

9. Stendaler Symposium – 6. bis 8. Mai 2015 Stendal

Einfluss eines inaktiven und eines Lebendimpfstoffs auf Höhe und Stabilität des BVDV-Antikörpertiters sowie den Schutz vor fetaler Infektion – eine Feldstudie

Linder M¹, Bernau J¹, Denzin N¹, Gaede W¹, Schirrmeier H², Haas L³, Oßwald FW⁴, Friedrichs H⁵

¹ Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Stendal

² Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Insel Riems

³ Institut für Virologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

⁴ Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt Altmarkkreis Salzwedel, Salzwedel

⁵ Tierarztpraxis Hermann Friedrichs, Mieste

Dr. Miriam Linder, Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Fachbereich 4 Stendal
Tierseuchenbekämpfungsdienst, Tierschutzdienst, Task-Force Tierseuchenbekämpfung

Gliederung

1. Einleitung
2. Betriebsstruktur und Fallbericht
3. Material und Methoden
4. Ergebnisse
5. Schlussfolgerungen

Einleitung

- wichtige Bekämpfungsmaßnahmen bei BVD-Ausbruch
 - Entfernung PI-Tiere
 - Bestandsimpfung mit dem Ziel: Verhinderung Entstehung neuer PI-Tiere (fetaler Schutz)

Einleitung

wie erreicht Impfung einen fetalen Schutz?

- Bildung von Antikörpern, die frei zirkulierende Viren neutralisieren (humorale Immunität)
- Abtötung infizierter Zellen durch Bildung zytotoxischer T-Lymphozyten (zelluläre Immunität)³
- Ausbildung zelluläre Immunität nur, wenn sich Virus im Tier vermehrt^{3,10}
 - Feldvirusinfektion
 - Lebendvakzine

Einleitung

Beurteilung des durch Impfung erreichten fetalen Schutzes

- **direkt** durch Challenge-Versuch nach Monografien der europäischen Zulassungsbehörde (European Pharmacopeia)⁹
 - Entstehung von PI-Tieren wird untersucht
- **indirekt** : Untersuchung der Ausprägung der humoralen Immunität durch Messung des Antikörper-Titers im Serum-Neutralisationstest
- die Titerhöhe korreliert gut mit Reduktion der zellassozierten Virämie und der fetalen Infektion¹³
- 100%iger fetaler Schutz kann keine Impfung garantieren^{2,3, 9,10}
 - Hauptgrund hohe antigene Vielvalt^{1,6,10}
- ein ca. 90%iger fetaler Schutz kann bei einem Grenztiter ab 200 ND₅₀ gegen 100 KID₅₀ gegen einen zum Feldvirus homologen Stamm erwartet werden¹⁰

Betriebsstruktur




- Mutterkuhbestand mit ca. 1500 gemeldeten Tieren
- BVD-unverdächtig seit 2003, regelmäßige JT-Fenstern negativ

Betriebsstruktur

Schema der saisonalen Abkalbung

Nov	Dez	Jan	Feb	Mrz	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	Mrz	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt
Stall						Weide						Stall						Weide					
						Abkalbung		Belegung										Abkalbung		Belegung			

Fallbericht

					
Zukauf PI		Diagnose PI		Inakt. GI1	Inakt. GI2
Nov	Dez	Jan	Feb	Mrz	Apr
2010					
Stall 10/11					

