

Amtliche Methode und Falldefinition

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

Inhaltsverzeichnis

Amtliche Methode	3
1. Charakterisierung der Infektion	3
1.1 Erreger	3
1.2 Klinische Symptomatik	3
1.3 Differentialdiagnose	4
1.4 Diagnostische Indikation	4
1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung	4
1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)	4
2. Untersuchungsmaterial	4
2.1 Untersuchungsmaterial (direkter Erregernachweis)	4
2.2 Untersuchungsmaterial (Serologie)	5
3. Untersuchungsgang	5
3.1 Nukleinsäurenachweis mittels real-time RT-PCR:	5
3.2 Antigennachweis in Gewebeproben	7
3.3 Virusisolation	7
3.4 Sequenzanalyse und phylogenetische Analyse	7
3.5 Antikörpernachweis mittels indirektem Immunfluoreszenztest (iIFT)	7
4. Literatur	10
Falldefinition - Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: <i>Bornaviridae</i>)	11

Amtliche Methode

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Bei Säugern wurden bisher das „klassische“ Borna disease virus 1 (BoDV-1), das Borna disease virus 2 (BoDV-2) und das Bunthörnchen-Bornavirus (variegated squirrel bornavirus 1, VSBV-1) festgestellt. Die drei Viren gehören ebenso wie die aviären Bornaviren zur Gattung *Orthobornavirus* innerhalb der Familie *Bornaviridae*. Die Feldspitzmaus (*Crocidura leucodon*) ist das einzig bekannte Reservoir des BoDV-1. Das Virus ist in Teilen Deutschlands (vor allem in Bayern, Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Brandenburg und den jeweils angrenzenden Bundesländern) sowie in begrenzten Regionen Österreichs, der Schweiz und Liechtensteins endemisch. BoDV-2 wurde bisher einmalig in der Steiermark nachgewiesen. Sein Reservoirwirt ist unbekannt. VSBV-1 wurde in Europa bislang nur in Haltungen exotischer Hörnchen (Unterfamilien Sciurinae und Callosciurinae der Familie Sciuridae) nachgewiesen. Mit wenigen Ausnahmen waren fast ausschließlich Schönhörnchen (*Callosciurus prevostii*) und Bunthörnchen (*Sciurus variegatoides*) betroffen. Die ursprüngliche Eintragsquelle in die Hörnchenhaltungen ist noch unbekannt. Einheimische Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*) sind nicht betroffen.

Bornaviren sind nicht zytolytisch und können in infizierten Wirten lebenslang persistieren. In ihren jeweiligen Reservoirwirten besitzen sie zumeist einen breiten Organotropismus und sie werden ausgeschieden. Infizierte Reservoirwirte bleiben in der Regel asymptomatisch. Im Gegensatz dazu besitzen die Viren in Nichtreservoirwirten einen strengen Neurotropismus. Sie bleiben weitgehend auf das zentrale Nervensystem beschränkt und werden nicht ausgeschieden. Infolge einer Immunpathogenese kommt es jedoch zu nichteitrigen Enzephalitiden. Der genaue Übertragungsweg vom Reservoir auf akzidentielle Wirte ist nicht bekannt.

1.2 Klinische Symptomatik

Während Reservoirwirte zumeist asymptomatisch bleiben, entwickeln akzidentell infizierte Nichtreservoirwirte schwere, oftmals tödliche neurologische Erkrankungen. Die durch BoDV-1 verursachte „Bornasche Krankheit“ ist vor allem bei Pferden, Schafen und Neuweltkameliden beschrieben, kann aber grundsätzlich bei einer Vielzahl von Säugerspezies auftreten, einschließlich des Menschen. VSBV-1-Infektionen bei Nichtreservoirwirten wurden bisher nur bei Menschen mit engem Kontakt zu infizierten Hörnchen beschrieben. Die Inkubationszeit kann wenige Wochen bis mehrere Monate betragen. Das klinische Bild kann von klassischen zentralnervösen Symptomen (Ataxie, Tortikollis, Drehbewegungen, Leerkauen, „Pfeife rauchen“) bis hin zu eher unspezifischen Erscheinungsformen (Appetitlosigkeit, Abmagerung) reichen. Der Krankheitsverlauf kann sowohl perakute Todesfälle als auch subakut bis chronische Verläufe mit zum Teil intermittierenden Krankheitsphasen umfassen.

