

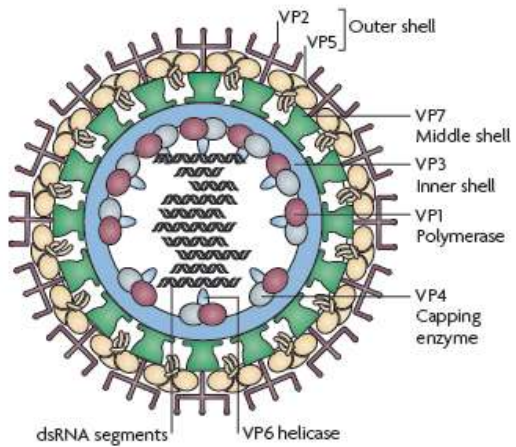
# Erfahrungen zum molekularbiologischen Nachweis von Bluetongue Virus

Dr. Adolf Steinrigl

Abteilung Molekularbiologie

Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling

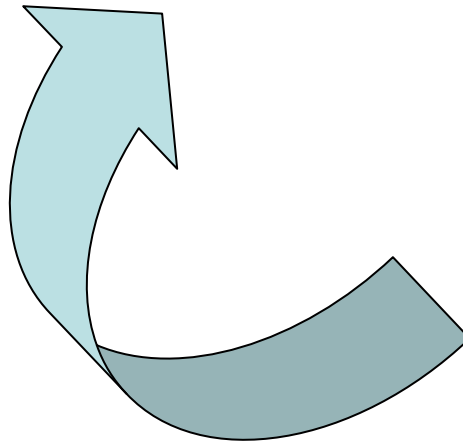
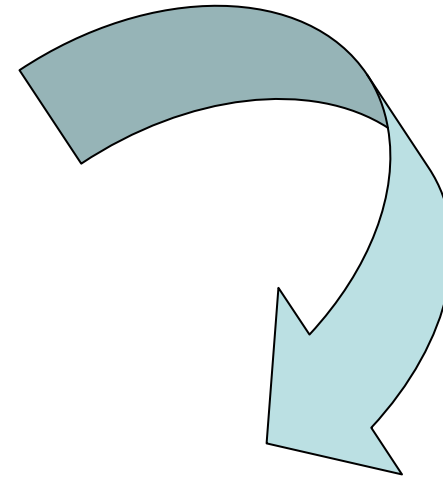
# Bluetongue Virus (BTV)



Roy et al. Nat Rev Microbiol 2009



[www.salzburg.gv.at/imicola\\_hp.jpg](http://www.salzburg.gv.at/imicola_hp.jpg)



[www.zoologie.de](http://www.zoologie.de)



# Bluetongue (Blauzungenkrankheit)



## BTV-8 in Deutschland 2006/2007

	Morbidität	Mortalität	Letalität
<b>Rinder</b>	<b>2 %</b>	<b>0,2 %</b>	<b>10 %</b>
<b>Schafe</b>	<b>6 %</b>	<b>2,5 %</b>	<b>40 %</b>

Quelle: Conraths et al., Em Inf Dis, 2009

**Anzeigepflicht !**

# Bluetongue

Restricted zones\* as of 29 September 2009

This map includes information on the bluetongue virus serotypes circulating in each restricted zone, which permits, for the purposes of Articles 7 and 8 of Regulation No 1266/2007, the identification of the restricted zones demarcated in different Member States where the same bluetongue virus serotypes are circulating.

