

Bornavirus-Infektion bei Schafen : Verlaufsuntersuchungen nach spontaner Infektion, unter besonderer Berücksichtigung der Antikörperkinetik im Serum und Liquor Cerebrospinalis

Autor(en): **Metzler, A. / Ehrensperger, F. / Danner, K.**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **121 (1979)**

PDF erstellt am: **29.04.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589243>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Institut für Virologie (Prof. Dr. R. Wyler),
dem Institut für Veterinärpathologie (Prof. Dr. H. Stünzi) der Universität Zürich
und dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin,
Fachbereich Tiermedizin der Universität München (Prof. Dr. A. Mayr)

Bornavirus-Infektion bei Schafen: Verlaufsuntersuchungen nach spontaner Infektion, unter besonderer Berücksichtigung der Antikörperkinetik im Serum und Liquor Cerebrospinalis

von A. Metzler, F. Ehrensperger und K. Danner¹

I. Einleitung

Die Bornasche Krankheit ist durch eine virusbedingte Meningoenzephalomyelitis charakterisiert. Bei Infektionen des Zentralen Nervensystems (ZNS) ist eine primär lokale Immunantwort durchaus möglich (*Schneider und Burtscher*, 1976; *Reid et al.*, 1971; *Zakay-Rones et al.*, 1974; *Baer et al.*, 1975). Neben pathogenetischen Erwägungen kommt dieser Feststellung zum Beispiel bei der Subakuten Sklerosierenden Panenzephalitis (SSPE) des Menschen auch eine diagnostische Bedeutung zu (*Vandvik et al.*, 1976). Im Zusammenhang mit der Bornaschen Krankheit wurde schon früh (*Nicolau et Galloway*, 1930) auf die Möglichkeit des Auftretens «virulizider» Antikörper im ZNS hingewiesen. Dieser Umstand wurde inzwischen experimentell bestätigt (*Ludwig und Becht*, 1977; *Ludwig et al.*, 1977; *Danner und Lüthgen*, 1978) und diagnostisch ausgenützt (*Danner*, 1976; *Metzler et al.*, 1976; *Metzler*, 1977; *Danner und Lüthgen*, 1978).

Bei der Bornaschen Krankheit ist wiederholt festgestellt worden, dass im Serum erkrankter und geimpfter Tiere virusspezifische Antikörper nicht regelmässig auftreten (v. *Sprockhoff*, 1954; *Fechner*, 1955; *Otta*, 1957; *Nitzschke*, 1957; *Wagner*, 1970; *Lüthgen*, 1977). Andererseits liegen entsprechende, auch auf den Liquor cerebrospinalis ausgerichtete serologische Untersuchungsergebnisse nur von experimentell infizierten Kaninchen (*Ludwig und Becht*, 1977; *Ludwig et al.*, 1977; *Danner und Lüthgen*, 1978) sowie von einzelnen spontanen Erkrankungsfällen beim Pferd vor (*Ludwig und Thein*, 1977; *Danner und Lüthgen*, 1978).

Um so wichtiger erschien es, den Verlauf der spontanen Infektion beim Schaf über längere Zeit hinweg zu verfolgen. Neben der klinischen und serologischen Untersuchung stand dabei die Auswertung von Liquorproben im Mittelpunkt, wobei die Antikörperkinetik im Serum und Liquor cerebrospinalis verfolgt wurde.

¹ Adressen: Dr. A. Metzler und Dr. F. Ehrensperger, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich; Dr. K. Danner, Veterinärstrasse 13, D-8000 München 22.

II. Material und Methoden

1. Untersuchte Schafe

Die Arbeit basiert auf dem von Metzler et al. (1976) beschriebenen Ausbruch der Bornaschen Krankheit in einer Schafherde der Ostschweiz. Nachdem in der betroffenen Herde seit rund einem Monat keine weiteren Erkrankungen mehr aufgetreten waren, konnten wir bei 97 Tieren des Bestandes je eine Blutprobe für den Antikörpernachweis entnehmen. Unter diesen Tieren befanden sich deren 13, die laut Anamnese ein bis zwei Monate vorher typisch an Borna erkrankt gewesen waren. Sieben dieser dreizehn Tiere wurden dem Institut, zusammen mit einem gesund gebliebenen Kontakttier, für weitere Abklärungen zur Verfügung gestellt.

Die acht zur Beobachtung gelangenden Schafe wurden zusammen mit drei aus nicht bornaverseuchten Beständen zugekauften, gesunden Kontrolltieren in einer isolierten Stallung gehalten. Gefüttert wurde mit Heu und Wasser, wobei ergänzend ein pelletiertes Kraftfutter angeboten wurde. Eine erste Untersuchung auf Bornavirus-spezifische Serumantikörper erfolgte zu Beginn der angesetzten Untersuchungen. Ab dem sechsten Monat der insgesamt 1½ Jahre dauernden Beobachtungszeit wurden im Abstand von zwei Monaten Serum- und Liquorproben (Metzler und Geyer, 1978) entnommen und mit der indirekten Immunofluoreszenz-Technik auf virusspezifische Antikörper untersucht.

Bei acht Lämmern (sieben von «Bornatieren» und eines von einer gesunden Kontrolllaue abstammend), die im Laufe der Beobachtungszeit geboren worden waren, wurden ebenfalls Serum- und Liquorproben serologisch untersucht. Dabei wurden Serum und Liquor gezielt vor und nach der Kolostrumaufnahme gewonnen. Das Kolostrum selbst testeten wir unmittelbar post partum.

Gesamthaft waren somit 19 Tiere (acht adulte Schafe aus dem bornaverseuchten Bestand stammend, drei gesund zugekaufte Kontrolltiere sowie acht Lämmer aus der Nachzucht) in die Untersuchung einbezogen.

2. Intra vitam durchgeführte Untersuchungen

2.1. Klinische Erhebungen: Im Hinblick auf eine mögliche Entwicklung von Bornasymptomen wurden die Tiere täglich beobachtet. Darüber hinaus erfolgte jeweils am Tag nach der Punktion des Liquorraumes eine Temperaturkontrolle.

