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

Amtliche Methodensammlung

Vesikuläre Schweinekrankheit (SVD)

1. **Charakterisierung der Infektion**
2. **Untersuchungsmaterial**
3. **Untersuchungsgang**

Vollständig überarbeitete Version, Stand 09.11.2017

Vesikuläre Schweinekrankheit

1. Charakterisierung der Infektion

Die vesikuläre Schweinekrankheit (gebräuchlich ist die von der englischen Bezeichnung *swine vesicular disease* abgeleitete Abkürzung SVD) hätte für sich genommen nur eine geringe veterinärmedizinische und wirtschaftliche Bedeutung; jedoch können manche Isolate beim Schwein klinische Krankheitszeichen auslösen, die denen der Maul- und Klauenseuche (MKS) ähneln. Daher ist die SVD in Deutschland weiterhin anzeigepflichtig, obwohl sie seit 2015 nicht mehr in der OIE-Liste geführt wird und in Europa nur noch in kleinbäuerlichen Schweinebeständen Süditaliens vorkommt. In Deutschland ist die Erkrankung seit den 1980er Jahren nicht mehr aufgetreten, jedoch ist für die Ausfuhr von Schweinen oft eine serologische Untersuchung zur Bestätigung der Freiheit der Tiere erforderlich.

1.1 Erreger

Die SVD wird durch ein Enterovirus aus der Familie der *Picornaviridae* verursacht. Es besteht eine Verwandtschaft zu humanen Coxsackieviren, jedoch hat das Virus (swine vesicular disease virus, SVDV) kein zoonotisches Potential. SVDV hat eine außerordentlich hohe Tenazität; es kann in Schweinekot und in tierischen Produkten über Monate infektionsfähig bleiben und ist über einen weiten pH-Bereich hinweg stabil. Außer von der Verfütterung von Speiseabfällen geht daher auch von unzureichend desinfizierten Transportfahrzeugen ein Ansteckungsrisiko aus. Insgesamt ist die SVD jedoch deutlich weniger kontagiös als andere anzeigepflichtige Tierseuchen beim Schwein wie z. B. MKS oder klassische Schweinepest.

1.2 Klinik

Eine Infektion mit SVDV kann in schweren Fällen zum Auftreten von Bläschen am Rüssel, an den Extremitäten, an der Maulschleimhaut und dem Gesäuge führen. Jedoch sind in den letzten Jahren kaum noch klinische Fälle der SVD beschrieben worden, die Krankheit war meist nur noch serologisch festzustellen.

1.3 Differenzialdiagnose

Bei klinischem Verdacht auf SVD ist stets an die Möglichkeit eines MKS-Ausbruchs zu denken! Als weitere Differenzialdiagnosen kommen u. a. Stomatitis vesicularis und eine Infektion mit Senecavirus A in Betracht.

1.4 Diagnostische Indikation

Handelsuntersuchungen, differenzialdiagnostische Abklärung, Seuchenverdacht

Bei klinisch unauffälligen Tieren, die im SVDV-Antikörper-ELISA positiv reagiert haben, ist nicht unmittelbar eine virologische Untersuchung erforderlich! Hier muss zuerst das ELISA-Ergebnis im Neutralisationstest bestätigt werden.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Erregernachweis bei klinischem Verdacht

Bei klinischem Verdacht auf SVD muss umgehend eine differenzialdiagnostische Abklärung erfolgen, bei der auch eine Infektion mit dem MKS-Virus ausgeschlossen werden muss. Der MKS-Ausschluss kann an allen veterinärmedizinischen Untersuchungseinrichtungen der Länder durchgeführt werden. Für die virologische Untersuchung auf SVDV werden die Proben von dort an das FLI weitergeleitet oder können in dringenden Fällen nach Rücksprache mit dem Untersuchungsamt auch direkt eingeschickt werden. Bitte direkte Einsendungen vorher telefonisch oder per E-Mail ankündigen und ein Anschreiben mit den folgenden Angaben beifügen:

- Wer sendet ein? (unbedingt Telefon-/Handynummer für Rückfragen angeben!)
- Was wird eingesandt? (Art des Materials, von welchen Tieren, Anzahl etc.)
- Aus welchem Bestand stammen die Proben?
- Was wurde wann in dem Bestand festgestellt? (Kurzanamnese)
- Überblick über empfängliche Tierarten im Bestand
- Art des Bestandes (Zucht-, Mast-, Händler etc.)
- Wurden in den letzten 6 Wochen Klauentiere neu eingestallt oder abgegeben?