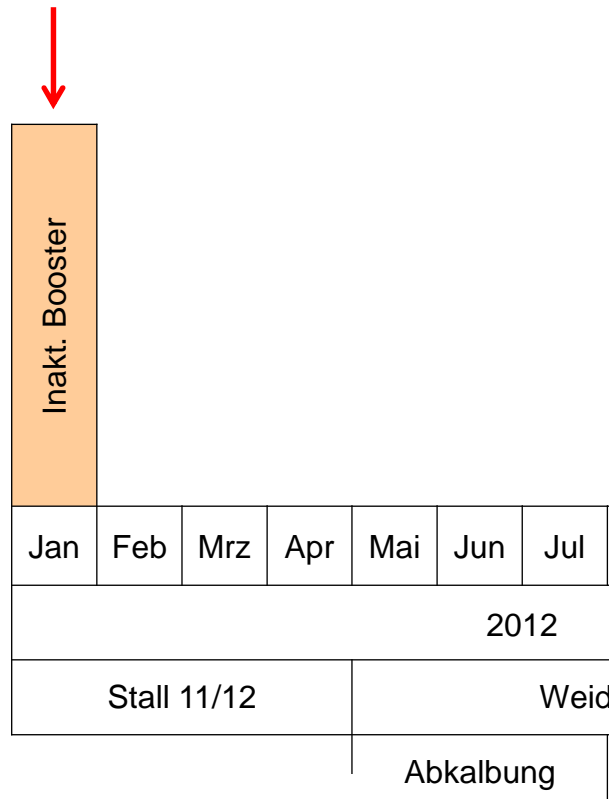
- versehentlicher Zukauf PI-Tier Herbst 2010
- Diagnose im Januar 2011 bei Bestandsblutung BHV1
- stand den Winter über in einem Stall mit ca. 200 frühtragenden Kühen
- Bestandsimpfung mit Inaktivatvakzine (Zulassung fetaler Schutz)

Fallbericht

- in Abkalbesaison 2011: **122 PI-Tiere**, alle von Kühen, die im Stall mit PI-Tier zusammenstanden

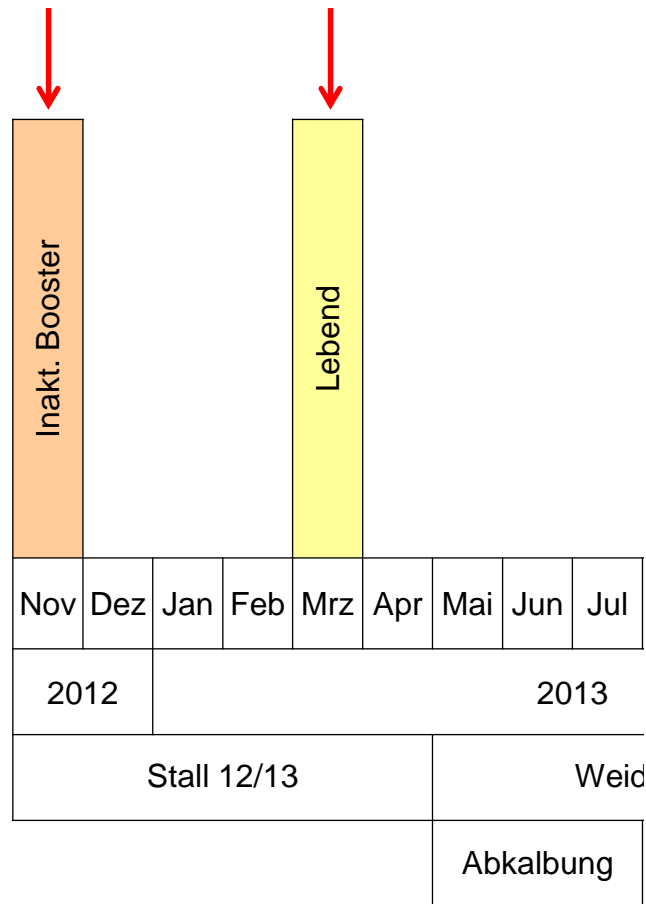
Zukauf PI		Diagnose PI		Inakt. GI1		Inakt. GI2								<ul style="list-style-type: none">in Abkalbesaison
Nov	Dez	Jan	Feb	Mrz	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez	Kühen, die im S
2010		2011												
Stall 10/11						Weide 11								
						Abkalbung		Belegung						
						122 PI-Tiere								

Fallbericht



- Boosterung Januar 2012
- in Abkalbesaison 2012: immer noch zahlreiche PI-Tiere
- daher Umstellung des Impfschemas und Konzeption der Studie

Fallbericht



Umstellung Impfschema

- vorzeitige Boosterung November 2012
- Lebendimpfung März 2013 (hochtragende Tiere kurz vor Weideaustrieb)

