FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT
FLI
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Amtliche Methodensammlung

Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen)

1. Charakterisierung der Infektion
2. Untersuchungsmaterial
3. Untersuchungsgang

Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen)

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Die Erreger der Pferdeenzephalitiden sind Viren des Genus *Alphavirus* der Familie *Togaviridae*. Es handelt sich dabei um die Viren der Eastern equinen Enzephalomyelitis, der Western equinen Enzephalomyelitis und der Venezuelan equinen Enzephalomyelitis. Diese Erreger gehören zu der Gruppe der Arboviren, die bei einer Infektion mittels hämatophager Insekten aus dem ökologischen Reservoir (Vögel für Eastern und Western; kleine Nager für Venezuelan) auf neue Wirte übertragen werden. Pferde und Menschen stellen bei diesen Infektionen Fehlwirte dar, von denen im Fall von Eastern und Western keine direkte Übertragung auf andere Individuen der gleichen Spezies möglich ist. Bei der Venezuelan equinen Enzephalomyelitis ist eine solche Intraspeziesübertragung jedoch beschrieben.

1.2 Klinische Symptomatik

Western und Eastern equine Enzephalomyelitis
Bei Pferden sind die Enzephalomyelitiden durch Fieber, Anorexie und starke Depression charakterisiert. Infektionen von Pferden mit dem Eastern-Enzephalomyelitisvirus verlaufen meist tödlich, wohingegen Infektionen mit dem Western-Enzephalomyelitisvirus häufig einen subklinischen oder milden Verlauf zeigen. Im letzteren Fall liegt die Mortalität bei unter 30 %.
Auch beim Menschen können diese Viren schwere bis tödlich verlaufende Krankheiten mit ähnlicher Symptomatik hervorrufen.

Venezuelan equine Enzephalomyelitis
Die Symptome einer Erkrankung mit dem Virus der Venezuelan equinen Enzephalomyelitis reichen bei Equiden und Menschen in Abhängigkeit von dem beteiligten Subtyp von milden fiebrigen Reaktionen auf die Infektion bis zu tödlich verlaufenden Enzephalomyelitiden.

1.3 Differentialdiagnose

Alle mit Fieber und neurologischen Symptomen einhergehenden Erkrankungen bei Pferden. Da solche Virusinfektionen allerdings bisher noch nicht außerhalb des amerikanischen Kontinentes aufgetreten sind, sollten epidemiologische Zusammenhänge mit berücksichtigt werden.

1.4 Diagnostische Indikation

Tierseuchendiagnostik gemäß Tiergesundheitsgesetz

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Nationales Referenzlabor (NRL) für Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen) am Friedrich-Loeffler-Institut, Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems, Tel. 0383517-0

1.6 Rechtsgrundlagen

Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils gültigen Fassung

2. Untersuchungsmaterial

2.1 Vorsichtsmaßnahmen

Da es sich bei den Viren der equinen Enzephalomyelitiden um Erreger handelt, die potentiell auch Menschen infizieren können, ist während der Probenahme und der Verarbeitung der Proben bei Verdacht auf equine Enzephalomyelitis für den Probenehmer ein Schutz vor einer viralen Infektion empfohlen, sofern geimpftes Personal nicht zur Verfügung steht.

2.2 Probenmaterial

Für die serologische Untersuchung
Nativblutprobe oder Serum
Für die virologische Untersuchung
Organmaterial (Gehirn, Rückenmark)

2.3 Zeitpunkt der Probenahme

Der günstigste Zeitpunkt für eine Probenahme bei Verdacht auf eine Infektion mit einem equinen Enzephalomyelitisvirus ist wenige Tage nach der Infektion, da sich zu diesem Zeitpunkt IgM-Antikörper serologisch nachweisen lassen und auch eine Virusanzucht am einfachsten gelingt. Eine Organentnahme für die Virusanzucht erfolgt *post mortem*.

2.4 Probenversand

Der Versand von Probenmaterial muss in Sicherheitsbehältern für Erreger der Sicherheitsstufe L3 erfolgen. Blut- und Organproben sollten in gefrorenem Zustand versendet werden.

Im Anschreiben ist anzugeben:

- Wer sendet ein? (Veterinäramt, Bearbeiter; inkl. dienstlicher und eventuell privater Telefon- und Fax-Nummer)

- Was wird eingesandt? (Art des Materials, von welchen Tieren, Anzahl etc.)
- Aus welchem Bestand stammen die Proben?
- Was wurde wann in dem Bestand festgestellt? (anamnestischer Kurzbericht)
- Bemerkungen und weitere Hinweise auf eine mögliche Erregereinschleppung.

3. Untersuchungsgang

3.1 Antikörpernachweis

Gemäß OIE-Methoden können Antikörper aus infizierten Seren mittels Plaque-Neutralisationstest, Haemagglutinations-Hemmungstest, der Komplementfixierung oder einem IgM-Capture-ELISA nachgewiesen werden. Um eine sichere Diagnose abgeben zu können, ist für alle Testsysteme ein vierfacher Anstieg des Antikörpertiters Voraussetzung.

3.2 Virusnachweis

Der Nachweis von Viren kann direkt aus dem eingesendeten Organmaterial gemäß den Methoden der OIE erfolgen. Dabei kann das Virus aus dem Feldmaterial durch Inokulation von neugeborenen Mäusen, embryonierten Hühnereiern, Zellkulturen oder frisch geschlüpften Küken angezüchtet werden. Anschließend wird das Virus mittels Komplementfixierung, Immunfluoreszenz oder den Plaque-Neutralisationstest identifiziert.

Des Weiteren erfolgt der Nachweis von viraler RNA mittels einer nested-reversen Transkriptase Polymerasekettenreaktion (nRT-PCR). Hierbei wird für die Erreger der Eastern und der Western equinen Enzephalomyelitis eine kombinierte nested PCR durchgeführt. Die Identifikation erfolgt dann über die Auswertung der PCR-Produkte, die sich durch den Einsatz von spezifischen Primern leicht anhand ihrer Größe unterscheiden lassen. Virale RNA des Venezuelan equinen Enzephalomyeltisvirus wird in einer von der OIE empfohlenen semi-nested PCR nachgewiesen.

Ebenfalls möglich ist der RNA-Nachweis mittels quantitativer RT-PCR, bei der neben virusspezifischen ~~Proben~~ Primern eine virusspezifische fluoreszenzmarkierte Sonde eingesetzt wird. Durch den parallelen Einsatz synthetischer Kalibrierungs-RNA kann neben der Identifikation der viralen Infektion auch die Virenlast in einem Reaktionsansatz ermittelt werden.
Diese Methoden des Nachweises der viralen RNA durch nRT-PCR und qRT-PCR sind Bestandteile der Diagnostik des nationalen Referenzlabors für equine Enzephalomyelitiden.

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10, D-17493 Greifswald – Insel Riems, www.fli.de