

Serologische Studien zum Nachweis von BTV-3-Impfantikörpern - eine erste Zusammenfassung und Bewertung durch das Nationale Referenzlabor für Blauzungenkrankheit

Dr. Bernd Hoffmann

Nationalen Referenzlabor für Blauzungenkrankheit (NRL-BT)

Friedrich-Loeffler-Institut

Südufer 10 - 17493 Greifswald-Insel Riems

E-Mail: bernd.hoffmann@fli.de

1. Einleitung

Im September 2023 ist das Virus der Blauzungenkrankheit vom Serotyp 3 (BTV-3) erstmals in den Niederlanden nachgewiesen worden und hat dort zu sehr deutlichen Erkrankungserscheinungen, insbesondere bei Schafen und Rindern, geführt. Am 12. Oktober 2023 wurde der erste Ausbruch von BTV-3 in Deutschland festgestellt. Ab Mitte 2024 haben die Nachweise von BTV-3 in Deutschland deutlich zugenommen und das Virus hat sich rasant über das ganze Bundesgebiet ausgeweitet. BTV-typische Symptome finden sich besonders bei Schafen (häufig auch mit Todesfolge), aber auch bei Rindern und den anderen, normalerweise weniger empfänglichen Tierarten wie Ziegen, Kameliden und Wildwiederkäuer. Somit muss der aktuell zirkulierende BTV-3-Stamm als hoch-virulent eingestuft werden.

Aufgrund der prominenten durch BTV-3 verursachten Erkrankungen wurde schnell klar, dass nur die zeitnahe Entwicklung und Anwendung von inaktivierten BTV-3-Impfstoffen die Tiere vor Leid und Tod schützen können. Dementsprechend gilt den involvierten Impfstoff-Firmen besonderer Dank und Anerkennung für die sehr schnelle Entwicklung und Bereitstellung von inaktivierten BTV-3-Impfstoffen. Auf Basis einer Eilverordnung des Bundes wurde die Anwendung von BTV-3 Impfstoffen der Firmen SYVA S.A. (Syvazul 3), Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH (Bultavo 3) und CZ Vaccines S.A.U. (Bluevac 3) zum 06. Juni 2024 für erstmalig 6 Monate gestattet. Mit Wirkung vom 27. November 2024 wurde im Bundesgesetzblatt 2024/366 die Gestattung der Anwendung der BTV-3-Impfstoffe auf unbefristete Zeit veröffentlicht. Grundlage dieser Anwendungsgestattung liefert der Artikel 110 Absatz 2 der EU-Tierarzneimittel-Verordnung 2019/6. Die gestatteten Impfstoffe sind aktuell noch nicht zugelassen. Die Erhebung, Zusammenstellung und Auswertung von umfassenden Daten für eine Impfstoff-Zulassung

benötigt Zeit. Diese Zeit war 2024 nicht gegeben. Um erhebliches Tierleid und ökonomische Verluste zu verhindern oder zumindest abzumildern, war und ist die Gestattung des Einsatzes dieser inaktivierten BTV-3-Vakzinen notwendig und richtig. Es bleibt zu hoffen, dass die Impfstoff-Hersteller für diese aktuell nur in ihrer Anwendung gestatteten BTV-3-Impfstoffe auch die Zulassung anstreben und diese dann auch erhalten, analog zu den derzeit zugelassenen, inaktivierten Impfstoffen gegen BTV8 und BTV4. Die Voraussetzungen dafür sind gut, da die Art und Weise der Herstellung und Zusammensetzung der inaktivierten BTV-3-Impfstoffe sich grundsätzlich nicht von den etablierten BTV-4- und BTV-8-Impfstoffen unterscheidet. Damit ist eine robuste Wirksamkeit, gekoppelt mit einer sehr guten Sicherheit/Verträglichkeit, auch für die aktuell gestatteten BTV-3-Vakzinen erwartbar gewesen.

Hinweise auf eine reduzierte Wirksamkeit

Allerdings ließen erste Informationen aus den Niederlanden, dass auch BTV-3-geimpfte Tiere klinisch erkranken können, erste Zweifel an der Wirksamkeit der gestatteten BTV-3-Impfstoffe aufkommen

(<https://www.gddiergezondheid.nl/Actueel/Nieuws/2024/08/Eerste-resultaten-onderzoek-blauwtong>, persönliche Informationen durch Kolleginnen und Kollegen von GD-Deventer in den Niederlanden). Die Impfstoff-Hersteller weisen in ihren Gebrauchsinformationen zu den BTV-3-Vakzinen allerdings selbst darauf hin, dass die Anwendung der Impfstoffe nur zu einer reduzierten Virämie und verminderten Klinik bei den Tieren führt.

Felddaten zur Einschätzung der Situation

Um spezifischere Aussagen zur Wirksamkeit der gestatteten BTV-3-Impfstoffe tätigen zu können, wurden Studien zum Nachweis des Impferfolges nach einmaliger und zweimaliger Impfstoff-Applikation in Kooperation von Kolleginnen und Kollegen aus den Bundesländern und dem NRL-BT gestartet.

Die hier zusammengefassten Studiendaten repräsentieren erste serologische Analysen von BTV-3-geimpften Tieren aus dem Feld und sollen einen Eindruck vermitteln, welche humoralen Immunreaktionen nach einmaliger und zweimaliger Applikation der verschiedenen BTV-3-Impfstoffe bei Rind und Schaf zu erwarten sind.

Natürlich wären gezielte Pilotstudien zur Sicherheit und Wirksamkeit der drei gestatteten BTV-3-Impfstoffe vor Anwendung wünschenswert gewesen. Aufgrund der massiven BTV-3-Erkrankungen im Feld und des damit verbundenen Zeitdrucks waren Vorabprüfungen der BTV-3-Impfstoffe nicht umsetzbar. Damit verbunden sind Limitierungen im Studiendesign und den verfügbaren Proben. Dennoch sind die erhobenen Daten wichtig und besonders wertvoll für weitergehende Einschätzungen und erste Schlussfolgerungen, da diese im Feld gewonnenen Proben ein erstes Bild über die Leistungsfähigkeit der drei Vakzinen im Feld widerspiegeln.

Die hier vorgestellten Ergebnisse sind vorläufig, da in diesem dynamischen Prozess stetig neue Daten generiert und Erkenntnisse gewonnen werden. Aufgrund der Bedeutung der bisherigen Studiendaten für die weitere Bekämpfung von BTV-3 in Deutschland und Europa in den nächsten Monaten, werden diese Daten vorab bekanntgemacht und stehen damit auch allen Anwendern, Entscheidern und Firmenvertretern zur Verfügung.

2. Material und Methoden

2.1 Probengewinnung

Die hier aufgeführten Daten wurden anhand von Proben aus der veterinärmedizinischen Praxis generiert, welche im Rahmen von diagnostischen Impfkontrollen gesammelt wurden. Da die aktuell eingesetzten BTV-3-Impfstoffe nur gestattet sind, fehlen noch zahlreiche Daten insbesondere zur kurz- und langfristigen Wirksamkeit. Aus diesem Grund ist es aus fachlicher Sicht sehr sinnvoll, den Erfolg der BTV-3-Impfungen zu verifizieren und entsprechende diagnostische Impfkontrollen durchzuführen.

Der Einsatz der in ihrer Anwendung gestatteten BTV-3-Impfstoffe erfolgte bei Schafen und Rindern entsprechend den Empfehlungen der Impfstoffhersteller. Eine zweite Impfung von Schafen im Rahmen der Grundimmunisierung unter Verwendung eines homologen oder eines heterologen BTV-3-Impfstoff erfolgte 3-6 Wochen nach Erstimpfung. Weitere Tierarten wurden, wie Rinder, zweimal im Rahmen der Grundimmunisierung geimpft. Die Proben dieser Impfkontroll-Studie stammen aus verschiedenen Beständen mehrerer Bundesländer. Die wichtigsten Kenndaten (Alter, Tierart, verwendete Impfstoffe, Impfhistorie mit BTV4 und/oder BTV8-Vakzinen) wurden, soweit verfügbar, in die Ergebnistabellen eingefügt. Die analysierten Proben wurden an unterschiedlichen Tagen nach Erst- und Zweitimpfung gezogen und sind in den Tabellen als *days post vaccination* (Tag nach Impfung; dpv1 bzw. dpv2) definiert.