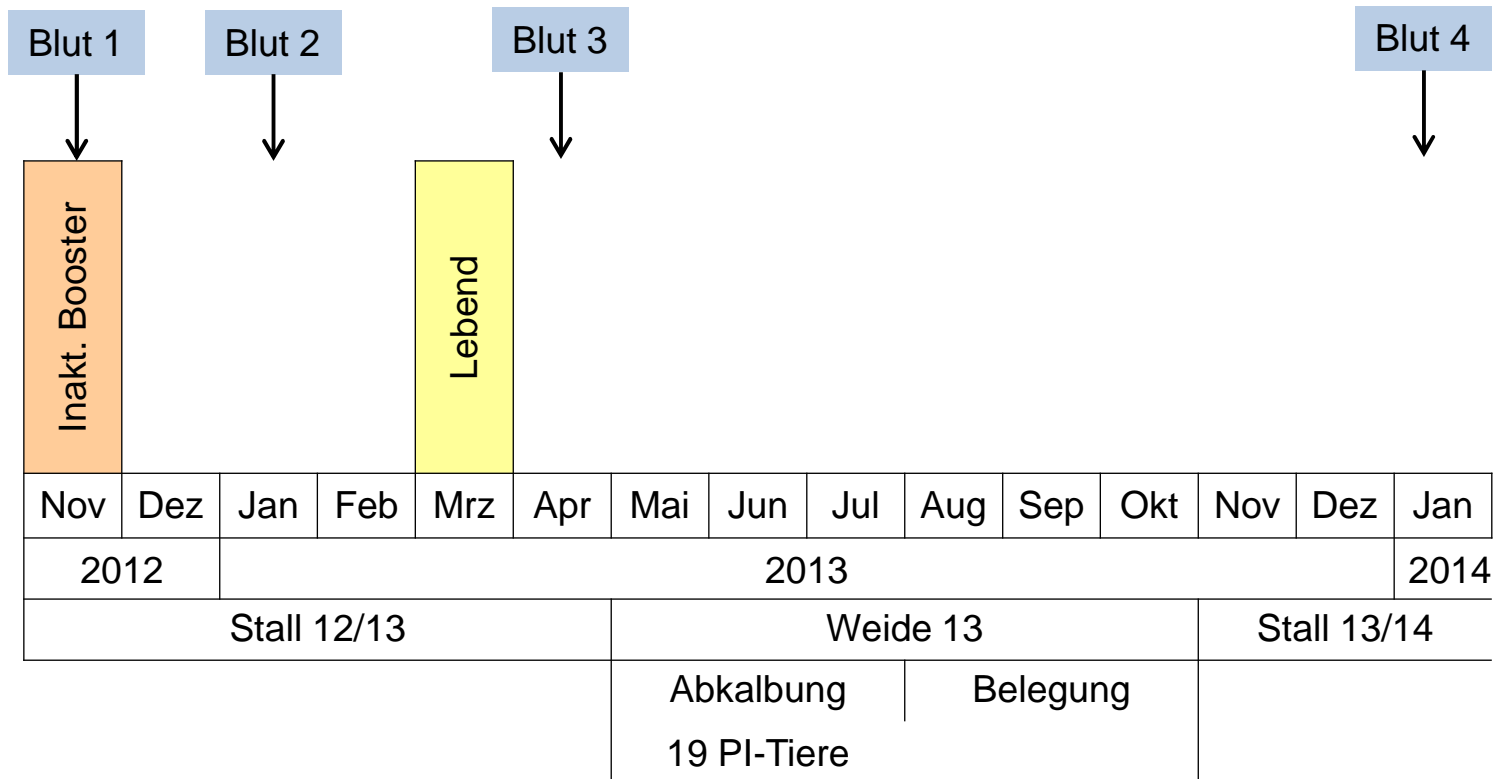
Material und Methoden

Auswahlkriterien der Studientiere

- Negativ-Gruppe (NEG); 30 Tiere
 - niemals Geburt eines PI-Tieres
 - standen nur in Ställen, in denen sich keine PI-Tieren befanden
 - standen nur auf Weiden, auf denen keine oder max. zwei PI-Tiere geboren wurden
- Feldvirus-Gruppe (FELD); 36 Tiere
 - Tiere, die 2011 oder 2012 ein PI-Tier geboren hatten
- alle Studientiere im Impfschema des Bestandes