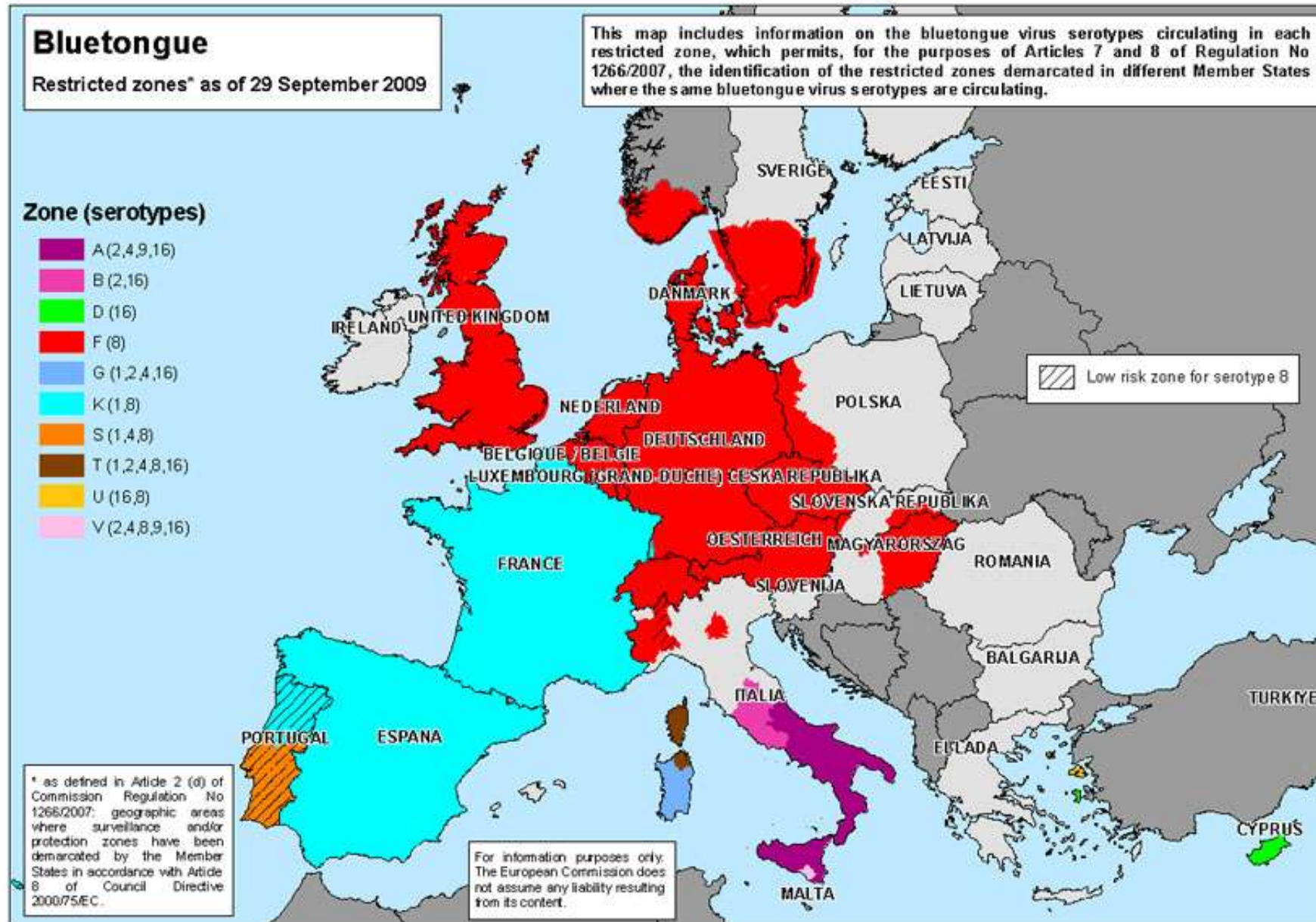
## Zone (serotypes)

- A (2,4,9,16)
- B (2,16)
- D (16)
- F (8)
- G (1,2,4,16)
- K (1,8)
- S (1,4,8)
- T (1,2,4,8,16)
- U (16,8)
- V (2,4,8,9,16)

\* as defined in Article 2 (d) of Commission Regulation No 1266/2007: geographic areas where surveillance and/or protection zones have been demarcated by the Member States in accordance with Article 8 of Council Directive 2000/75/EC.

For information purposes only. The European Commission does not assume any liability resulting from its content.