2.2. Vorbereitung von Serum, Liquor und Kolostrum für den Antikörpernachweis. Serum und Liquor wurden ohne vorangehende Inaktivierung (56 °C während ½ Stunde) getestet. Der frisch entnommene Liquor wurde zwecks Entfernung eventuell vorhandener zelliger Beimengungen zentrifugiert. Das Kolostrum zentrifugierten wir unmittelbar nach der Entnahme während 20 Minuten bei 2000 × g. Die resultierende Interphase diente dann als Ausgangsmaterial für den Antikörpernachweis. Die Lagerung von Serum, Liquor cerebrospinalis und Kolostrum erfolgte, sofern nicht umgehend getestet wurde, bei -20 °C.

2.3. Antikörpernachweis: Für die Antikörperbestimmung in Serum, Gehirn (vgl. unten), Liquor cerebrospinalis und Kolostrum sowie deren Titration bedienten wir uns der indirekten Immunofluoreszenz-Technik (IIFT) (Metzler, 1977). Als Antigen wurden dabei persistent mit Bornavirus infizierte RK-13-Deckglaskulturen verwendet. Die Fluorescein-Isothiocyanat-markierten Antispeziesglobuline bezogen wir aus dem Handel (Nordic, Immunological Laboratories, Tilbourg, The Netherlands).

Als Antikörpertiter wurde die grösste Verdünnung von Serum, Liquor cerebrospinalis, Kolostrum bzw. Gehirnextrakt definiert, die in der IIFT noch zu einer eindeutig erkennbaren Fluoreszenz führte. Dabei erfolgen Titerangaben als reziproke Werte dieser Verdünnungen.

3. Post mortem durchgeführte Untersuchungen

Zwei der 19 Tiere (siehe II/1 und III/2) erkrankten im Laufe der Untersuchung an Borna. Ein weiteres verendete interkurrent. Diese, wie die 16 überlebenden Schafe, die am Versuchsende euthanasiert worden waren, wurden post mortem histologisch, serologisch und virologisch untersucht. Bei allen

Tieren wurde sofort nach der Tötung das Gehirn entnommen. Die eine Hälfte wurde umgehend in phosphatgepufferter Formalinlösung (pH 7,3; 4%) fixiert. Aus der zweiten Hälfte wurden Proben für den Virus- und Antikörpernachweis abgezweigt und der Rest anschliessend ebenfalls der histologischen Untersuchung zugeführt.

3.1. Histologie: Von jedem Gehirn wurden 6 bis 8 Proben in Paraffin eingebettet und an Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Schnitten beurteilt. Neben Ammonshorn und Frontallappen beider Gehirnhälften wurden regelmässig Corpus striatum, Thalamus, Cerebellum und Medulla oblongata histologisch untersucht.

3.2. Serologische Untersuchung des Gehirnextraktes: Teile der hierfür abgezweigten Gehirnproben wurden mechanisch homogenisiert, wobei ein 20%iger Extrakt in Medium hergestellt wurde (Eagle's MEM mit Zusatz von 2% fötalem Kälberserum: GIBCO Grand Island Biological Comp.). Nach einer 10 Minuten dauernden Zentrifugation ($2000 \times g$) diente der resultierende Überstand als Ausgangsmaterial für den Antikörpernachweis (vgl. 2.3) sowie die Virusisolierungsversuche im Versuchstier und in der Zellkultur.

3.3. Virusnachweis: Für die Virusisolierung verwendeten wir von den Schafen stammendes Gehirngewebe, wobei der Übertragungsversuch auf das Kaninchen, die Virusisolierung in der Zellkultur (RK-13-Zelllinie) und die Herstellung sogenannter Gehirnexplantatkulturen zur Verwendung kamen. Die entsprechenden Methoden sind an anderer Stelle eingehend beschrieben (Metzler et al., 1976; Metzler, 1977). In Ergänzung zu jenen Angaben benutzten wir für den Nachweis des in der Zellkultur nicht zytopathogenen Virus neben der direkten auch die indirekte IFT. Dabei kam ein virusspezifisch reagierender Pferdeliquor zur Anwendung, dessen Antikörpertiter in der IIFT bei wiederholter Prüfung 320 betragen hatte.

III. Ergebnisse

1. Serologische Befunde in der verseuchten Schafherde

Bei 97 Schafen konnte rund ein Monat nach Auftreten der letzten Krankheitsfälle eine Blutprobe für den Antikörpernachweis gewonnen werden. Die serologischen Ergebnisse können unter Berücksichtigung der entsprechenden Anamnesen in vier Gruppen unterteilt werden (Tab. 1). Die Gruppe 1 (fünf Tiere) umfasst jene Schafe, die anamnestisch erkrankt gewesen waren und auch Serumantikörper gebildet hatten. Die Gruppe 2 (acht Tiere) vereinigt jene Individuen, in deren Serum nach der klinischen Ausheilung keine bornaspezifischen Antikörper nachgewiesen werden konnten. In der Gruppe 3 finden sich jene 16 Tiere, die keine klinisch manifesten Krankheitserscheinungen gezeigt hatten und dennoch Antikörper im Serum aufwiesen. In der letzten Gruppe von 68 Schafen findet man die gesund gebliebenen Tiere, die keine Serokonversion aufwiesen.

Tab. 1 Serologische Untersuchungsergebnisse bei 97 Schafen aus der enzootisch bornaverseuchten Herde.

Anamnese	Anzahl Tiere	Serumantikörper-Titer (geom. Mittel) 4 Wochen nach Abklingen des Seuchenausbruches
Borna	5	40
Borna	8	0
gesund	16	18
gesund	68	0
	13	4,13*
	84	1,74*

* Mittlerer Serumantikörper-Titer aller Tiere mit der Anamnese Borna, resp. gesund.