Material und Methoden

Zeitpunkte der Blutprobennahme bei Studientieren



Material und Methoden

Laboruntersuchungen

- Virustypisierung (FLI, Insel Riems)
- Antikörper-Untersuchungen im SNT (LAV)
 - in Anlehnung an amtliche Methodensammlung gegen **Feldisolat 4474 (Typ 1b)** und **Referenzstamm NADL (Typ 1a)**

Material und Methoden

Definitionen

- ein Tier galt als geschützt im Sinne des fetalen Schutzes, wenn der SN-Titer über 200 ND₅₀ gegen 100 KID₅₀ lag¹⁰

Statistische Analyse

- McNemar's Chi-Quadrattest
- Signifikanzgrenze $p < 0,05$

Ergebnisse - Virustypisierung

- insgesamt 11 Virus-Isolate molekular charakterisiert
 - alle Typen hochgradig identisch
 - sind auf das erste PI-Tier (Zukauf aus 2010) zurückzuführen
 - gehören zum Typ 1b
-
- **BVD-Testviren im SNT:** Feldstamm 1b, Referenzstamm 1a
 - **Impfstoffe:** beide auf Grundlage von BVDV Typ 1a

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30								
	NADL	30								

Januar 2012:
letzte
Boosterung
Inaktivat-
Impfstoff

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3						
	NADL	30	0	0,0						

zehn Monate
nach letzter
Boosterung
Inaktivat

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3						
	NADL	30	0	0,0						

zehn Monate
nach letzter
Boosterung
Inaktivat

erneute
Boosterung
Inaktivat

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7				
	NADL	30	0	0,0	5	16,7				

zwei Monate
nach letzter
Boosterung
Inaktivat

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3 ^a	5	16,7 ^a				
	NADL	30	0	0,0 ^b	5	16,7 ^b				

- zehn Monate nach Boosterung mit Inaktivat-Impfstoff haben sehr wenige Tiere einen schützenden Titer
- zwei Monate nach erneuter Boosterung kein signifikanter Anstieg des Anteils geschützter Tiere

zwei Monate
nach letzter
Boosterung
Inaktivat

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3 ^a	5	16,7 ^a				
	NADL	30	0	0,0 ^b	5	16,7 ^b				

März 2013:
erstmalige
Lebendimpfung

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7	17	56,7		
	NADL	30	0	0,0	5	16,7	26	86,7		

ein Monat nach
erstmaliger
Lebendimpfung

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7 ^a	17	56,7 ^b		
	NADL	30	0	0,0	5	16,7 ^a	26	86,7 ^b		

- durch Lebendimpfung stieg der Anteil geschützter Tiere signifikant an

ein Monat nach
erstmaliger
Lebendimpfung

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7 ^a	17	56,7 ^b	18	60,0
	NADL	30	0	0,0	5	16,7 ^a	26	86,7 ^b	18	60,0

zehn Monate
nach
erstmaliger
Lebendimpfung

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7 ^a	17	56,7 ^b	18	60,0 ^b
	NADL	30	0	0,0	5	16,7 ^a	26	86,7 ^b	18	60,0 ^c

- nach Lebendimpfung konnten über einen Zeitraum von zehn Monaten ...
 - signifikant viele Tiere ihren Schutz-Titer gegen das **Feldisolat** halten
 - signifikant viele Tiere ihren Schutz-Titer gegen den **Referenzstamm nicht** halten

zehn Monate
nach
erstmaliger
Lebendimpfung

Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7	17	56,7	18	60,0
	NADL	30	0	0,0	5	16,7	26	86,7	18	60,0
FELD	4474	36	35	97,2	36	100,0	35	97,2	36	100,0
	NADL	36	21	58,3	34	94,4	34	94,4	35	97,2

