



Ist Sachsen-Anhalt für das Inkrafttreten der BVD-Bundesverordnung ab 2011 gerüstet ?

Wolfgang Gaede*, Volker Herwig*, Almut Bauer* und
Ines Naumann**

* Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Fachbereich Veterinärmedizin, Stendal

**Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Sachsen-Anhalt e.V., Halle

Fachgespräch Tierseuchenbekämpfung und Tiergesundheit
am 05. Mai 2010 in Stendal

Inhalt

- Status quo der BVD-Tilgung in Sachsen-Anhalt
- **Was** erwartet uns **wann** mit der BVD-Bundesverordnung ?
- Verbesserte BVD-Tilgung durch geburtsnahe Diagnostik
- Erprobung und Validierung der Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt

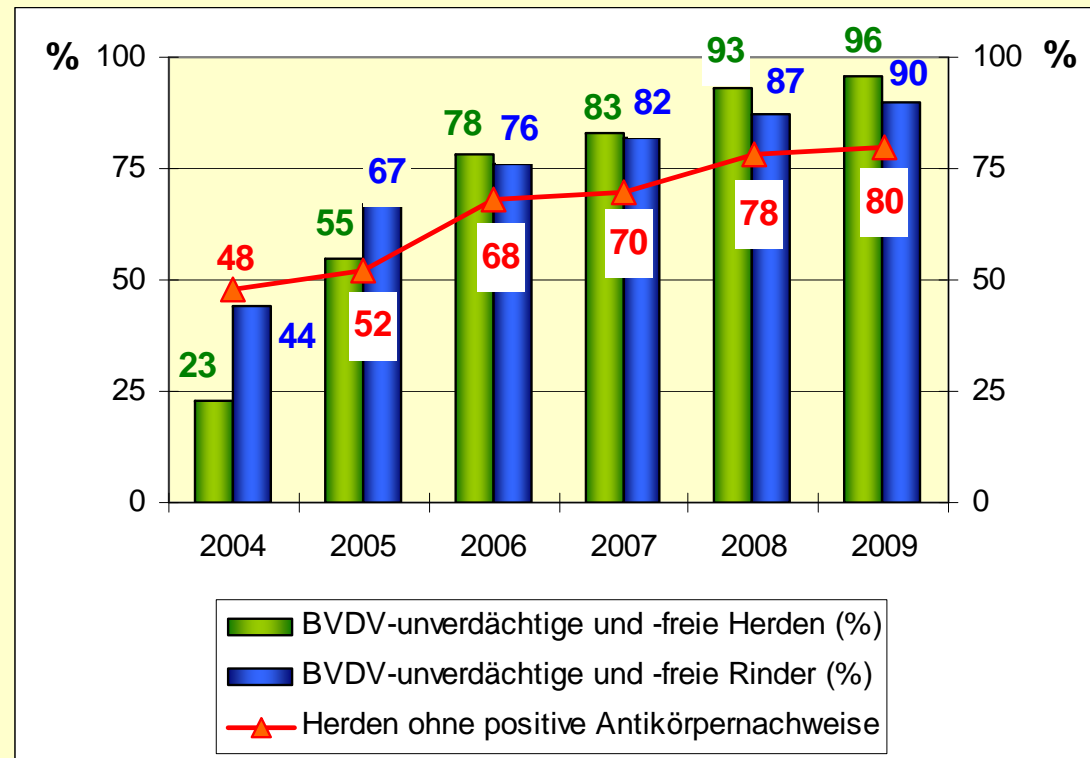
Status quo

- 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.
- Die folgenden Ergebnisse wurden erreicht:

Entwicklung des amtlichen BVD-Status und Ergebnisse freiwilliger serologischer Untersuchungen

Ergebnisse zum 31.12.2009:

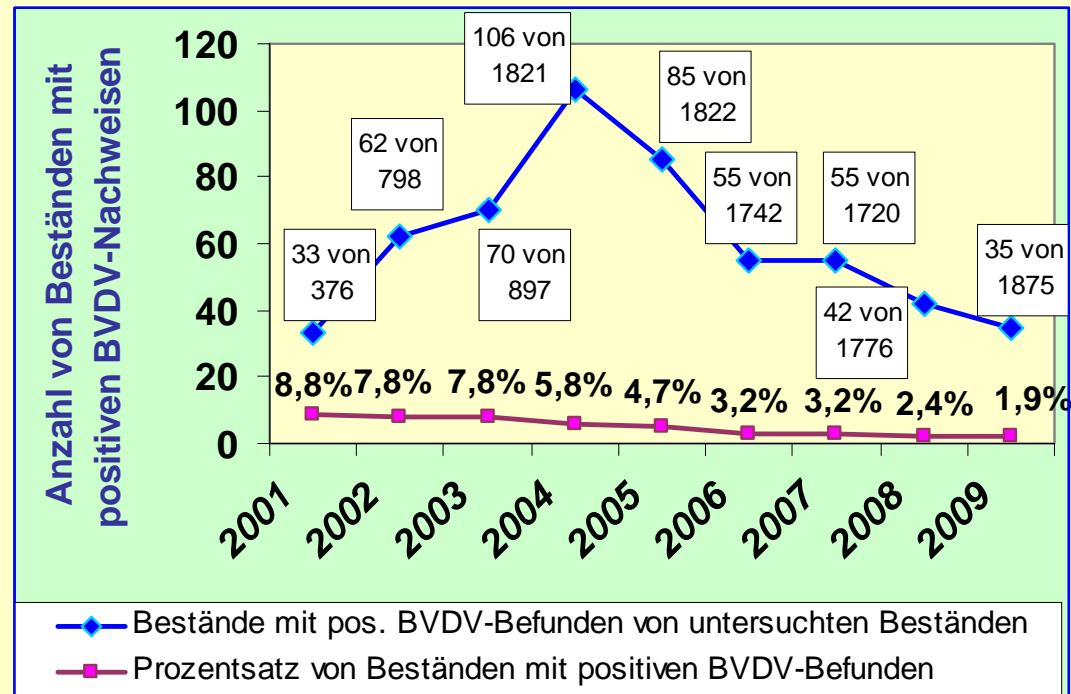
1. Amtlich anerkannte BVDV-unverdächtige und BVD-freie Bestände: **96 % !**
2. BVD-unverdächtige bzw. -freie Rinder: **90% !**
3. Bestände ohne positive serologische Ergebnisse: **80 % !**



Entwicklung der Untersuchungsergebnisse im LAV Stendal

Ergebnisse zum 31.12.2009:

1. Sachsen-Anhalt in über ´n Berg !
2. **Aber:** Im 6. Jahr der staatlichen BVD-Tilgungspflicht wurde immer noch in 35 Beständen (= 1,9%) das BVD-Virus festgestellt.



Ursachen für schleppende BVD-Tilgung

- Verspätete Diagnostik und zögerliche Entfernung von PI halten Bestandsinfektion aufrecht.
- Reinfektionen, insbesondere durch die Möglichkeit zum Verbringen aufgrund des BVDV-unverdächtigen Bestandsstatus:
 - BVD-Virämiker werden nicht oder zu spät erkannt.
 - Der konkrete BVDV-unverdächtige **Bestandsstatus ist nicht valide:**
 - unzureichende Kontrolle der Einhaltung der Untersuchungspflicht



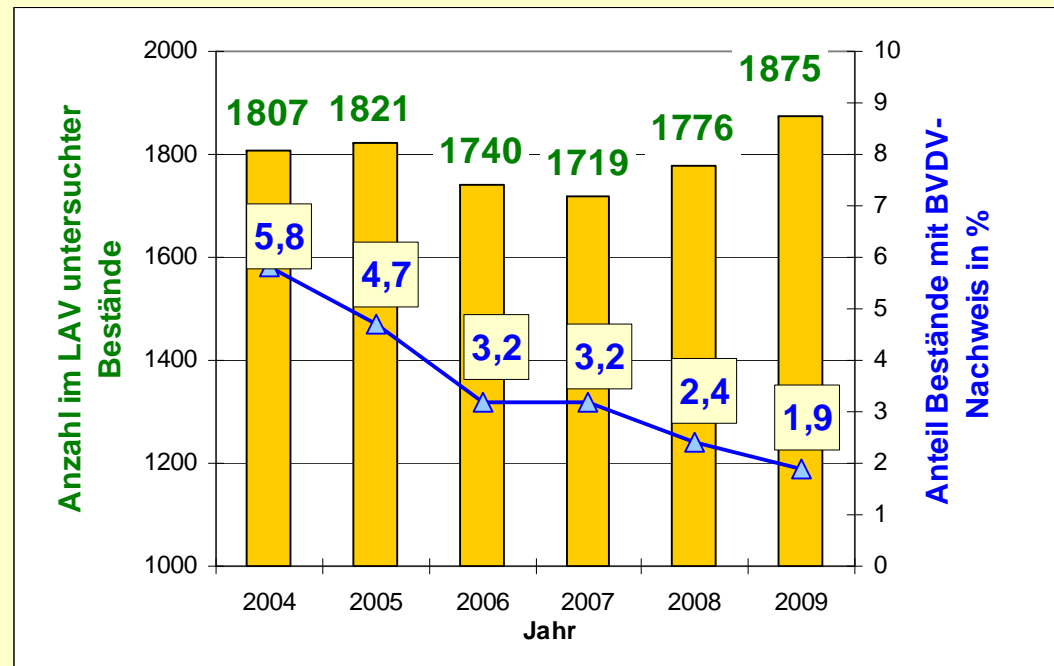
Unzureichende (Kontrolle der) Untersuchungsichte