Die Serumantikörper-Titer in der Gruppe 1 lagen innerhalb der Grenzen von 20 und 80, jene der Gruppe 3 innerhalb der Grenzen von 10 und 160. Bei insgesamt 13 Tieren mit der Anamnese Borna liess sich ein durchschnittlicher Serumantikörper-Titer (geometrisches Mittel) von 4,13 errechnen. Bei 84 nicht erkrankten Tieren stellte man einen entsprechenden, nicht signifikant abweichenden Wert von 1,74 fest.

2. Verlaufsuntersuchungen an acht Tieren aus dem «Borna-Bestand»

Von den acht zur weiteren Beobachtung gelangenden Schafen erkrankten deren zwei rund acht Wochen nach den zuletzt in der Herde aufgetretenen Krankheitsfällen an Borna. Beide Tiere mussten nach einer nur wenige Tage dauernden Krankheit notgeschlachtet werden. In einem Fall lag eine erstmalige Erkrankung vor, beim anderen traten die Symptome zum zweiten Male auf. Die Diagnose konnte histologisch, aber auch durch die Erregerisolierung und den Antikörperrnachweis im Serum und Gehirnextrakt spezifisch abgesichert werden. Bei jenem Tier, das erstmalig erkrankte (Tab. 2 Nr. 26), fanden sich zum Zeitpunkt der Tötung sowohl Serum- (Titer = 40) als auch Gehirnantikörper (Titer > 1280). Die Virusisolierung gelang nur mit Hilfe der angelegten Gehirnexplantatkulturen.

Beim zweiten Tier (Nr. 72), das zum zweitenmal Bornasymptome gezeigt hatte, liessen sich im Serum (Titer = 320), nicht aber im Gehirnhomogenisat virusspezifische Antikörper ermitteln. Indessen gelang hier der Erregernachweis sowohl in den Explantatkulturen als auch im Tierversuch (Inkubationszeit: 55 Tage) und in den inokulierten RK-13-Zellkulturen.

Die sechs überlebenden Schafe konnten über eine Zeitspanne von 18 Monaten beobachtet und regelmässig untersucht werden. Die Tiere blieben, abgesehen von Tab. 2 Kinetik der Antikörperbildung im Serum (S) und Liquor cerebrospinalis (L) bei acht aus einem bornaverseuchten Bestand stammenden Schafen sowie bei drei gesund zugekauften Kontrolltieren.

Schaf Anamnese		Zeitpunkt der Probeentnahme (in Monaten) nach klinischer Ausheilung								
		1 S/L	2 S/L	6 S/L	8 S/L	10 S/L	12 S/L	14 S/L	16 S/L	18 S/L
26	gesund	40/*	40/**							
72	Borna	80/	320/**							
90	Borna	0/		0/10	40/20	40/ 20	80/ 20	40/ 20	40/ 20	/
97	Borna	0/		0/10	80/20	80/ 10	80/ 10	20/ 10	20/ 10	20/ 10
81	Borna	0/		10/80	320/80	160/ 80	160/160	80/ 80	80/ 80	80/ 80
92	Borna	40/		10/10	320/80	320/320	160/160	160/ 80	80/160	80/160
86	Borna	80/		40/20	320/80	320/ 80	160/160	160/ 80	160/ 80	40/ 40
88	Borna	20/		20/40	80/40	160/160	160/160	80/160	80/160	40/ 40
167	Kontrolle	0/		0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0
34	Kontrolle	0/		0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0
100	Kontrolle						0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0

* Fehlende Werte = nicht getestet.

** Wegen Borna euthanasiert; Bornavirus nachgewiesen.

drei Ausnahmen, über den gesamten Zeitraum hinweg bei guter Gesundheit. Bei den genannten Ausnahmen handelt es sich in einem Fall um ein männliches Tier (Nr. 81), das im sechsten Beobachtungsmonat Erscheinungen einer beidseitigen Radialislähmung zeigte. Verlor sich die Veränderung linksseitig spontan, so hielt sie sich rechtsseitig länger, so dass eine Sehnenverkürzung resultierte. Bei der zweiten Ausnahme zeigte das betroffene Tier (Nr. 88) im 10. Beobachtungsmonat eine kurzdauernde Verhaltensstörung. Diese manifestierte sich dadurch, dass das Tier zeitweilig hinter den anderen Schafen zurückblieb (mangelnder Herdentrieb) und nur vermindert auf äussere Reize reagierte. Dieser Zustand normalisierte sich indessen innerhalb weniger Tage. Die dritte Ausnahme bezieht sich auf ein Tier (Nr. 90), das gegen Ende der Versuche interkurrent verendete.

Die an den Seren und Liquores der acht in die Verlaufsstudie mit einbezogenen adulten Schafe sowie der drei Kontrolltiere erhobenen Befunde sind in Tab. 2 zusammengefasst. Die Kontrollschafe wiesen zu keinem Zeitpunkt der gemeinsamen Haltung Serum- oder Liquorantikörper auf. Auch klinisch ergaben sich niemals Anhaltspunkte für eine horizontale Infektion.

Bei zwei Tieren mit Borna-Anamnese (Nrn. 90 und 97) liessen sich innerhalb der ersten sechs Monate nach der Genesung noch keine Serumantikörper feststellen. Ein weiteres Tier (Nr. 81) reagierte erstmals nach dieser Zeit positiv. Die übrigen drei Schafe wiesen sowohl zu Beginn der Untersuchung als auch am Ende des sech-