Low risk zone for serotype 8



[http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/bluetongue\\_restrictedzones-map.jpg](http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/bluetongue_restrictedzones-map.jpg)

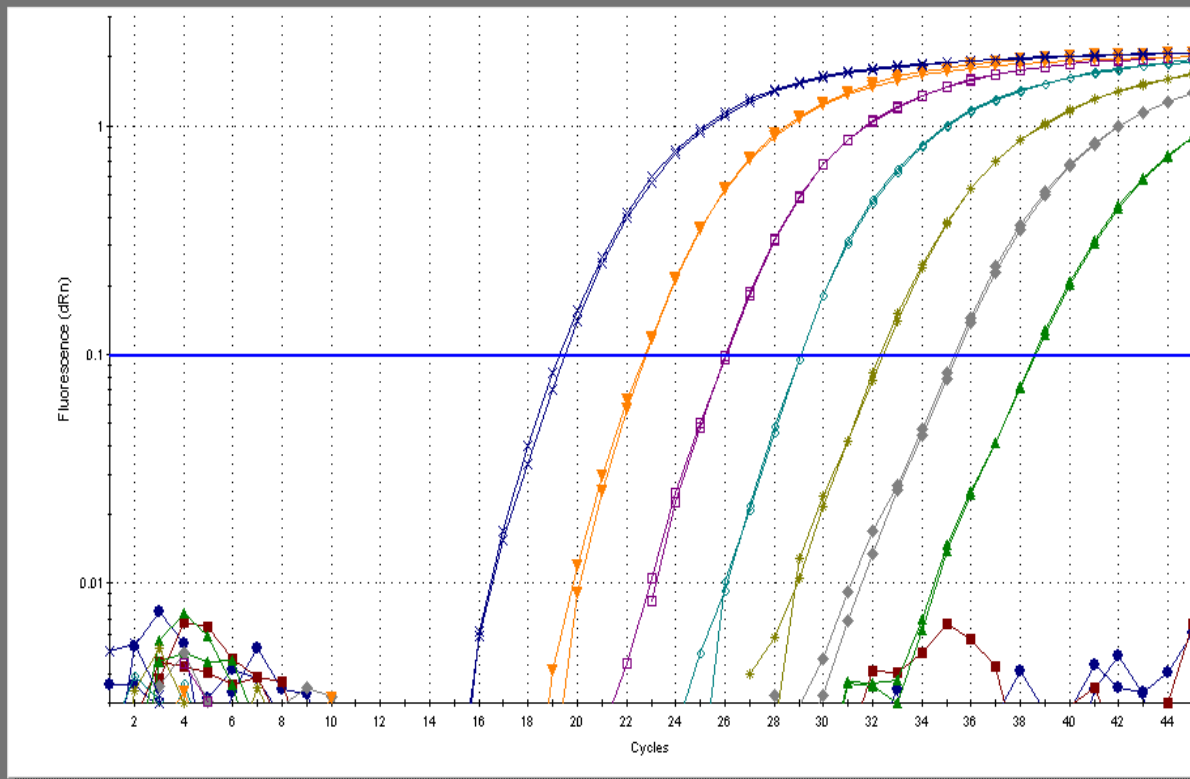
www.ages.at

# Molekularbiologischer Nachweis



- Nachweis von erregerspezifischem Erbgut (DNA/RNA) in der Probe (Blut, Gewebe)
- Polymerasekettenreaktion (PCR), *in situ* Hybridisierung
- Real-time PCR
  - Erregerspezifisches Fluoreszenzsignal während Reaktion
  - Quantitativ
    - Große Erregermenge – frühes Signal
    - Geringe Erregermenge – spätes Signal