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

Histopathologisch sind eine nichteitrige Enzephalitis sowie intranukleäre „Joest-Degen’sche Einschlusskörperchen“ kennzeichnend.

1.3 Differentialdiagnose

Differentialdiagnostisch müssen vor allem neurologische Störungen anderer Ursache in Betracht gezogen werden, wie z. B. Intoxikationen, West Nile Virus (WNV)-Infektion oder Infektionen mit dem Erreger der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Pferd, Scrapie bei Schafen sowie zerebrale Astrovirusinfektionen des Rindes.

1.4 Diagnostische Indikation

Bei **Nichtreservoirwirten**: klinisch oder histopathologisch begründeter Verdacht, insbesondere beim Vorliegen eines möglichen epidemiologischen Zusammenhangs (Kontakt in bekanntes BoDV-1-Endemiegebiet oder zu VSBV-1-infizierten Hörnchen)

Bei **Hörnchenhaltungen**: Verdachtsuntersuchung von Kontaktbeständen infizierter Haltungen; Monitoring-Untersuchungen zur Bestätigung oder Erhalt der Erregerfreiheit

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtungen

- Veterinäruntersuchungsämter, Tiergesundheitsämter bzw. staatliche Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsämter der Bundesländer
- Bestätigung und Erregertypisierung durch das Friedrich-Loeffler-Institut, (Nationales Referenzlabor für Bornavirusinfektionen der Tiere), Südufer 10, D-17493 Greifswald-Insel Riems; Ansprechpartner: Dr. Dennis Rubbenstroth, PhD, Telefon: +49 38351 7-1521, -1108

1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz - TierGesG)
- Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TKrMeldpflV)

2. Untersuchungsmaterial

2.1 Untersuchungsmaterial (direkter Erregernachweis)

Für den Nachweis einer Infektion ist der direkte Virusnachweis aus Gewebeproben oder Liquor erforderlich. Bei **Nichtreservoirwirten** ist das Virus fast ausschließlich im ZNS-nahen neuronalen Geweben nachweisbar (Gehirn, Sehnerv/Retina, Rückenmark). Sporadisch sind geringe Viruslasten in peripheren Nerven oder im

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

Liquor nachweisbar. Blut, Urin, Kot oder Maultupferproben eignen sich bei Nichtreservoirwirten nicht für den direkten Virusnachweis.

Bei **Reservoirwirten** sind die höchsten Viruslasten in der Regel ebenfalls im Gehirn zu finden, jedoch ist das Virus zumeist auch in vielen anderen Organen und in den Ausscheidungen der Tiere nachweisbar.

Bevorzugt sollte natives Gewebematerial tiefgefroren versandt werden. Tupferproben, z. B. für die Untersuchung von Hörnchen auf VSBV-1, können trocken und ungekühlt versandt werden.

2.2 Untersuchungsmaterial (Serologie)

Unterstützend können Serum-, Plasma- oder Liquorproben auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen Bornaviren untersucht werden. Ihr Nachweis ist alleine jedoch nicht ausreichend für die Bestätigung einer Infektion. Der Versand sollte gekühlt oder tiefgefroren erfolgen.

3. Untersuchungsgang

3.1 Nukleinsäurenachweis mittels real-time RT-PCR

Nach RNA-Extraktion mit Hilfe von für das jeweilige Probenmaterial geeigneten Extraktionsverfahren kann der RNA-Nachweis für Borna-Säugerviren mittels verschiedener real-time RT-PCR-Tests für die Detektion einzelner oder einer großen Bandbreite von Bornaviren erfolgen.

3.1.1 RT-qPCR für den Nachweis eines breiten Spektrums von Orthobornaviren

panBorna Mix 7.2		(Schlotta et al., 2018)
Primer	panBorna_1319+	CGCGACCMTCGAGYCTRGT
	panBorna_1529-	GACARCTGYTCCCTTCKGT
Sonde	panBorna_1471.2-FAM	FAM-AAGAAYCCHTCCATGATCTCMGAYCMAGA-BHQ1

Der Test detektiert alle bekannten Säuger-Bornaviren sowie einen Teil der bekannten aviären Bornaviren. Gegenüber spezifischen Tests für einzelne Bornaviren, z. B. BoDV-1- bzw. VSBV-1-spezifische PCRs (siehe unten), muss mit einer reduzierten Sensitivität gerechnet werden. Aufgrund des hohen Grads der Degenerierung der Primer und der Sonde erfordert dieser Test eine besonders gründliche Etablierung und ggf. Anpassung an die eigenen Laborbedingungen.

