

## Amtliche Methodensammlung

# Blauzungenkrankheit (*Bluetongue virus*)

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

## Blauzungenkrankheit (*Bluetongue virus*)

### 1. Charakterisierung der Infektion

#### 1.1 Erreger

Das Bluetongue-Virus (BTV) ist ein dsRNA Orbivirus aus der Familie *Reoviridae*. Es gehört somit zu den unbehüllten doppelsträngigen RNA-Viren mit einem segmentierten Genom. Die 10 Genomsegmente des Virus kodieren für 7 Struktur- und 4 Nichtstruktur-Proteine. Das komplette BTV-Partikel enthält ein Core mit Doppelkapsid, wobei die äußere Schale zwei Proteine (VP2 und VP5) enthält, von denen VP2 die Hauptdeterminante für den Serotyp ist.

Neben den klassischen BTV-Serotypen 1 bis 24 gibt es mittlerweile mindestens sechs weitere Serotypen, die man als atypische BTV bezeichnen kann. Diese atypischen BTV-Serotypen wurden in meist klinisch unauffälligen Schafen und Ziegen detektiert. Es gibt erste Hinweise, dass diese atypischen BTV der kleinen Wiederkäuer eine zu den klassischen BTV-Serotypen differente Pathogenese und Transmission aufweisen.

#### 1.2 Klinische Symptomatik

Die Blauzungenkrankheit ist eine infektiöse, nicht-kontagiöse und von Gnuzen übertragene Krankheit der Schafe sowie anderer domestizierter und wild lebender Wiederkäuer. In vielen Gebieten der Welt hat die Krankheit wegen der insektengebundenen Übertragung ein saisonales Auftreten. Alternative bzw. zusätzliche Transmissionsrouten scheint es bei den atypischen BTV zu geben, da hier auch Kontaktübertragung des Virus experimentell festgestellt wurde.

Die typischen klinischen Symptome sind nur beim Schaf anzutreffen, wogegen andere befallene Wiederkäuer meist asymptomatisch infiziert sind. Klinische Symptome sind massive Ödeme und Hämorrhagien mit Fieber und Entzündungen bis hin zu Ulzera der Schleimhäute. Häufig kommt es zu Trächtigkeitsstörungen mit Aborten und Fetopathien, auch durch schwach virulente Serotypen und attenuierte Viren (Impfstoffe). Typisch und namensgebend für die Krankheit ist die intensive Hyperämie und Schwellung der Zunge (Bluetongue), die aber nicht regelmäßig festgestellt werden kann.

#### 1.3 Differentialdiagnose

Grundsätzlich gilt, dass auch bei „typischer“ Symptomatik die Diagnose BT anhand des klinischen Bildes lediglich mit einer Sensitivität von 76 % und einer Spezifität von 72 % gestellt werden kann (Elbers *et al.*, 2008). Als Differentialdiagnosen kommen in erster Linie alle Zustände in Frage, die zu Ödemen und Erosionen an Schleimhäuten führen sowie solche, die Fruchtbarkeitsstörungen und Aborte verursachen. Als virale Infektionserreger sind hier zu nennen: MKSV, Rinderpest Virus, Akabane Virus, Border Disease Virus, ORF-Virus, EHDV, Bösartiges Katarrhalieber Virus, BVD/MD und BHV1. Zudem sind auch Photosensibilität, Besnotiose und Mykotoxikose als Differentialdiagnosen zu berücksichtigen.

### 1.4 Diagnostische Indikation

siehe VO zum Schutz gegen die Blauzungenkrankheit Klinischer oder epidemiologisch begründeter Verdacht

### 1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

#### Regionale Untersuchungsämter

Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Südufer 10, 17493 Greifswald - Insel Riems, Tel. 0383517-0

### 1.6 Rechtsgrundlagen

- Richtlinie 92/119/EWG des Rates vom 17. Dezember 1992 mit allgemeinen Gemeinschaftsmaßnahmen zur Bekämpfung bestimmter Tierseuchen [...]
- Richtlinie 2000/75/EG des Rates vom 20. November 2000 mit besonderen Bestimmungen für Maßnahmen zur Bekämpfung und Tilgung der Blauzungenkrankheit
- Verordnung (EG) Nr. 1266/2007 der Kommission vom 26. Oktober 2007 mit Durchführungsvorschriften zur Richtlinie 2000/75/EG des Rates hinsichtlich der Bekämpfung, Überwachung und Beobachtung der Blauzungenkrankheit [...]
- Verordnung zum Schutz gegen die Blauzungenkrankheit in der jeweils geltenden Fassung

## 2. Untersuchungsmaterial

Das am besten geeignete Untersuchungsmaterial stellt EDTA-Blut dar, da mit diesem Untersuchungsmaterial sowohl der Antikörpernachweis mittels ELISA als auch die real-time RT-PCR durchgeführt werden **kannkönnen**. Das EDTA-Blut sollte im gekühlten (+4 °C) Zustand versendet werden. Lagerung über längere Zeit sollte bei -70 °C erfolgen, weil BTV bei -20 °C nicht lange stabil bleibt.

