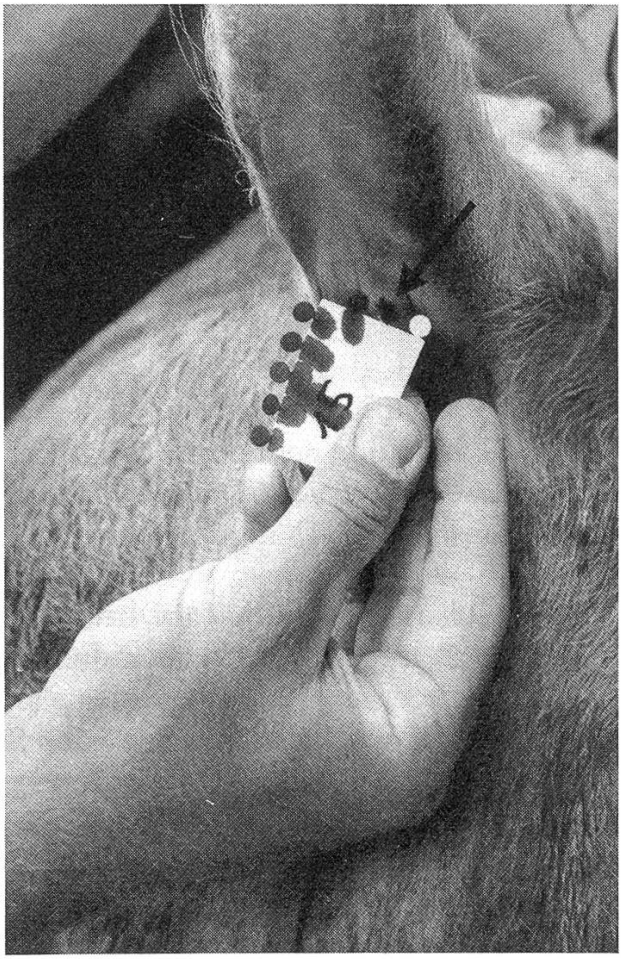

Bild 2: Das ausgetretene Blut wird mit den Discs (Pfeil) des Filterpapiers aufgesaugt, so dass die Filter vollständig und gleichmässig mit Blut benetzt werden.

Resultate und Diskussion

1. Gewinnung von Vollblut mit Filtern

Die Gewinnung von Vollblut von der Unterseite des Schwanzansatzes erwies sich als sehr geeignete Methode. Im Gegensatz zur Entnahme von Blut aus der V. jugularis mussten keine Zwangsmassnahmen angewendet werden. Die Tiere wurden anlässlich der routinemässigen Wägung in die mobile Waage getrieben und gewogen.

Anschliessend fasste eine Hilfsperson die Schwanzquaste und bog den Schwanz nach oben. Zu starke Flexion wurde vermieden, weil sonst die Füllung der Gefässe ungenügend war und nach dem Loslassen Blutungen auftraten. Leicht paramedian wurden (Bild 1) mehrere Stiche mit einer Injektionsnadel angebracht und das austretende Blut wurde mit den Ohren (Discs) eines Filters aufgesaugt (Bild 2). Um zuverlässige Resultate zu garantieren, sollte darauf geachtet werden, dass sich die Filter-Discs vollständig und gleichmässig mit Blut vollsaugen. Anschliessend wurden die Filter zum Trocknen in ein Diamagazin gestellt. Um ein Zusammenkleben zu verhindern, muss die Berührung der Filter untereinander vermieden werden. Für jedes Tier wurde eine frische Injektionsnadel verwendet, um die Übertragung von Infektionserregern (z. B. Enzootische Bovine Leukose [7]) zu vermeiden.

Die Verwendung von Whatman-1M-Filtern zur Gewinnung von Vollblut anstelle von Serum für einen ELISA wurde bereits von anderen beschrieben und erfolgreich für den Nachweis von Antikörpern gegen das Aujeszky-Virus angewendet [3, 8, 20]. In unserem Labor fanden diese Filter auch Verwendung für die Untersuchung von Vollblutproben von Mäusen und Meerschweinchen in verschiedenen ELISA-Systemen und erwiesen sich dabei nicht nur als zuverlässig, sondern auch als schonende Alternative zur Herzpunktion (nicht publiziert).