2.2 Serologische Verfahren

Für den BTV-Antikörpernachweis stehen zugelassene ELISA der Firmen IDvet, IDEXX und VMRD (Indical Bioscience) in Deutschland zur Verfügung. Das ELISA-Verfahren ist relativ preiswert und ermöglicht die serologische Analyse einer hohen Tieranzahl. Die zugelassenen BTV-ELISA Verfahren detektieren Gruppen-spezifische BTV-Antikörper (BTV-AK) gegen das Virusprotein 7 (VP7) und sind somit in der Lage BTV-Antikörper aller BTV-Serotypen nachzuweisen. Eine Differenzierung von Serotyp-spezifischen Antikörpern ist mit diesen ELISAs nicht möglich. Das bedeutet, dass Tiere, die bereits eine BTV-4 und/oder BTV8-Impfung erhalten haben, schon vor der BTV-3-Impfung im ELISA positiv reagieren. Dennoch können diese ELISA zum Nachweis von zuvor BTV-AK-negativen Tieren sehr gut genutzt werden um eine grundsätzliche humorale Reaktion auf die Impfung festzustellen.

Die am häufigsten in Deutschland genutzten zugelassenen BTV-ELISA stammen von den Firmen IDEXX und IDvet. Die ELISA-Kits beider Firmen liefern bei vergleichenden Studien

am NRL-BT sehr vergleichbare Resultate (siehe 3.1). Die Anwendung erfolgte entsprechend dem jeweiligen Protokoll. Die grundsätzliche Auswertung der ELISA-Ergebnisse ist hier tabellarisch dargestellt und zur vereinfachten Ansicht in den nachfolgenden Ergebnis-Tabellen einheitlich farblich kodiert. Das Testergebnis wird als prozentuales Verhältnis aus der optischen Dichte (OD) der Probe und dem mittleren OD-Wert der negativen Kontrolle berechnet. Je höher der Wert, um so negativer die Probe; je niedriger der Wert umso positiver.

Auswertung	IDEXX P/NK%	IDvet SN%
positiv	≤70%	≤50%
grenzwertig	>70% aber <80%	>50% aber <60%
negativ	≥80%	≥60%

Das VP2-Protein bestimmt bei BTV den Serotyp und ein Schutz von Tieren vor einer BTV-Infektion erfolgt im Wesentlichen durch neutralisierende, VP2-spezifische Antikörper des jeweiligen Serotyps (Huismans et al. (1987) Isolation of a capsid protein of bluetongue virus that induces a protective immune response in sheep. *Virology* Mar;157(1):172-9). Das bedeutet, dass neutralisierende Antikörper gegen BTV-8 oder BTV-4 nicht vor einer Infektion mit BTV-3 schützen (Mayo et al. (2017) A review of potential bluetongue virus vaccine strategies (*Vet.Microbiol.*206: 84-90)). Zum Nachweis der Serotyp-spezifischen, neutralisierenden Antikörper steht der Serumneutralisationstest (SNT) zur Verfügung. Dieser Test weist die erfolgreiche Blockierung der Virusvermehrung durch neutralisierende Antikörper im Serum des geimpften oder infizierten Tieres nach. Dieser Test weist also genau die Antikörper im Tier nach, die für den Schutz vor einer BTV-Infektion des jeweiligen Serotyps notwendig sind. Allerdings ist der SNT ein Zellkultur-basiertes Verfahren und damit Zeit-, Personal- und Kosten-intensiv. Auch können nur recht geringe Probenzahlen - im Vergleich zum ELISA - bearbeitet werden. Der am NRL-BT durchgeführte SNT basiert auf den Empfehlungen des *Terrestrial Manual 2021* der World Organisation for Animal Health (WOAH) (https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.03_BLUETONGUE.pdf) unter Verwendung von Verozellen und dem homologen BTV-3-GER23 mit 50 bis 100 TCID₅₀/Test-Well.

Infektionen mit BTV-3 führen bei ungeschützten oder teilgeschützten Tieren zu deutlichen Anstiegen der Menge von neutralisierenden Antikörpern. Der SNT-Titer liegt dann, nach überstandener Infektion, regelmäßig bei über 1:1000, häufig sogar bei 1:2000. Dem gegenüber werden bei BTV-3-geimpften Tieren geringere SNT-Titer ermittelt. Die grundsätzliche Auswertung der SNT-Ergebnisse ist hier tabellarisch dargestellt und zur vereinfachten Ansicht in den nachfolgenden Ergebnis-Tabellen auch einheitlich farblich kodiert.

Auswertung	VNT Titer
positiv	≥1:20
grenzwertig	>1:10 aber <1:20
negativ	≤1:10

In den nachfolgenden Studienergebnissen werden ELISA und SNT-Daten parallel präsentiert, soweit sie verfügbar sind und deren parallele Auswertung sinnvoll erscheint. Da Neutralisationsteste deutlich aufwändiger sind, wurde hierzu teilweise auch nur eine repräsentative Probenauswahl untersucht.

2.3 Quantitative Reverse Transkriptase Polymerase-Ketten-Reaktion (qRT-PCR)

Da sich die BTV-3-Infektionswelle sehr schnell über das Bundesgebiet ausgebreitet hat, sollten für aussagekräftige Studienergebnisse unerwünschte BTV-3-Infektionen für die Dauer der Immunisierungsphase ausgeschlossen werden. Allerdings standen nicht immer im Rahmen der Studie auch EDTA-Blutproben für den direkten PCR-Nachweis zur Verfügung. Soweit vorhanden sind die Ergebnisse mit aufgeführt. Es kamen etablierte pan-BTV-qPCR-Assays nach Vorgabe der WOAH (URL-link siehe oben) und/oder ein BTV-3-spezifische Assays (Lorusso et al. (2018) Analysis of bluetongue serotype 3 spread in Tunisia and discovery of a novel strain related to the bluetongue virus isolated from a commercial sheep pox vaccine. Infection, Genetics and Evolution, Volume 59, Pages 63-71, <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.01.025>.) zum Einsatz.

Folgende semi-quantitative Bewertung wurde für die real-time PCR-Ergebnisse angewendet:

- > 40 = N/A = negativ
- 35 bis 40 = fraglich/grenzwertig
- 30 bis 35 = schwach positiv
- 25 bis 30 = moderat positiv
- 20 bis 25 = stark positiv
- < 20 = sehr stark positiv

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in den nachfolgenden Tabellen als Rohdaten präsentiert. In Tabelle 3.1 sind vergleichende Ergebnisse der in Deutschland am häufigsten verwendeten zugelassenen BTV-ELISAs zum Nachweis von gruppenspezifischen BTV-Antikörpern aufgeführt. In den weiteren Tabellen unter 3.2 sind die Rohdaten von Untersuchungen von 15 unterschiedlichen Tier-Beständen zusammengefasst. Dabei stellen die Beständen 1 bis 8 die Daten von Schafbetrieben dar, während unter den Beständen 9 bis 13 Resultate bei

Rindern summiert wurden. Im Bestand 14 wurden Ziegen, Schafe und Rinder getestet, und der Bestand 15 stellt die Ergebnisse bei Mufflons dar. Eine Bestands-übergreifende, statistische Auswertung einzelner Parameter der Studie ist nach Abschluss der Arbeiten geplant. Die hier präsentierten Rohdaten sollten jedem interessierten Leser auch die Möglichkeit zu geben, die Ergebnisse unvoreingenommen zu analysieren und zu bewerten.