Unvollständigkeit der Untersuchungen 2008

trotz des Wiederanstiegs der Untersuchungsichte ab 2008

Untersuchungszahl 2009:
103.510

2008	Gesamtzahl lt. Programm	davon kontrolliert	Erfassungsquote
Rinder	100.443	93.182	92,8



Ursachen für schleppende BVD-Tilgung

- Verspätete Diagnostik und zögerliche Entfernung von PI halten Bestandsinfektion aufrecht.
- Reinfektionen, insbesondere durch die Möglichkeit zum Verbringen aufgrund des BVDV-unverdächtigen Bestandsstatus:
 - BVD-Virämiker werden nicht oder zu spät erkannt.
 - Der konkrete BVDV-unverdächtige **Bestandsstatus ist nicht valide:**
 - unzureichende Kontrolle der Einhaltung der Untersuchungspflicht
 - Attestierungen des Bestandsstatus trotz fehlender Untersuchungen oder Vorliegen von Indikatoren für eine Infektion, z.B. positives Jungtierfenster
 - Unklarheiten der Bewertung des Bestandsstatus bei
 - Zukauf von Trojanern
 - BVD-Klinik: Aborte
 - Bewertung von transienten Infektionen oder Serokonversionen
 - unzureichende epidemiologische Nachforschungen:
 - Nachverfolgung von Müttern bzw. Nachkommen der Virämiker
 - Kommunikation zwischen den Kreisen beim Auftreten von PI

Was erwartet uns wann mit der BVD-Bundesverordnung ???

Verordnungstext vom 11.12.2008

Definition des persistent BVDV-infizierten Rindes (§1 Nr.3):

... positiv auf BVDV untersucht und

- a) innerhalb von längstens 60 Tagen positiv nachuntersucht,
- b) Wiederholungsuntersuchung ist unterblieben oder
- c) MD-Erkrankung,

sowie Nachkommen eines Rindes nach a bis c.

Schutzmaßnahmen (§5):

- (1) unverzügliche Tötung oder direkte Verbringung zum Schlachten.
- (2) Verpflichtung zu epidemiologischen Nachforschungen und Untersuchung von Mutter und Nachkommen durch den jeweiligen Besitzer

Was erwartet uns wann mit der BVD-Bundesverordnung ???

Vorbemerkung:

- Der Verordnungstext vom 11.12.2008 erhält eine Neufassung mit Klarstellungen und substantiellen Änderungen !

Eckpunkte:

- Die Untersuchungspflicht wird auf alle Rinder erweitert.
- Das Verbringen ist nur mit negativem BVDV-Befund möglich.

Zu erwartenden Konsequenzen:

- Die Untersuchung (aller) Rinder erfolgt im geburtsnahen Zeitraum, obwohl die VO eine Frist von 6 Monaten p.p. lässt, um die Untersuchungen durchzuführen.
- Damit wird die Ohrstanzendiagnostik kurzfristig zur Methode der Wahl !

Was erwartet uns wann mit der BVD-Bundesverordnung ???

Anerkennung des BVDV-unverdächtigen Bestandsstatus durch die BVD-Bundes-VO:

- mündlich zugesichert
- Lt. VO werden bisherige Untersuchungsergebnisse anerkannt.
- Der Status wird nicht anerkannt, da (männliche) Kälber zur Stallmast nicht untersucht worden sind.

Vorschlag des LAV:

- „Übergangsregelung..., dass ein am 31.12.2010 bestehender amtlicher BVDV-unverdächtiger Status, der die Untersuchung der männlichen Kälber noch nicht erforderte, längstens 12 Monate aufrecht erhalten bleibt, sofern ab dem 01.01.2011 diese Untersuchungen lückenlos nachgewiesen werden.“

Ist die BVD-Bundesverordnung für Sachsen-Anhalt vorteilhaft ?

Antwortmöglichkeiten:

Nein, aber: Die Vorteile aus dem BVDV-unverdächtigen Bestandsstatus verschwinden. Das ist aber bundesweit der Fall !

Aber sicher !

- ❑ Die stringenteren Untersuchungspflichten (*für alle Rinder*) und Verbringungsregelungen (*nur mit BVDV-negativem Untersuchungsergebnis*) lassen die schnellere Überwindung der bei uns aufgetretenen Probleme erhoffen.
- ❑ Die Arbeit der letzten Jahre war nicht umsonst. BVD hat als Störgröße für die Tiergesundheit in den letzten Jahren in Sachsen-Anhalt kaum noch eine Rolle gespielt, und das für 1,-€ Untersuchungskosten plus Probenahme, einmalig im Leben eines Rindes.

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.