Nationales Referenzlabor (NRL) für vesikuläre Schweinekrankheit
Institut für Virusdiagnostik
Friedrich-Loeffler-Institut
Südufer 10
17493 Greifswald-Insel Riems
Tel. 038351/7-0

Serologische Untersuchung von klinisch unauffälligen Tieren

Zum Nachweis von Antikörpern gegen SVDV steht ein zugelassener, kommerziell vertriebener ELISA zur Verfügung, der u. a. auch in privaten Untersuchungseinrichtungen eingesetzt wird. Dabei dürfen aber nur vom FLI freigegebene Chargen verwendet werden. Eine aktuelle Liste der gemäß §32 Tierimpfstoffverordnung freigegebenen Chargen kann von der Internetseite der Zulassungsstelle am FLI abgerufen werden: https://www.fli.de/fileadmin/FLI/Service/Zulassungsstelle/deutsch/03_d_Zul_Ch.pdf

Treten bei Handelsuntersuchungen positive Ergebnisse im SVDV-Antikörper-ELISA auf, muss dies unverzüglich der für den betroffenen Bestand zuständigen Veterinärbehörde gemeldet werden, da es sich bei der SVD um eine anzeigepflichtige Tierseuche handelt. **Bei klinisch unauffälligen Tieren begründet ein positives ELISA-Ergebnis alleine jedoch noch nicht den Verdacht eines Ausbruchs der SVD!** Unspezifische Ergebnisse im Antikörper-ELISA sind bei SVDV nicht selten und die Proben sollten zunächst zur Abklärung an das NRL weitergeleitet werden. Gemäß der Definition im Anhang zur Entscheidung 2000/428/EG ist zur Feststellung der Seropositivität nur das Ergebnis des Virusneutralisationstests aussagekräftig. Dieser wird in Deutschland ausschließlich am Institut für Virusdiagnostik des Friedrich-Loeffler-Instituts durchgeführt.

1.6 Rechtsgrundlagen

- Verordnung zum Schutz gegen die vesikuläre Schweinekrankheit in der jeweils gültigen Fassung
- Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils gültigen Fassung
- Entscheidung der Kommission 2000/428/EG vom 4. Juli 2000

2. Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial für den Erregernachweis

- **Aphthenmaterial,** d. h. abgelöstes Epithel von vesikulären Läsionen oder die Flüssigkeit aus noch nicht aufgebrochenen Vesikeln. Ist kein Epithel oder Flüssigkeit zu gewinnen, können Tupferproben von den veränderten Stellen genommen werden.
- **Kotproben** (Tupfer) von seuchenverdächtigen Schweinen sowie gesammelter Kot vom Boden ihrer Bucht oder aus angrenzenden Buchten.
- **Tonsillen**, falls Schweine diagnostisch getötet wurden oder der Verdacht in einem Schlachthof festgestellt wurde.

Wenn möglich, sollten zusätzlich zu den aufgeführten Materialien aber auch immer Serumproben mit eingesandt werden.

Falls verfügbar, können für Tupfer kommerziell erhältliche Abstrich- und Transportsysteme wie z. B. Virocult[1], UTM[2] oder ähnliche Produkte verwendet werden, sofern durch den Hersteller gewährleistet wird, dass diese keine nachteiligen Auswirkungen auf PCR-Untersuchungen haben.

Serologische Untersuchung von klinisch unauffälligen Tieren

Für den Antikörpernachweis ist Serum am besten geeignet. Wenn für die Abklärung von positiven ELISA-Ergebnissen eine Weiterleitung der Originalproben nicht möglich ist, müssen neue Proben im Betrieb genommen werden – mindestens von dem ELISA-positiven Tier, nach Möglichkeit aber auch von anderen Tieren aus der Gruppe. Dabei muss in jedem Falle die Verhältnismäßigkeit gewahrt bleiben! Die Beprobung sollte nach einem Zufallsstichprobeverfahren erfolgen, das gewährleistet, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Befallsrate von 5 % in der Gruppe festgestellt werden kann. Die Beprobung sollte sich dabei aber nur auf Kontaktschweine im Sinne der o. g. Kommissionsentscheidung erstrecken, d. h. Schweine mit direktem Kontakt innerhalb der letzten 28 Tage. Eine Bestandssperre oder andere Maßnahmen (wie in §6 der Schutzverordnung vorgesehen) sind in klinisch unauffälligen Betrieben zu diesem Zeitpunkt nicht erforderlich.

[1] https://www.check-micro.de/probenahme-transport/virocult/
[2] http://www.hain-lifescience.de/produkte/abstrich--und-transportsysteme/utm.html

Im Zuge der Blutentnahmen können auch Kottupfer von den beprobten Schweinen sowie Sammelproben vom Boden der Bucht des ELISA-positiven Schweins und aus angrenzenden Buchten genommen werden. Falls sich das positive ELISA-Ergebnis im NRL bestätigt, ist eine virologische Untersuchung der Kotproben notwendig, um eine SVDV-Infektion auszuschließen. Wenn die Kotproben bereits zusammen mit den Blutproben eingesandt wurden, entstehen dann keine Verzögerungen durch eine erneute Probennahme.

Probenverpackung und Transport

Da bei vesikulären Erkrankungen immer auch die Möglichkeit einer Infektion mit dem MKS-Virus besteht, müssen Proben aus Betrieben mit klinischem Verdacht mit besonderer Sorgfalt verpackt und transportiert werden. Die Verpackung muss so beschaffen sein, dass die Probenbehälter nicht zerbrechen oder auslaufen können und kein Kontaminationsrisiko besteht. Es ist unbedingt eine dreifache Verpackung bestehend aus den auslaufsicheren Primärgefäßen, einer wasserdichten Sekundärverpackung und einer stabilen Außenverpackung erforderlich! Die Primärgefäße sollten möglichst unmittelbar beim Verlassen des Tierhaltungsbereiches äußerlich desinfiziert werden.

Bei Proben aus seuchenverdächtigen Beständen handelt es sich um biologische Stoffe der Kategorie B (UN 3373), für die die IATA/ADR-Verpackungsanweisung 650 einzuhalten ist. Details zur Kennzeichnung und Verpackung können z. B. der Handlungshilfe „Patientenproben richtig versenden“ der Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege (BGW 09-19-011, https://www.bgw-online.de/DE/Medien-Service/Medien-Center/Medientypen/BGW-Broschueren/BGW09-19-011-Patientenproben.html) oder dem Tierseuchenbekämpfungshandbuch entnommen werden. Die Proben können gekühlt befördert werden, wenn der Transport zum Labor weniger als 24 Stunden dauert; ansonsten sollten sie im gefrorenen Zustand eingeschickt werden. Ein Auftauen während des Transports muss unbedingt vermieden werden.

Bei Proben, die nur zur Abklärung eines positiven ELISA-Ergebnisses in Beständen mit ausschließlich klinisch unauffälligen Tieren entnommen wurden, ist das Risiko, dass von den Proben eine Ansteckungsgefahr ausgeht, als minimal anzusehen. Der Versand an das NRL kann daher als freigestellte veterinärmedizinische Probe erfolgen, eine dreifache Verpackung ist jedoch trotzdem erforderlich. Falls das Serum bereits von den geronnenen Blutbestandteilen getrennt wurde, kann es bei Umgebungstemperatur transportiert werden; nicht weiter bearbeitete Probengefäße mit Serum und Blutkuchen sollten gekühlt, aber nicht gefroren, eingesandt werden. Kotproben sind immer mindestens gekühlt einzusenden.

3. Untersuchungsgang

3.1 Erregernachweis

Nachweis SVDV-spezifischer Nukleinsäuren mittels real-time RT-PCR

Geeignet für Aphthenmaterial, Organe und Kot. In dringenden Fällen liegt das Ergebnis der PCR innerhalb von 24 Stunden nach Eingang der Probe am NRL vor.

Virusnachweis in der Zellkultur

Zum Nachweis von vermehrungsfähigem Virus in PCR-positiven Proben. Geeignet hauptsächlich für Aphthenmaterial und Organproben, nur in Ausnahmefällen für Kot. Zeitbedarf 7 bis 10 Tage.

3.2 Antikörpernachweis

Antikörper sind regelmäßig ab dem 7. Tag nach Infektion nachweisbar. Der Nachweis erfolgt in der Routine mit einem kommerziell erhältlichen kompetitiven ELISA und dauert einen Tag. Ein positives Ergebnis im ELISA muss aber immer im Neutralisationstest (NT) bestätigt werden.

Bei zur Abklärung eingeschickten Proben dauert die Wiederholung der ELISA-Untersuchung und ggf. eine Bestätigung des Ergebnisses im NT 3 bis 5 Tage ab Eingang der Probe am NRL. Ist der ELISA negativ oder liegt der Neutralisationstiter unter dem des EU-Standardserums 4, sind keine weiteren Maßnahmen erforderlich. In diesem Fall gilt das Tier als seronegativ (vgl. Anhang zur Entscheidung 2000/428/EG, Kapitel I, Nr. 2, Buchstabe a und Kapitel VIII, Abschnitt C, Nr. 1) und unterliegt keinen Beschränkungen.

Es ist jedoch bekannt, dass einzelne Schweine (etwa 0,1 % aller Tiere) auch im SVDV-NT positiv reagieren können, ohne tatsächlich mit dem Virus infiziert gewesen zu sein. Die Gründe für das Auftreten dieser „singleton reactors“ sind nicht bekannt, es wird jedoch vermutet, dass es sich dabei um Kreuzreaktionen mit anderen, nicht identifizierten Picornaviren handelt. Bei einem positiven NT-Ergebnis sind daher weitere Untersuchungen im Bestand notwendig, um das Vorliegen einer SVDV-Infektion auszuschließen. Diese werden von der zuständigen Behörde anhand der Maßgaben in der Entscheidung 2000/428/EG angeordnet, aber hier ist angesichts der epidemiologischen Situation ein zurückhaltendes Vorgehen angezeigt. Durch die Untersuchung von Kotproben mittels real-time RT-PCR kann in der Regel zeitnah eine SVDV-Infektion ausgeschlossen werden. Das genaue Vorgehen sollte aber im Einzelfall abgesprochen werden und das NRL steht jederzeit gerne für eine entsprechende Beratung zur Verfügung.

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