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

3.1.2 RT-qPCR Tests für den Nachweis von BoDV-1

BoDV-1 - N			(Schindler <i>et al.</i> , 2007)
Primer	BoDV-1_548+	GGT TTA AAA CTA TGA TGG CAG CCT TA	
	BoDV-1_625-	GTG GA TTA AAC ATC TGG AGT AGT GTA GC	
Sonde	BoDV-1_575_P	FAM-ACC GGC CAT CCC ATG GTG AGA C-BHQ1	
BoDV-1 - P *			(Schindler <i>et al.</i> , 2007)
Primer	BoDV-1_1303+	TCCCTGGAGGACGAAGAAGAT	
	BoDV-1_1371-	CTTCCGTGGTCTTGGTGACC	
Sonde	BoDV-1_1326-P	FAM-CCAGACACTACGACGGGAACGA-BHQ1	
BoDV-1 - Mix 1 *			(Schlottau <i>et al.</i> , 2018)
Primer	BoDV-1_1258+	TAG TYA GGA GGC TCA ATG GCA	
	BoDV-1_1419-	GTC CYT CAG GAG CTG GTC	
Sonde	BoDV-1_1316_P	FAM-AAG AAG ATC CCC AGA CAC TAC GAC G-BHQ1	
BoDV-1 - Mix 6 *			(Schlottau <i>et al.</i> , 2018)
Primer	BoDV-1_2231+	CAA TYA ATG CAG CYT TCA ATG TCT T	
	BoDV-1_2305-	GAA TGT CYG GGC CGA GAG	
Sonde	BoDV-1_2285as_P	FAM-CCA RCA CCA ATG TTC CGA AGC CG-BHQ1	

*) Die Tests BoDV-1 - P, Mix-1 und Mix-6 detektieren neben BoDV-1 auch BoDV-2.

3.1.3 RT-qPCR Tests für den Nachweis von VSBV-1

VSBV-1 - Mix-10.1			(unveröffentlicht)
Primer	VSBV-1_1260+	CATCAGACGGCTCAATGGCA	
	VSBV-1_1324-	ACTCTCTTCGTCCTCCAATG	
Sonde	VSBV-1_1296as_P	FAM-AGACTCGAGGGGCGCGATGCCAT-BHQ1	
VSBV-1 - Mix-10 *			(Hoffmann <i>et al.</i> , 2015)
Primer	VSBV-1_1243+	CTCACACTGCTTGAACATCA	
	VSBV-1_1337-	GTGGTGTCTGGAGACTCTC	
Sonde	VSBV-1_1296as_P	FAM-AGACTCGAGGGGCGCGATGCCAT-BHQ1	

*) Der Test VSBV-1 - Mix-10 detektiert auch BoDV-1, allerdings mit einer gegenüber BoDV-1-spezifischen Tests verringerten Sensitivität.

Die Verwendung einer internen Kontrolle zur Bestätigung von RNA-Qualität, Extraktionserfolg und inhibitionsfreier PCR-Reaktion wird für alle genannten Tests empfohlen. Es können entweder Primer/Sonden-Kombinationen gegen β -Aktin RNA (Toussaint *et al.*, 2007) oder gegen eine während der RNA-Extraktion zugegebene definierte Kopienzahl einer eGFP-RNA (Hoffmann *et al.*, 2006) verwendet werden.

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

Bezüglich verwendeter Reagenzien und Reaktionsbedingungen verweisen wir auf die Angaben in den Originalpublikationen (siehe Tabellen). Nach entsprechender Validierung sind auch abweichende, an die eigenen Laborgegebenheiten angepasste Vorgehensweisen möglich. Insbesondere für den „panBorna“-Test kann eine weitergehende Etablierung und Anpassung notwendig sein.