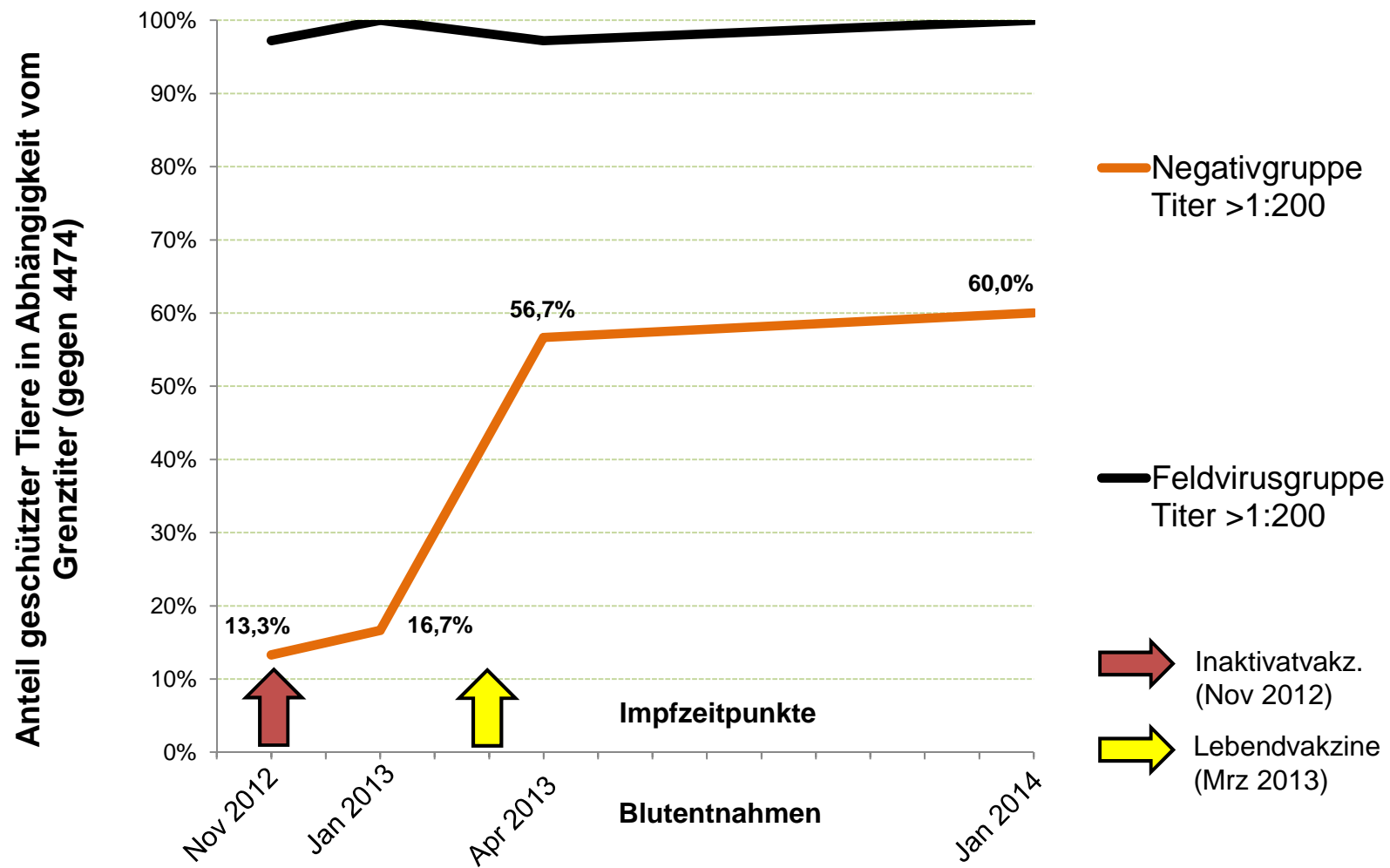
Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7	17	56,7	18	60,0 ^a
	NADL	30	0	0,0	5	16,7	26	86,7	18	60,0 ^c
FELD	4474	<ul style="list-style-type: none"> nach Lebendimpfung konnten über einen Zeitraum von zehn Monaten signifikant mehr solche Tiere ihren schützenden Titer halten, die bereits einmal Kontakt mit Feldvirus hatten, als solche Tiere, die nur geimpft worden waren. 							36	100,0 ^b
	NADL								35	97,2 ^d