2. Spezifität und Sensitivität des modifizierten ELISA

Zur Evaluation der Spezifität und der Sensitivität des Vollblut-ELISA wurden 261 Filterproben untersucht. Die korrespondierenden Serumproben wurden im Serumneutralisationstest (SNT) und im routinemässigen (Serum-)ELISA auf IBR-Antikörper geprüft.

Die Resultate sind in Tab. 1 und Tab. 2 dargestellt:

51 Proben reagierten in allen drei Testsystemen klar positiv. Bei allen im ELISA positiv reagierenden Proben konnten auch im SNT IBR-Antikörper nachgewiesen werden. 201 Proben reagierten in allen drei Systemen klar negativ. 9 Proben reagierten im ELISA so, dass eine direkte Zuordnung des Resultates nicht möglich war (fraglich). Zwei Proben reagierten in beiden ELISA unklar. Fünf fragliche Resultate stammten aus dem Serum-ELISA, sechs aus dem Filter-ELISA. Somit kann dem ELISA mit der Verwendung von getrocknetem Vollblut anstelle von Serum eine sehr gute Spezifität und eine dem Serum-ELISA ebenbürtige Sensitivität zugesprochen werden. Bei der Beurteilung des modifizierten Tests sind folgende drei Punkte zu beachten:

i) Um im Vollblut-Disc-ELISA positive von negativen Proben unterscheiden zu können, wurde eine Signalverstärkung durch ein PAP-System benötigt. Interessanterweise war diese Verstärkung nicht mit allen Antigenpräparationen möglich.

Tabelle 1: Vergleich des Vollblut-ELISA (Filterdisc) mit dem SNT

Vollblut-ELISA	SNT +	SNT –	Total
Positiv	51	0	51
Fraglich	4	2	6
Negativ	0	204	204
Total	55	206	261

Tabelle 2: Vergleich des Vollblut-ELISA mit dem Serum-ELISA

Serum \ Vollblut	Positiv	Fraglich	Negativ	Total
Positiv	51	2	0	53
Fraglich	0	2	3	5
Negativ	0	2	201	203
Total	51	6	204	261

ii) Für den Vollblut-ELISA existierten noch keine Referenz-Reagentien. Aus diesem Grunde wurden die positiven und negativen Referenz-Seren aus dem Trachitest-Kit als Kontrollen mitgeführt. Das positive Referenz-Serum wurde durchschnittlich um einen Faktor 1,6 verstärkt. Aus diesem Grunde wurden Filterproben mit einer relativen Reaktivität bis zu 60% als positiv, mit Reaktionen zwischen 25 und 60% als fraglich und unter 25% als negativ beurteilt.

iii) Das modifizierte System bringt zwar einen erhöhten Laboraufwand und damit verbundene Mehrkosten mit sich, eignet sich aber zweifelsohne zur raschen Durchuntersuchung von Rindermastbetrieben. Wohl treten, wie beim Serum-ELISA auch, gelegentlich nicht interpretierbare Proben auf, diese können aber mit geringem Mehraufwand im SNT abgeklärt werden.

3. *Anwendung des modifizierten ELISA zur Bekämpfung der IBR in Rindermastbetrieben*

Das in dieser Arbeit beschriebene System ist entwickelt worden, um die Bekämpfung der IBR in Rindermastbetrieben voranzutreiben. Aus früheren Untersuchungen geht hervor, dass die Mastrinder zur Zeit das einzige grössere IBR-Reservoir in der Schweiz darstellen [2, 9]. Mit der vereinfachten Möglichkeit der Probenerhebung ist hoffentlich ein attraktives Instrument zur Untersuchung und späteren Sanierung dieses Reservoirs geschaffen worden. Aufgrund des höheren Laboraufwandes (PAP-System) und den damit verbundenen Mehrkosten wäre es hingegen nicht gerechtfertigt, das modifizierte System auch auf die Untersuchung von Milchvieh auszudehnen.

Zusammenfassung

Obwohl die Mastrinder das einzige relevante IBR/IPV-Virusreservoir in der Schweiz bilden, sind noch nicht alle Mastbestände durchuntersucht worden. Verantwortlich dafür war u.a. auch der Aufwand bei der Blutentnahme.

Durch Punktion der Gefässe an der Schwanzunterseite von Mastrindern kann problemlos Vollblut auf Filterpapier (Discs) aufgesaugt werden. Das getrocknete Blut wird im ELISA anstelle von Serum für den Nachweis von Antikörpern gegen das IBR/IPV-Virus verwendet. Um eine dem Serum-ELISA ebenbürtige Spezifität und Sensitivität zu gewährleisten, muss die Reaktion mit einem PAP-System (Peroxidase-Antiperoxidase) verstärkt werden.