3.2 Antigennachweis in Gewebeproben

Der Antigennachweis in Gewebeproben mittels Immunhistochemie (IHC), Immunfluoreszenztest (IFT) oder Western Blot kann mit Hilfe polyklonaler Seren oder monoklonaler Antikörper gegen Bornaviren (zumeist BoDV-1) anhand publizierter Standardprotokolle erfolgen (z. B. Niller *et al.*, 2020, Schulze *et al.*, 2020). Aufgrund der antigenetischen Kreuzreaktivität innerhalb der Gattung *Orthobornavirus* lassen sich mit Hilfe polyklonaler Seren auch heterologe Bornaviren detektieren (z. B. BoDV-2, VSBV-1 und aviäre Bornaviren mit anti-BoDV-1-Seren). Dementsprechend erlauben diese Tests keine eindeutige Spezifikation des vorliegenden Bornavirus. Monoklonale Antikörper besitzen im Gegensatz dazu ein deutlich engeres Reaktionsspektrum, das oftmals auf ein einziges Bornavirus (in der Regel BoDV-1) beschränkt ist. Allerdings ist zu beachten, dass nicht immer alle Varianten des Virus erkannt werden. Für den in der Diagnostik weit verbreiteten Antikörper Bo-18 ist bekannt, dass er bestimmte BoDV-1-Isolate aufgrund einer Punktmutation in seinem Epitop nicht detektiert.

3.3 Virusisolation

Die Isolation von Bornaviren ist mit Hilfe verschiedener Zelllinien möglich. Sie erfolgt für ausgewählte Proben **in der Regel am FLI durch das Nationale Referenzlabor (NRL)**.

3.4 Sequenzanalyse und phylogenetische Analyse

Die Sequenzanalyse erlaubt eine eindeutige Identifikation des Virus und den Ausschluss von Laborkontaminationen. Darüber hinaus kann eine Zuordnung von BoDV-1 zu geographisch assoziierten Sequenzclustern die Identifikation von Infektionsquellen und die Festlegung von Risikogebieten unterstützen. Zu diesem Zweck ist geeignetes Untersuchungsmaterial (v. a. natives ZNS-Gewebe) nach Rücksprache an das **FLI NRL** zu senden. Die Durchführung erfolgt mittels konventioneller Sanger-Sequenzierung und/oder Hochdurchsatz-Sequenzierung anhand publizierter Methoden (Schulze *et al.*, 2020, Niller *et al.*, 2020, Schlottau *et al.*, 2018).

3.5 Antikörpernachweis mittels indirektem Immunfluoreszenztest (iIFT)

Der Nachweis Bornavirus-reaktiver Antikörper mittels iIFT kann aus Serum, Plasma und Liquor erfolgen. Das empfohlene Vorgehen folgt veröffentlichten Protokollen (z. B. Niller *et al.*, 2020, Schulze *et al.*, 2020, Zimmermann *et al.*, 2014).

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

3.4.1 Durchführung

Als Antigenquelle für den Nachweis werden persistent mit dem entsprechenden Bornavirus infizierte Zellkulturen eingesetzt. Prinzipiell können verschiedene Zelllinien verwendet werden. Vero-Zellen haben sich bezüglich Hintergrund-Färbung und Signalintensität als besonders gut geeignet erwiesen.

Die Präparation der Zellkulturen findet in 96-Loch-Platten statt. Die Detektionskavitäten werden mit Gemischen aus ca. 30 % persistent infizierten Zellen und 70 % uninfizierten Zellen desselben Zelltyps bestückt. Zudem wird dieselbe Anzahl Kavitäten mit uninfizierten Kontrollzellen bestückt (z. B. nach dem folgenden Muster: ungerade Spalten = Kontrollkavitäten; gerade Spalten = Detektionskavitäten). Die Kultivierung der Platten erfolgt für 24 bis 48 Stunden bis ein geschlossener Zellrasen erreicht ist. Anschließend werden die Zellen fixiert und permeabilisiert. Dies kann per Hitzeinaktivierung erfolgen (2 Std. bei 80 °C, nach vorheriger Entfernung des Zellkulturmediums und vollständiger Trocknung der offenen Platten unter der Sicherheitswerkbank). Alternativ können die Zellen mit Paraformaldehyd (3 - 4 % für 10 Minuten) fixiert und anschließend mit Triton X-100 (0,5 % für 10 Minuten) permeabilisiert werden.

Anschließend werden Verdünnungsreihen der zu untersuchenden Proben parallel in Detektions- und Kontrollkavitäten für eine Stunde inkubiert. Für Serum- und Plasmaproben hat sich eine Startverdünnung von 1 : 20 als geeignet erwiesen. Geringere Verdünnungsfaktoren führen aufgrund der hohen Hintergrundfärbung in der Regel zu einer schlechten Auswertbarkeit. Liquorproben können dagegen (bei ausreichendem Probenvolumen) auch in geringerer Startverdünnung eingesetzt werden. Als Verdünnungspuffer eignen sich beispielsweise Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit Tween® 20, pH 8,0 oder PBS mit normalem Ziegenserum (oder einem anderen für das gewählte Konjugat geeigneter Block-Reagenz).

