

# Früherkennung der Afrikanischen Schweinepest bei Wildschweinen

## Vereinfachtes Probennahmeverfahren für die passive Surveillance der ASP



Vor dem Hintergrund des Eintrags der Afrikanischen Schweinepest (ASP) in die Schwarzwildpopulation der Europäischen Union ist die Surveillance im Sinne einer Früherkennung zu intensivieren.

In verendeten Tieren findet sich das Virus in großen Mengen, insbesondere blutgebunden, aber auch in allen anderen Geweben, Se- und Exkreten. Die Detektion des Virus mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) ist dabei aus kleinsten Probenmengen über Monate ohne Sensitivitätsverlust möglich, unabhängig von den Lagerungstemperaturen, denen die Probenmatrix ausgesetzt ist.

# Früherkennung der Afrikanischen Schweinepest bei Wildschweinen - Vereinfachtes Probennahmeverfahren für die passive Surveillance der ASP

Um die Probennahme zu rationalisieren und den Aufwand für die beteiligte Jägerschaft möglichst gering zu halten, kann die Früherkennung in freien Gebieten (passive Surveillance) über Blutupferproben realisiert werden.

## Wahl der Tupfer

In den am NRL für Schweinepest durchgeführten Validierungen erwiesen sich die als forensische Tupfer entwickelten Genotubes (Prionics) als sehr gut geeignet (schnelle Trocknung der Probenmatrix, einfache und kontaminationsarme Handhabung beim Abschneiden eines Fragmentes, sehr gute Lagerfähigkeit bei Raumtemperatur). Es sind jedoch auch andere Trockentupfer (z.B. einfache Baumwolltupfer) verwendbar.



Abb. 1: Tupfer für die Probennahme (oben Genotubes der Fa. Prionics, unten Baumwolltupfer der Fa. COPAN)

## Probennahme

Als Probenmatrix eignet sich insbesondere Blut (oder bluthaltige Flüssigkeit), das aus Körperhöhlen, Verletzungen oder aus dem Herzen (nach einem Kammerchnitt) gewonnen werden kann. Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass Organe (besonders gut die Milz) betupfert werden können. Der Tupfer kann

einfach aus der Röhre entnommen und mit blutiger Flüssigkeit getränkt werden. Danach wird er wieder in die Hülle verbracht und in dieser verschickt (unter UN 3373).

## Aufarbeitung für die PCR

Für die Aufarbeitung der Proben eignet sich z.B. das Viral RNA Mini Kit (Qiagen), das Nukleinsäuren generiert, die sowohl für die KSPV- als auch die ASPV-Diagnostik nutzbar sind. Automatisierte Verfahren sind jedoch ebenfalls möglich (gezeigt für EZ1 und QIA-Symphony).

Für die Nukleinsäureextraktion mittels Viral RNA Mini Kit hat sich folgendes Protokoll bewährt:

- Abschneiden eines rautenförmigen, ca. stecknadelkopfgroßen Tupferfragments (siehe Abb. 3)
- Verbringen des Fragments in ein Reaktionsgefäß mit AVL-Puffer
- Gründliches Vortexen
- Inkubation für 10 min bei Raumtemperatur
- Kurz an zentrifugieren
- Zugabe von 560 µl 96-100%igem Ethanol und ggf. Zugabe einer heterologen Extraktionskontrolle
- Weiter nach Herstellerangaben

Die extrahierte Nukleinsäure eignet sich für alle Schweinepest-PCRs.

Details zur Validierung sind beim NRL für ASP am Friedrich-Loeffler-Institut, Riems, zu erfragen.



Abb. 2: Blutgetränkter Tupfer (Genotube, Prionics)

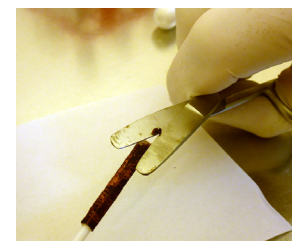


Abb. 3: Abschneiden eines Tupferfragments

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit

Hauptsitz: Insel Riems, Südufer 10, D-17493 Greifswald - Insel Riems, [www.fli.bund.de](http://www.fli.bund.de)

Inhalt & Fotos: Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, D-17493 Greifswald - Insel Riems

Kontakt: Dr. Sandra Blome, Friedrich-Loeffler-Institut, Nationales Referenzlabor für Afrikanische Schweinepest