Wegen des höheren Laboraufwandes und den damit verbundenen Mehrkosten soll das modifizierte System nur für die Untersuchung von Mastrindern angewendet werden.

Résumé

Bien que les bovins d'engraissement soient toujours un réservoir du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (RIB) en Suisse, le contrôle sérologique du bétail à l'engrais n'est pas encore effectué systématiquement. Le danger, le surplus de travail et de temps lors des prélèvements en sont les principales causes.

Une méthode simple à réaliser est décrite ici. Quelques gouttes de sang sont prélevées des vaisseaux sanguins situés sous la queue, à l'aide d'un disque filtrant. Pour la détection d'anticorps RIB (Herpesvirus bovin type 1, HVB-1) le sang séché est utilisé pour l'ELISA de la même façon que le sérum. Afin d'obtenir la même spécificité et sensibilité, et de pouvoir comparer les résultats avec le traditionnel sérum-ELISA, la réaction doit être rehaussée par un système PAP (péroxidase-antipéroxidase).

Il est recommandé de réserver cette méthode aux troupeaux d'engraissement pour éviter l'augmentation du coût des travaux de laboratoire.

Riassunto

Sebbene i bovini da ingrasso rappresentino l'unico rilevante serbatoio dell'IBR/IPV in Svizzera, non ancora tutti gli allevamenti da ingrasso sono stati controllati. Responsabile di questo fatto è fra l'altro il costo del prelievo del sangue.

Con la punzione dei vasi alla faccia ventro-laterale della coda dei bovini da ingrasso il sangue può esser assorbito senza problemi su carta da filtro (Discs). Il sangue disseccato viene usato per la prova ELISA al posto del siero per la ricerca degli anticorpi dell'IBR/IPV. Per garantire una specificità e sensitività equivalente al siero-ELISA, la reazione deve esser rafforzata con un sistema PAP (perossidasi-antiperossidasi).

Siccome l'impegno del laboratorio e quindi i costi sono più elevati, il sistema modificato dovrebbe esser usato solo per l'esame analitico dei bovini da ingrasso.

Summary

Cattle in fattening herds are still a reservoir for Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in Switzerland. Since sampling of sera from these animals was expensive, timeconsuming and dangerous, the fattening herds have not yet been completely screened for the prevalence of IBR carriers.

In this paper, a feasible technique is described, to sample whole blood from the tails of fattening cattle. The blood is soaked on filter discs, dried, and applied in the place of serum to detect antibodies to IBR virus (bovine herpesvirus type 1, BHV-1) by ELISA. In order to achieve the same sensitivity and specificity as the routinely applied serum-ELISA, the reaction has to be enhanced by a PAP (peroxidase-antiperoxidase)-system.

This modified procedure is recommended for the serological BHV-1 survey of fattening cattle.

Verdankungen

Die Autoren danken dem Verwalter des untersuchten Mastbetriebes, sowie dem entsprechenden Bestandes- und Kantonstierarzt für die Unterstützung dieses Projektes. Unser Dank gilt ferner Barbara Fahrner, M. Bachmann und R. Zutter für die Mithilfe bei der Erhebung der Proben und Evelyne Schmid sowie Inga Ascherl für die Mithilfe bei den Laborarbeiten.

B. Semadeni danken wir für die Auskünfte über den aktuellen Stand der IBR-Bekämpfung, Anita Hug für die fotografischen Arbeiten und Mimi Specklin für die Übersetzung der Zusammenfassung ins Französische. Einen ganz speziellen Dank möchten wir Frau Dr. B. Leithold für die spontane Zusendung der ersten Probe-Filter aussprechen.

Literatur

[1] *Ackermann M., Peterhans E., and Wyler R.:* DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. Am. J. Vet. Res. *43,* 36–40 (1982). – [2] *Ackermann M., Metzler A.E., McDonagh H., Bruckner L., Müller H.K. und Kihm U.:* Stellen nichtbovine Paarhufer ein IBR-Virus-Reservoir dar? I. BHV-1- und CapHV-1-Infektions- und Reaktivierungsversuche an Ziegen, Virustyp-Spezifität der humoralen Antikörper und Charakterisierung der viralen Antigene. Schweiz. Arch. Tierheilk. *128,* 557–573 (1986). – [3] *Banks M.:* Detection of antibodies to Aujeszky's disease virus in whole blood by ELISA disc. J. Virol. Meth. *152,* 41–45 (1985). – [4] *Bitsch V.:* Persistence of infection with infectious bovine rhinotracheitis virus in Danish cattle herds. Nord. Vet. Med. *30,* 178–185 (1978). – [5] *Bommeli W., Kihm U., Lazarowicz M., and Steck F.:* Rapid detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus by micro enzyme linked immunosorbent assay (Micro-ELISA). Proceedings of the second international symposium of veterinary laboratory diagnosticians. Lucerne (CH) *II,* 235–239 (1980). – [6] *Bommeli W., Kihm U., Zindel F., and Fey H.:* Enzyme linked immunoassay and fluorescent antibody techniques in the diagnosis of viral diseases using staphylococcal protein-A instead of anti-gamma-globulins. Vet. Immunol. Immunopathol. *1,* 179–193 (1980). – [7] *Bürki F.:* Referat anlässlich des Fortbildungskurses über Retroviren. Bundesamt für Veterinärwesen (BVet), Bern (13. November 1986). – [8] *Eloit M. et Toma B.:* Dépistage de la maladie d'Aujeszky à l'aide de prélèvements sur papier filtre. J. Rech. Porc. en France *19,* 183–188 (1987). – [9] *Hasler J. und Engels M.:* Stellen nichtbovine Paarhufer ein IBR-Virus-Reservoir dar? II. Seroepidemiologische Untersuchungen an Ziegen, Schafen, Schweinen und Wildpaarhufern in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. *128,* 579–589 (1986). – [10] *Hyland S.J., Easterday B.C., and Pawlisch R.:* Antibody levels and immunity to infectious bovine rhinotracheitis virus (IBR) infections in Wisconsin dairy cattle. International symposium on immunity to infections of the respiratory system in man and animals, London, 1974. Develop. biol. Standard., *28,* 510–525 (1975). – [11] *Kupferschmied H.U., Kihm U., Bachmann P., Müller H.K., and Ackermann M.:* Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen: a case report. Theriogenology *25,* 439–443 (1986). – [12] *Lazarowicz M., Steck F., Ackermann M. und Kihm U.:* Prüfung von zwei Impfstoffen gegen die Infektiöse Bovine Rhinotracheitis. Schweiz. Arch. Tierheilk. *125,* 797–808 (1983). – [13] *Meyer L.:* Kosten-Nutzen-Problematik der IBR/IPV-Sanierung. Schweiz. Landw. Monatsh. *62,* 317–327 (1984). – [14] *Van Nieuwstadt A.P. and Verhoeff J.:* Epidemiology of BHV-1 virus infections in dairy herds. J. Hyg. *91,* 309–318 (1983). – [15] *Obi U.T., Wiseman A., Selman I.E., Allan E.M., and Nettleton P.F.:* An infectious bovine rhinotracheitis-like respiratory syndrome in young calves. Vet. Rec. *108,* 400–401 (1981). – [16] *Pastoret P.-P., Thiry E., Brochier B., Derboven G., and Vindevogel H.:* The role of latency in the epizootiology of infectious bovine rhinotracheitis. In Latent herpes virus infections in veterinary medicine. Eds. *Wittmann G., Gaskell R.M. and Rziha H.J.* Session *II:* 211–227. (1984) Martinus Nijhoff Publishers for the Commission of the European Communities. – [17] *Rogers R.J., McCubbin I.K., McKenzie R.A., Chung Y.S., and Rosenfeld L.E.:* Severe rhinotracheitis and pneumonia of feedlot cattle due to bovine herpes virus type 1 infection. Austr. Vet. J. *56,* 147–148 (1980). – [18] *Rosner S.F.:* Infectious bovine rhinotracheitis: Clinical review, immunity, and control. J. Am. Vet. Med. Ass. *153,* 1631–1638 (1968). – [19] *Stukker G., Haab P. und Giger T.:* Nachweis von IBR/IPV-Antikörpern aus der Milch. Schweiz. Arch. Tierheilk. *122,* 707–710 (1980). – [20] *Thoma B., Eloit M. et Tilmant P.:* Sérodiagnostic de la maladie d'Aujeszky: Utilisation de prélèvements de sang sur papier filtre. Rec. Méd. Vét. *162,* 1111–1117 (1986).

Manuskripteingang: 16. Juli 1987