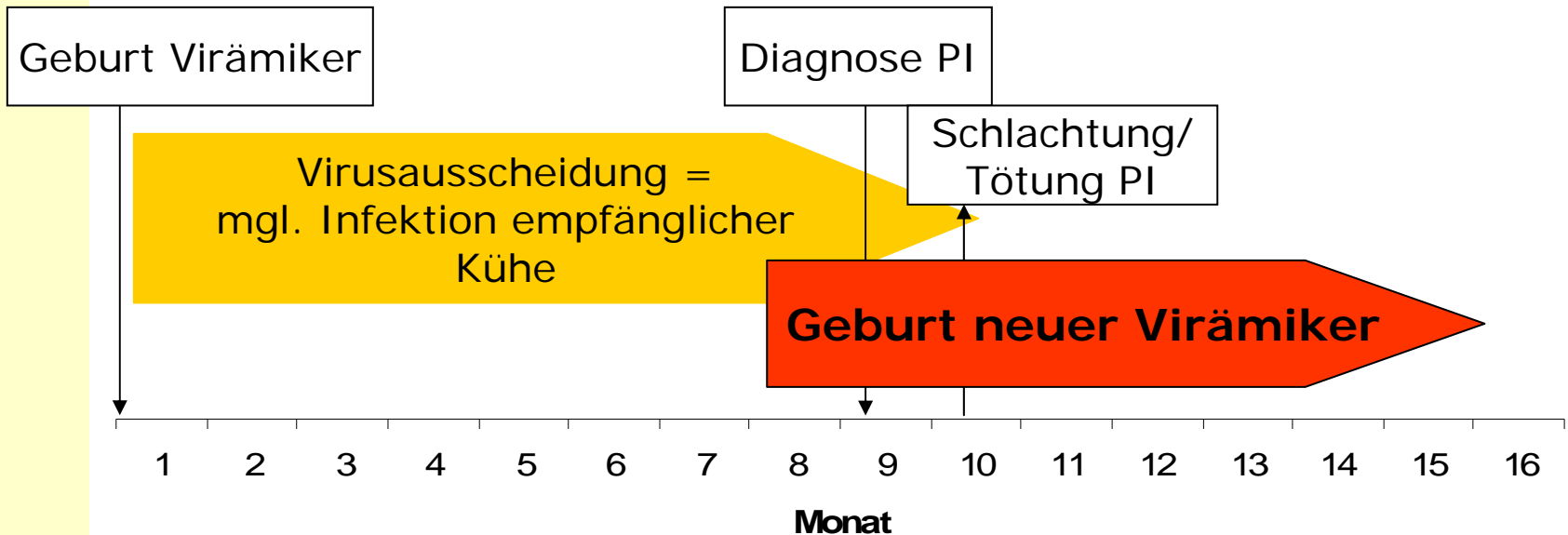
Nachteile des bisherigen Verfahrens

- Untersuchungen in der **diagnostischen Lücke** ist mit der Pool-PCR nicht möglich.
- Dadurch greift die **Unterbrechung der Infektketten in Problembeständen** zu spät. Infolgedessen 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!



Verbesserte BVD-Tilgung durch geburtsnahe Virämiker-Diagnostik

Risikopotentiale	Transiente Infektion <i>(non-PI)</i>	Persistente Infektion <i>(PI)</i>
BVDV-infizierter Rinder	<i>(non-PI)</i>	<i>(PI)</i>
Höhe der Virusausscheidung (<i>M.Beer, FLI</i>)	10.000 Viren / ml Sekret	100.000.000 Viren / ml Sekret
Dauer der Virusausscheidung	kurzzeitig	permanent, lebenslang



Was ist die „diagnostische Lücke“ ?

Ursache:

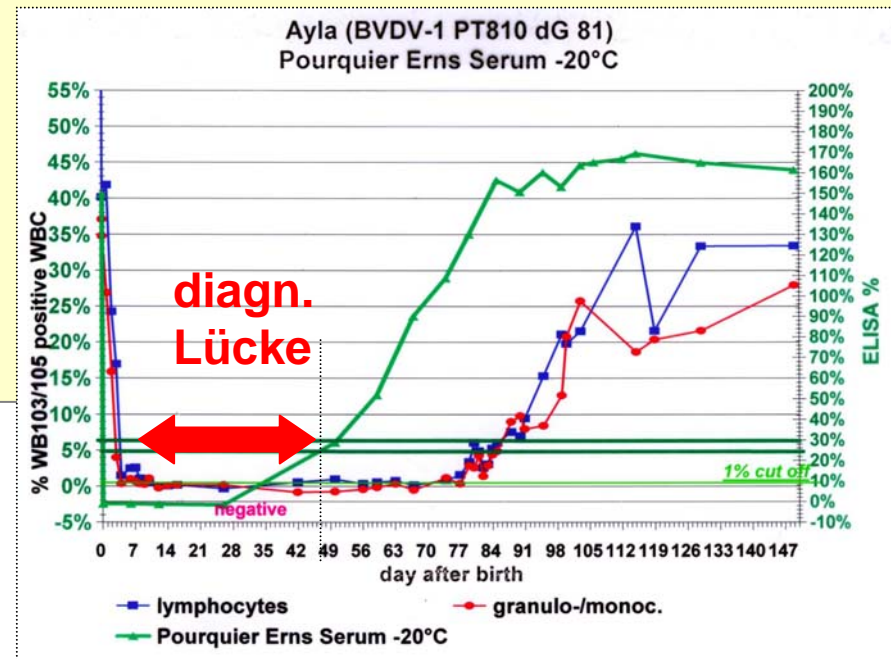
- Aufnahme kolostraler Antikörper von einer transient infizierten Mutter oder Mischkolostrum (notwendig bei virämischen Müttern).
- dadurch „Maskierung“ von BVDV-Virus und sinkende Zahl infizierter peripherer Leukozyten (weiße Blutkörperchen)