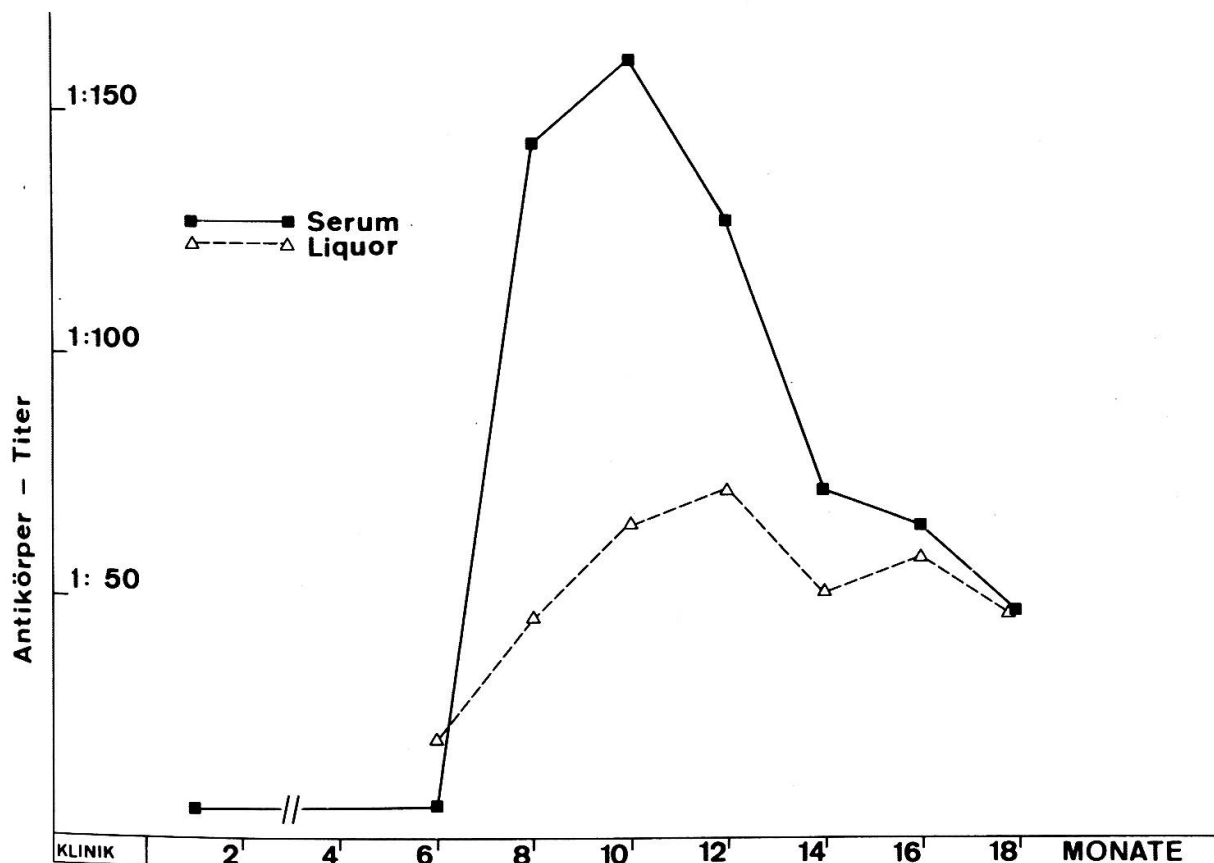


Abb. 1 Kinetik des mittleren Antikörper-Titers in Serum und Liquor cerebrosppinalis bei sechs Schafen aus einer bornaverseuchten Herde.

sten Beobachtungsmonates Serumantikörper auf. Im Gegensatz zum Serum konnten nach Ablauf dieses ersten halben Jahres im Liquor aller Tiere mit der Anamnese Borna virusspezifische Antikörper ermittelt werden. Die zu diesem Zeitpunkt bei den einzelnen Tieren erhobenen Titer weisen, mit einer Ausnahme (Nr. 81), auf keine signifikanten Unterschiede zwischen Serum und Liquor hin. Der sechste Beobachtungsmonat war der einzige Zeitpunkt, in dem der mittlere Antikörpertiter der Liquores jenen der Seren übertraf (Abb. 1).

Aus Tab. 2 geht hervor, dass in der Zeit zwischen dem sechsten und zehnten Beobachtungsmonat bei allen Schafen mit Borna-Anamnese ein signifikanter Anstieg des Serumantikörper-Titers zu verzeichnen war. Dabei erhöhte sich der mittlere Titer von rund 6 im sechsten, auf 160 im zehnten Monat. Mit dem zwölften Monat begann eine bis zum Versuchsende andauernde Abnahme des Serumtiters. Der Antikörpertiter der Liquores zeigte im gleichen Zeitraum eine gleichlaufende Tendenz. Am Ende des Versuches zeichnete sich ein ausgeglichener Serum- und Liquor-Antikörper-Titer ab. In der Abb. 1 ist die Antikörperkinetik im Serum und Liquor cerebrospinalis bei den sechs Schafen mit Borna-Anamnese durch die Darstellung des geometrischen Mittelwertes veranschaulicht.

3. Serologische Verhältnisse bei trächtigen Auen und Lämmern

Zwischen dem 7. und 18. Monat der Verlaufsuntersuchung lammten vier aus der bornaverseuchten Herde stammende Auen ab. Dabei wurden dreimal Zwillinge und einmal ein einzelnes Lamm geboren. Bei keinem der sieben gesund gebliebenen Lämmer konnten zu irgendeinem Zeitpunkt Antikörper im Liquor cerebrospinalis festgestellt werden. Auch klinisch wurden niemals Symptome beobachtet, die für eine prä- oder postnatale Infektion mit Bornavirus sprachen. Dagegen zeigen die in Tab. 3 zusammengefassten serologischen Untersuchungsergebnisse, dass mit der Kolostrumaufnahme auch Serumantikörper in Erscheinung traten. Wie im Serum liessen sich auch im Kolostrum der Muttertiere zur Zeit der Geburt virusspezifische Antikörper ermitteln. Dabei wurde keine Anreicherung virusspezifisch reagierender Serumkomponenten im Euter manifest. Die passiv zugeführten Antikörper im Se-

Tab. 3 Kinetik des Serumantikörper-Titers bei sieben Lämmern von Muttertieren, die sich von der Bornaschen Krankheit erholt hatten.

Probe	Titerbereich	Geom. Mittel der Antikörper-Titer	n
Serum Muttertiere	40–160	95	4
Kolostrum Muttertiere	10–160	40	4
Serum Lämmer			
präcolostral	0	0	7
im Alter von 1 Woche	10–20	16,4	7
im Alter von 5 Wochen	10–40	4,5	6
im Alter von 9 Wochen	0–10	3,2	2
im Alter von 13 Wochen	0	0	2

rum der Lämmer unterschritten nach rund drei Monaten die Nachweisgrenze des verwendeten Testsystems. Die bei einer Kontrolllaue und deren Lamm durchgeführten Untersuchungen blieben regelmässig ohne Antikörpernachweis.

