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

Amtliche Methodensammlung

Rifttalfieber

1. Charakterisierung der Infektion
2. Untersuchungsmaterial
3. Untersuchungsgang

Rifttalfieber (RVFV-Infektion)

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Das Rifttalfieber-Virus (engl. Rift Valley Fever virus, RVFV) ist ein behülltes Einzelstrangvirus mit einem segmentierten RNA-Genom. Es gehört zur Familie der *Bunyaviridae*, Genus *Phlebovirus*, und tritt nur in einem Serotyp auf. Die drei RNA-Segmente kodieren für die RNA-Polymerase (L-Segment), für die zwei Hüllproteine Gc und Gn (M-Segment) sowie für das Nukleokapsidprotein (S-Segment). Der Erreger ist bisher nur in Afrika sowie auf der arabischen Halbinsel nachgewiesen worden. Das Rifttalfieber-Virus gehört zur Gruppe zoonotischer Arboviren und wird durch mehr als 30 Stechmückenarten übertragen hauptsächlich der Gattung *Aedes*, *Culex* und *Anopheles*.

1.2 Klinische Symptomatik

Kennzeichnend für die Erkrankung sind hämorrhagisches Fieber sowie eine hochgradige Leberschädigung. Besonders empfänglich sind Hauswiederkäuer (Schaf, Ziege, Rind), eine Erkrankung dieser Spezies führt zu hohen Abortraten und einer hohen Mortalität bei Neugeborenen. Resistenter gegenüber einer Infektion mit dem Erreger sind ältere, nicht tragende Tiere. Neben Hauswiederkäuern sind auch Kamele besonders empfänglich für eine Infektion mit dem Rifttalfieber-Virus. Die Abortraten bei Kamelen sind vergleichbar mit denen beim Rind, jedoch erkranken Kamele meist klinisch inapparent. In jüngster Zeit wurden jedoch auch akute und perakute Verlaufsformen beschrieben.
Eine Infektion des Menschen mit dem Rifttalfieber-Virus erfolgt in der Regel durch Kontakt mit infiziertem Material z. B. bei der Geburtshilfe oder Schlachtung. Beim Menschen beträgt die Inkubationszeit drei bis sieben Tage, wobei man zwischen milden, schweren bis hin zu tödlichen Verläufen unterscheidet. Während es bei milden Verläufen nach zwei bis sieben Tagen meist zu einer spontanen Erholung kommt, können bei schweren Erkrankungen eine Retinitis, hämorrhagisches Fieber und eine Meningoenzephalitis auftreten.

1.3 Differentialdiagnose

Alle mit Fieber und Symptomen einer Leberschädigung einhergehenden Erkrankungen bei Wiederkäuern. Da solche Virus-Infektionen allerdings bisher noch nicht außerhalb des afrikanischen Kontinentes und der arabischen Halbinsel aufgetreten sind, sollten epidemiologische Zusammenhänge mitberücksichtigt werden.

1.4 Diagnostische Indikation

Tierseuchendiagnostik gemäß Tiergesundheitsgesetz.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Nationales Referenzlabor am Friedrich-Loeffler-Institut,
Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems, Tel. 038351-7-1182/1189
Beim Vorliegen eines Verdachtes auf eine RVFV-Infektion bei einem Tier sind nachfolgend genannte Proben unverzüglich an das Nationale Referenzlabor zu senden, wo alle notwendigen Abklärungsuntersuchungen durchgeführt werden.

1.6 Rechtsgrundlagen

Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils gültigen Fassung

2. Untersuchungsmaterial

2.1 Vorsichtsmaßnahmen

Da es sich beim Rifttalfieber-Virus um einen Erreger handelt, der potentiell auch Menschen infizieren kann, ist während der Probenahme und der Verarbeitung der Proben bei Verdacht auf RVFV für den Probenehmer ein Schutz vor einer viralen Infektion empfohlen.

Für die serologische Untersuchung:	Nativblutprobe oder Serum
Für die virologische Untersuchung:	EDTA-Vollblut, Plasma, Serum bzw. *post-mortem*-Organmaterial (besonders Gehirn und Leber) bitte gut gekühlt versenden!

3. Untersuchungsgang

3.1 Vorsichtsmaßnahmen

Rifttalfieber-Virus (RVFV) ist ein Erreger der Risikogruppe 3. Das Arbeiten mit potenziell RVFV infiziertem Material und RVFV-Kulturen kann nur in Laboratorien der Sicherheitsklasse 3 erfolgen.

Rifttalfieber (RVFV-Infektion)

3.1.1 Antikörpernachweis

Gemäß OIE-Methoden können Antikörper aus infizierten (am besten geeignet: febrile) Seren mittels Virus-Neutralisationstest bereits drei Tage nach der Infektion nachgewiesen werden. Nach ca. sechs bis sieben Tagen gelingt ein Antikörpernachweis mittels ELISA (IgM oder IgG) oder Haemagglutinations-Hemmungstest. Seltener werden eine Immunfluoreszenz, eine Komplementfixierung oder ein Immundiffusionstest durchgeführt.

Im Referenzlabor werden folgende modifizierte OIE-Methoden angewandt:

- Für den Nachweis von RVFV-spezifischen Antikörpern mittels ELISA-Technik stehen ein kompetitiver multispezies-ELISA und ein capture ELISA zum Nachweis von IgM-Antikörpern (Schaf, Ziege Rind) zur Verfügung.
- Die indirekte Immunfluoreszenz kann auch für den Nachweis von Antikörpern gegen Virusantigene aus tierischen Seren eingesetzt werden. Dabei werden mit einem RVF Impfstamm MP-12 infizierte Vero-Zellen mit dem fraglichen Serum inkubiert und die Bindung von Antikörpern aus dem Serum mittels speziesspezifischer Zweitantikörper detektiert.
- ~~Darüber hinaus kann die indirekte Immunfluoreszenz auf kommerziell erhältlichen Objektträgern auch im S2-Bereich durchgeführt werden. Dazu werden die passenden speziesspezifischen Zweitantikörper entsprechend der zu untersuchenden Tierart eingesetzt.~~

3.1.2 Virusnachweis

Der Nachweis von viraler RNA in Blut- bzw. Organproben kann mittels verschiedener real-time PCR (qRT-PCR) Verfahren entsprechend den Literaturangaben erfolgen. Hierbei wird die virale RNA des L-, M-Segments oder des S-Segments nachgewiesen. Für die Diagnostik im Referenzlabor findet derzeit das qRT-PCR-Verfahren nach Bird *et al*. (J. Clin. Microbiol. 2007, 45, 3506-13) Anwendung, dessen Target-Region auf dem L-Segment zu finden ist. Die Amplifikation erfolgt auf Basis des QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen) in 25µl Gesamtvolumen als duplex-Assay, da der Ansatz zusätzlich eine interne Extraktionskontrolle (Bakteriophage MS2) enthält.

Gleichzeitig kann aus dem eingesandten Material, wenn erforderlich, auch eine direkte Virusanzucht auf verschiedenen Säugerzellkulturen erfolgen. Diese Arbeiten können aber nur im S3 Sicherheitslabor durchgeführt werden.

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