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

Lösungsansätze

2. Ohrstanzendiagnostik - Prinzip:

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

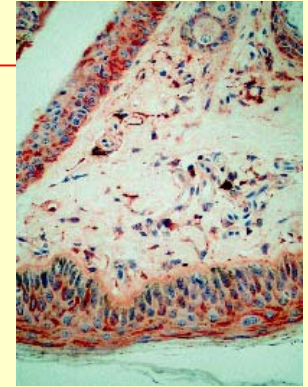


Foto: Dr. J.Saliki,
Oklahoma State University



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 positiv
→ 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.

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, daher höhere Untersuchungskosten
ohne TKZ	BVDV-untersuchte Rinder sind leicht identifizierbar	
Blut / Plasma	Entnahme für die aml. BVD- Bekämpfung unter tierärztlicher Kontrolle	höhere Entnahmekosten

Vorläufiges Fazit:

Die ideale Matrix / Verfahrensweise war nicht eindeutig erkennbar.
Zusätzliche Stenzen wird es aber nicht geben.

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 niedriger als ELISA	keine analyt. Kontrolle des Stanzerfolgs
Blut	Einzel-PCR	ermöglicht Abschätzung transienter Infektionen	teuer
	Pool-PCR	kostengünstig bei niedriger BVDV-Prävalenz	in diagn. Lücke 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 Analysierbarkeit der Probe im Labor.

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

Grundsätze und Verfahrensweise:

- Ziel: 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
- BVDV-Diagnostik:
 - Sichtkontrolle auf vorhandenes Gewebe
 - maschinelles Einscannen der Tiernummer und Öffnen des Gewebecontainers bzw. Entnahme des Gewebes
 - Gewebe - Lyse (*ohne Nukleinsäure-Isolierung*)
 - BVDV-Nachweis mit 2 zugelassenen PCR-Kits für Gewebepools

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

Verwendete Gewebeohrmarken:

Caisley

Hauptner

Allflex



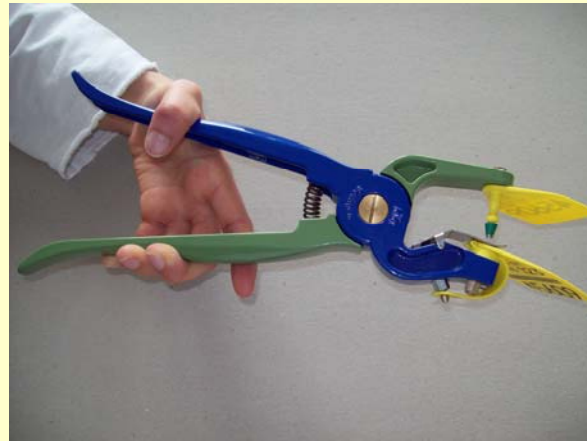
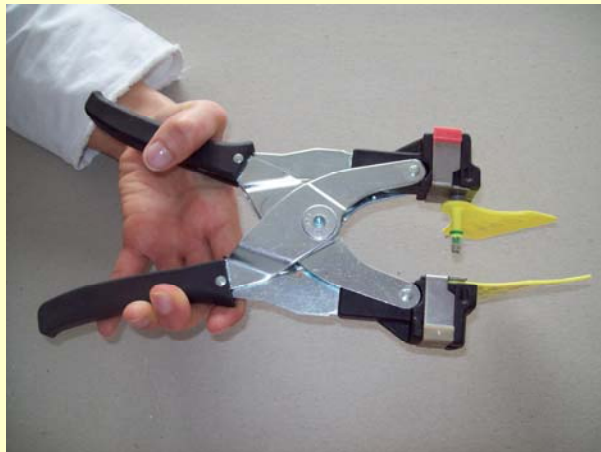
Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Verwendete Zangen:

Caisley

Hauptner

Allflex



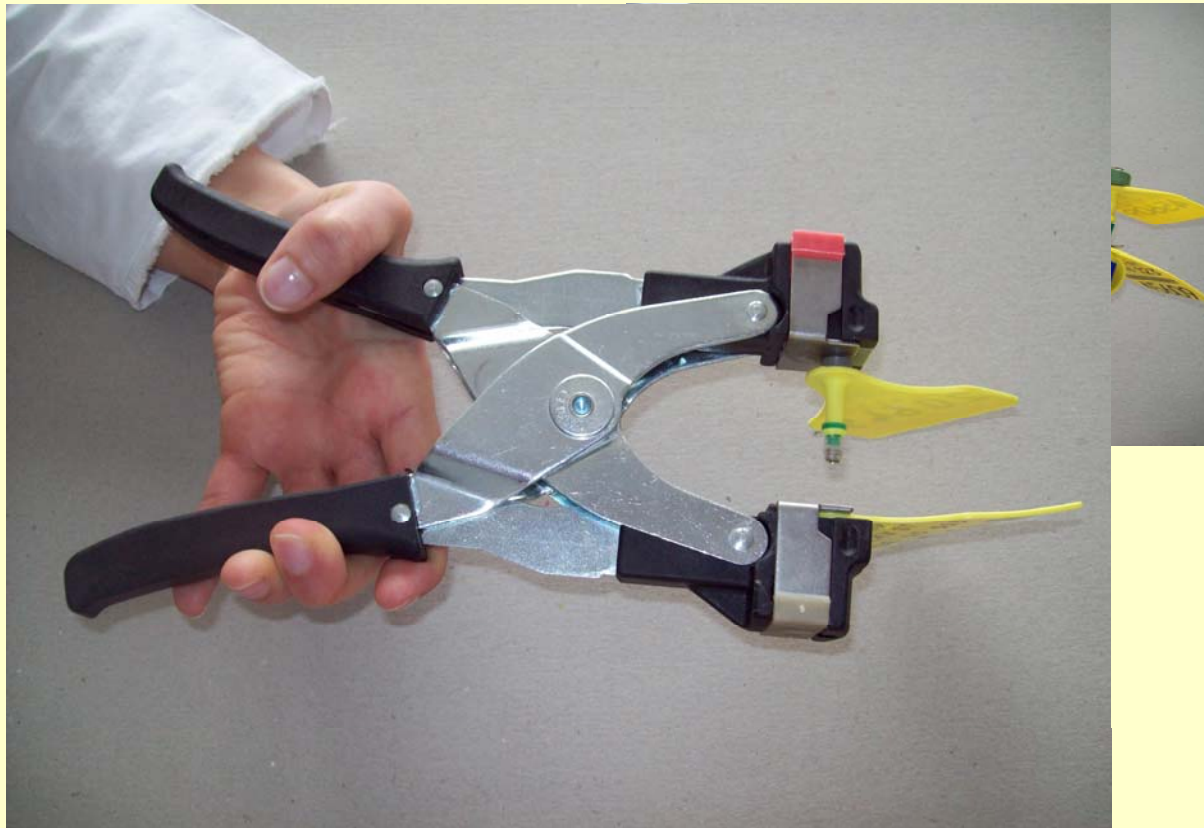
Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Verwendete Zangen:

Caisley

Hauptner

Allflex



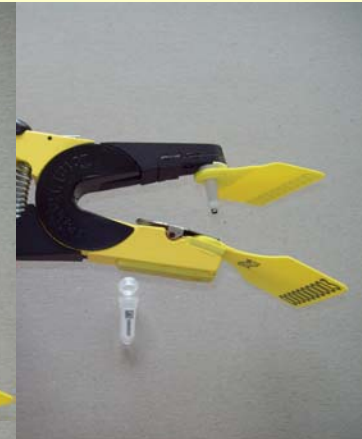
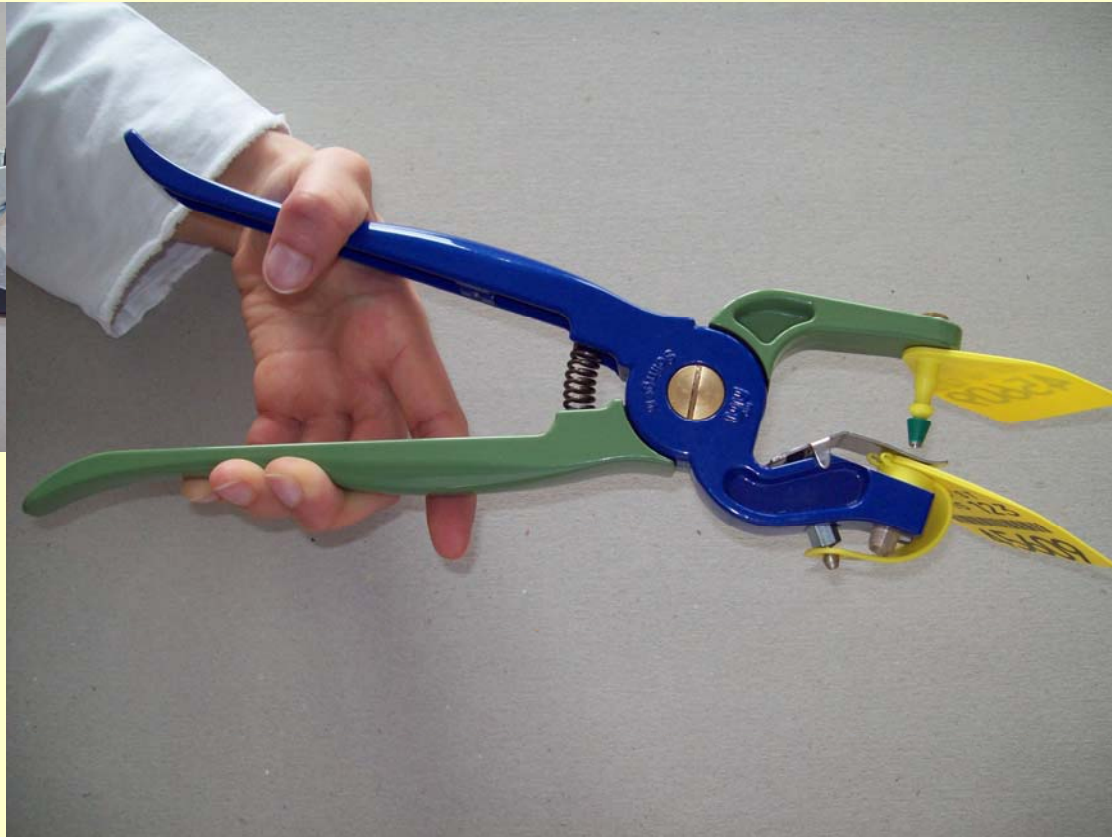
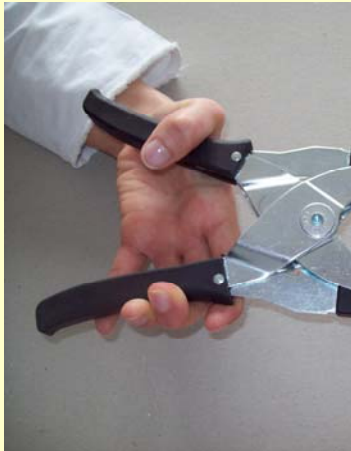
Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Verwendete Zangen:

Caisley

Hauptner

Allflex



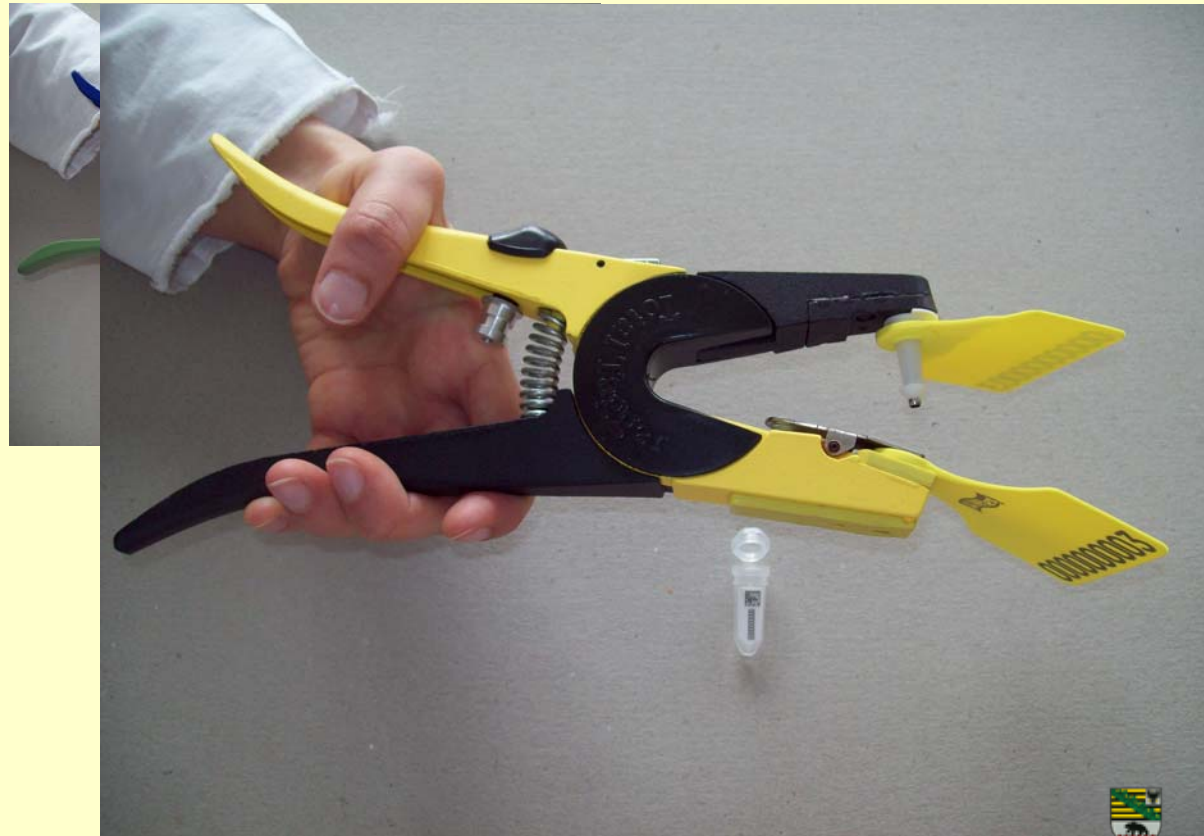
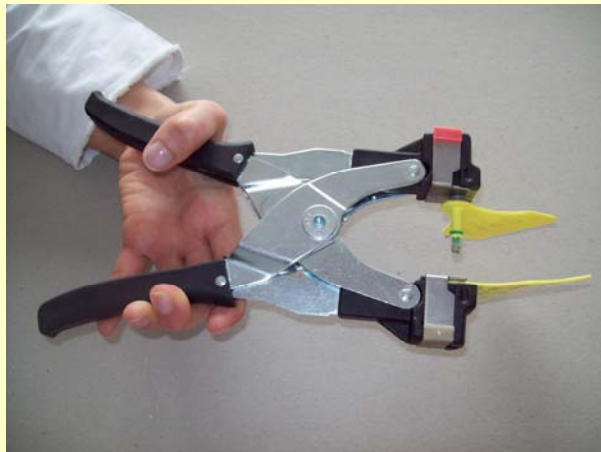
Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Verwendete Zangen:

Caisley

Hauptner

Allflex



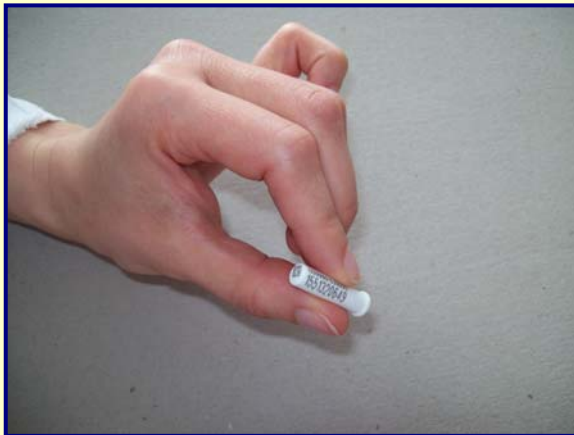
Studie zur BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt (2009/2010)

Gewebecontainer:

Caisley

Hauptner

Allflex



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

Laborausstattung:

Caisley



Hauptner



Allflex



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

Ergebnisse:

- Bei den Ohrmarken mit Gewebecontainer bestehen erhebliche Unterschiede hinsichtlich:
 - Anwenderfreundlichkeit (Einlegen der Ohrmarke in die Zange, Kraftaufwand beim Einziehen...)
 - Verlustrisiko im Stall
 - Leerquote 0,4 – 1,6%
 - Handhabbarkeit im Labor (Automatisierbarkeit, Arbeitszeitaufwand, Störanfälligkeit der Geräte)
- Der Nachweis von BVD-Virus mit den zugelassenen PCR-Kits und der dazu gehörigen Gewebe-Lyse verlief noch nicht optimal. Weitere Test werden gegenwärtig durchgeführt.

BVD-Ohrstanzendiagnostik in Sachsen-Anhalt

Wie geht es nach der Studie weiter ?

- Der Abschlussbericht wurde dem MLU zum Ende des letzten Monats übergeben.
- Auf dieser Grundlage wird kurzfristig über die in Sachsen-Anhalt einzusetzende Gewebeohrmarke entschieden.
- Ziel ist die Bereitstellung in der 2. Jahreshälfte.

Was muss noch gelöst bzw. geregelt werden ?

- Untersuchungsantrag (Modifikation ohne Tiernummern?)
- Probentransport (auch mit der Post?)
- Entscheidung über die diagnostische Methode(n)
- Kauf/Leasing der Laborausrüstung
- Anpassung LIMS (Labor-EDV)
- Befundübermittlung (an HIT, VLÜA)

Ist Sachsen-Anhalt für das Inkrafttreten der BVD-Bundesverordnung ab 2011 gerüstet ?

Antwort:

- ❑ Noch nicht ganz.
- ❑ Die sich aus der Verordnung ergebenden Bedingungen und Anforderungen sowie Lösungswege werden erst jetzt klarer.
- ❑ Die notwendigen Vorarbeiten insbesondere für die Ohrstanzendiagnostik sind gemacht. Weitergehende Schritte sind eingeleitet.
- ❑ Das LAV will ab dem Spätsommer mit der Einführung der Ohrstanzendiagnostik beginnen



Herzlichen Dank an die vielen Beteiligten, die uns kräftig bei den Projekten und regelmäßig mit Rat und Tat unterstützt haben !



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !