

Anhang zur BVD-Verordnung**Labormethoden, Untersuchungsverfahren und Befundinterpretation****Methoden:**

Ad § 6 Abs. 1 Z 1: Die Untersuchung auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen den Erreger der BVD/MD (Serologie; Nachweis und Bestimmung des Gehaltes von BVDV-spezifischen Immunglobulinen der Klasse G) hat mit einem indirekten ELISA zu erfolgen.

Ad § 6 Abs. 1 Z 2: Die Untersuchung auf das Vorhandensein von BVD-Antigen oder BVD-Virus oder BVD-spezifischen Nukleinsäuren hat mit einer der folgenden Methoden zu erfolgen:

A ELISA: Nachweis von BVD-Antigen:

- a) Nichtstrukturprotein 2/3 (NS 2/3),
- b) Strukturprotein mit RNase-Aktivität (E^{RNS});

B RT-PCR:

Der Nachweis von BVDV-spezifischen Nukleinsäuren mittels Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion setzt den Einsatz von Oligonukleotidprimer voraus, die aus den konservierten Regionen des Virusgenoms stammen (5' nichtkodierende Region, Genabschnitt des NS 3 Virusproteins);

C BVD-Virusisolierung:

- a) Zellkultur,
- b) Serum-Neutralisationstest;

Für die Durchführung der BVD-Virusisolierung auf Zellkultur und des Serum-Neutralisationstests wird auf die 4. Ausgabe des „Manual of standards for diagnostic tests and vaccines“ des Internationalen Tierseuchenamtes (O.I.E.) verwiesen.

Probenmatrix:

Ad § 6 (1): Folgende Probenmatrices sind für die Untersuchung auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen den Erreger der BVD/MD und/oder auf das Vorhandensein von BVD-Antigen oder BVD-Virus oder BVD-spezifischen Nukleinsäuren zulässig; hierbei sind folgende Voraussetzungen zu beachten:

Untersuchung auf Antikörper:

A Tankmilchproben: Tankmilchproben sind bei der Entnahme im Stall mit einem Konservierungsmittel zu konservieren, das ELISA-Testsysteme nicht stört bzw. das für diese Meßsysteme entwickelt wurde (z.B.: ProClinTM). Die Konservierung kann unterbleiben, wenn sichergestellt ist, dass die Tankmilchproben unmittelbar nach der Gewinnung auf unter 6°C gekühlt werden und die Proben während des Transportes bis zur Bearbeitung im Labor so gelagert werden, dass keine Säuerung der Proben eintritt.

B Milch von Einzelgemelken: Milchproben von Einzelgemelken sind bei der Entnahme im Stall mit einem Konservierungsmittel zu konservieren, das ELISA-Testsysteme nicht stört bzw. das für diese Meßsysteme entwickelt wurde (z.B.: ProClinTM).

C Blutserum

D Blutplasma

Untersuchung auf BVD-Antigen, BVD-spezifische Nukleinsäuren oder Virusisolierung:

A Vollblut (K-EDTA): Für ELISA-Testsysteme, die das Nichtstrukturprotein 2/3 (NS 2/3) des BVD-Virus nachweisen, müssen Leukozyten aus einer mit K-EDTA ungerinnbar gemachten Blutprobe gewonnen werden.

Hinweis: Bei der Leukozytenisolierung ist im Verhältnis zur eingesetzten Blutmenge mit dem vierfachen Volumen von Hämolysepuffer (NH_4Cl -Lösung) zu arbeiten (vorhandene Antikörper werden dadurch ausverdünnt und stören den Testablauf geringfügiger).

B Blutserum

C Gewebs-, Sekret-, Organproben

Befundinterpretation (siehe auch Tabelle 1):

Ad § 6, 7 u. 9: Tankmilch: Der für die Untersuchung von Tankmilchproben verwendete ELISA zur Bestimmung des Gehaltes von Antikörpern gegen den Erreger der BVD/MD muss auf Grund der nachgewiesenen Menge von BVDV-spezifischen IgG einen groben Rückschluss auf die Inzidenz BVD-Antikörper-positiver, laktierender Milchkühe im Bestand erlauben.

Ad § 2 Z. 4: BVD-virusfreie Rinder: Punkt b: Nicht trächtige Rinder aus verdächtigen Beständen sind BVD-virusfrei, wenn in einer Blutprobe des betreffenden Tieres, die nicht vor der Vollendung der vierten Lebenswoche gezogen wurde, BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht nachweisbar ist/sind. Blutproben, in denen BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht nachweisbar ist/sind und die vor der Vollendung der vierten Lebenswoche gezogen wurden, sind nur dann als BVD-virusfrei zu interpretieren, wenn in der Probe keine BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können. Die Untersuchung auf BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren kann entfallen, wenn in einer Blutprobe des betreffenden Tieres, die nicht vor dem vollendeten 6. Lebensmonat gezogen wurde, deutliche Mengen von BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können (immunkompetentes Rind, BVD-Antikörper-positiv).

Ad § 2 Z. 6: persistent infiziertes Rind (PI): Ein Rind gilt als persistent infiziert, wenn in der Blutprobe des Rindes BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nachweisbar ist/sind und die epidemiologische Situation des Bestandes nicht gegen diesen Nachweis spricht. Blutproben, in denen BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht nachweisbar ist/sind und die vor der Vollendung der 4. Lebenswoche gezogen wurden, sind nur dann als BVD-virusfrei zu interpretieren, wenn in der Probe keine BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können.

