



BVD-Workshop im TLLV Bad Langensalza am 24. März 2010

BVD-Ohrstanzendiagnostik

*Grundlagen und bisherige Daten
aus Sachsen-Anhalt*

Wolfgang Gaede

Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt,
Fachbereich Veterinärmedizin, Stendal

Einführung

- In Sachsen-Anhalt wird seit 2004 ein staatliches BVD-Tilgungsverfahren auf der Basis einer Landesverordnung durchgeführt.
- Dabei wurden die anfänglichen Bestandsuntersuchungen mit der Pool-PCR und bei positiven Pools mit dem anschließenden Antigen-ELISA in Blutproben durchgeführt. Nach dem gleichen Prinzip werden Zutreteruntersuchungen bis in die Gegenwart vorgenommen.
- Mit diesem Verfahren wurde zum 31.12.2009 ein Stand von 96% BVDV-unverdächtiger Bestände erreicht (s. Vortrag Bauer-Gaede).
- Aus der bisherigen Bilanz lassen sich Vor- und Nachteile des bisherigen Verfahrens ableiten.

Vorteile des bisherigen Verfahrens

- Klares Konzept zur Untersuchung aller Zuchttiere.
- Minimale Kosten: Die niedrige PI-Prävalenz und die hohe Sensitivität der PCR ermöglichen preiswerte Pool-Untersuchungen.
- Dieses Verfahren hat in der Mehrzahl der Bestände die sichere Eliminierung aller PI gewährleistet (s. Vortrag A. Bauer).

Nachteile des bisherigen Verfahrens

- Untersuchungen in der **diagnostischen Lücke** ist mit der Pool-PCR nicht möglich.
- Dadurch greift die Unterbrechung der Infektketten in Problembeständen zu spät. Dadurch kann die Entstehung neuer BVD-Virämiker nicht effektiv verhindert werden.
- Durch das Verbringen sehr junger PI während der diagnostischen Lücke in andere Bestände (z. B. zur Mast...) wird die Infektion verbreitet!

Schlussfolgerung

Für eine zügige und effektive BVD-Eradikation muss die BVD-Virämikerdiagnostik möglichst bald nach der Geburt, d.h. in der „diagnostischen Lücke“ erfolgen.

Was ist die „diagnostische Lücke“ ?

Ursache:

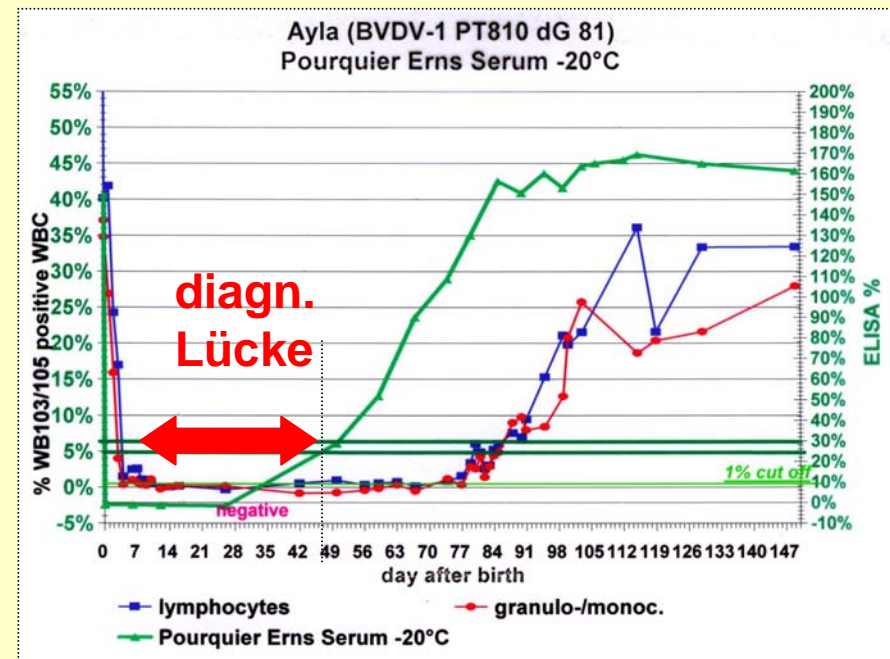
- Aufnahme kolostraler Antikörper von einer transient infizierten Mutter oder Mischkolostrum (notwendig bei virämischen Müttern).
- dadurch „Maskierung“ von BVDV-Virus und sinkende Zahl infizierter peripherer Leukozyten (weiße Blutkörperchen)