3.1 Vergleichende Analyse der in Deutschland am häufigsten angewandten, zugelassenen BTV-Antikörper-ELISA

	IDEXX	IDvet			IDEXX	IDvet
	Charge 23040	Charge O69			Charge 23040	Charge O69
Proben-Nr.	SN %	SN %		Proben-Nr.	SN %	SN %
NC-KIT	105	100		BH 119/24_130	101	95
NC-KIT	95	100		BH 119/24_131	98	81
PC-KIT	5	4		BH 119/24_132	94	91
PC-KIT	5	4		BH 119/24_133	76	40
IC-NRL 1:4	32	12		BH 119/24_134	115	124
IC-NRL 1:8	54	23		BH 119/24_135	93	65
IC-NRL 1:16	75	38		BH 119/24_136	102	78
BH 119/24_89	84	94		BH 119/24_137	57	33
BH 119/24_90	101	109		BH 119/24_138	90	44
BH 119/24_91	87	91		BH 119/24_139	68	59
BH 119/24_92	97	98		BH 119/24_140	99	91
BH 119/24_93	102	110		BH 119/24_141	88	77
BH 119/24_94	99	118		BH 119/24_142	93	91
BH 119/24_95	63	101		BH 119/24_143	107	95
BH 119/24_96	19	10		BH 119/24_144	104	83
BH 119/24_97	98	100		BH 119/24_145	101	88
BH 119/24_98	93	114		BH 119/24_146	93	77
BH 119/24_99	85	92		BH 119/24_147	94	72
BH 119/24_100	89	73		BH 119/24_148	92	63
BH 119/24_101	3	3		BH 119/24_149	91	89
BH 119/24_102	89	86		BH 119/24_150	103	101
BH 119/24_103	5	3		BH 119/24_151	108	94
BH 119/24_104	96	74		BH 119/24_152	102	86
BH 119/24_105	4	3		BH 119/24_153	98	57
BH 119/24_106	4	3		BH 119/24_154	124	120
BH 119/24_107	4	3		BH 119/24_155	93	84
BH 119/24_108	90	78		BH 119/24_156	98	86
BH 119/24_109	89	80		BH 119/24_157	74	61
BH 119/24_110	6	3		BH 128/24_01	96	87
BH 119/24_111	4	3		BH 128/24_02	109	88
BH 119/24_112	4	3		BH 128/24_03	106	89
BH 119/24_113	6	3		BH 128/24_04	129	103
BH 119/24_114	9	4		BH 128/24_05	198	104
BH 119/24_115	104	96		BH 128/24_06	109	101
BH 119/24_116	106	100		BH 128/24_07	112	111
BH 119/24_117	86	69		BH 128/24_08	102	97
BH 119/24_118	76	58		BH 128/24_09	111	106
BH 119/24_119	70	43		BH 128/24_10	112	79
BH 119/24_120	96	81		BH 128/24_11	108	71
BH 119/24_121	86	63		BH 128/24_12	113	99
BH 119/24_122	89	78		BH 128/24_13	14	5
BH 119/24_123	93	91		BH 128/24_14	8	4
BH 119/24_124	88	74		BH 128/24_15	10	4
BH 119/24_125	91	79		BH 128/24_16	5	4
BH 119/24_126	85	70		BH 128/24_17	6	4
BH 119/24_127	97	59		BH 128/24_18	9	5
BH 119/24_128	80	36		BH 128/24_19	17	6
BH 119/24_129	92	78		BH 128/24_20	109	74

Um Unterschiede in der Bewertung von Proben basierend auf den meist genutzten BTV-ELISA ausschließen zu können, wurde mit einer Anzahl von Proben vergleichende ELISA-Daten erhoben. Die hierzu genutzten Proben stellen eine repräsentative Auswahl von Feldproben von Schafen dar, die gegen BTV-3 geimpft und teilweise auch eine BTV-4/-8-Impfhistorie aufwiesen.

Eine sehr hohe Ergebnis-Übereinstimmung ist bei der Verwendung der beiden BTV-ELISA von IDEXX und IDvet zum Nachweis von gruppenspezifischen BTV-Antikörpern in Seren von Schaf und Rind gegeben (85 der 89 getesteten Proben reagierten gleich neg. bzw. pos./fraglich).

3.2 Untersuchungen von geimpften Tieren

Bestand 1: Schafe - 1x mit Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	1. Impfung	dpv1	IDEXX-BTV-ELISA SN%	BTV3-SNT Titer	Bemerkung
BH 85/24_05	Bultavo 3	21	92	1:32	Impf-AK
BH 85/24_08	Bultavo 3	21	91	1:13	Impf-AK
BH 85/24_12	Bultavo 3	21	11	1:80	Impf-AK
BH 85/24_13	Bultavo 3	21	13	1:1024	Infektions-AK*
BH 85/24_37	Bultavo 3	21	54	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_41	Bultavo 3	21	55	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_51	Bultavo 3	21	68	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_52	Bultavo 3	21	99	1:16	Impf-AK
BH 85/24_53	Bultavo 3	21	102	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_54	Bultavo 3	21	86	1:25	Impf-AK
BH 85/24_55	Bultavo 3	21	87	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_56	Bultavo 3	21	71	1:16	Impf-AK
BH 85/24_65	Bultavo 3	21	78	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_67	Bultavo 3	21	77	1:25	Impf-AK
BH 85/24_70	Bultavo 3	21	116	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_71	Bultavo 3	21	115	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_84	Bultavo 3	41	7	1:1024	Infektions-AK*
BH 85/24_90	Bultavo 3	41	9	1:2048	Infektions-AK*
BH 85/24_122	Bultavo 3	45	102	1:16	Impf-AK
BH 85/24_123	Bultavo 3	45	11	1:13	Impf-AK
BH 85/24_124	Bultavo 3	45	71	1:13	Impf-AK
BH 85/24_143	Bultavo 3	45	100	1:16	Impf-AK
BH 85/24_144	Bultavo 3	45	93	1:16	Impf-AK
BH 85/24_145	Bultavo 3	45	95	<1:10	Impf-AK
BH 85/24_146	Bultavo 3	45	79	1:40	Impf-AK
BH 85/24_147	Bultavo 3	45	110	1:13	Impf-AK

* = EDTA-Blut zum Nachweis einer BTV-3-Infektion nicht verfügbar

Von den 26 Schafen, die einmalig mit Bultavo 3 immunisiert wurden, hatten 3 Schafe einen sehr hohen SNT-Titer von größer 1:1000. Dies ist sehr wahrscheinlich ein rekonvaleszenter Status nach stattgefundener BTV-3-Infektion. Von den restlichen 23 Schafen hatten 5 Tiere ein positives SNT-Ergebnis und jeweils 9 Schafe zeigten ein grenzwertiges bzw. negatives SNT-Resultat. Auch bleibt festzustellen, dass eine direkte Korrelation des SNT mit den ELISA-Ergebnissen nicht gegeben ist.

Bestand 2: Schafe - 1x mit Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	Tieralter	Impf-Historie	1. Impfung	dpv1	BTV3-qPCR	IDEXX-BTV-ELISA SN%	BTV3-SNT	Bemerkung
BH 128/24_01	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	96	1:64	Impf-AK
BH 128/24_02	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	109	1:16	Impf-AK
BH 128/24_03	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	106	1:40	Impf-AK
BH 128/24_04	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	129	1:16	Impf-AK
BH 128/24_05	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	198	1:16	Impf-AK
BH 128/24_06	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	109	1:13	Impf-AK
BH 128/24_07	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	112	n.d.	
BH 128/24_08	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	102	n.d.	
BH 128/24_09	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	111	n.d.	
BH 128/24_10	Jungtier	nein	Bultavo3	33	neg	112	n.d.	
BH 128/24_11	Alttier	nein	Bultavo3	33	neg	108	n.d.	
BH 128/24_12	Alttier	nein	Bultavo3	33	neg	113	n.d.	
BH 128/24_13	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	32,6*	14	1:1280	Infektions-AK
BH 128/24_14	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	neg	8	1:13	Impf-AK
BH 128/24_15	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	33,2*	10	1:1024	Infektions-AK
BH 128/24_16	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	31,6*	5	n.d.	
BH 128/24_17	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	neg	6	n.d.	
BH 128/24_18	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	neg	9	n.d.	
BH 128/24_19	Alttier	BTV8	Bultavo3	33	35,8*	17	n.d.	
BH 128/24_20	Alttier	nein	Bultavo3	33	neg	109	n.d.	

