

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

In einem Zeitraum von acht Monaten wurden 100 Rinder virologisch-kulturell und serologisch auf das Vorliegen einer BVD-Virusinfektion untersucht. Serumproben, Leukozytenfraktionen und Kotproben dienten Versuchen zur Isolierung von BVD-Virus (BVDV). Dabei wurde methodisch sowohl auf nichtzytopathogene (nzp) als auch auf zytopathogene (zp) Biotypen abgestellt.

Die Untersuchungen dienten vor allem der kulturellen Isolierung von sogenannten *matching pairs*, Isolatpaaren aus nzp- und zp-Biotypen vom gleichen Rind.

Diese Untersuchungen stützten sich auf Patienten, die mit enterischen, respiratorischen und/oder zentralnervösen Symptomen bzw. Wachstumsdepression in die Klinik für Rinderkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Hannover eingewiesen worden waren. Es wurden solche Rinder ausgewählt, bei denen sich klinisch der Verdacht auf BVD-Virusinfektion erhob.

Der Nachweis von BVDV gelang bei 27 Rindern. Davon erwiesen sich vier Rinder als serologisch-positiv und 23 als serologisch-negativ. Unter den 73 virologisch-negativen Rindern fanden sich 48 Antikörperträger.

BVD-Virusisolate von insgesamt 17 Tieren lösten im Verlauf von zehn Viruspassagen in FKN-Röhrchenkulturen zytopathische Veränderungen des Zellrasens aus. Gründe für das Auftreten des ZPE zu verschiedenen Zeitpunkten konnten nur vermutet werden.

Durch Infektiositätsmessungen im Mikrotitersystem konnte bei zytopathogenen Isolaten ein frühzeitigeres Erreichen des Titermaximums gegenüber den nichtzytopathogenen Virusisolaten nachgewiesen werden.

Durch Untersuchungen der Reaktivität mit dem monoklonalen Antikörper BVD/C38 konnte dieser als antigener Marker der Zytopathogenität bei BVD-Viren bestätigt werden. Einen absoluten Zytopathogenitätsmarker scheint der BVD/C38 jedoch nicht darzustellen, da geringe Reaktivität auch bei einigen nzp-BVD-Virusisolaten erkennbar war. Als Ursache

hierfür wird die Expressierung des zugehörigen Epitopes auch, wenn auch in wesentlich geringerem Maße, bei nzp-BVD-Virus diskutiert. Eine eingeschränkte Unterscheidung zwischen zp- und nzp-Isolaten mit dem BVD/C38 war jedoch anhand der Anzahl anfärbarer Zellen möglich.

Bei 27 der untersuchten Rinder zeigten sich klinisch Anzeichen einer *mucosal disease*. Nur 22 Rinder davon erwiesen sich als BVD-virämisch, aus dem Probenmaterial von 15 dieser Rinder konnte zytopathogenes BVDV isoliert werden. Auf die Problematik der Diagnose *mucosal disease* allein aufgrund klinischer Beobachtungen wird hingewiesen.

Von einem Rind mit zytopathogenem BVD-Virusisolat aus der Leukozytenfraktion stand durch Zufall ein nichtzytopathogenes BVD-Virusisolat aus der Leukozytenfraktion, entnommen etwa drei Monate zuvor, zur Verfügung. Mittels monoklonaler Antikörper konnte bei diesen beiden Isolaten eine hohe antigene Epitop-Homologie nachgewiesen werden. Von den anderen Rindern mit zp-BVD-Virus in ihren Untersuchungsproben standen keine Isolate aus vorhergehenden Untersuchungen zur Verfügung.

Die sichere Trennung von antigen epitop-homologen nzp- und zp-BVD-Viren aus einem Rind ist zur Zeit nicht möglich. Aus diesen Gründen konnten keine weitergehenden Aussagen über das natürliche Vorkommen von *matching pairs* gemacht werden.

Schepers, J. :

Bovine viral diarrhoea: Search for matching pairs of cytopathogenic and noncytopathogenic viral isolates from individual cattle and their analysis by means of monoclonal antibodies.

## 7. SUMMARY

Over a period of eight months 100 cattle were examined for BVD virusinfection by virological and serological investigations. Samples from the bloodserum, the buffy coat-fraction and the faeces were collected to isolate both, noncytopathogenic (ncp) and cytopathogenic (cp) BVD virus (BVDV).

The object of investigation was the cultural isolation of socalled matching pairs, pairs of ncp- and cp-BVDV isolated from the same animal.

The investigations were carried out on samples of cattle hospitalized into the clinic for cattle diseases at the Hanover Veterinary School displaying enteric, respiratoric and/or central-nervous symptoms or insufficient thriving. Only cattle with clinical suspicion of BVD virusinfection were chosen.

The isolation of BVDV was possible in 27 cases. The sera of four of these 27 cattle were shown to contain BVD virusneutralizing antibodies. Among the 73 cattle without isolation of BVDV 25 animals were free of BVD virusneutralizing antibodies.

Isolates of totally 17 cattle induced cytopathic alterations of the FCK-cellculture. The reason for the appearance of the cpe at different times during ten passages could only be considered.

Measurement of infectivity showed that cytopathogenic isolates reached their titer-maximum in a fewer quantity of passages than noncytopathogenic isolates.

Examination of the reactivity of the isolates with the monoclonal antibody BVD/C38 showed that reaction with this mAb is closely related to infection of cells with cytopathogenic BVDV. The monoclonal antibody BVD/C38 is considered not to be an absolute antigenic marker for cytopathogenicity, because tiny reaction of cells infected with noncytopathogenic

BVDV could also be demonstrated. This may be due to development of the epitope recognized by the BVD/C38 by cells infected with ncp-BVDV under undefined conditions. However, it was still possible to distinguish between cp- and ncp-BVDV by the number of stained cells.

Among the 100 examined cattle there were 27 which showed clinical symptoms of a mucosal disease. From only 22 of these BVDV could be isolated. It is referred to the problems of diagnosing mucosal disease exclusively based on clinical signs.

From one animal with cytopathogenic BVDV in the buffy coat-fraction fortuitous a noncytopathogenic BVDV, isolated also from the buffy coat-fraction three months before, was disposable. By means of monoclonal antibodies a close antigenic relationship between these two isolates was evident. Unfortunately, earlier samples from animals shown to be infected with cp-BVDV in the present study were not disposable. The definite distinction of cp- and ncp-BVDV obtained from one animal at the same time is not possible at present so that it also was impossible to make final statements about the natural occurrence of matching pairs at this time.