Folgen:

- PI sind mit klassischen Blut-Tests ca. vom 1.-90. Tag p.p. nicht nachweisbar **und tragen die Infektion weiter**

Beispiel (s. Abb.):

- „**diagnostische Lücke**“ in Antigen-ELISA und FACS (G. Wolf, LMU München)



Diagnostische Alternativen zur Vorverlagerung der Untersuchung in die *diagnostische Lücke*

- Blut-PCR (*Einzelblut*)
- Gewebe-Untersuchung (*Ohrstanze*) mit ELISA oder PCR

Lösungsansätze

1. Einzeltier-PCR mit Blutproben:

- Die sichere PI-Erkennung ist unabhängig von der Kolostrumaufnahme gewährleistet.
- Auch transiente Infektionen werden erfasst. Dies kann ein Nachteil aber auch ein Vorteil sein.
- Die Einzeltier-PCR ist teuer !
- Die Probenahme ist zwangsläufig an einen praktizierenden (Hof-)Tierarzt gebunden, so dass das BVD-Bekämpfungsverfahren unmittelbar veterinärmedizinisch begleitet wird.
- In Sachsen-Anhalt wurden in 2009 ca.18500 Untersuchungen bei Re-Infektionen durchgeführt. Dabei wurden mehr als 100 Virämiker festgestellt.

Lösungsansätze

2. Ohrstanzendiagnostik - Prinzip:

- BVDV ist in der Haut von PI nachweisbar
- Die Untersuchung von Biopsieproben erfolgt am einfachsten im Antigen-ELISA, ggf. in der PCR.
- Die Probenentnahme kann mit der Tierkennzeichnung erfolgen, wenn Ohrmarken mit integrierter Gewebeaufnahme verwendet werden.

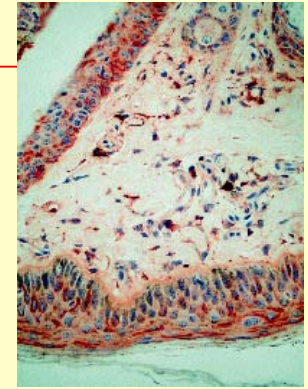


Foto: Dr. J.Saliki,
Oklahoma State University



Ohrmarkentypen



modifizierte Zange

BVD-Ohrstanzendiagnostik (Validierungsstudie 2004-2007)

Zielstellung:

- Methodenvergleich Antigen-ELISA mit In-House-Einzel-PCR

Vorbemerkungen:

- Ein solcher direkter Methodenvergleich setzt die Analyse ein und derselben Probe voraus !
- Dies ist bei der Ohrstanzendiagnostik praktisch nicht möglich:
- Entweder man nimmt wirklich dieselbe Gewebeprobe; dann kann nur das erste Testverfahren komplett (inklusive der adäquaten Probenvorbereitung) durchgeführt werden,
- oder man vergleicht komplette Verfahren, benötigt dann aber mehrere Stenzen pro Tier, d.h. man untersucht verschiedene Lokalisationen mit unterschiedlicher Blutfülle etc.

BVD-Ohrstanzendiagnostik (2004-2007)

Validierungsstudie in ST 2004-2007:

- Ergebnisse:

Probenzahl gesamt	5042	Ergebnis der Nachuntersuchungen:
übereinstimmend BVDV-negativ	4533	Nachuntersuchung negativ
ELISA und PCR verdächtig	33	
nur Ohr-ELISA positiv oder verdächtig	6	
nur Ohr-PCR positiv oder verdächtig	13	
übereinstimmend BVDV-negativ	424	ohne Nachuntersuchung
übereinstimmend BVDV-positiv	47	Nachuntersuchung <i>positiv</i>
nur Ohr-PCR positiv oder verdächtig	2	

Zusammenfassung der Validierungsstudie in ST 2004-2007:

- Die Ohrstanzdiagnostik ist zum sicheren PI-Nachweis geeignet
- Die Einzel-PCR hat gegenüber ELISA die höhere Sensitivität.

BVD-Ohrstanzendiagnostik (2004-2007)

Validierungsstudie in ST 2004-2007:

- Ergebnisse:

Leerquote:

0,23%



- Das damals verwendete System von Agrobiogen bot eine hohe Sicherheit der Probenahme.

Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Grundsätze:

- Erprobung von 3 TKZ inkl. Gewebeentnahmesystem vom Stall bis zum Labor
- Projektverantwortliche:
 - Landeskontrollverband und Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt (FB Veterinärmedizin in Stendal)
- Projektrahmen:
 - Beprobung von ca. 1500 Rindern in 6 Betrieben in ST
 - Zeitraum 01.10.2009 - 31.3.2010
 - danach Auswahl und Zulassung eines Probenentnahmesystems
 - Einsetzbarkeit für die Routine ca. ab 2. Jahreshälfte

Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Ohrstanzenprojekt 2009-2010:

- Erprobung von 3 TKZ inkl. Gewebsentnahmesystem vom Stall bis zum Labor

Verwendete Probenentnahmesysteme:

Caisley

Prionics / Hauptner

Allflex



Bewertung der Matrices für den PI-Nachweis in der diagnostischen Lücke

Matrix	Vorteile	Nachteile
Ohrstanze		
mit TKZ	eindeutige Zuordnung zum Tier, geringe zusätzliche Kosten bei der Probenahme	höherer Aufwand für Probenvorbereitung im Labor
ohne TKZ	BVDV-untersuchte Rinder sind leicht identifizierbar	
Blut / Plasma	Entnahme für die amtl. BVD- Bekämpfung unter tierärztlicher Kontrolle	höhere Entnahmekosten

Vorläufiges Fazit:

Die ideale Matrix / Verfahrensweise ist nicht eindeutig erkennbar.

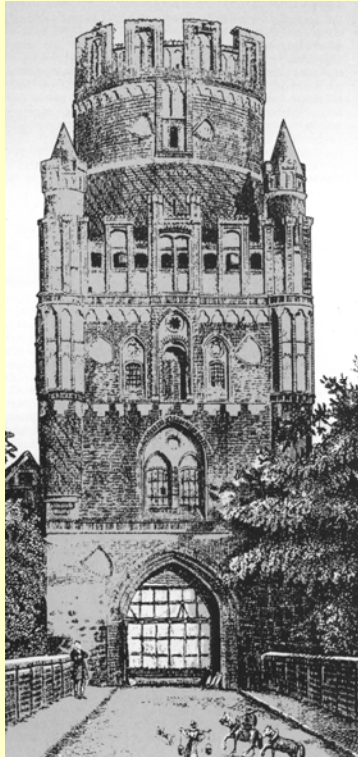
Bewertung der Testverfahren für den PI-Nachweis in der diagnostischen Lücke

Matrix	Test	Vorteile	Nachteile
Ohrstanze	ELISA	einfach durchführbar, relativ billig (aber teurer als Blut-ELISA)	bislang keine analyt. Kontrolle des Stanzerfolgs
	Einzel-PCR	Kann Kontrolle des Stanzerfolgs ermöglichen.	teuer
	Pool-PCR	Kosten etwa wie ELISA	keine Kontrolle des Stanzerfolgs
Blut	Einzel-PCR	Ermöglicht Abschätzung transienter Infektionen	teuer
	Pool-PCR	kostengünstig bei niedriger BVDV-Prävalenz	nicht sicher und nicht zugelassen

Vorläufiges Fazit:

Bei der Ohrstanzendiagnostik bleibt als nicht abschließend gelöstes Problem die analytische Kontrolle und Dokumentation des Stanzerfolgs, d.h. der analysierbaren Probe im Labor.

Herzlichen Dank für die Aufmerksamkeit



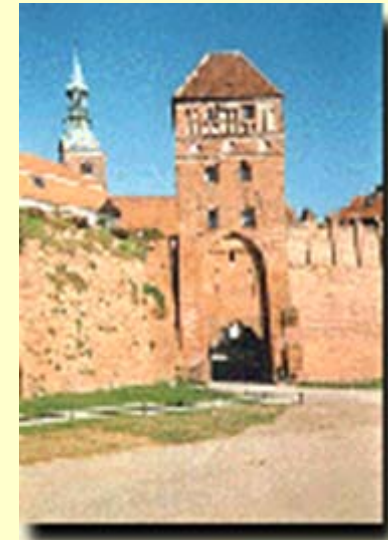
*Uenglinger Tor
Stendal*



*Beuster Tor
Seehausen*



*Salzwedeler Tor
Gardelegen*



*Roßfurt
Tangermünde*