* = eine Infektion mit BTV-3 vor oder während der Impf-Phase kann nicht ausgeschlossen werden n.d. = nicht durchgeführt

Von den 20 Schafen, die einmalig mit Bultavo 3 geimpft wurden, reagierten 33 Tage nach Impfung nur die Schafe im BTV-ELISA positiv, die eine länger zurückliegende BTV-8-Impfhistorie aufwiesen. Alle Jungtiere sowie die zuvor nicht BTV-8 geimpften Alttiere reagierten im ELISA deutlich negativ. Der beispielhaft an 9 Proben durchgeführte SNT lieferte allerdings Impf-Antikörper-Titer von 1:13 bis 1:64. Somit ist auch in dieser Studie kein direkter Zusammenhang zwischen ELISA und SNT-Ergebnissen zu verzeichnen.

Bei vier Tieren wurde mittels PCR eine BTV-3-Infektion festgestellt. Die hohen SNT-Titer von über 1:1000 bei zwei dieser infizierten Schafe bestätigen die BTV-3-Infektion dieser Tiere.

Bestand 3: Schafe - 2x mit Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	Impf-historie	1. Impfung	dpv1	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL-Nummer	2. Impfung	dpv2	BTV3 qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH129/24_01	ohne	Bultavo 3	37	71	1:13	BH154/24_01	Bultavo 3	27	neg	7	1:800
BH129/24_02	ohne	Bultavo 3	37	88	1:13	BH154/24_02	Bultavo 3	27	neg	57	1:50
BH129/24_03	ohne	Bultavo 3	37	87	1:25	BH154/24_03	Bultavo 3	27	neg	60	1:256
BH129/24_04	ohne	Bultavo 3	37	90	1:16	BH154/24_04	Bultavo 3	27	neg	35	1:128
BH129/24_05	ohne	Bultavo 3	37	69	1:13	BH154/24_05	Bultavo 3	27	neg	10	1:200
BH129/24_06	ohne	Bultavo 3	37	89	1:13	BH154/24_06	Bultavo 3	27	neg	76	1:160
BH129/24_07	ohne	Bultavo 3	37	83	1:16	BH154/24_07	Bultavo 3	27	neg	57	1:256
BH129/24_08	ohne	Bultavo 3	37	87	<1:10	BH154/24_08	Bultavo 3	27	neg	20	1:200
BH129/24_09	ohne	Bultavo 3	37	95	<1:10	BH154/24_09	Bultavo 3	27	neg	76	1:160
BH129/24_10	BTV 4/8	Bultavo 3	37	5	<1:10	BH154/24_10	Bultavo 3	27	neg	5	1:16
BH129/24_11	BTV 4/8	Bultavo 3	37	5	1:13	BH154/24_11	Bultavo 3	27	neg	5	1:20
BH129/24_12	BTV 4/8	Bultavo 3	37	4	<1:10	BH154/24_12	Bultavo 3	27	neg	4	1:16
BH129/24_13	BTV 4/8	Bultavo 3	37	5	<1:10	BH154/24_13	Bultavo 3	27	neg	5	1:13
BH129/24_14	BTV 4/8	Bultavo 3	37	5	1:13	BH154/24_14	Bultavo 3	27	neg	5	1:100
BH129/24_15	BTV 4/8	Bultavo 3	37	10	1:32	BH154/24_15	Bultavo 3	27	neg	5	1:32

Von den 15 getesteten Schafen hatten 37 Tage nach erster Impfung mit Bultavo 3 noch 7 Tiere ein negatives ELISA-Ergebnis. Dabei ist noch zu beachten, dass 6 Tiere eine BTV-4/8-Impfhistorie hatten und die deutlich positiven ELISA-Ergebnisse bei diesen Tieren sicher durch die zurückliegende BTV-4/-8-Impfung begründet sind. Im SNT reagierten 5 der 15 Tiere mit einem negativen Ergebnis; 8 Schafe zeigten einen grenzwertigen Titer und nur 2 Tiere wurden positiv mit SNT-Titern von 1:25 bzw. 1:32 bewertet.

27 Tage nach homologer Zweitimpfung mit Bultavo 3 reagierten alle Tiere im ELISA positiv oder zumindest grenzwertig. Im SNT zeigten 3 Tiere einen grenzwertigen Titer, wohingegen für die 12 weiteren Tiere stabile SNT-Titer von 1:20 bis 1:800 ermittelt werden konnten.

Die Daten weisen sehr deutlich auf einen den qualitativen und quantitativen Mehrwert eine Booster-Impfung von Schafen mit Bultavo 3 hin.

Bestand 4: Schafe - 2x mit Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	1. und 2. Impfung	dpv2	BTV3 qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 175/24_01	Bultavo 3	66	neg	35	1:50
BH 175/24_02	Bultavo 3	66	neg	15	1:32
BH 175/24_03	Bultavo 3	66	neg	37	1:512
BH 175/24_04	Bultavo 3	66	neg	22	1:320
BH 175/24_05	Bultavo 3	66	neg	6	1:320
BH 175/24_06	Bultavo 3	66	neg	16	1:160
BH 175/24_07	Bultavo 3	66	neg	21	1:1280
BH 175/24_08	Bultavo 3	66	neg	71	1:16
BH 175/24_09	Bultavo 3	66	neg	6	1:40
BH 175/24_10	Bultavo 3	66	neg	6	1:128
BH 175/24_11	Bultavo 3	66	neg	74	1:50
BH 175/24_12	Bultavo 3	66	neg	61	1:40
BH 175/24_13	Bultavo 3	66	neg	53	1:80
BH 175/24_14	Bultavo 3	66	neg	36	1:256
BH 175/24_15	Bultavo 3	66	neg	5	1:64
BH 175/24_16	Bultavo 3	66	neg	34	1:80
BH 175/24_17	Bultavo 3	66	neg	50	1:64
BH 175/24_18	Bultavo 3	66	neg	6	1:400
BH 175/24_19	Bultavo 3	66	neg	27	1:128
BH 175/24_20	Bultavo 3	66	neg	6	1:200

66 Tage nach Zweitimpfung mit Bultavo 3 ist meist ein deutlicher BTV-3-neutralisierender Impf-Antikörper-Titer bei den beprobten Schafen festzustellen. Auch im ELISA reagierten fast alle Tiere positiv. Informationen zu einer BTV-4/-8-Impfhistorie lagen für diesen Bestand nicht vor.

Bestand 5: Schafe - 2x mit Syvazul 3 geimpft

NRL-Nummer	Impfstatus	1. Impfung	dpv1	NS3-qPCR	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL-Nummer	2. Impfstoff	dpv2	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH167/24_01	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	90	<1:10	BH183/24_01	Syvazul 3	26	neg	9	<1:10
BH167/24_02	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	87	<1:10	BH183/24_02	Syvazul 3	26	neg	9	<1:10
BH167/24_03	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	109	<1:10	BH183/24_03	Syvazul 3	26	neg	48	1:13
BH167/24_04	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	99	<1:10	BH183/24_04	Syvazul 3	26	neg	24	<1:10
BH167/24_05	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	87	<1:10	BH183/24_05	Syvazul 3	26	neg	21	<1:10
BH167/24_06	unbekannt*	Syvazul 3	72	neg	neg	5	<1:10	BH183/24_06	Syvazul 3	26	neg	6	<1:10
BH167/24_07	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	105	<1:10	BH183/24_07	Syvazul 3	26	neg	43	<1:10
BH167/24_08	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	104	<1:10	BH183/24_08	Syvazul 3	26	neg	23	<1:10
BH167/24_09	unbekannt	Syvazul 3	72	neg	neg	102	<1:10	BH183/24_09	Syvazul 3	26	neg	14	<1:10
BH167/24_10	unbekannt*	Syvazul 3	72	neg	neg	8	<1:10	BH183/24_10	Syvazul 3	26	neg	5	<1:10

* wahrscheinlich mit Vorimpfung BTV8 und/oder BTV4

Die analysierten 10 Schafe zeigten nach einmaliger Impfung mit Syvazul 3 keine Reaktivität im BTV-3-SNT. Auch waren 8 Tiere im ELISA eindeutig negativ. Die beiden hoch-positiven ELISA-Ergebnisse bei den Schafen 6 und 10 sind vermutlich auf eine Impfhistorie gegen BTV-8/-4 zurück zu führen.

26 Tage nach homologer Zweit-Impfung mit Syvazul 3 reagieren alle Tiere im BTV-ELISA positiv. Allerdings sind nur in einem Fall, und dann im Bereich des Grenzwertes (1:13), BTV-3-spezifische neutralisierende Antikörper im SNT nachweisbar gewesen.

Bestand 6: Schafe - 1x mit Syvazul 3 und ein weiteres Mal mit Syvazul 3 oder Bluevac 3 geimpft

NRL-Nummer	Impf-Historie	1. Impfung	dpv1	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL-Nummer	2. Impfung	dpv2	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 119/24_138	keine	Syvazul 3	42	90	<1:10	BH 136/24_56	Syvazul 3	21	9	<1:10
BH 119/24_139	keine	Syvazul 3	42	68	<1:10	BH 136/24_57	Syvazul 3	21	13	<1:10
BH 119/24_142	keine	Syvazul 3	42	93	<1:10	BH 136/24_60	Syvazul 3	21	24	<1:10
BH 119/24_145	keine	Syvazul 3	42	101	<1:10	BH 136/24_63	Syvazul 3	21	14	<1:10
BH 119/24_147	keine	Syvazul 3	42	94	n.d.	BH 136/24_65	Syvazul 3	21	18	n.d.
BH 119/24_148	keine	Syvazul 3	42	92	n.d.	BH 136/24_66	Syvazul 3	21	29	n.d.
BH 119/24_149	keine	Syvazul 3	42	91	n.d.	BH 136/24_67	Syvazul 3	21	7	n.d.
BH 119/24_151	keine	Syvazul 3	42	108	n.d.	BH 136/24_69	Syvazul 3	21	54	n.d.
BH 119/24_152	keine	Syvazul 3	42	102	n.d.	BH 136/24_70	Syvazul 3	21	14	n.d.
BH 119/24_157	keine	Syvazul 3	42	74	<1:10	BH 136/24_75	Syvazul 3	21	14	<1:10
BH 119/24_140	keine	Syvazul 3	42	99	<1:10	BH 136/24_58	Bluevac 3	21	70	<1:10
BH 119/24_141	keine	Syvazul 3	42	88	<1:10	BH 136/24_59	Bluevac 3	21	45	<1:10
BH 119/24_143	keine	Syvazul 3	42	107	1:13	BH 136/24_61	Bluevac 3	21	34	<1:10
BH 119/24_144	keine	Syvazul 3	42	104	<1:10	BH 136/24_62	Bluevac 3	21	48	<1:10
BH 119/24_146	keine	Syvazul 3	42	93	n.d.	BH 136/24_64	Bluevac 3	21	70	n.d.
BH 119/24_150	keine	Syvazul 3	42	103	n.d.	BH 136/24_68	Bluevac 3	21	63	n.d.
BH 119/24_153	keine	Syvazul 3	42	98	n.d.	BH 136/24_71	Bluevac 3	21	14	n.d.
BH 119/24_154	keine	Syvazul 3	42	124	n.d.	BH 136/24_72	Bluevac 3	21	71	n.d.
BH 119/24_155	keine	Syvazul 3	42	93	n.d.	BH 136/24_73	Bluevac 3	21	39	n.d.
BH 119/24_156	keine	Syvazul 3	42	98	n.d.	BH 136/24_74	Bluevac 3	21	13	n.d.

n.d. = nicht durchgeführt

Die einmalige Impfung mit Syvazul 3 erzeugte 42 dpv1 kaum nachweisbare BTV-Antikörper, weder im ELISA noch im SNT. Serumproben die 21 Tage nach homologer bzw. heterologer Zweitimpfung mit Syvazul 3 bzw. Bluevac 3 getestet wurden, lieferten im ELISA meist ein positives Ergebnis.

Mittels SNT konnten jedoch keine neutralisierenden Antikörper nach der Boosterimpfung nachgewiesen werden.

Bestand 7: Schafe - 1x mit Syvazul 3 und ein weiteres Mal mit Bultavo 3 oder Bluevac 3 geimpft

NRL-Nummer	Impf-Historie	1. Impfung	dpv1	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL-Nummer	2. Impfstoff	dpv2	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH139/24_11	keine	Syvazul 3	34	neg	93	<1:10	BH 150/24_09	Bultavo 3	35	neg	38	1:13
BH139/24_14	keine	Syvazul 3	34	neg	66	<1:10	BH 150/24_04	Bultavo 3	35	neg	23	1:25
BH139/24_15	keine	Syvazul 3	34	neg	60	<1:10	BH 150/24_07	Bultavo 3	35	36,5*	12	1:20
BH139/24_17	keine	Syvazul 3	34	neg	88	<1:10	BH 150/24_03	Bultavo 3	35	neg	7	1:25
BH139/24_18	keine	Syvazul 3	34	neg	49	<1:10	BH 150/24_01	Bultavo 3	35	neg	80	1:20
BH139/24_16	keine	Syvazul 3	34	neg	92	<1:10	BH 150/24_10	Bluevac 3	35	neg	51	<1:10
BH139/24_19	keine	Syvazul 3	34	neg	71	<1:10	BH 150/24_05	Bluevac 3	35	neg	83	<1:10
BH139/24_20	keine	Syvazul 3	34	neg	86	<1:10	BH 150/24_02	Bluevac 3	35	neg	54	<1:10
BH139/24_12	keine	Syvazul 3	34	neg	81	<1:10	BH 150/24_08	Bluevac 3	35	neg	95	<1:10
BH139/24_13	keine	Syvazul 3	34	neg	71	1:13	BH 150/24_06	Bluevac 3	35	neg	76	<1:10

* = Kontamination mit Impfstoff wahrscheinlich

Die 10 Schafe im Bestand wurden zuerst mit Syvazul 3 geimpft und 34 Tage nach dieser Impfung beprobt. An diesem Tag erfolgte dann auch die heterologe Zweitimpfung von jeweils 5 Tieren mit Bultavo 3 bzw. Bluevac 3. Die nachfolgende Beprobung der Schafe erfolgte dann 35 Tage nach Zweitimpfung.

Obwohl nach der Erstimpfung mit Syvazul 3 bei allen Tieren eine leichte Reaktivität im ELISA um den grenzwertigen Bereich festgestellt werden konnte, haben letztlich nur 5 Tiere ein positives bzw. grenzwertiges Ergebnis. Darüber hinaus hat nur eines der Tiere im SNT mit einem Titer von 1:13 sehr schwach reagiert. Auch die Zweitimpfung mit Bluevac-3 konnte das SNT-Ergebnis nicht verbessern. Alle fünf Syvazul 3 + Bluevac 3 - geimpften Tiere zeigten ein negatives SNT-Ergebnis 35 Tage nach Zweitimpfung.

Dem gegen über konnten bei allen Bultavo 3 zweitgeimpften Tieren ein grenzwertiges oder sogar positives SNT-Ergebnis mit Titern zwischen 1:13 und 1:25 ermittelt werden. Diese recht schwachen SNT-Titer sind gut erklärbar, denn sie fallen zwar höher aus als nach einmaliger Impfung mit Bultavo 3, aber niedriger als nach einer zweifachen Impfung mit Bultavo 3. Es ist daher von einem geringgradigen „Priming“ durch Syvazul 3 im Rahmen der Erstimpfung auszugehen.

Bestand 8: Schafe - 1x mit Bluevac 3 und ein weiteres Mal mit Bluevac 3, Syvazul 3 oder Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	1.Impfung	dpv1	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL-Nummer	2. Impfung	dpv2	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 157/24_17	Bluevac 3	35	neg	95	<1:10	BH 173/24_11	Syvazul 3	22	neg	64	<1:10
BH 157/24_15	Bluevac 3	35	neg	101	<1:10	BH 173/24_05	Syvazul 3	22	neg	70	<1:10
BH 157/24_10	Bluevac 3	35	neg	79	<1:10	BH 173/24_21	Syvazul 3	22	neg	31	<1:10
BH 157/24_14	Bluevac 3	35	neg	85	<1:10	BH 173/24_08	Syvazul 3	22	neg	38	<1:10
BH 157/24_18	Bluevac 3	35	neg	76	<1:10	BH 173/24_15	Syvazul 3	22	neg	66	<1:10
BH 157/24_13	Bluevac 3	35	neg	91	<1:10	BH 173/24_18	Syvazul 3	22	neg	21	<1:10
BH 157/24_11	Bluevac 3	35	neg	86	<1:10	BH 173/24_17	Syvazul 3	22	neg	43	<1:10
BH 157/24_12	Bluevac 3	35	neg	102	<1:10	BH 173/24_10	Syvazul 3	22	neg	61	<1:10
BH 157/24_16	Bluevac 3	35	neg	34	<1:10	BH 173/24_03	Syvazul 3	22	neg	10	<1:10
BH 157/24_28	Bluevac 3	35	neg	56	<1:10	BH 173/24_29	Syvazul 3	22	neg	7	<1:10
BH 157/24_01	Bluevac 3	35	neg	101	<1:10	BH 173/24_01	Bluevac 3	22	neg	39	<1:10
BH 157/24_06	Bluevac 3	35	neg	96	<1:10	BH 173/24_16	Bluevac 3	22	neg	73	<1:10
BH 157/24_08	Bluevac 3	35	neg	91	<1:10	BH 173/24_20	Bluevac 3	22	neg	78	<1:10
BH 157/24_03	Bluevac 3	35	neg	56	<1:10	BH 173/24_13	Bluevac 3	22	neg	8	<1:10
BH 157/24_04	Bluevac 3	35	neg	102	<1:10	BH 173/24_14	Bluevac 3	22	neg	38	<1:10
BH 157/24_09	Bluevac 3	35	neg	90	<1:10	BH 173/24_25	Bluevac 3	22	neg	72	1:13
BH 157/24_05	Bluevac 3	35	neg	80	<1:10	BH 173/24_23	Bluevac 3	22	neg	27	<1:10
BH 157/24_07	Bluevac 3	35	neg	104	<1:10	BH 173/24_26	Bluevac 3	22	neg	83	<1:10
BH 157/24_02	Bluevac 3	35	neg	101	<1:10	BH 173/24_02	Bluevac 3	22	neg	76	<1:10
BH 157/24_27	Bluevac 3	35	neg	78	<1:10	BH 173/24_30	Bluevac 3	22	neg	56	<1:10
BH 157/24_26	Bluevac 3	35	neg	89	<1:10	BH 173/24_07	Bultavo 3	22	neg	67	1:80
BH 157/24_24	Bluevac 3	35	neg	106	<1:10	BH 173/24_22	Bultavo 3	22	neg	40	1:20
BH 157/24_20	Bluevac 3	35	neg	82	<1:10	BH 173/24_24	Bultavo 3	22	neg	52	1:50
BH 157/24_25	Bluevac 3	35	neg	98	<1:10	BH 173/24_09	Bultavo 3	22	neg	22	1:25
BH 157/24_19	Bluevac 3	35	neg	91	<1:10	BH 173/24_12	Bultavo 3	22	neg	67	1:16
BH 157/24_21	Bluevac 3	35	neg	84	<1:10	BH 173/24_04	Bultavo 3	22	neg	12	1:50
BH 157/24_23	Bluevac 3	35	neg	88	1:13	BH 173/24_19	Bultavo 3	22	neg	65	1:32
BH 157/24_22	Bluevac 3	35	neg	70	<1:10	BH 173/24_06	Bultavo 3	22	neg	32	1:20
BH 157/24_30	Bluevac 3	35	neg	75	<1:10	BH 173/24_27	Bultavo 3	22	neg	9	1:40
BH 157/24_29	Bluevac 3	35	neg	91	<1:10	BH 173/24_28	Bultavo 3	22	neg	53	1:20

Nach erster Impfung mit Bluevac 3 reagieren von den 30 analysierten Schafen nur 8 Tiere im ELISA grenzwertig oder positiv. Der SNT lieferte zum selben Zeitpunkt auch fast nur negative Resultate. Nur bei einem Tier konnte ein grenzwertiger Titer von 1:13 ermittelt werden.

Nach homologer und heterologer Zweitimpfung ist in allen drei Gruppen ein deutlicher Anstieg der ELISA-Reaktivität festzustellen. Anders sehen die Ergebnisse bei Auswertung des SNT aus. Hier konnten deutliche Steigerungen des BTV-3-SNT-Titers nur in der Bluevac/Bultavo-Gruppe festgestellt werden. In den Bluevac/Syvazul- und Bluevac/Bluevac-Gruppen konnten meist keine neutralisierenden Antikörper ermittelt werden. Nur ein Tier von 20 hatte einen grenzwertigen SNT-Titer von 1:13.

Bestand 9: Rinder - 2x mit Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	Impfhistorie	1. und 2. Impfung	dpv2	BTV3-qPCR	IDEXX-BTV-ELISA SN%	BTV3-SNT
BH 156/24_01	keine	Bultavo 3	63	neg	84	1:100
BH 156/24_02	keine	Bultavo 3	63	neg	59	1:80
BH 156/24_03	keine	Bultavo 3	63	neg	92	1:50
BH 156/24_04	keine	Bultavo 3	63	neg	60	1:128
BH 156/24_05	keine	Bultavo 3	63	neg	82	1:160
BH 156/24_06	keine	Bultavo 3	63	neg	95	1:80
BH 156/24_07	keine	Bultavo 3	63	neg	65	1:80
BH 156/24_08	keine	Bultavo 3	63	neg	88	1:32
BH 156/24_09	keine	Bultavo 3	63	neg	97	1:64
BH 156/24_10	keine	Bultavo 3	63	neg	82	1:400
BH 156/24_11	keine	Bultavo 3	63	neg	68	1:100
BH 156/24_12	keine	Bultavo 3	63	neg	62	1:50
BH 156/24_13	keine	Bultavo 3	63	neg	51	1:160
BH 156/24_14	keine	Bultavo 3	63	neg	93	1:80
BH 156/24_15	keine	Bultavo 3	63	neg	95	1:160
BH 156/24_16	keine	Bultavo 3	63	neg	34	1:160
BH 156/24_17	keine	Bultavo 3	63	neg	82	1:50
BH 156/24_18	keine	Bultavo 3	63	neg	86	1:32
BH 156/24_19	keine	Bultavo 3	63	neg	44	1:64
BH 156/24_20	keine	Bultavo 3	63	neg	80	1:80
BH 156/24_21	keine	Bultavo 3	63	neg	104	1:64
BH 156/24_22	keine	Bultavo 3	63	neg	67	1:25
BH 156/24_23	keine	Bultavo 3	63	neg	103	1:40
BH 156/24_24	keine	Bultavo 3	63	neg	59	1:100

63 Tage nach Zweitimpfung mit Bultavo 3 ist ein deutlicher BTV-3-neutralisierender Impfantikörper-Titer von 1:25 bis 1:400 bei den beprobten Rindern festzustellen. Obwohl der SNT eindeutig positiv reagierte, war das Ergebnis des ELISA nicht so eindeutig. Ein direkter Zusammenhang zwischen BTV-VP7-Antikörpern nachgewiesen im ELISA und neutralisierenden BTV-3-VP2-Antikörpern detektiert im SNT konnte auch in dieser Teilstudie nicht detektiert werden.

Bestand 10: Rinder - 2x mit Bultavo 3 geimpft:

NRL-Nummer	Tierart	1. Impfung	dpv1	Pan-BTV-qPCR	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL-Nummer	2. Impfung	dpv2	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 159/24_01	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	84	<1:10	BH 182/24_01	Bultavo 3	30	neg	84	1:200
BH 159/24_02	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	83	<1:10	BH 182/24_02	Bultavo 3	30	neg	45	1:80
BH 159/24_03	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	80	1:25	BH 182/24_03	Bultavo 3	30	neg	69	1:128
BH 159/24_04	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	79	1:50	BH 182/24_04	Bultavo 3	30	neg	39	1:256
BH 159/24_05	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	84	1:13	BH 182/24_05	Bultavo 3	30	neg	79	1:200
BH 159/24_06	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	90	<1:10	BH 182/24_06	Bultavo 3	30	neg	84	1:32
BH 159/24_07	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	97	<1:10	BH 182/24_07	Bultavo 3	30	neg	93	1:40
BH 159/24_08	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	105	<1:10	BH 182/24_08	Bultavo 3	30	neg	113	1:13
BH 159/24_09	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	100	<1:10	BH 182/24_09	Bultavo 3	30	neg	58	1:256
BH 159/24_10	Rind/Bulle	Bultavo 3	21	neg	neg	100	<1:10	BH 182/24_10	Bultavo 3	30	neg	106	1:25

Von den 10 untersuchten Bullen, die 21 Tage nach erster Impfung mit Bultavo 3 beprobt wurden, konnten BTV-3-neutralisierender Impf-Antikörper erst bei drei Tieren festgestellt werden. Die beiden Tiere mit der höchsten Reaktivität im SNT waren auch im ELISA grenzwertig reaktiv. Nachdem die Tiere das zweite Mal mit Bultavo 3 geimpft wurden, konnte insbesondere im BTV-3-SNT ein deutlicher Titer-Anstieg ermittelt werden. Neun der 10 Tiere reagierten im SNT positiv und ein Tier fraglich.

Obwohl der SNT meist positiv reagierte, waren die Ergebnisse des ELISA nicht so klar. Nur 4 Tiere konnten im ELISA schwach positiv bestätigt werden, ein Tier war grenzwertig reaktiv und 5 Tiere blieben trotz nachweisbaren, neutralisierenden BTV-3-VP2-Antikörpern im ELISA weiterhin negativ. Ein sicherer Zusammenhang zwischen ELISA und SNT-Ergebnisse konnte auch in diesem Fall nicht hergestellt werden, auch wenn bei positivem ELISA-Ergebnis der SNT-Titer für die entsprechende Probe meist höher ausfällt. Im Gegensatz dazu haben Proben, die deutlich negativ im ELISA reagieren, auch den geringsten neutralisierenden Antikörper-Titer.

Bestand 11: Rinder - 2x mit Bultavo 3 geimpft:

NRL Nummer	Tierart	BTV4/8-Impfhistorie	1. und 2. Impfung	dpv2	BTV3 qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 177/24_01	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	10	1:100
BH 177/24_02	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	88	1:64
BH 177/24_03	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	62	1:160
BH 177/24_04	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	63	1:160
BH 177/24_05	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	81	1:25
BH 177/24_06	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	37	1:100
BH 177/24_07	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	25	1:128
BH 177/24_08	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	83	1:100
BH 177/24_09	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	57	1:400
BH 177/24_10	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	102	1:64
BH 177/24_11	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	71	1:200
BH 177/24_12	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	64	1:256
BH 177/24_13	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	39	1:80
BH 177/24_14	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	61	1:64
BH 177/24_15	Rind/Jungtier	nein	Bultavo 3	89	neg	63	1:200

Bei den 15 untersuchten Jungrindern, die 89 Tage nach zweimaliger Impfung mit Bultavo 3 beprobt wurden, konnten bei allen Tieren BTV-3-neutralisierende Impfantikörper-Titer von 1:25 bis 1:400 festgestellt werden. Obwohl der SNT eindeutig positiv reagierte, war das Ergebnis des ELISAs auch hier nicht so eindeutig. Ein direkter Zusammenhang zwischen BTV-VP7-Antikörpern, nachgewiesen im ELISA, und neutralisierenden BTV-3-VP2-Antikörpern, detektiert im SNT, konnte auch in dieser Teilstudie nicht ermittelt werden.

Bestand 12: Rinder - 2x mit Bultavo 3 geimpft

NRL-Nummer	Impfhistorie	1. und 2. Impfung	dpv2	BTV3-qPCR	IDEXX-BTV-ELISA SN%	BTV3-SNT
BH153/24-01	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	5	1:100
BH153/24-02	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	5	1:25
BH153/24-03	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	5	1:128
BH153/24-04	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	5	1:256
BH153/24-05	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	7	1:200
BH153/24-06	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	5	1:64
BH153/24-07	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	6	1:100
BH153/24-08	BTV8/4	Bultavo 3	68	neg	6	1:50

Bei acht Rindern, die 68 Tage nach zweimaliger Impfung mit Bultavo 3 beprobt wurden, konnten BTV-3-neutralisierender Impf-Antikörper-Titer von 1:25 bis 1:256 festgestellt werden. Die hoch-positiven ELISA-Ergebnisse sind durch die BTV-8/BTV-4-Impfhistorie begründbar.

Bestand 13: Rinder - 2x mit Bluevac 3 geimpft

NRL-Nummer	Tierart	Impfhistorie BTV8/BTV4 (Ja/nein)	1. und 2. Impfung	dpv2	BTV3 qPCR	BTV- ELISA IDEXX SN%	SNT- BTV3
BH 172/24_01	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	8	1:13
BH 172/24_02	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	63	<1:10
BH 172/24_03	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	20	<1:10
BH 172/24_04	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	19	<1:10
BH 172/24_05	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	69	<1:10
BH 172/24_06	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	45	1:13
BH 172/24_07	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	65	<1:10
BH 172/24_08	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	56	<1:10
BH 172/24_09	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	35	<1:10
BH 172/24_10	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	27	<1:10
BH 172/24_11	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	16	<1:10
BH 172/24_12	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	25	<1:10
BH 172/24_13	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	66	<1:10
BH 172/24_14	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	39	<1:10
BH 172/24_15	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	15	<1:10
BH 172/24_16	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	32	1:13
BH 172/24_17	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	69	1:13
BH 172/24_18	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	34	<1:10
BH 172/24_19	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	42	<1:10
BH 172/24_20	Rind/Bulle	nein	Bluevac 3	35	neg	82	<1:10

Die getesteten 20 Bullen wurden zweimal mit Bluevac 3 geimpft und 35 Tage nach Zweitimpfung beprobt. Alle Tiere reagierten in der BTV-3-qPCR negativ. Eine Infektion mit BTV-3 kann somit ausgeschlossen werden. Dies wird auch durch die ELISA- und SNT-Daten bestätigt.

Obwohl nahezu alle Tiere im ELISA positiv reagierten, konnte im BTV-3-SNT nur bei vier Rindern ein grenzwertiger Titer von 1:13 ermittelt werden.

Für die weiteren 16 Tiere konnten, nach zweimaliger Bluevac 3-Applikation, keine neutralisierenden Antikörper festgestellt werden.

Bestand 14: Wiederkäuer - 2x mit Bluevac 3 geimpft

NRL-Nummer	Tierart	Impf-Historie	1. und 2. Impfung	dpv2	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 151/24_01	Ziege	keine	Bluevac 3	15	neg	98	<1:10
BH 151/24_03	Ziege	keine	Bluevac 3	15	neg	80	<1:10
BH 151/24_05	Ziege	keine	Bluevac 3	15	neg	40	<1:10
BH 151/24_06	Ziege	keine	Bluevac 3	15	neg	84	<1:10
BH 151/24_07	Schaf	BTV8	Bluevac 3	15	neg	4	<1:10
BH 151/24_08	Schaf	BTV8	Bluevac 3	15	neg	5	<1:10
BH 151/24_09	Schaf	BTV8	Bluevac 3	15	neg	7	<1:10
BH 151/24_10	Rind	BTV8	Bluevac 3	15	31,3	4	>1:2560*
BH 151/24_11	Rind	BTV8	Bluevac 3	15	22,8	4	1:40*

* Infektions-Antikörper

Der gemischte Bestand wurde zweimal mit Bluevac 3 geimpft und 15 Tage nach Zweitimpfung beprobt. Tiere mit BTV-8-Impfhistorie zeigten deutlich positive ELISA-Ergebnisse. Die beiden Rinder konnten mittels BTV-3-qPCR als BTV-3 infiziert identifiziert werden. Für das Rind 10 konnte bei einem relativ hohen Ct-Wert in der qPCR ein sehr hoher SNT-Titer ermittelt werden. Beides spricht für eine länger zurück liegende Infektion mit BTV-3. Für das Rind 11 konnte eine hohe Viruslast (=niederer Ct-Wert) und ein noch recht geringer SNT-Titer ermittelt werden. Hier sprechen beide Untersuchungsergebnisse für eine „frische“ Infektion bei dem Tier.

Bei den Ziegen und Schafen konnte mittels Genomnachweis eine BTV-3-Infektion ausgeschlossen werden. Einen BTV-3-SNT-Titer dieser zweimalig mit Bluevac 3 geimpften Ziege und Schafe konnte nicht nachgewiesen werden. Von den 4 Ziegen ohne Impfhistorie zeigte nur ein Tier ein positives Ergebnis im ELISA.

Bestand 15: Mufflon - 1x mit Syvazul 3 und ein weiteres Mal mit Bultavo 3 geimpft

NRL Nummer	Tierart	Impf-Historie	1. Impfung	dpv1	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3	NRL Nummer	2. Impfung	dpv2	BTV3-qPCR	BTV-ELISA IDEXX SN%	SNT-BTV3
BH 132/24_01	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	neg	107	<1:10	BH 152/24_01	Bultavo 3	21	neg	8	1:50
BH 132/24_02	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	neg	70	<1:10	BH 152/24_02	Bultavo 3	21	neg	5	1:16
BH 132/24_03	Mufflon	BTV8	Syvazul 3	55	neg	5	<1:10	BH 152/24_03	Bultavo 3	21	neg	4	1:40
BH 132/24_04	Mufflon	BTV8	Syvazul 3	55	neg	5	<1:10	BH 152/24_04	Bultavo 3	21	neg	4	1:13
BH 132/24_05	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	neg	108	1:13	BH 152/24_05	Bultavo 3	21	neg	7	1:64
BH 132/24_06	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	neg	94	<1:10	BH 152/24_06	Bultavo 3	21	neg	7	1:16
BH 132/24_07	Mufflon	BTV8	Syvazul 3	55	neg	6	<1:10	BH 152/24_07	Bultavo 3	21	27,9	4	1:1600*
BH 132/24_08	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	25,3	5	1:160*	BH 152/24_08	Bultavo 3	21	27,0	5	1:1600*
BH 132/24_09	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	neg	100	<1:10	BH 152/24_09	Bultavo 3	21	neg	6	1:64
BH 132/24_10	Mufflon	keine	Syvazul 3	55	neg	115	<1:10	BH 152/24_10	Bultavo 3	21	neg	9	1:40

* = Infektions-Antikörper

Die zehn Mufflons im Bestand wurden mit Syvazul 3 erstimmunisiert und mit Bultavo 3 zweitgeimpft. Die erste Beprobung (55 dpv1) erfolgte zum Zeitpunkt der Zweitimpfung und die Zweitbeprobung dann 3 Wochen später. Zwei Tiere wurden mittels positiver BTV-3-qPCR als infiziert identifiziert. Das BTV-3-infizierte Tier 8 zeigte 55 Tage nach Erstimpfung neben der positiven PCR auch eine deutliche Reaktion im ELISA und im SNT. Der, bei dieser Beprobung, festgestellte moderate SNT-Titer deutet auf eine relativ frische Infektion zu diesem Zeitpunkt hin. Die Proben des Tier 7 waren 55 Tage nach Erstimpfung noch in der PCR und im SNT negativ. Erst 21 Tage nach Zweitimpfung konnte ein positives PCR-Ergebnis und ein sehr deutlicher SNT-Titer von 1:1600 ermittelt werden. Die Ergebnisse der beiden infizierten Tiere deuten darauf hin, dass die einmalige Impfung mit Syvazul 3 die Feldinfektion mit BTV-3 nicht verhindern konnte.

Bei allen nicht-infizierten Tieren konnten nach einmaliger Impfung mit Syvazul 3 nur negative bis grenzwertige SNT-Ergebnisse erzielt werden. Nach Zweitimpfung mit Bultavo 3 reagierten alle nicht-infizierten Tiere mit einem moderaten SNT-Titer-Anstieg bis zu 1:64.

Bemerkenswert ist die Entwicklung der ELISA-Ergebnisse nach zweiter Impfung. Alle Mufflons reagierten sehr deutlich im ELISA. Die Ursache für diese kräftige ELISA-Reaktivität nach zweiter Impfung ist unklar. Ob hier die Syvazul 3/Bultavo 3 - Impfstrategie oder die 55 Tage zwischen 1. und 2. Impfung bedeutsam sind, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Auch die Tierart Mufflon könnte in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen.

4. Vorläufige Schlussfolgerungen aufgrund der bisherigen Daten

- Die vergleichenden Analysen zu den am häufigsten in Deutschland genutzten gruppenspezifischen BTV-ELISA von IDEXX und IDvet deuten nicht darauf hin, dass es bedeutsame Unterschiede bei der Bewertung von diagnostischen Proben nach ELISA-Testung gibt.
- Eine zweimalige Impfung mit den gestatteten BTV-3-Vakzinen erhöht den Anteil von ELISA-positiven Tieren im Vergleich zu einmal geimpften Tieren deutlich, auch wenn nicht alle Tiere nach zweimaliger Impfung im ELISA positiv reagierten.
- Ein sicherer direkter Zusammenhang zwischen ELISA-Ergebnis und Nachweis von neutralisierenden Antikörpern konnte nicht identifiziert werden.
- Schafe profitieren von einer zweimaligen Impfung mit Bultavo 3 sowohl qualitativ als auch quantitativ. Alle getesteten Schafe haben dann nachweisbare neutralisierende Antikörper und auch der festgestellte SNT-Titer steigt für die zweifach geimpften Schafe deutlich. Dem gegenüber konnten bei einmalig mit Bultavo 3 geimpften Schafe weniger positive Ergebnisse im SNT erzielt werden und ebenso die dann ermittelten SNT-Titer sind geringer als nach Zweifach-Impfung.
- Rinder bilden nach zweimaliger Impfung mit Bultavo 3 ebenfalls neutralisierende Antikörper. Diese bleiben auch für mehrere Monate nach Impfung stabil nachweisbar.
- Schafe und Rinder, die mit Syvazul 3 oder Bluevac 3 geimpft wurden, weisen nur wenige bis keine neutralisierenden Antikörper auf.
- Bei Tieren, die mit zwei unterschiedlichen BTV-3-Impfstoffen zweifach vakziniert wurden, können nur dann robuste neutralisierende Impf-Antikörper nachgewiesen werden, wenn eine der beiden Impfungen mit Bultavo-3 realisiert worden ist.

5. Danksagung

Das NRL-BT bedankt sich ganz besonders bei den Einsendern der Proben für diese Impfkontrollstudie (Dr. Hans-Jürgen Seeger, TSK BW, Aulendorf; Dr. Johanna Hilke, Schafpraxis, Stoffenried; Dr. Katja Voigt, Klinik für Wdk., Oberschleißheim; Prof. Martin Ganter, Klinik für kl. Wdk., Hannover; Dr. Jens Böttcher, TGD BY, Poing; Dr. Christina Ambros, TGD BY, Ansbach; TÄ Susanne Preißing, Rhein-Lahn-Kreis, RP, Bad Ems; Dr. Mark Holsteg, TGD NRW, Bad Sassendorf; Dr. Ulrich Janowitz, Rinder-Union West e.G., Borken; Dr. Claudia Wesenauer, RinderAllianz GmbH, Woldegk; Dr. Svenja Mamerow und Ines Lemser, Friedrich-Loeffler-Institut, Jena; Dr. Jana Frahm, Friedrich-Loeffler-Institut, Braunschweig; Dr. Christine Gohl und Dr. Maike Lücht, Münchener Tierpark Hellabrunn AG; München; Dr. Uta Westerhüs, Opel-Zoo; Kronberg im Taunus; Dr. Sandra Marcordes, AG Zoologischer Garten Köln).

Ein besonderer Dank gebührt auch Frau Karin Pinger, die als technische Assistenz am NRL-BT die Probenbearbeitung nahezu allein gestemmt hat.

Ich möchte auch meiner Frau (PD Dr. Donata Hoffmann) meinen Dank aussprechen, die immer für einen intensiven Erfahrungsaustausch zur Verfügung stand, dabei half, Arbeitsspitzen am NRL-BT im privaten Bereich abzufedern, und die Studie kritisch kommentierte.