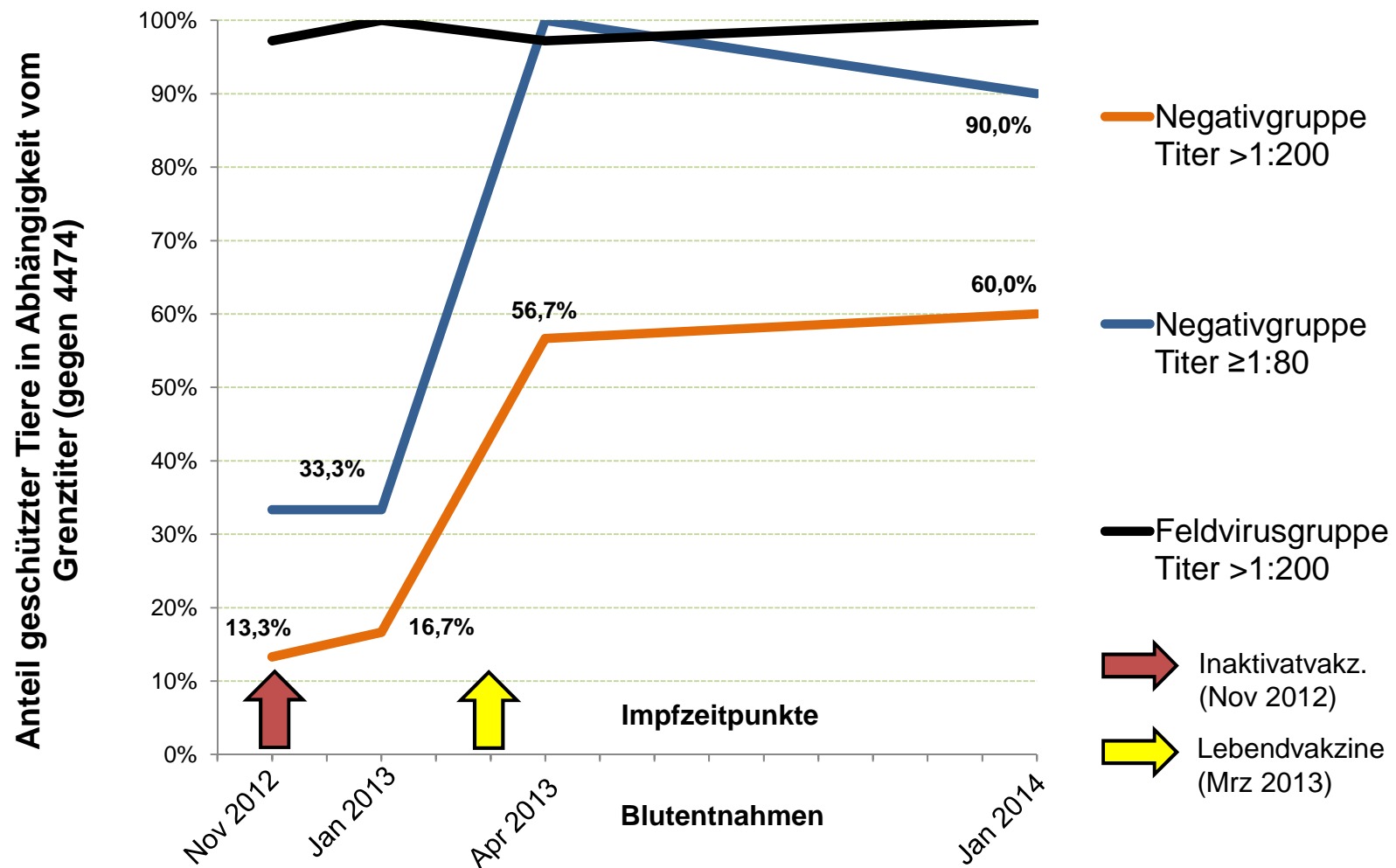
Ergebnisse – SNT

Gruppe	Test-virus	Tiere	Tiere mit Titer >200							
		(gesamt)	Nov 12		Jan 13		Apr 13		Jan 14	
		[n]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
NEG	4474	30	4	13,3	5	16,7	17	56,7	18	60,0
	NADL	30	0	0,0	5	16,7	26	86,7	18	60,0
FELD	4474	36	35	97,2	36	100,0	35	97,2	36	100,0
	NADL	36	21	58,3	34	94,4	34	94,4	35	97,2