### Amplification Plots



Menge an BTV Genom in der Probe

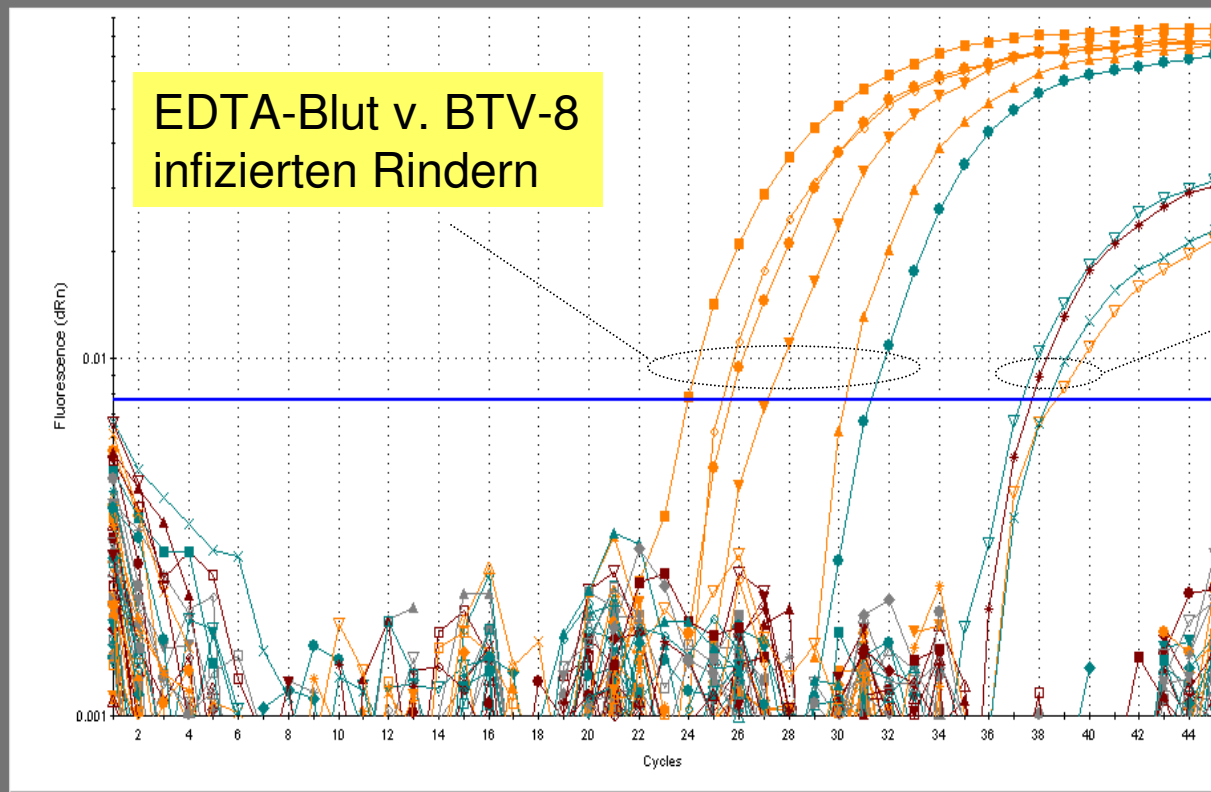
$C_T$ -Wert (real-time PCR Ergebnis)

# Molekularbiologischer Nachweis von anzeigepflichtigen Krankheiten



- Menge an erregerspezifischem Material sekundär, der qualitative Nachweis (positiv/negativ) zählt
- Nach Einsetzen der BTV-8 Impfung im Spätsommer 2008 – häufig BTV-Genomnachweis mit hohem  $C_T$ -Wert in Blutproben (ca. 10% der Ersteinsendungen; *Stockinger, 2010*)
- Nachweis durch mehrere unabhängige RT-qPCR Methoden bestätigt

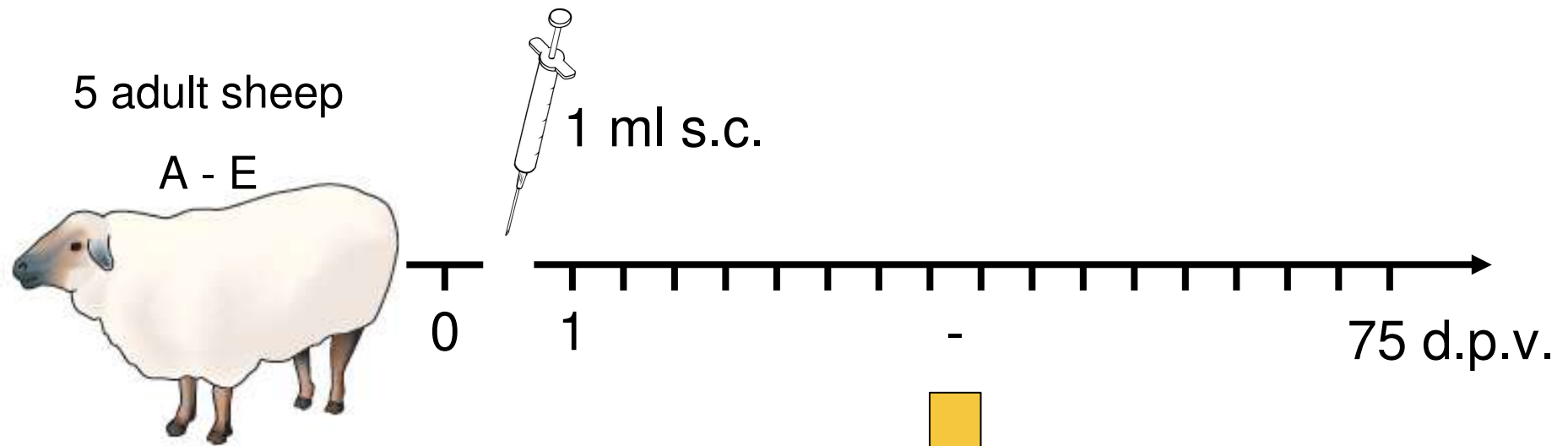
Amplification Plots



EDTA-Blut v. BTV-8 infizierten Rindern

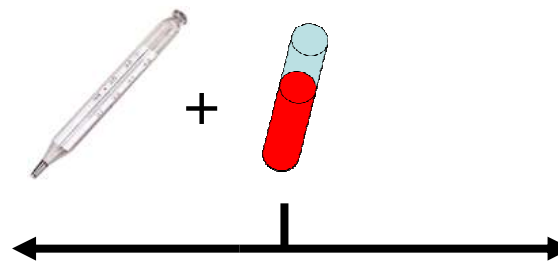
EDTA-Blut von BTV-8 geimpften Rindern

# BTV-8 Impfstoff in geimpften Tieren vorübergehend detektierbar?

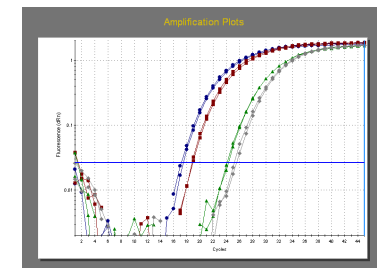


Source: Roy et al. Nat Rev Microbiol 2009

ELISA



RT-qPCR



# Zusammenfassung/Ausblick



- Vorübergehende Detektierbarkeit (2-3 Wochen) von BTV-Genom nach BTV-8 Impfung bei Schafen und Rindern
- Unterschied in Höhe der  $C_T$ -Werte zwischen BTV-8 geimpften und feldinfizierten Tieren
- Diplomarbeit: Festlegung eines Cut-Off Wertes für RT-qPCR zur Unterscheidung von geimpften u. feldinfizierten Tieren

# Danksagung



Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling

[www.ages.at](http://www.ages.at)

**O. Univ. Prof. Dr. Josef Köfer**  
(Bereichsleiter Veterinärmedizin AGES)

**Ao. Univ. Prof. Dr. Petra Winter**  
(IVET Mödling)

**Dr. Sandra Revilla-Fernández**  
(Abteilung Molekularbiologie, Mödling)

**Dr. Angelika Loitsch**  
(Abteilung Hochsicherheitslabor,  
Mödling)

**Dr. Michaela Eichinger**  
(Abteilung Serologie, Mödling)

**Dr. Johannes Hofrichter**  
(DSR Graz)

**Reinhold Stockinger**