4. Serologische und virologische Untersuchungsergebnisse an den post mortem entnommenen Gehirnen

Bei den zwei an Borna erkrankten Tieren (Nrn. 26 und 72; Tab. 2) konnte die ätiologische Diagnose gesichert werden (vgl. Abschnitt III/2).

Bei den 16 am Versuchsende geschlachteten Schafen wurde Gewebe aus Frontallappen und Ammonshorn dazu verwendet, Explantatkulturen für den Virusnachweis herzustellen. Gewebeproben aus den gleichen Gehirnabschnitten wurden homogenisiert und für die Virusisolierungsversuche in der Zellkultur, für den Infektionsversuch an Kaninchen sowie für den Antikörpernachweis (IIFT) verwendet.

In den während insgesamt 55 Tagen kultivierten Gehirnexplantaten konnte weder in der zweiten noch in der vierten Subkultur fluoreszenzserologisch Virusantigen nachgewiesen werden. Ebenso gelang der entsprechende Virusnachweis in den beimpften RK-13-Zellkulturen nach 7- bzw. 11tägiger Bebrütung nicht. Bei den als Kontrolle mitgeführten virushaltigen Kaninchengehirnen konnte das Virus nachgewiesen werden.

Der von jedem Schafgehirn ausgehende, intrazerebral vorgenommene Infektionsversuch an 16 Kaninchen ergab innerhalb von zwei Monaten in keinem Fall klinische oder serologische Anhaltspunkte für eine erfolgreiche Virusübertragung. Die untersuchten Schafgehirne waren demzufolge frei von infektiösem Bornavirus. Die in den einzelnen Gehirnhomogenisaten festgestellten Antikörper unterschieden sich nicht nennenswert von jenen der entsprechenden Liquores bei Versuchsende; der Unterschied betrug nie mehr als eine Verdünnungsstufe.

5. Histologische Untersuchung der Schafgehirne

Die Gehirne aller Schafe wurden am Versuchsende einer eingehenden histologischen Untersuchung unterzogen. Bei 6 der 16 Tiere (davon drei mit der Anamnese Borna und ein gesundes Kontrollschaf sowie zwei gesunde Lämmer) konnten in beiden Gehirnhälften leichte, diffuse, entzündliche Veränderungen in Gehirn- und Hirnhäuten ermittelt werden. Bei einem weiteren Tier (gesunde Kontrolle) wurde eine leichtgradige Meningitis ohne gleichzeitig bestehende Enzephalitis festgestellt. Bei den restlichen neun Tieren (davon zwei mit der Anamnese Borna, eine gesunde Kontrolle und deren Lamm sowie fünf Lämmer von anamnestisch bornaerkrankten Auen) wurden in keinem der untersuchten Gehirnabschnitte histologisch erkennbare Anzeichen einer Enzephalitis oder Meningitis gefunden.

Die bei sechs Fällen beobachteten entzündlichen Veränderungen im Gehirn bestanden ausnahmslos aus perivaskulären, lymphohistiozytären Infiltraten. Diese traten, bis auf eine Ausnahme, in geringer Zahl in Erscheinung und waren mehrheitlich schwach ausgeprägt. Gleichzeitig lagen oft kleinherdige Gliazellwucherungen und Neuronophagie-Stadien vor. Die entzündlichen Reaktionen waren vornehmlich im Grosshirn (Corpus striatum, Hemisphären und Ammonshorn) sowie

im Thalamus lokalisiert. Eine Bevorzugung der grauen oder weissen Substanz war nicht offensichtlich. Nur bei jenem Tier (Nr. 88), das im 10. Beobachtungsmonat Verhaltensstörungen aufgewiesen hatte, waren alle untersuchten Schnittebenen mit deutlichen Infiltraten behaftet. Andererseits sei erwähnt, dass im Gehirn jenes Tieres (Nr. 81), das im 6. Beobachtungsmonat Lähmungserscheinungen gezeigt hatte, keine histologisch erkennbaren entzündlichen Veränderungen festgestellt werden konnten. Intranukleäre Einschlusskörperchen vom Joest-Degen-Typ wurden in keinem der 16 untersuchten Gehirne gefunden.

IV. Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen einige der älteren Beobachtungen und geben neue Hinweise für die serologische, diagnostische und epizootologische Betrachtung der Bornaschen Krankheit. Die an 97 Seren aus dem infizierten Schafbestand erhobenen Befunde (Tab. 1) bestätigen die Annahme (Metzler et al., 1976), dass die Bornasche Krankheit auch bei Schafen nicht mit einer Antikörperbildung parallel gehen muss. Daneben konnten mehrere Tiere eruiert werden, von denen man aufgrund der nachgewiesenen Serumantikörper annehmen muss, dass sie die Infektion subklinisch durchgemacht haben. Beim Pferd hat *Fechner* bereits 1955 auf die Bedeutung dieser Infektionsform hingewiesen. Dabei ist jedoch grundsätzlich zu berücksichtigen, dass Krankheitserscheinungen auch beim Schaf nur sehr undeutlich ausgeprägt sein können, so dass für deren Erkennen in gewissen Fällen genaue Kenntnisse des sozialen und individuellen Verhaltens der betroffenen Tiere Voraussetzung sind (*Sprankel* et al., 1978). Umgekehrt kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich die erwähnten Tiere zum Zeitpunkt der Untersuchung noch im Inkubationsstadium befanden und dennoch bereits nachweisbare Serumantikörper ausgebildet hatten. Dass die Inkubationsdauer individuell verschieden lang sein kann, wird durch jenes Tier veranschaulicht, bei dem die Erkrankung erst zwei Monate nach Abklingen des Seuchenausbruches in der Herde in Erscheinung trat. Die beim zweiten Tier beobachtete erneute Erkrankung weist darauf hin, dass auch beim Schaf chronisch-rekurrierende Infektionsformen durchaus möglich sind (*Goertler*, 1941; *Sprankel* et al., 1978). Die Primärinfektion geht also nicht zwangsläufig mit einer Erregereliminierung einher und wird nicht von einer belastbaren Immunität gefolgt.