Ergebnisse – SNT



Ergebnisse – SNT

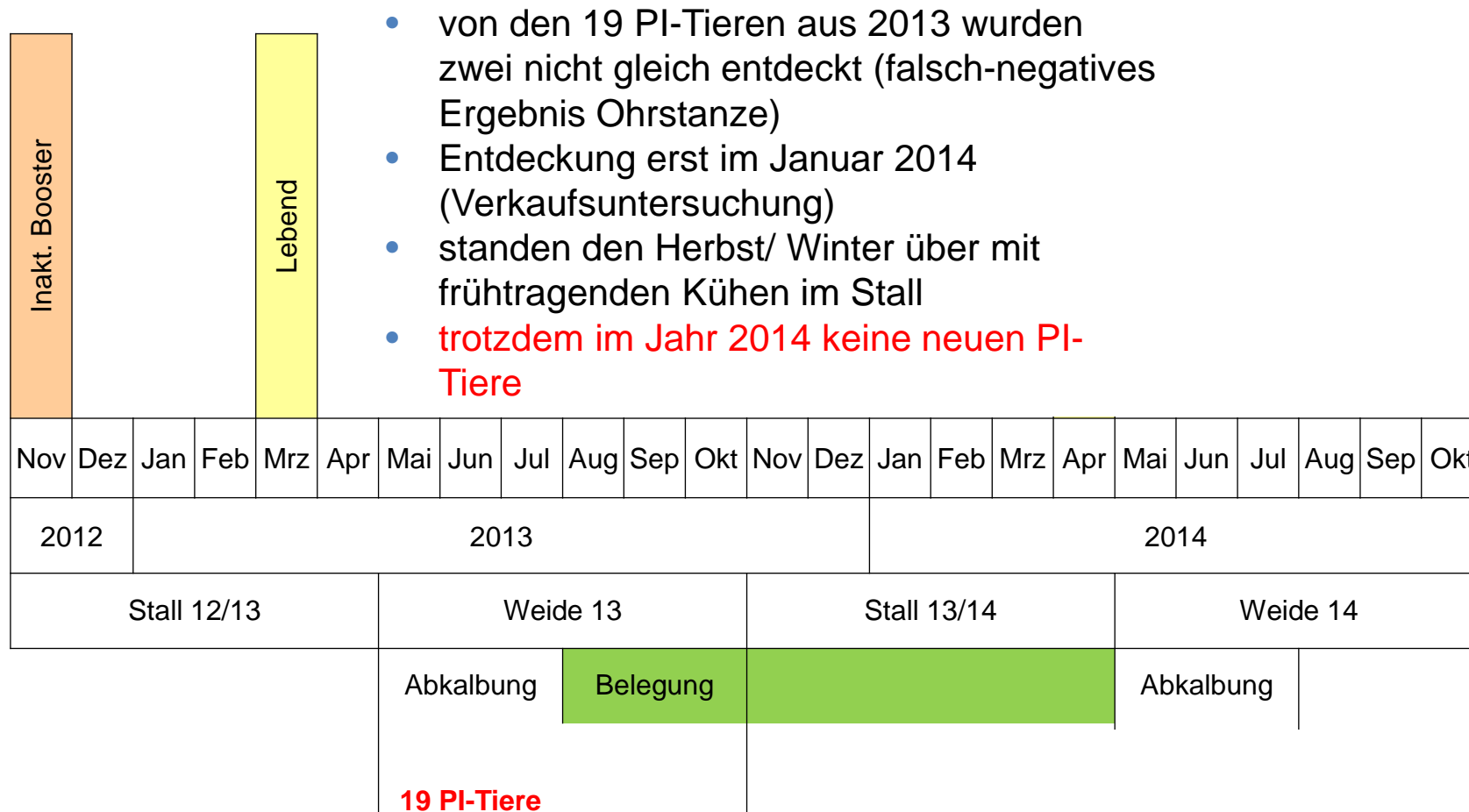


Ergebnisse – fetaler Schutz



- von den 19 PI-Tieren aus 2013 wurden zwei nicht gleich entdeckt (falsch-negatives Ergebnis Ohrstanze)
- Entdeckung erst im Januar 2014 (Verkaufsuntersuchung)
- standen den Herbst/ Winter über mit frühtragenden Kühen im Stall