*Post mortem* sind Milz und Lymphknoten die Organe der Wahl zur Virusisolierung, schnellstmöglicher Versand erfolgt bei +4 °C.

Für den Antikörpernachweis können EDTA-Blut oder mindestens 500 µl Serum/Plasma eingesendet werden.

## 3. Untersuchungsgang

Für den BTV-Genom-Nachweis und den Nachweis von BTV-Antikörpern stehen zugelassene Diagnostika zur Verfügung, die angewendet werden sollten. Darüber hinaus kann auf nachfolgende BTV-Nachweisverfahren hingewiesen werden. Aktuelle Methoden zur Viruscharakterisierung sollten im NRL-BT nachgefragt werden.

### 3.1 Nukleinsäurenachweis in der real-time PCR

Für den Nachweis aller Serotypen werden Pan-BTV-real-time RT-PCR eingesetzt. Hier gibt es verschiedene vom FLI zugelassene real-time RT-PCR Kits, die angewendet werden sollten. Als besonders geeignet für den

## Blauzungenkrankheit (*Bluetongue virus*)

BTV-Genom-Nachweis mittels real-time RT-PCR hat sich der Assay nach Hofmann *et al.* (2008) herausgestellt. Dieser Assay amplifiziert einen konservierten Bereich des NS3-Gens (Segment 10). Zur Charakterisierung werden spezifische real-time RT-PCR-Systeme zum Nachweis der BTV-Serotypen angewendet. Zusätzlich stehen klassische RT-PCR-Systeme zur Verfügung, die eine spezifische Amplifikation der verschiedenen Serotypen erlauben (Eschbaumer *et al.*, 2011).

### 3.2 Virusisolierung

Die Virusisolierung in embryonierten Hühnereiern ist sehr schwierig in der Durchführung (intravasale Inokulation von 10 bis 12 Tage alten Eiern). Routinemäßig erfolgt die Anzucht von BT-Viren aus gerinnungsgehemmtem Blut auf Aorten-Endothelzellen, Verozellen, Insektenzellen bzw. BSR/BHK21-Zellen. Auch eine Vermehrung auf Aorten-Endothelzellen und Verozellen ist möglich.

### 3.3 Nachweis BTV-spezifischer Antikörper

In Deutschland sind kommerzielle cELISA für den BTV-Antikörpernachweis aus Serum und Plasma zugelassen (z. B. VMRD, IDvet, IDEXX). Diese Tests werden aufgrund ihrer einfachen Anwendung, verbunden mit einer hohen Spezifität und Sensitivität, routinemäßig am FLI eingesetzt und sind die erste Wahl für die Untersuchung auf BTV-Antikörper. Weiterhin ist es möglich, mittels kommerziellen Milch-ELISA BTV-Antikörper auch in der Milch von Rind und Schaf zu detektieren. Auch hierzu steht ein zugelassener ELISA zur Verfügung (ID Screen Blue Tongue Milk Indirect, IDvet).

## 4. Literatur

- Elbers, A.R.W., Backx, A., Ekker, H.M., van der Spek, A.N., van Rijn, P.A., (2008): Performance of clinical signs to detect bluetongue virus serotype 8 outbreaks in cattle and sheep during the 2006-epidemic in The Netherlands. *Vet Micro* 129; 156-162.
- Eschbaumer, M., Wäckerlin, R., Savini, G., Zientara, S., Sailleau, C., Bréard, E., Beer, M., Hoffmann, B., (2011:) Contamination in bluetongue virus challenge experiments. *Vaccine* 29(26); 4299-301
- Hofmann *et al.* (2008): Blauzungenkrankheit erreicht die Schweiz. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 150(2); 49-56

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit  
Südufer 10, D-17493 Greifswald - Insel Riems, [www.fli.de](http://www.fli.de)