

Amtliche Methode und Falldefinition

Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen)

Inhaltsverzeichnis

Amtliche Methode	3
1. Charakterisierung der Infektion	3
1.1 Erreger	3
1.2 Klinische Symptomatik	3
1.3 Differentialdiagnose	3
1.4 Diagnostische Indikation	3
1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung	4
1.6 Rechtsgrundlagen.....	4
2. Untersuchungsmaterial	4
2.1 Vorsichtsmaßnahmen	4
2.2 Probenmaterial	4
2.3 Zeitpunkt der Probenahme	4
2.4 Probenversand	4
3. Untersuchungsgang	5
3.1 Antikörpernachweis	5
3.2 Virusnachweis	5
Falldefinition - Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen); diverse Enzephalitisviren	6

Amtliche Methode

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Die Erreger der Pferdeenzephalitiden sind Viren des Genus *Alphavirus* der Familie *Togaviridae*. Es handelt sich dabei um die Viren der Eastern equinen Enzephalomyelitis, der Western equinen Enzephalomyelitis und der Venezuelan equinen Enzephalomyelitis. Diese Erreger gehören zu der Gruppe der Arboviren, die bei einer Infektion mittels hämatophager Insekten aus dem ökologischen Reservoir (Vögel für Eastern und Western; kleine Nager für Venezuelan) auf neue Wirte übertragen werden. Pferde und Menschen stellen bei diesen Infektionen Fehlwirte dar, von denen im Fall von Eastern und Western keine direkte Übertragung auf andere Individuen der gleichen Spezies möglich ist. Bei der Venezuelan equinen Enzephalomyelitis ist eine solche Intraspeziesübertragung jedoch beschrieben.

1.2 Klinische Symptomatik

Western und Eastern equine Enzephalomyelitis

Bei Pferden sind die Enzephalomyelitiden durch Fieber, Anorexie und starke Depression charakterisiert. Infektionen von Pferden mit dem Eastern-Enzephalomyelitisvirus verlaufen meist tödlich, wohingegen Infektionen mit dem Western-Enzephalomyelitisvirus häufig einen subklinischen oder milden Verlauf zeigen. Im letzteren Fall liegt die Mortalität bei unter 30 %.

Auch beim Menschen können diese Viren schwere bis tödlich verlaufende Krankheiten mit ähnlicher Symptomatik hervorrufen.

Venezuelan equine Enzephalomyelitis

Die Symptome einer Erkrankung mit dem Virus der Venezuelan equinen Enzephalomyelitis reichen bei Equiden und Menschen in Abhängigkeit von dem beteiligten Subtyp von milden fiebrigen Reaktionen auf die Infektion bis zu tödlich verlaufenden Enzephalomyelitiden.

1.3 Differenzialdiagnose

Alle mit Fieber und neurologischen Symptomen einhergehenden Erkrankungen bei Pferden. Da solche Virusinfektionen allerdings bisher noch nicht außerhalb des amerikanischen Kontinentes aufgetreten sind, sollten epidemiologische Zusammenhänge mitberücksichtigt werden.

1.4 Diagnostische Indikation

Tierseuchendiagnostik gemäß Tiergesundheitsgesetz

Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen)

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Nationales Referenzlabor (NRL) für Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen) am Friedrich-Loeffler-Institut, 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“)
- ~~Richtlinie 92/119/EWG des Rates vom 17. Dezember 1992 mit allgemeinen Gemeinschaftsmaßnahmen zur Bekämpfung bestimmter Tierseuchen [...]~~

2. Untersuchungsmaterial

2.1 Vorsichtsmaßnahmen

Da es sich bei den Viren der equinen Enzephalomyelitiden um Erreger handelt, die potentiell auch Menschen infizieren können, ist während der Probenahme und der Verarbeitung der Proben bei Verdacht auf equine Enzephalomyelitis für den Probenehmer ein Schutz vor einer viralen Infektion empfohlen, sofern geimpftes Personal nicht zur Verfügung steht.

2.2 Probenmaterial

Für die serologische Untersuchung

Nativblutprobe oder Serum

Für die virologische Untersuchung

Organmaterial (Gehirn, Rückenmark)

2.3 Zeitpunkt der Probenahme

Der günstigste Zeitpunkt für eine Probenahme bei Verdacht auf eine Infektion mit einem equinen Enzephalomyelitisvirus ist wenige Tage nach der Infektion, da sich zu diesem Zeitpunkt IgM-Antikörper serologisch nachweisen lassen und auch eine Virusanzucht am einfachsten gelingt. Eine Organentnahme für die Virusanzucht erfolgt *post mortem*.

2.4 Probenversand

Der Versand von Probenmaterial muss in Sicherheitsbehältern für Erreger der Sicherheitsstufe L3 erfolgen. Blut- und Organproben sollten in gefrorenem Zustand versendet werden.

Im Anschreiben ist anzugeben:

- Wer sendet ein? (Veterinäramt, Bearbeiter; inkl. dienstlicher und eventuell privater Telefon- und Fax-Nummer)
- Was wird eingesandt? (Art des Materials, von welchen Tieren, Anzahl etc.)
- Aus welchem Bestand stammen die Proben?
- Was wurde wann in dem Bestand festgestellt? (anamnestischer Kurzbericht)
- Bemerkungen und weitere Hinweise auf eine mögliche Erregereinschleppung.

