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

Amtliche Methode und Falldefinition

Afrikanische Pferdepest
(African horse sickness virus)

Inhaltsverzeichnis

Amtliche Methode **3**

1. Charakterisierung der Infektion **3**

1.1 Erreger 3

1.2 Klinische Symptomatik 3

1.3 Differenzialdiagnose 3

1.4 Diagnostische Indikation 4

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung 4

1.6 Rechtsgrundlagen 4

2. Untersuchungsmaterial **4**

3. Untersuchungsgang **5**

3.1 Nukleinsäurenachweis in der real-time PCR 5

3.2 Virusisolierung 5

3.3 Nachweis AHSV-spezifischer Antikörper 5

Literatur **5**

Falldefinition – Afrikanische Pferdepest; Virus der Afrikanischen Pferdepest **6**

Amtliche Methode

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Der Erreger ist ein dsRNA Orbivirus der Familie *Reoviridae*. Neun verschiedene Serotypen des Afrikanischen Pferdepest Virus (African Horse Sickness Virus, AHSV) sind aktuell bekannt.

1.2 Klinische Symptomatik

Die Afrikanische Pferdepest ist eine meist tödlich verlaufende Erkrankung der Equiden. Das Virus wird durch Arthropoden der verschiedenen Culicoides-Spezies übertragen und das Auftreten der Krankheit ist saisonal bedingt. Die klinischen Erscheinungen sind durch Kreislaufstörungen und respiratorische Symptome gekennzeichnet. Bei subakuten Verläufen ist ein supraorbitales Kopfödem sehr charakteristisch. Die Krankheit kommt endemisch in Afrika südlich der Sahara vor, einzelne Ausbrüche treten bzw. traten auch in Nordafrika, im Mittleren Osten und in Europa (Spanien u. Portugal) auf.
Es gibt vier klassische klinische Verlaufsformen:

- die pulmonale Form,
- die Herzform,
- die gemischte Verlaufsform (Herz- und Lungenaffektion),
- das Pferdepest-Fieber

1.3 Differenzialdiagnose

Obwohl die klinischen Zeichen meist charakteristisch sind, ist die Labordiagnose wegen der leichten Verwechslungsmöglichkeit mit anderen Pferdekrankheiten essentiell. Als Differenzialdiagnostik kommen in Frage:

- Arthropoden-übertragene Pferdeenzephalitiden (VEE, WEE, EEE)
- Anthrax
- Equine infectious anaemia
- Equine viral arteritis
- Trypanosomosis
- Equine encephalosis
- Piroplasmosis
- Purpura haemorrhagica
- Hendra-Virus

1.4 Diagnostische Indikation

Entsprechend DelVO 2020/689 Artikel 9 (1):
Die zuständige Behörde stuft ein Tier oder eine Gruppe von Tieren als Verdachtsfall einer Infektion mit AHSV ein, wenn

a) klinische Untersuchungen, Nekropsieuntersuchungen oder Laboruntersuchungen ergeben haben, dass klinische Anzeichen, *Post-mortem*-Läsionen oder histologische Befunde für das Vorliegen einer Infektion mit AHSV sprechen,
b) die Ergebnisse einer Diagnosemethode an einer Probe von einem Tier oder einer Gruppe von Tieren, auf die wahrscheinliche Präsenz des AHSV hindeuten oder
c) ein epidemiologischer Zusammenhang mit einem bestätigten Fall einer Infektion mit AHSV festgestellt wurde.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

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

1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“) (AHL)
- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 der Kommission vom 3. Dezember 2018 über die Anwendung bestimmter Bestimmungen zur Seuchenprävention und -bekämpfung auf Kategorien gelisteter Seuchen und zur Erstellung einer Liste von Arten und Artengruppen, die ein erhebliches Risiko für die Ausbreitung dieser gelisteten Seuchen darstellen
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen (DelVO 689/2020)
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/688 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Tiergesundheitsanforderungen an Verbringungen von Landtieren und Bruteiern innerhalb der Union

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 können. Das EDTA-Blut sollte im gekühlten (+4 °C) Zustand versendet werden. Lagerung über längere Zeit sollte bei -70 °C erfolgen, da AHSV 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

3.1 Nukleinsäurenachweis in der real-time PCR

Verschiedene real-time RT-PCR-Systeme, die eine schnelle, sensitive und spezifische Detektion der AHSV-RNA aller neun Serotypen erlauben, sind am NRL-AHS etabliert (Quan *et al.*, 2010; Fernández-Pinero *et al.*, 2009; Agüero *et al.*, 2008).
Darüber hinaus stehen (real-time) RT-PCR-Systeme zur Charakterisierung von AHSV-RNA und deren Serotypisierung zur Verfügung.

3.2 Virusisolierung

Routinemäßig erfolgt die Anzucht von AHS-Viren aus gerinnungsgehemmtem Blut auf Verozellen, Insektenzellen bzw. auf BHK21-Zellen.

3.3 Nachweis AHSV-spezifischer Antikörper

Der Antikörpernachweis ist die wichtigste Aufgabe im Rahmen der ständigen Export-/Import-Kontrollen. Die Antikörperuntersuchungen werden mittels Kompetitions-ELISA durchgeführt. Hierzu steht ein kommerzieller ELISA zur Verfügung (Ingezim AHSV COMPAC PLUS; Ingenasa, Spanien), welcher auch die FLI-Zulassung besitzt.