Zusammen mit den serologischen Befunden zeigt der bei den zwei während der Beobachtungszeit an Borna erkrankten Schafen (Nrn. 26 und 72) mit Erfolg durchgeführte Virusnachweis, dass die spezifische Labordiagnose der Bornaschen Krankheit sowohl durch den Virusantigennachweis als auch durch den Antikörpernachweis möglich ist (Metzler, 1977).

Von den sechs über einen längeren Zeitraum untersuchten Tieren hatten deren zwei (Nrn. 90 und 97) auch sechs Monate nach der Genesung noch keine fluoreszenzserologisch feststellbaren Serumantikörper ausgebildet. Diesem Umstand ist bei diagnostischen Abklärungen Rechnung zu tragen. Die Feststellung, dass in einzelnen Fällen im Liquor cerebrospinalis, nicht aber im Serum Antikörper festzustel-

len waren, deutet darauf hin, dass die primäre Immunantwort lokal im ZNS erfolgt. Der bei sechs Schafen sechs Monate nach der Genesung ermittelte, durchschnittlich höher liegende Antikörpertiter im Liquor gegenüber jenem im Serum (Tab. 2, Abb. 1) stimmt mit dieser Annahme überein. Dieser Befund, der sich mit den Angaben über spontane Erkrankungen beim Pferd deckt (*Ludwig und Thein, 1977*), ist insofern von Bedeutung, als es beim experimentell infizierten Kaninchen zuerst stets zur Antikörperbildung im Serum und erst danach im ZNS kommt (*Danner und Lühthgen, 1978*).

Die nach dem 6. Beobachtungsmonat festgestellte signifikante Zunahme der Titerwerte im Serum und Liquor deutet darauf hin, dass eine sich subklinisch manifestierende endogene Reininfektion (Boosterung) stattgefunden hat. Demzufolge handelt es sich hier um eine persistierende Infektion. Dass es sich um keine exogene Reininfektion handelt, ist daraus abzuleiten, dass die Kontrolltiere und die Lämmer zu keinem Zeitpunkt Hinweise für eine horizontale Infektion (Tier–Tier) gaben. Aus dem Gehirn konnte nach Versuchsabschluss bei keinem der sechs früher erkrankten Tiere Bornavirus nachgewiesen werden. Dies deutet entweder darauf hin, dass die bei allen Tieren festgestellte sekundäre Immunantwort zur «Autosterilisation», d. h. zur Eliminierung des Krankheitserregers, geführt hat (*Nicolau und Galloway, 1930*), oder aber, dass der Erreger in eine maskierte Form übergegangen ist. Die zweite Möglichkeit würde einer echten Erregerlatenz entsprechen.

Die anlässlich der histologischen Untersuchung in einem Teil der Fälle (auch bei Kontrolltieren und Lämmern) festgestellten entzündlichen Veränderungen stehen in keinem zwingenden Zusammenhang zur Bornaschen Krankheit. Dass histologisch erkennbare entzündliche Veränderungen ohne ätiologische Deutbarkeit beim Schaf relativ häufig sind, haben *Cravero (1975)*, *Seffner (1966)* und *Ihlenburg und Brehmer (1964)* beschrieben. Leichtgradige entzündliche Infiltrate haben *Zlotnik und Rennie (1957)* in Gehirnen klinisch gesunder Schafe verschiedener Altersklassen mit einer Inzidenz von 75 bis 94% in Schottland beobachtet. In unserer Region wurden systematische Untersuchungen dieser Art bisher nicht durchgeführt; es ist durchaus möglich, dass die Verhältnisse hier ähnlich liegen. Eine Ausnahme bildet möglicherweise jenes Tier, dessen Gehirn relativ stark ausgeprägte entzündliche Veränderungen aufwies und das im 10. Beobachtungsmonat Anzeichen von Verhaltensstörungen gezeigt hatte (Rekurrenz). Dessenungeachtet kann angenommen werden, dass der klinischen Ausheilung auch eine Rückbildung der histologisch erkennbaren ZNS-Veränderungen folgen kann.

Die Beobachtung, dass die Kontrolltiere keine Anzeichen einer Infektion aufwiesen, zeigt indessen, dass die Bornasche Krankheit nicht hoch kontagiöser Natur ist. Dabei muss jedoch berücksichtigt bleiben, dass Borna wiederholt als Faktoren-erkrankung angesehen worden ist.

Zwei Lämmer, die während der Phase des Antikörpertiter-Anstieges im Serum und Liquor des Muttertieres (Antigenpersistenz) geboren worden waren, zeigten bis zum Alter von 12 Monaten keine Anzeichen einer Infektion. Zumindest in diesen beiden Fällen ist eine diaplaszentare (vertikale) Infektion auszuschliessen.

Die bei den Lämmern erhobenen Befunde zeigen, dass mit dem Kolostrum auch

virusspezifische Antikörper aufgenommen und resorbiert worden sind. Es ist nicht bekannt, ob diesen passiv zugeführten Antikörpern eine Bedeutung zukommt. Eine prophylaktische Wirkung ist indessen unwahrscheinlich, da den Bornavirus-spezifischen Antikörpern keine neutralisierenden Eigenschaften zukommen (*Danner und Lüthgen, 1978*). Die Beobachtung, dass die passiv erworbenen Serumantikörper etwa drei Monate lang nachweisbar bleiben, muss beim bornaverdächtigen Lamm berücksichtigt werden. In solchen Fällen ergibt die gleichzeitige Untersuchung von Liquor und/oder Gehirn zusätzliche Information.

Unsere Erfahrungen haben gezeigt, dass die Liquoruntersuchung beim Bornavirus-infizierten Schaf ergänzend zur Serumuntersuchung herangezogen werden kann. Für epizootologische Untersuchungen empfiehlt sich jedoch die weniger aufwendige Entnahme und Untersuchung von Serumproben bei einer repräsentativen Anzahl von Tieren innerhalb einer Herde.