3. Untersuchungsgang

3.1 Antikörpernachweis

Gemäß **WOAH OIE**-Methoden können Antikörper aus infizierten Seren mittels Plaque-Neutralisationstest, Haemagglutinations-Hemmungstest, der Komplementfixierung oder einem IgM-Capture-ELISA nachgewiesen werden. Um eine sichere Diagnose abgeben zu können, ist für alle Testsysteme ein vierfacher Anstieg des Antikörpertiters Voraussetzung.

3.2 Virusnachweis

Der Nachweis von Viren kann direkt aus dem eingesendeten Organmaterial gemäß den Methoden der **WOAH OIE** erfolgen. Dabei kann das Virus aus dem Feldmaterial durch Inokulation von neugeborenen Mäusen, embryonierten Hühnereiern, Zellkulturen oder frisch geschlüpften Küken angezüchtet werden. Anschließend wird das Virus mittels Komplementfixierung, Immunfluoreszenz oder den Plaque-Neutralisationstest identifiziert.

Des Weiteren erfolgt der Nachweis von viraler RNA mittels einer nested-reversen Transkriptase Polymerasekettenreaktion (nRT-PCR). Hierbei wird für die Erreger der Eastern und der Western equinen Enzephalomyelitis eine kombinierte nested PCR durchgeführt. Die Identifikation erfolgt dann über die Auswertung der PCR-Produkte, die sich durch den Einsatz von spezifischen Primern leicht anhand ihrer Größe unterscheiden lassen. Virale RNA des Venezuelan equinen Enzephalomyelitisvirus wird in einer von der **WOAH OIE** empfohlenen semi-nested PCR nachgewiesen.

Ebenfalls möglich ist der RNA-Nachweis mittels quantitativer RT-PCR, bei der neben virusspezifischen Primern eine virusspezifische fluoreszenzmarkierte Sonde eingesetzt wird. Durch den parallelen Einsatz synthetischer Kalibrierungs-RNA kann neben der Identifikation der viralen Infektion auch die Virenlast in einem Reaktionsansatz ermittelt werden.

Diese Methoden des Nachweises der viralen RNA durch nRT-PCR und qRT-PCR sind Bestandteile der Diagnostik des nationalen Referenzlabors für equine Enzephalomyelitiden.

Falldefinition - Pferdeenzephalomyelitis (alle Formen); diverse Enzephalitisviren

Klinisches Bild

Als Erreger einer viralen Enzephalomyelitis beim Pferd kommen in Betracht: Western-, Eastern- und Venezuelan Enzephalitisvirus als Vertreter der Familie *Togaviridae*; ferner: Japanese Enzephalitisvirus und West-Nil-Virus als Vertreter der *Flaviviridae* sowie Hendra- und Nipahvirus als Vertreter der *Paramyxoviridae*. Während Toga- und Flaviviren durch Insekten übertragen werden (Arboviren), erfolgt die Übertragung der Paramyxoviren durch (in)direkten Kontakt mit den Reserviertieren. Die genannten Viren können neben Pferden auch verschiedene andere Spezies wie Vögel, Fledermäuse oder andere Säugetiere klinisch oder subklinisch befallen und sind gefährliche Zoonoseerreger. Zentralnervöse Symptome mit entsprechend vielfältigen Bewegungsstörungen prägen das klinische Bild. Epidemien treten immer wieder weltweit auf, die meisten der Enzephalitisviren sind aber auf tropische Regionen mit entsprechender Vektordichte beschränkt. Ähnliche Symptome können auch von Herpesviren und Bornaviren hervorgerufen werden (Differenzialdiagnose).

Labordiagnostischer Nachweis

Positiver Befund mit mindestens einer der nachfolgenden Methoden:

Erregernachweis:

- Erregernachweis (Zellkultur)
- Antigennachweis
- Genomnachweis (RT-PCR)

Indirekter Nachweis:

- Antikörperrnachweis (ELISA)

Zusatzinformation

Der Erregernachweis erfolgt i. d. R. mittels akkreditierter RT-qPCR. Anfallendes Probenmaterial muss in Labors mit einschlägiger Erfahrung und Hochsicherheitsmaßnahmen (inkl. entsprechendem Personenschutz) bearbeitet werden. Für Probenmaterial sind die einschlägigen Versandvorschriften zu beachten.

Differenzialdiagnose

Endemisch vorkommende Herpesvirusinfektionen, Bornasche Krankheit und nicht virusbedingte Enzephalitiden.

Epidemiologischer Zusammenhang

Endemiegebiete (zum Teil saisonales Auftreten) setzen das permanente oder saisonale Vorkommen kompetenter Vektoren voraus. Virusfreie Gebiete: schließen das Vorkommen kompetenter Vektoren in der Regel aus, es genügt eines der labordiagnostischen Verfahren mit oder ohne klinischen Verdacht (z. B. Zootiere) im positiven Fall zur Definition einer (Einschleppungs)-Infektion.

Voraussetzung für den Verdacht

Entfällt.

Durch TSN zu übermittelnder Fall

Voraussetzungen für die Feststellung eines Falles:

Klinische Symptome und Erregernachweis oder Erregergenomnachweis oder indirekter Erregernachweis in virusfreien Gebieten. In Endemiegebieten: Erregernachweis oder Erregergenomnachweis.

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“)
- ~~Richtlinie 92/119/EWG des Rates vom 17. Dezember 1992 mit allgemeinen Gemeinschaftsmaßnahmen zur Bekämpfung bestimmter Tierseuchen [...]~~