Literatur

- Agüero, M., Gómez-Tejedor, C., Angeles Cubillo, M., Rubi,o C., Romero, E., Jiménez-Clavero, A., (2008): Real-time fluorogenic reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of African horse sickness virus.J Vet Diagn Invest. 20(3):325-8.
- Fernández-Pinero, J., Fernández-Pacheco, P., Rodríguez, B., Sotelo, E., Robles, A., Arias, M., Sánchez-Vizcaíno, J.M., (2009): Rapid and sensitive detection of African horse sickness virus by real-time PCR. Res Vet Sci. 86(2):353-8.
- Quan, M., Lourens, C.W., MacLachlan, N.J., Gardner, I.A., Guthrie, A.J., (2010): Development and optimisation of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay targeting the VP7 and NS2 genes of African horse sickness virus. J Virol Methods 167(1):45-52.

Falldefinition – Afrikanische Pferdepest; Virus der Afrikanischen Pferdepest

Klinisches Bild

Die Afrikanische Pferdepest (African Horse Sickness, AHS) wird durch ein Orbivirus der Familie *Reoviridae* hervorgerufen. Die Afrikanische Pferdepest wird durch Gnitzen (Culicoides spp.) als Vektor übertragen. Es sind vier klassische Formen der Pferdepest bekannt:
1. die perakute oder pulmonale Form mit kurzer Inkubationszeit (–drei bis fünf Tage) und hoher Mortalität beim Pferd (bis zu 95 %); 2. die subakute, oedematös kardiale Form, gekennzeichnet durch hohes Fieber und 7 bis 14-tägiger Inkubationszeit; 3. die akute oder gemischte Verlaufsform, die eine Mischform aus den beiden o. g. klinischen Verlaufsformen darstellt und meist nur pathologisch als solche klar charakterisierbar ist und schließlich 4. das Pferdepestfieber, das die mildeste Verlaufsform mit variabler Inkubationszeit von fünf bis 14 Tagen darstellt. Diese Verlaufsform wird am häufigsten beobachtet bei geimpften Pferden mit nachlassender Immunität oder nach Infektion mit heterologen Serotypen sowie bei resistenteren Equiden wie Maultieren oder Eseln. In Afrika gelten Zebras, die fast nie Krankheitssymptome aufweisen, als Erreger-reservoir.

Labordiagnostischer Nachweis

Erregernachweis:

- Erregerisolierung (kulturell aus gerinnungsgehemmtem Blut während der Fieberphase oder aus Milz-, Lungen- oder Lymphknotengewebe)
- Antigennachweis (ELISA, immunhistologisch)
- Genomnachweis: (RT-PCR; konservierter Genombereich für alle neun Serotypen oder serotypspezifische RT-PCR)

Indirekter Nachweis:

- Antikörpernachweis (ELISA, SNT)

Epidemiologischer Zusammenhang

- Epidemiologischer Zusammenhang zu einem Verdachtsfall oder bestätigten Fall einer Infektion mit AHSV
- Evidenz für eine Übertragung der Infektion mit AHSV im betreffenden Gebiet
- Generelles Vorkommen kompetenter Vektoren (z. T. saisonales Auftreten)
- Anwendung von Impfstoffen

Voraussetzung für den Verdacht

Entsprechend DelVO 2020/689 Artikel 9 (1):
Die zuständige Behörde stuft ein Tier oder eine Gruppe von Tieren als Verdachtsfall einer Infektion mit AHSV ein, wenn

a) klinische Untersuchungen, Nekropsieuntersuchungen oder Laboruntersuchungen ergeben haben, dass klinische Anzeichen, *Post-mortem*-Läsionen oder histologische Befunde für das Vorliegen einer Infektion mit AHSV sprechen,
b) die Ergebnisse einer Diagnosemethode an einer Probe von einem Tier oder einer Gruppe von Tieren auf die wahrscheinliche Präsenz des AHSV hindeuten oder
c) ein epidemiologischer Zusammenhang mit einem bestätigten Fall einer Infektion mit AHSV festgestellt wurde.

Durch TSN zu übermittelnder Fall

Entsprechend DelVO 2020/689 Artikel 9 (2):
Die zuständige Behörde stuft ein Tier oder eine Gruppe von Tieren als bestätigten Fall einer Infektion mit AHSV ein, wenn

a) das AHSV, mit Ausnahme von Impfstämmen, bei einer Probe von einem Tier oder einer Gruppe von Tieren isoliert wurde,
b) spezifische AHSV-Antigene oder AHSV-Nukleinsäuren, die nicht infolge einer Impfung gegen eine Infektion mit AHSV aufgetreten sind, in einer Probe von einem Tier oder einer Gruppe von Tieren nachgewiesen wurden, die klinische Anzeichen einer Infektion mit AHSV oder einen epidemiologischen Zusammenhang mit einem Verdachtsfall oder bestätigten Fall einer Infektion mit AHSV aufweisen, oder
c) eine indirekte Diagnosemethode an einer Probe von einem Tier oder einer Gruppe von Tieren, die klinische Anzeichen einer Infektion mit AHSV oder einen epidemiologischen Zusammenhang mit einem Verdachtsfall oder bestätigten Fall einer Infektion mit AHSV aufweisen, zu einem positiven Ergebnis geführt hat, das nicht die Folge einer Impfung gegen eine Infektion mit AHSV ist.

Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“) (AHL)
- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 der Kommission vom 3. Dezember 2018 über die Anwendung bestimmter Bestimmungen zur Seuchenprävention und -bekämpfung auf Kategorien gelisteter Seuchen und zur Erstellung einer Liste von Arten und Artengruppen, die ein erhebliches Risiko für die Ausbreitung dieser gelisteten Seuchen darstellen

- Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen (DelVO 689/2020)
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/688 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Tiergesundheitsanforderungen an Verbringungen von Landtieren und Bruteiern innerhalb der Union

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