Verdankungen

Herrn Prof. Dr. W. Leemann danken wir für die Überlassung der notwendigen Stallungen. Besonderer Dank gilt den Herren Dr. W. Zindel und E. Bantli sowie dem kantonalen Veterinäramt des Kantons Graubünden für die Überlassung klinischer Befunde und des Untersuchungsgutes. Frl. V. Henn und Frl. R. Brunold danken wir für die ausgezeichnete technische Assistenz, Frau E. Zvonicek und Frau I. Brem für gewissenhafte Sekretariatsarbeit.

Zusammenfassung

Nach dem enzootischen Ausbruch der Bornaschen Krankheit in einer Schafherde wurde eine Verlaufsstudie unternommen. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand die Kinetik der virusspezifischen Antikörper in Serum und Liquor cerebrospinalis. Die Befunde zeigen, dass die Genesung nicht mit einer serologisch erfassbaren Immunantwort einhergehen muss. Hingegen wies die bei zahlreichen gesund gebliebenen Tieren festgestellte Serokonversion auf einen subklinischen Infektionsverlauf hin.

Die Kinetik der Antikörper in Serum und Liquor cerebrospinalis zeigte die gleiche Tendenz, wobei sich jedoch Anhaltspunkte für eine primär lokal im ZNS erfolgende Immunantwort ergaben. Aus den Ergebnissen dieser Langzeitstudie konnte gefolgert werden, dass die Bornavirus-Infektion persistieren kann. Dabei wurden rekurrende Infektionen mit unterschiedlichem Verlauf beobachtet.

Die Inkubationszeit der Bornaschen Krankheit kann in gewissen Fällen mehrere Monate betragen. Der Umstand, dass weder eine horizontale noch eine vertikale Erregerausbreitung beobachtet wurde, wird als Indiz für die geringe Kontagiosität der Infektion angesehen.

Résumé

Nous avons entrepris une étude à long terme après l'apparence enzootique de la maladie de Borna dans un troupeau de moutons. Le but primaire de nos recherches était l'étude de la cinétique des anticorps spécifiques au virus dans le sérum et dans le liquide céphalo-rachidien. Les résultats nous ont montré que la guérison ne doit pas aller de pair avec une réponse immunitaire sérologiquement prouvable. Par contre, le fait que de nombreuses bêtes saines ont montré une séroconversion laisse supposer une infection subclinique.

La cinétique des anticorps dans le sérum et dans le liquide céphalo-rachidien était comparable bien que certaines données indiquent une réponse immunologique localisée principalement dans le SNC. Des résultats de cette étude, nous pouvons conclure que l'infection par le virus de Borna peut persister. Nous avons aussi observé des infections récurrentes avec manifestations diverses.

Le temps d'incubation de la maladie de Borna est, dans certains cas, de plusieurs mois. Le fait que nous n'avons constaté ni transmission horizontale ni transmission verticale, est considéré d'être un indice de la faible contagiosité de l'infection.

Riassunto

Dopo il manifestarsi enzootico della malattia di Borna in un gregge di pecore è stato intrapreso uno studio sul decorso della forma morbosa. Il punto fondamentale della ricerca è rappresentato dalla cinetica degli anticorpi virus-specifici nel siero e nel liquor cerebro-spinale degli animali. I reperti indicano che la guarigione dalla malattia non è accompagnata da una risposta anticorporeale sierologicamente apprezzabile. Tuttavia la sieroconversione constatata nei numerosi animali rimasti sani, indica la presenza di una forma subclinica di malattia.

La cinetica degli anticorpi specifici nel siero e nel liquor cerebro-spinale mostra la stessa tendenza, tuttavia ci sono indicazioni per una risposta immunitaria primaria locale nel sistema nervoso centrale. Dai risultati di questo studio a lungo termine, si può concludere che la infezione da virus di Borna può essere persistente. Sono state osservate infezioni ricorrenti con diverso decorso.

Il periodo di incubazione della malattia di Borna può, in determinati casi, durare per numerosi mesi. Il fatto che non sia stata osservata alcuna trasmissione orizzontale nè verticale della malattia, viene considerato un indizio di bassa contagiosità della forma morbosa.

Summary

A study was made of the course of Borna disease after an enzootic outbreak of the disease in a flock of sheep. Special attention was paid to the kinetics of development of virus specific antibodies in serum and cerebrospinal fluid. The results indicated that recovery from the disease was not necessarily accompanied by a serologically identifiable immune response. However, seroconversion in a number of animals which remained clinically healthy, indicated that a subclinical form of the disease can occur.

The kinetics of antibody development were similar in serum and cerebrospinal fluid, although some evidence was found for a localized primary immune response in the central nervous system. From the results of this long term observation, we conclude that infection with Borna disease virus can be persistent. In addition, recurrent infection with variable outcome can also occur.

In certain cases the incubation period can be as long as several months. The fact that neither horizontal nor vertical transmission occurred in the flock during the observation period, is taken as evidence for a very low contagiousness of Borna disease.