Ad § 2 Z. 12 und § 7 (2) Z. 4: Bestandsuntersuchung: Die Bestandsuntersuchung umfasst die Untersuchung aller Rinder eines Bestandes. Im Rahmen der Bestandsuntersuchung gilt ein Rind als nicht persistent infiziert, wenn in der Blutprobe des Rindes, die nicht vor der vollendeten 4. Lebenswoche gezogen wurde, BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht nachweisbar ist/sind. Die Untersuchung auf BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren kann entfallen, wenn in einer Blutprobe des betreffenden Tieres, die nicht vor dem vollendeten 6. Lebensmonat gezogen wurde, deutliche Mengen von BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können (immunkompetentes Rind, BVD-Antikörper-positiv).

Hinweis für den Probennehmer: Gemäß § 2 Z. 12 können von der Untersuchung jene Rinder des Bestandes ausgenommen werden, für die auf Grund bestehender Abstammungsverhältnisse der Status BVD-virusfrei angenommen werden kann.

Ad § 2 Z. 13 und § 7 (2) Z. 4: Nachuntersuchung: Die Nachuntersuchung umfasst die Untersuchung aller Rinder des Bestandes, die in einem Zeitraum von zwölf Monaten nach einer Bestandsuntersuchung oder nach Nachweis und Ausmerzung des letzten persistent infizierten Rindes geboren wurden. Im Rahmen der Nachuntersuchung gilt ein Rind als nicht persistent infiziert, wenn die Blutprobe des betreffenden Tieres nicht vor der vollendeten 4. Lebenswoche gezogen wurde und in der Blutprobe BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht nachweisbar ist/sind. Die Untersuchung auf BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren kann entfallen, wenn in einer Blutprobe des betreffenden Tieres, die nicht vor dem vollendeten 6. Lebensmonat gezogen wurde, deutliche Mengen von BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können (immunkompetentes Rind, BVD-Antikörper-positiv). Blutproben, in denen BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht nachweisbar ist/sind und die vor der Vollendung der 4. Lebenswoche gezogen wurden, sind nur dann als BVD-virusfrei zu interpretieren, wenn in der Probe keine BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können.

Ad § 2 Z. 14: Wiederholungsuntersuchung: Eine Wiederholungsuntersuchung ist die Untersuchung einer weiteren, mindestens 3 Wochen nach der ersten Entnahme gezogenen Blutprobe desselben, bei der ersten Untersuchung BVD-Antigen-positiven oder -fraglichen Rindes auf BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren und auf BVDV-spezifische IgG. Ein Rind gilt als nicht persistent infiziert, wenn bei der Wiederholungsuntersuchung BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren nicht mehr nachweisbar ist/sind. Die Untersuchung auf BVDV-Antigen oder BVD-Virus oder BVDV-spezifische Nukleinsäuren kann entfallen, wenn die Blutprobe zur Wiederholungsuntersuchung nicht vor dem vollendeten 6. Lebensmonat gezogen wurde und deutliche Mengen von BVDV-spezifischen IgG nachgewiesen werden können (immunkompetentes Rind, BVD-Antikörper-positiv).

Tabelle 1: Befundinterpretation und BVD-Status des Rindes:

Alter zum Zeitpunkt der Probenahme	BVD-Antikörper	BVD-Antigen BVD-Virus BVD-PCR	Interpretation / Status des Tieres	Anmerkungen
> 6 Monate	positiv	nicht erforderlich	BVD-virusfrei	zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht trächtiges Rind
			BVD-verdächtig	zum Zeitpunkt der Untersuchung trächtiges Rind
	negativ	negativ	BVD-virusfrei	
		positiv	persistent infiziert	epidemiologische Situation spricht für Nachweis
			Wiederholungsuntersuchung erforderlich	epidemiologische Situation spricht gegen Nachweis
		fraglich	Wiederholungsuntersuchung erforderlich	
> 28 Tage und < 6 Monate	positiv	negativ	BVD-virusfrei	
		positiv	persistent infiziert	epidemiologische Situation spricht für Nachweis
			Wiederholungsuntersuchung erforderlich	epidemiologische Situation spricht gegen Nachweis
		fraglich	Wiederholungsuntersuchung erforderlich	
	negativ	positiv	persistent infiziert	epidemiologische Situation spricht für Nachweis
			Wiederholungsuntersuchung erforderlich	epidemiologische Situation spricht gegen Nachweis
		fraglich	Wiederholungsuntersuchung erforderlich	
		negativ	BVD-virusfrei	
< 28 Tage	negativ	positiv	persistent infiziert	epidemiologische Situation spricht für Nachweis
			Wiederholungsuntersuchung erforderlich	epidemiologische Situation spricht gegen Nachweis
		fraglich	Wiederholungsuntersuchung erforderlich	
	positiv	positiv	persistent infiziert	epidemiologische Situation spricht für Nachweis
			Wiederholungsuntersuchung erforderlich	epidemiologische Situation spricht gegen Nachweis
		negativ	Wiederholungsuntersuchung erforderlich	im Alter > 28 Tage
		fraglich	Wiederholungsuntersuchung erforderlich	im Alter > 28 Tage

