

West-Nil-Virus – Auswertung des 1. Serologie-Ringversuchs 2020

Ute Ziegler

FLI, Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger, Nationales Referenzlabor (NRL) für Infektionen mit West-Nil-Virus bei einem Vogel oder Pferd



Erstmalig wurde das West-Nil-Virus (WNV), das durch blutsaugende Stechmücken übertragen wird und ein hohes zoonotisches Potential besitzt, im Sommer/Herbst 2018 in Deutschland nachgewiesen. Diesem ersten Ausbruch folgte im Jahr darauf eine Erkrankungswelle von Anfang Juli bis Ende Oktober 2019, die eine Viel-

zahl von Wild- und Zoovogelarten und etliche Pferde betraf (labordiagnostisch bestätigt: 76 Vögel und 36 Pferde). WNV-Hotspots befanden sich 2019 hauptsächlich in Ostdeutschland, detailliert in Sachsen, Sachsen-Anhalt, Berlin, in einigen Regionen in Brandenburg sowie erstmals in Hamburg und einer Region in Thüringen, während es aus den betroffenen Regionen von 2018 in Bayern und Mecklenburg-Vorpommern für das Jahr 2019 keine WNV-Nachweise gab (siehe detailliert dazu LabLoeffler 02/2018 und 02/2019).

Wildvögel stellen das Virusreservoir dar, allerdings sind eine Vielzahl von verschiedenen Vogelspezies sehr empfänglich für WNV und versterben schnell an dieser Infektion. Das Virus kann nach einer Übertragung durch einheimische Stechmücken neben Vögeln auch Pferde und Menschen infizieren, wobei in einigen Fällen neben fieberhaften Allgemeinerkrankungen auch schwere neurologische Verlaufsformen bis hin zu Todesfällen auftreten. Für 2019 wurden erstmals 5 humane autochthone WNV-Infektionen nachgewiesen, wobei 3 Patient*innen davon ein neuroinvasives Krankheitsbild zeigten (RKI-Epidemiologisches Bulletin 25/2020).

Da für die Infektion mit dem West-Nil-Virus bei einem Vogel oder Pferd in Deutschland seit dem 18.12.2009 die Anzeigepflicht besteht, ist eine regelmäßige Überprüfung der Landesuntersuchungseinrichtungen durch das Nationale Referenzlabor (NRL) hinsichtlich der PCR- und Serologie-Diagnostikmethoden wichtig. Ein WNV-PCR-Ringtest fand im 1./2. Quartal des Jahres 2019 statt; der 1. Serologie-Ringtest folgte jetzt in 2020.

Sicherlich auch aufgrund der aktuellen WNV-Seuchenlage in 2019 haben sich weitere Untersuchungseinrichtungen kurzfristig entschlossen, auch die Serologie-Diagnostik zu etablieren und somit konnten weitere Teilnehmer in die Überprüfung einbezogen werden, als bei der letzten Umfrage von Anfang 2019 bekannt waren.

Vorbereitung

Ziel des vom NRL für WNV organisierten 1. Serologie-Ringversuchs war es, die Fähigkeit der beteiligten Labore zum sicheren Nachweis von WNV-IgM- und IgG-Antikörpern im Serum von vakzinierten und/oder feldvirusinfizierten Tieren mittels ELISA-Methodik unter Beweis zu stellen. Ein besonderes Augenmerk lag hier auf der Überprüfung der WNV-IgM-positiven Pferdeseren, da ein positiver IgM-Antikörpernachweis beim Pferd laut TSN-Falldefinition der Anzeigepflicht unterliegt.

Nach einer erneuten Umfrage bei den Untersuchungseinrichtungen im Januar 2020 haben insgesamt 15 Labore ihre Teilnahmebereitschaft für den 1. nationalen WNV-Serologie-Ringtest erklärt. Davon meldeten sich 14 Teilnehmer sowohl für den WNV-IgM- als auch den WNV-IgG-Ringtest an, lediglich ein Labor nur für den WNV-IgG-Nachweis. Zwei Labore meldeten ihre Teilnahme für beide Testverfahren später noch an.

Unter den Teilnehmern befanden sich dann final 13 Landesuntersuchungseinrichtungen, eine universitäre Einrichtung, zwei Privatlabore sowie ein Privatunternehmen.

Der reguläre Versand der Proben erfolgte Anfang Februar 2020, Zeit für die Rücksendung der Ergebnisse wurde den Teilnehmern bis Mitte März 2020 gewährt, wobei fast pünktlich alle Ergebnisse im NRL eingegangen waren. Die einzelnen Laborergebnisse wurden den Teilnehmern zusammen mit den Teilnahmezertifikaten Anfang Mai 2020 mitgeteilt, den Nachmeldern entsprechend später. Ein Labor zog trotz Erhalt der Probenpanels seine Teilnahme infolge Personalengpasses zurück.