Nach dreimaligem Waschen mit PBS für jeweils 5 Minuten folgt eine einstündige Inkubation mit einem für die zu untersuchende(n) Spezies geeigneten, fluoreszenzgekoppelten Sekundärantikörper in geeigneter Verdünnung. Abschließend folgen drei weitere fünfminütige Waschschrte, bevor die Platten unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet werden können.

Die Auswertung des Tests beruht in erster Linie auf einer Bornavirus-typischen granulären, intranukleären Färbung infizierter Zellen. Zusätzlich sind gelegentlich homogene zytoplasmatische Färbungen sichtbar, die jedoch in der Regel von geringerer Intensität sind. Als positiv werden ausschließlich diejenigen Proben bewertet, in deren Detektionskavitäten das Bornavirus-typische Signal in dem zu erwartenden Anteil der Bornavirus-infizierten Zellen (ca. 30 %) erkennbar ist, während in den zugehörigen Kontrollkavitäten kein derartiges Signal sichtbar ist. Als Endpunkttiter wird der reziproke Wert der letzten Verdünnungsstufe mit positivem Signal angegeben. Es ist immer ein geeignetes Positivkontrollserum mit bekanntem Titer mitzuführen. Der gemessene Titer des Kontrollserums muss dem bekannten Titer entsprechen (+/- einer Verdünnungsstufe).

3.4.2 Bewertung

Orthobornaviren besitzen eine beträchtliche serologische Kreuzreaktivität. Bei der Verwendung von BoDV-1-infizierten Detektionszellen werden daher auch Antikörper gegen andere Orthobornaviren, wie z. B. BoDV-2, VSBV-1 oder aviäre Bornaviren, detektiert. Die Sensitivität des Nachweises heterologer Antikörper ist

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

jedoch verringert. Falsch negative Ergebnisse können neben einer suboptimalen Auswahl der Detektionszellen auch auf der Verwendung eines für die jeweilige Spezies ungeeigneten Sekundärantikörpers beruhen. Falsch positive Ergebnisse können auf eine unzureichende Kontrolle des Tests zurückgehen (z. B. Fehlinterpretationen unspezifischer Signale, die auch in uninfizierten Kontrollzellen zu sehen sind). Darüber hinaus wurden auch zufällige Reaktivitäten von Antikörpern mit einzelnen Bornavirus-Epitopen beschrieben. Außerdem kann in Einzelfällen auch eine Reaktivität gegen zelluläre Antigene, die sich in den Bornavirus-Einschlusskörperchen anreichern, nicht ausgeschlossen werden. Die beiden letztgenannten Szenarien können zu vermeintlich spezifischen Signalen führen, die nur in infizierten, jedoch nicht in den uninfizierten Zellen sichtbar werden.

Serologische Tests basierend auf rekombinanten Proteinen (z. B. ELISA, Western Blot, Immunoblot) haben bislang keine ausreichende Spezifität und Sensitivität nachweisen können. Aus den genannten Gründen (Kreuzreaktivitäten, falsch positive Ergebnisse) ist ein positives serologisches Ergebnis alleine nicht ausreichend für den Nachweis einer Bornavirus-Infektion, sondern es muss immer durch den direkten Virusnachweis bestätigt werden.

4. Literatur

Hoffmann, B., K. Depner, H. Schirrmeier and M. Beer, 2006: A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. *J Virol Methods*, 136, 200-209. doi: 10.1016/j.jviromet.2006.05.020

Hoffmann, B., D. Tappe, D. Höper, C. Herden, A. Boldt, C. Mawrin, O. Niederstrasser, T. Müller, M. Jenckel, E. van der Grinten, C. Lutter, B. Abendroth, J. P. Teifke, D. Cadar, J. Schmidt-Chanasit, R. G. Ulrich and M. Beer, 2015: A variegated squirrel bornavirus associated with fatal human encephalitis. *N Engl J Med*, 373, 154-162. doi: 10.1056/NEJMoa1415627