Literatur

Baer G. M., Shaddock J. H. and Williams L. W.: Prolonged morbidity in rabid dogs by intrathecal injection of attenuated rabies vaccine. *Inf. Immun.* 12, 98–103 (1975). – Cravero G. C.: Meningo-Encefaliti e Mieliti delle pecore e delle capre. *Ann. Fac. Med. Vet. Torino* 22, 184–208 (1975). – Danner K.: Labordiagnose der Bornaschen Krankheit über den Nachweis von Antikörpern im Zentralnervensystem. *Zbl. Vet. Med. B* 23, 865–867 (1976). – Danner K. und Lühgen K.: Antikörper im ZNS Borna-infizierter Tiere. *Fortschr. Vet. Med. Heft* 28: 12. Kongressbericht, 192–197, Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg 1978. – Fechner J.: Die Komplementbindungsreaktion bei experimentell mit Bornavirus infizierten Pferden. *Mh. Vet. Med.* 10, 553–556 (1955). – Goerttler V.: Ein bemerkenswerter Fall von Bornascher Krankheit. *Berl. Münchn. Tierärztl. Wschr.* 11, 138–139 (1941). – Ihlenburg H. und Brehmer H.: Beitrag zur latenten Borna-Erkrankung des Pferdes. *Mh. Vet. Med.* 19, 463–465 (1964). – Ludwig H. and Becht H.: Borna, the disease – A summary of our present knowledge. In: *Slow virus infections of the central nervous system.* (Hrsg.: V. ter Meulen und M. Katz; S. 75–83, Springer-Verlag, New York-Heidelberg-Berlin 1977.) – Ludwig H. and Thein P.: Demonstration of specific antibodies in the central nervous system of horses naturally infected with Borna disease virus. *Med. Microbiol. Immunol.* 163, 215–226 (1977). – Ludwig H., Koester V., Pauli G. and Rott R.: The cerebrospinal fluid of rabbits infected with Borna disease virus. *Arch. Virol.* 55, 209–223 (1977). – Lühgen K.: Untersuchungen über Nachweis, Bildung und Vorkommen von Bornavirus-Antikörpern. *Vet. Med. Diss.*, München 1977. – Metzler A.: Die Diagnose der natürlichen Bornavirus-Infektion bei Schafen und Pferden. Ein Vergleich verschiedener Methoden. *Vet. Med. Diss.*, Zürich 1977. – Metzler A. und Geyer H.: Die Gewinnung von Liquor cerebrospinalis beim Schaf unter Praxisverhältnissen für die Untersuchung auf Bornasche Krankheit. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 120, 605–614 (1978). – Metzler A., Frei U. und Danner K.: Virologisch gesicherter Ausbruch der Bornaschen Krank-

heit in einer Schafherde der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. 118, 483–492 (1976). – Nicolau S. et Galloway I. A.: L'immunité post-infectieuse et les «neuroinfections autostérilisées» dans l'encéphalomyélite enzootique expérimentale. Compt. rend. Soc. Biol., Paris 103, 852–853 (1930). – Nitzschke E.: Über den Nachweis eines komplementbindenden Antigens und komplementbindender Antikörper bei weissen Ratten, Meerschweinchen und Pferden, die mit dem Virus der Bornaschen Krankheit infiziert waren. Zbl. Vet. Med. 4, 289–296 (1957). – Otta J.: Die Komplementbindungsreaktion bei der Meningo-Encephalomyelitis enzootica equorum (Bornasche Krankheit). Arch. exp. Vet. Med. 11, 235–252 (1957). – Reid H. W., Doherty P. C. and Dawson A. McL.: Louping ill encephalomyelitis in the sheep. III. Immunoglobulins in cerebrospinal fluid. J. Comp. Pathol. 81, 537–543 (1971). – Schneider L. G. und Burtscher H.: Untersuchungen über die Pathogenese der Tollwut bei Hühnern nach intracerebraler Infektion. Zbl. Vet. Med. B 14, 598–624 (1967). – Seffner W.: Beitrag zu Schafkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung einer neunjährigen Sektionsstatistik. Mh. Vet. Med. 21, 858–866 (1966). – Sprankel H., Richarz K., Ludwig H. and Rott R.: Behavior alterations in Tree Shrews (*Tupaia glis*, Diard 1820) induced by Borna disease virus. Med. Microbiol. Immunol. 165, 1–18 (1978). – Vandvik B., Norrby E., Nordal H. J. and Degré M.: Oligoclonal measles virus-specific IgG antibodies isolated from cerebrospinal fluids, brain extracts, and sera from patients with subacute sclerosing panencephalitis and multiple sclerosis. Scand. J. Immunol. 5, 979–992 (1976). – v. Sprockhoff H.: Untersuchungen über den Nachweis von komplementbindenden Antikörpern bei bornavirus-infizierten Pferden und Kaninchen. Zbl. Vet. Med. 1, 870–877 (1954). – Wagner D.: Untersuchungen über die Verbreitung der Bornaschen Krankheit in Bayern und über das Vorkommen von Antikörpern im Serum von Pferden, Rindern, Schafen und Schweinen in Bornagebieten. Vet. Med. Diss., München 1970. – Zakay-Rones Z., Spira G. and Levy R.: Local antibody formation in the brain of chickens. Arch. Virol. 45, 290–293 (1974). – Zlotnik I. and Rennie J. C.: The occurrence of vacuolated neurones and vascular lesions in the medullas of apparently healthy sheep. J. Comp. Path. 67, 30–36 (1957).

VERSCHIEDENES

Veterinär-medizinische Fakultät Bern. Bericht über Kolloquien an der Klinik für Nutztiere und Pferde im Jahre 1978

<i>Datum:</i>	<i>Referent(en):</i>	<i>Thema:</i>
10. 1. 78	G. Ueltschi	Wichtigere Röntgenbefunde an den Phalangen beim Rind
14. 2. 78	U. Schatzmann	Sedation und Narkose beim Schwein
14. 3. 78	U. Küpfer	Hormontherapie in der Gynäkologie
11. 4. 78	E. Scholl	Muskelerkrankungen beim Schwein
9. 5. 78	P. Tschudi	Kongenitale Herzmissbildungen beim Rind
13. 6. 78	U. Schatzmann und J. P. Held	Akupunktur und ihre Anwendung in der Veterinärmedizin
4. 7. 78	Allen D. Leman	Pig production, veterinary practice and pig diseases in Minnesota, with special reference to infertility of sows and boars
12. 9. 78	Margrith Diehl	Anwendung von «porcine skin» bei der Behandlung von grossen Hautwunden
10. 10. 78	A. P. Gyax	Das Puerperium der Stute (klinische, histologische, bakteriologische und endokrinologische Untersuchungen)
14. 11. 78	W. P. Leuenberger	Bericht über den Weltkongress für Buiatrik in Mexiko
12. 12. 78	P. Arnold und D. Sennhauser	Beziehungen zwischen Stressanfälligkeit und Fleischqualität beim Schwein