Durchführung

Im **WNV-IgM-ELISA-Ringtest** sollten vier Serumproben mittels ID vet ID Screen® West Nile IgM Capture ELISA analysiert werden. Hierbei enthielt das Serumpanel sowohl zwei negative Seren als auch zwei Seren von feldvirusinfizierten Pferden aus der akuten Infektionsphase. Eine detaillierte Zusammenstellung der Proben zeigt die Tab. 1.

Im **WNV-IgG-ELISA-Ringtest** sollten acht Serumproben mittels ID vet ID Screen® West Nile Competition ELISA analysiert werden. Dieses Serumpanel enthielt negative Seren, tierexperimentelle Seren, Seren aus Vakzinationen sowie ein kreuzreaktives Pferdeserum. Eine Zusammenstellung der Serumproben zeigt Tab. 2.

Probe 1	negatives Pferdeserum	IgM -	negative Kontrolle
Probe 2	negatives Pferdeserum	IgM -	negative Kontrolle
Probe 3	positives Pferdeserum	IgM +	WNV-Feldinfektion in 2019
Probe 4	positives Pferdeserum	IgM +	WNV-Feldinfektion in 2019

Tab. 1: Probenpanel WNV-IgM-ELISA

Probe 1	positives Hühnerserum	IgG +	Huhn experimentell infiziert
Probe 2	positives Entenserum	IgG +	Ente experimentell infiziert
Probe 3	positives Gänseserum	IgG +	Gans experimentell infiziert
Probe 4	positives Pferdeserum	IgG +	vakziniertes Pferd
Probe 5	positives Pferdeserum	IgG +	vakziniertes Pferd
Probe 6	negatives Hühnerserum	IgG-	negative Kontrolle
Probe 7	kreuzreaktives Pferdeserum	TBEV Ak +	Feldinfektion FSMEV/TBEV
Probe 8	negatives Pferdeserum	IgG-	negative Kontrolle

Tab. 2: Probenpanel WNV-IgG-ELISA

Ergebnisse im WNV-IgM-ELISA

15 der 15 teilnehmenden Labore haben beide negativen Serumproben korrekt detektiert. Für die Untersuchung der zwei IgM-positiven Pferdeseren wurden auch von allen teilnehmenden Laboren korrekte positive Ergebnisse übermittelt. Eine detaillierte Darstellung der erzielten Ergebnisse aller Teilnehmer sind in Abb. 1 dargestellt.

Ergebnisse im WNV-IgG-ELISA

16 der 16 teilnehmenden Labore haben die zwei negativen Proben korrekt detektiert. Für die Untersuchung der drei positiven Seren aus dem WNV-Tierexperiment sowie der zwei Seren von vakzinierten Pferden wurden von allen Teilnehmern korrekte positive Ergebnisse übermittelt.

Für das kreuzreagierende TBEV-Pferdeserum (Probe 7) wurde, wie erwartet, von 15 der 16 Labore ein positives Ergebnis übermittelt. Lediglich ein Labor erzielte hier ein negatives Ergebnis mit derselben Charge, obwohl normalerweise die Kreuzreaktivität mit FSMEV/TBEV in dem ID Screen® West Nile Competition ELISA nicht erkannt wird.

Eine detaillierte Darstellung der erzielten Ergebnisse aller Teilnehmer findet sich in Abb. 2.