Niller, H. H., K. Angstwurm, D. Rubbenstroth, K. Schlottau, A. Ebinger, S. Giese, S. Wunderlich, B. Banas, L. F. Forth, D. Hoffmann, D. Höper, M. Schwemmler, D. Tappe, J. Schmidt-Chanasit, D. Nobach, C. Herden, C. Brochhausen, N. Velez-Char, A. Mamilos, K. Utpatel, M. Evert, S. Zoubaa, M. J. Riemenschneider, V. Ruf, J. Herms, G. Rieder, M. Errath, K. Matiasek, J. Schlegel, F. Liesche-Starnecker, B. Neumann, K. Fuchs, R. A. Linker, B. Salzberger, T. Freilinger, L. Gartner, J. J. Wenzel, U. Reischl, W. Jilg, A. Gessner, J. Jantsch, M. Beer and B. Schmidt, 2020: Zoonotic spillover infections with Borna disease virus 1 leading to fatal human encephalitis, 1999-2019: an epidemiological investigation. *Lancet Infect Dis*. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30546-8

Schindler, A. R., A. Vogtlin, M. Hilbe, M. Puorger, K. Zlinszky, M. Ackermann and F. Ehrensperger, 2007: Reverse transcription real-time PCR assays for detection and quantification of Borna disease virus in diseased hosts. *Mol Cell Probes*, 21, 47-55. doi: 10.1016/j.mcp.2006.08.001

Schlottau, K., L. Forth, K. Angstwurm, D. Höper, D. Zecher, F. Liesche, B. Hoffmann, V. Kegel, D. Seehofer, S. Platen, B. Salzberger, U. G. Liebert, H. H. Niller, B. Schmidt, K. Matiasek, M. J. Riemenschneider, C. Brochhausen, B. Banas, L. Renders, P. Moog, S. Wunderlich, C. L. Seifert, A. Barreiros, A. Rahmel, J. Weiss, D. Tappe, C. Herden, J. Schmidt-Chanasit, M. Schwemmler, D. Rubbenstroth, J. Schlegel, C. Pietsch, D. Hoffmann, J. Jantsch and M. Beer, 2018: Fatal encephalitic Borna disease virus 1 in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med*, 379, 1377-1379. doi: 10.1056/NEJMc1803115

Schulze, V., R. Grosse, J. Furstenu, L. F. Forth, A. Ebinger, M. T. Richter, D. Tappe, T. Mertsch, K. Klose, K. Schlottau, B. Hoffmann, D. Hoper, L. Mundhenk, R. G. Ulrich, M. Beer, K. E. Muller and D. Rubbenstroth, 2020: Borna disease outbreak with high mortality in an alpaca herd in a previously unreported endemic area in Germany. *Transbound Emerg Dis*. doi: 10.1111/tbed.13556

Toussaint, J. F., C. Sailleau, E. Breard, S. Zientara and K. De Clercq, 2007: Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different genomic segments. *J Virol Methods*, 140, 115-123. doi: 10.1016/j.jviromet.2006.11.007

Zimmermann, V., M. Rinder, B. Kaspers, P. Staeheli and D. Rubbenstroth, 2014: Impact of antigenic diversity on laboratory diagnosis of Avian bornavirus infections in birds. *J Vet Diagn Invest*, 26, 769-777. doi: 10.1177/1040638714547258

Falldefinition - Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

Klinisches Bild

Bornaviren werden von Reservoirwirten ausgeschieden (BoDV-1: Feldspitzmaus, *Crocidura leucodon*; VSBV-1: exotische Hörnchen der Unterfamilien Sciurinae und Callosciurinae, insbesondere Schönhörnchen, *Callosciurus prevostii* und Bunthörnchen, *Sciurus variegatoides*), die selbst in der Regel asymptomatisch bleiben. Nach Übertragung auf Nichtreservoirwirte (inkl. Haussäugetiere und Mensch) kann es zu schweren, oftmals tödlichen neurologischen Erkrankungen kommen. Am häufigsten von BoDV-1-Infektionen („Borna'sche Krankheit“) betroffen sind Pferde, Schafe und Neuweltkameliden. VSBV-1-Infektionen wurden bisher nur bei Hörnchen und bei mit ihnen in Kontakt stehenden Menschen nachgewiesen.

Die Inkubationszeit kann wenige Wochen bis mehrere Monate betragen. Das klinische Bild kann von klassischen zentralnervösen Symptomatiken (Ataxie, Tortikollis, Drehbewegungen, Leerkaue, „Pfeiferauchen“) bis hin zu eher unspezifischen Erscheinungsformen (Appetitlosigkeit, Abmagerung) reichen. Sowohl perakute Todesfälle als auch subakut bis chronische Verläufe können vorkommen.

Histopathologisch sind eine nichteitrige Enzephalitis sowie intranukleäre „Joest-Degen'sche Einschlusskörperchen“ kennzeichnend.

Labordiagnostischer Nachweis

Direkter Erregernachweis:

- Genomnachweis: RT-PCR (konservierte Genombereiche für ein breites Spektrum von Bornaviren oder Tests für den spezifischen Nachweis einzelner Bornaviren, z. B. BoDV-1 oder VSBV-1)
- Antigennachweis: IHC, IFT in Gewebeschnitten (mit polyklonalen Seren oder BoDV-1- bzw. VSBV-1-spezifischen monoklonalen Antikörpern)

Indirekter Nachweis (nur unterstützend):

- Antikörpernachweis (indirekter Immunfluoreszenztest, ggf. ELISA/Immunoblot)

Zusatzinformation

Beim Reservoirwirt ist der direkte Erregernachweis (Genom, Antigen) in den meisten Fällen aus verschiedenen Ausscheidungen und Organen möglich, die höchsten Viruslasten finden sich jedoch in der Regel im ZNS. Beim Nichtreservoirwirt ist der Erregernachweis fast ausschließlich aus Gehirn, Rückenmark und Auge (Sehnerv, Retina) möglich. Aus Liquorproben gelingt er selten, im Blut sind Genom und Antigen nicht nachweisbar. ELISA-Tests für den Nachweis von Bornavirus-Antigen oder Antigen-Antikörper-Komplexen aus Serumproben eignen sich daher nicht für den Bornavirusnachweis.

Bornavirus-Infektionen der Säugetiere (Erreger: *Bornaviridae*)

Des Weiteren sind „Nested PCRs“ aufgrund ihres erhöhten Kontaminationsrisikos für den Nachweis der viralen RNA ungeeignet.

Tests zum Antikörper- und Antigennachweis besitzen in der Regel eine große antigenetische Kreuzreaktivität zwischen verschiedenen Bornaviren der Gattung *Orthobornavirus*.

Epidemiologischer Zusammenhang

Das bekannte Vorkommen von BoDV-1 ist auf bestimmte Regionen in Deutschland beschränkt (Bayern, Thüringen, Sachsen-Anhalt, Sachsen, Brandenburg sowie angrenzende Bundesländer). Darüber hinaus gibt es Vorkommen in Österreich, der Schweiz und Liechtenstein. In diesen Gebieten kann es zur Übertragung durch infizierte Reservoirwirte kommen. Eine Übertragung durch infizierte Nichtreservoirwirte ist nicht bekannt. Bei Feststellung von BoDV-1-Fällen außerhalb der bekannten Risikogebiete sind epidemiologische Untersuchungen angezeigt, um Kontakte in bekannte Endemiegebiete festzustellen oder die Identifikation bisher unbekannter Endemiegebiete zu ermöglichen.

Im Falle von VSBV-1-Infektionen bei Hörnchen sind Kontakte zu anderen Hörnchenhaltungen abzuklären um potentielle Eintragswege in die betroffene Haltung sowie mögliche Verschleppungen in weitere Haltungen zu beleuchten. Bei VSBV-1-Infektionen bei anderen Arten sind mögliche Kontakte zu infizierten Hörnchen zu prüfen.

Voraussetzung für den Verdacht

- typische klinische Erscheinungen im Zusammenhang mit epidemiologischen Hinweisen ODER
- typische histopathologische Veränderungen ODER
- ein positiver serologischer Test

Durch TSN zu übermittelnder Fall

Voraussetzungen für die Feststellung eines Falles:

- Feststellung einer Bornavirus-Infektion: direkter Erreger-, Antigen- oder Genomnachweis
- Feststellung einer BoDV-1- oder VSBV-1-Infektion: Identifikation des Virus durch virusspezifische RT-PCR oder Sequenzanalyse

Rechtsvorschriften

- Tiergesundheitsgesetz (TierGesG) in der jeweils geltenden Fassung
- Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TKrMeldpflV) in der jeweils geltenden Fassung

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