Ergebnisse – fetaler Schutz



Schlussfolgerungen

- alleinige Bestandsimpfung mit Inaktivat-Vakzine nicht ausreichend, um ausreichend hohe humorale Immunität und zuverlässigen fetalen Schutz auf Herdenebene zu induzieren.
- Einbeziehung einer Lebendvakzine erzeugt deutlich bessere humorale Immunitätslage.
- verglichen mit Immunität nach Feldviruskontakt zwar kein lückenloser humoraler Herdenschutz (SN-Titer > 200)
 - Anwesenheit von zwei übersehenen PI-Tieren während Frühträchtigkeit (ungewollter „Challenge“) führte aber nicht zur Entstehung neuer PI-Tiere
- Höhe der SN-Titer nicht immer eins-zu-eins auf fetalen Schutz übertragbar
- Anzeichen für zuverlässigen fetalen Schutz bei SN-Titer **unter** 200 durch Synergie von humoraler und zellulärer Immunität
- Ergebnisse der Studie vergleichbar mit anderen Studien^{4,5,6,7,8}

Literatur

- 1 Bachofen C, Stalder H, Vogt HR, Wegmüller M, Schweizer M, Zanoni R, Peterhans E (2013): Bovine Virusdiarrhöe (BVD): von der Biologie zur Bekämpfung. Berl Münch Tierärztl Wschr 126: 452-461
- 2 Beer M (2004): Möglichkeiten zur gezielten Bekämpfung der BVD/MD: Eine kritische Analyse. Tierärztl Umsch 59: 131-134.
- 3 Beer M, Wolf G (2003): Impfstoffe zum Schutz gegen eine Infektion mit dem Virus der Bovinen Virusdiarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD): Eine kurze Übersicht. Berl Münch Tierärztl Wschr 116: 252-258.
- 4 Detterer J, Teich K (2003): Vergleichsuntersuchungen zum Einsatz von Bovidec in verschiedenen BVD-Impfschemata. Tierärztl Umsch 10: 528-532.
- 5 Graham DA, German A, Mawhinney E, Goodall EA (2003): Antibody responses of naïve cattle to two inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines, measured by indirect and blocking ELISAs and virus neutralization. Vet Rec 152(26): 795-800
- 6 Grummer B, Frey HR, Eicken K, Kenklies S, Moennig V (2004): Fetalen Schutz vor Infektion mit BVDV1 und -2 nach zweistufiger Impfung. Tierärztl Umsch 59: 144-150
- 7 Kelling CL (2004): Evolution of bovine viral diarrhoea virus vaccines. Vet Clin Food Anim 20: 115-129.
- 8 König M, Jöns-Anders L, Förster C, Heckert HP, Thiel HJ (2004): Impfungen gegen BVD/MD: Kombinationen von Lebend- und Totimpfstoff. Tierärztl Umsch 59: 150-157.
- 9 Moennig V, Brownlie J (2006): Vaccines and vaccination strategies. In: EU Thematic network on control of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) position paper. (<http://www.afbini.gov.uk/chs-thematic-network-position-paper-on-bvd-control.pdf> , letzter Zugriff 5.5.2015)
- 10 Wolf G (2012): BVD-Virus neutralisierende Antikörper als Schutz vor fetalen Infektion: Wo sind die Grenzen? Vortragszusammenfassungen der BVD-Konferenz „Brücken bauen – BVD überwinden“, Düsseldorf 2012: 8.

Vielen Dank!

- ...den MitarbeiterInnen des Betriebs
 - ...den Laborfachkräften des LAV
 - ...den an der Studie beteiligten Kolleginnen und Kollegen
-
- Ihnen für Ihre Aufmerksamkeit!