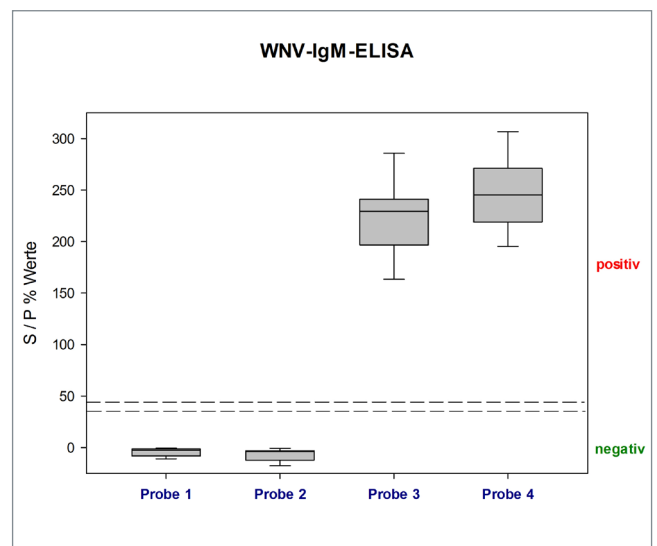


Abb. 1: Erreichte Ergebnisse aller Teilnehmer im WNV-IgM-Ringversuch

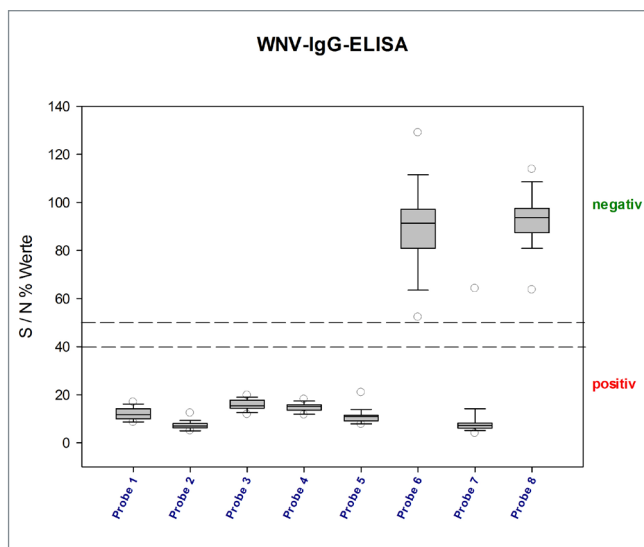


Abb. 2: Erreichte Ergebnisse aller Teilnehmer im WNV-IgG-Ringversuch

Schlussfolgerungen

Allen Laboren konnte eine erfolgreiche Teilnahme am 1. WNV-Serologie-Ringversuch 2020 bescheinigt und somit eine gute Durchführbarkeit der ELISA-Serologie attestiert werden. Erfreulicherweise führen alle Labore, bis

auf einen Teilnehmer, sowohl die WNV-IgM- als auch die WNV-IgG-Serologie durch, was eine gute Grundlage darstellt, um einen sicheren Nachweis zur Anzeigepflicht beim Pferd zu erbringen (positiver IgM-Antikörpernachweis). Somit sollten alle teilgenommenen Labore für das beginnende diesjährige WNV-Ausbruchsgeschehen auch auf der Serologie-Ebene gut gerüstet sein. Der Serologie-Ringtest zum Nachweis von IgG-Antikörpern hat aber zum einen auch die starke Kreuzreaktivität innerhalb der Flaviviren dargestellt, die der verfügbare ELISA derzeit nicht ausdifferenzieren kann, sowie die derzeitige Ermangelung einer sicheren Unterscheidbarkeit von geimpften und feldvirusinfizierten Tieren aufgezeigt.

Danksagung

Bei allen Untersuchungseinrichtungen, die an dem Ringversuch teilgenommen haben, bedanken wir uns herzlich für die konstruktive Zusammenarbeit. Ein weiterer Dank gilt Cornelia Steffen, Katja Wittig und Katrin Schwabe vom FLI für die tatkräftige Unterstützung bei der Vorbereitung des Ringversuchs. Ein großes Dankeschön auch an Frau Prof. Heidrun Gehlen und Frau Dr. Dagmar Trachsel von der Pferdeklinik der FU Berlin sowie an Herrn Dr. Michael Sieg vom Institut für Virologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig für die tatkräftige Hilfe bei der Bereitstellung von WNV-IgM-Referenzseren vom Pferd.

Aus der Zulassungsstelle

Jana Heidrich



Alle Informationen der Zulassungsstelle finden Sie auch auf der FLI-Homepage unter www.fli.de in der Rubrik „Service > Zulassungsstelle“.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Dr. Jana Heidrich (jana.heidrich@fli.de).

Erteilung einer Zulassung gemäß § 11 Abs. 2 des Tiergesundheitsgesetzes (12.2019 bis 07.2020)				
Bezeichnung des Mittels	Art der Anwendung	Zul.-Nr.	Datum der Zulassung	Pharmazeutischer Unternehmer
VetMAX African Swine Fever Virus Detection Kit Kurzform: VetMAX ASFV	real time PCR	FLI-C 054	11.12.2019	Thermo Fisher Scientific-LSI F-69380 Lissieu
virotype ASFV 2.0 PCR Kit Kurzform: virotype ASFV 2.0	real time PCR	FLI-C 079	17.02.2020	INDICAL BIOSCIENCE GmbH D-04103 Leipzig
CIVTEST BOVIS IBRgB Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen das Glykoprotein B (gB) des Bovinen Herpesvirus Typ 1 (BHV-1) in Serum und Plasma mittels Blocking-ELISA Kurzform: CIVTEST BOVIS IBRgB	ELISA	FLI-C 068	30.03.2020	Laboratorios Hipra, S.A. Avda. de la Selva, 135 ES-17170 Amer (Girona)
MicroSEQ Salmonella Species Real-Time PCR PPS Kit Kurzform: MicroSEQ Salmonella PPS	real time PCR	FLI-C 030	23.04.2020	gerbion GmbH & Co. KG D-70806 Kornwestheim
virellaASFV seqc real time PCR Kit Kurzform: virellaASFV seqc	real time PCR	FLI-C 080	26.05.2020	gerbion GmbH & Co. KG D-70806 Kornwestheim