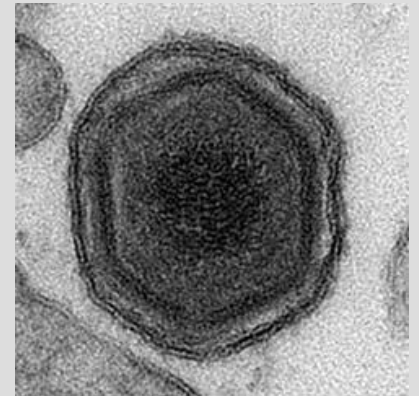


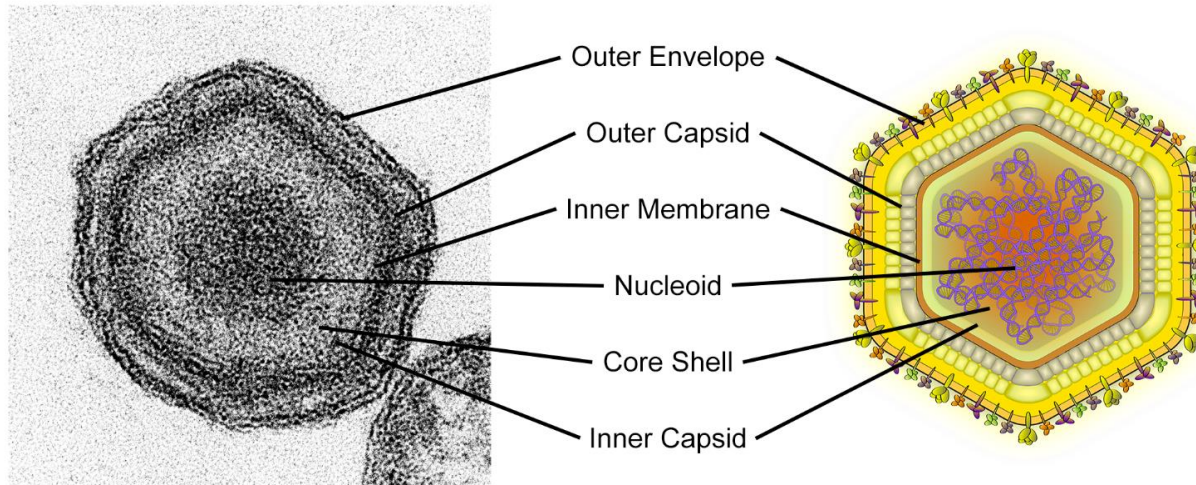
Virologische Untersuchungen am Nationalen Referenzlabor



Sandra Blome, Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald - Insel Riems

Email: Sandra.Blome@fli.de

- Großes, komplexes DNA-**Virus**
- Viele Bausteine des Virus sind in Funktion und genauen Lokalisation noch unbekannt
- Ist ursprünglich ein **zeckenübertragener** Erreger, der **auf die Übertragung mittels Blut „optimiert“** ist
- **Infektiosität** besonders an **Blut** gebunden
- **Kontagiosität** ohne Zecken **moderat**
- **Hohe Tenazität**
- **Hohe Letalität** (Infizierte sterben), teils geringe Mortalität (Populationsebene)



Klinische Anzeichen der ASP



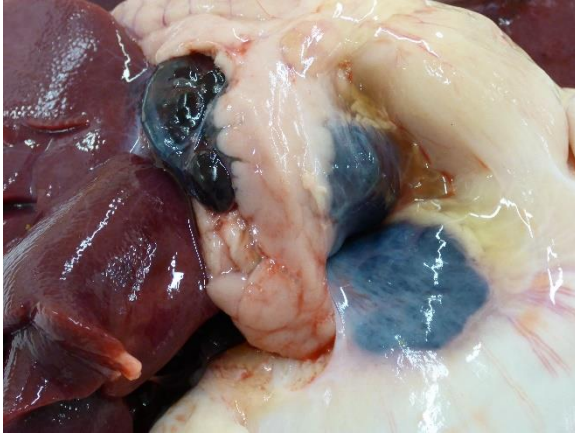
- Tiere, die sich mit der ASP infiziert haben, zeigen nach ungefähr vier Tagen erste Anzeichen einer Erkrankung: **Hohes Fieber (SWINE FEVER!)**, Bewegungs- und Fressunlust, die Tiere liegen in „Haufen“, Stille im Stall, auch zur Fütterungszeit
- Manche Tiere entwickeln Bindehautentzündungen und Magen-Darm-Symptome (Durchfall, Erbrechen)
- Im Verlauf der Erkrankung werden die Tiere zunehmend teilnahmslos, desorientiert und haben Atemnot
- In der Finalphase können flohstichartige bis landkartenähnliche Blutungen und Blauverfärbungen der Haut sowie Krampfanfälle und Blutungen aus Körperöffnungen auftreten

Anzeichen Schwarzwild



- Die Symptome bei Haus- und Wildschweinen unterscheiden sich nicht!
- Keine Unterschiede in den Altersklassen nach Infektion mit hochvirulenten Virusstämmen!
- Unter Feldbedingungen: Verlust der Scheu, Desorientiertheit
- Sehr junge Tiere scheinen etwas häufiger zu überleben (Beobachtung aus Experimenten)

Organveränderungen



Tiere, die an ASP verenden, zeigen insbesondere Veränderungen der Lymphknoten, der Lungen, der Nieren und teilweise der Milz

- Ebenholzfarbene, blutige und vergrößerte Lymphknoten im Magen-Leberbereich, im Kehlbereich und im Bereich der Nieren
- Schaum in Lunge und Luftröhre, Lungenblutungen
- Flohstichartige Blutungen in den Nieren und Niereninfarkte
- Blutungen in anderen Organen

Eine Unterscheidung zwischen Afrikanischer und Klassischer Schweinepest oder ihrer Differentialdiagnosen ist anhand der klinischen Anzeichen NICHT möglich!



Schweine am 7. Tag nach der Infektion mit einem hochvirulenten Virusstamm der Afrikanischen Schweinepest („Armenia08“)



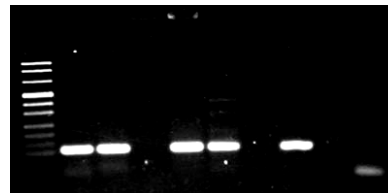
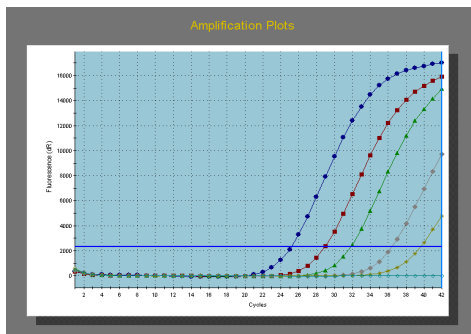
Schweine am 7. Tag nach der Infektion mit einem hochvirulenten Virusstamm der Klassischen Schweinepest („Koslov“)

Eine labordiagnostische Abklärung ist zwingend erforderlich!



Routinediagnostik und Bestätigung

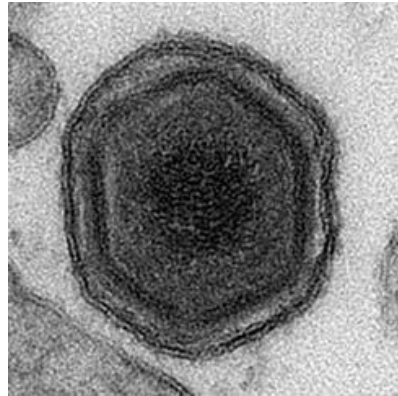
Infektiöses Virus	Virusantigen	Virales Genom	Antikörper
Virusisolierung	Färbung and Kryoschnitten	Gel-basierte PCR	ELISA
Hämadsorptionstest	Antigen-ELISA	Real-time PCR	Indirekter Immunperoxidase Test
(Tierexperiment)	(Lateral Flow Assay)	Sequenzierung	Indirekter Immunfluoreszenztest
		(Direkt-PCR)	Immunoblot
		(Isothermale Methoden)	(Lateral Flow Assay)



Internationale Standards:

https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf

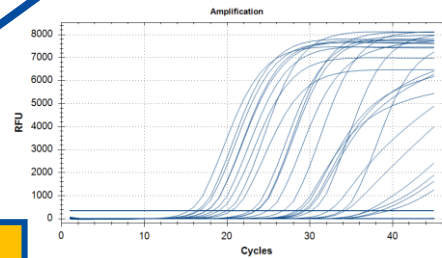
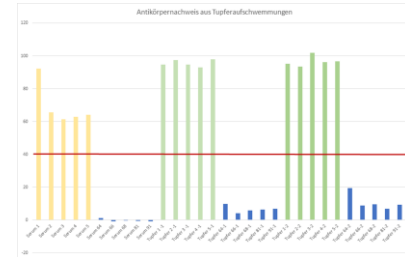
Ablauf der Diagnostik



Tupferaufschwemmung,
Organmaterial, Blut

Nukleinsäureextraktion

Serologie ELISA, IIPT

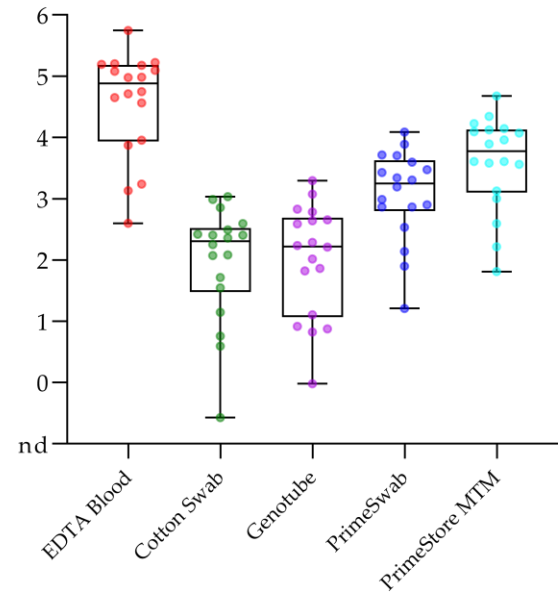
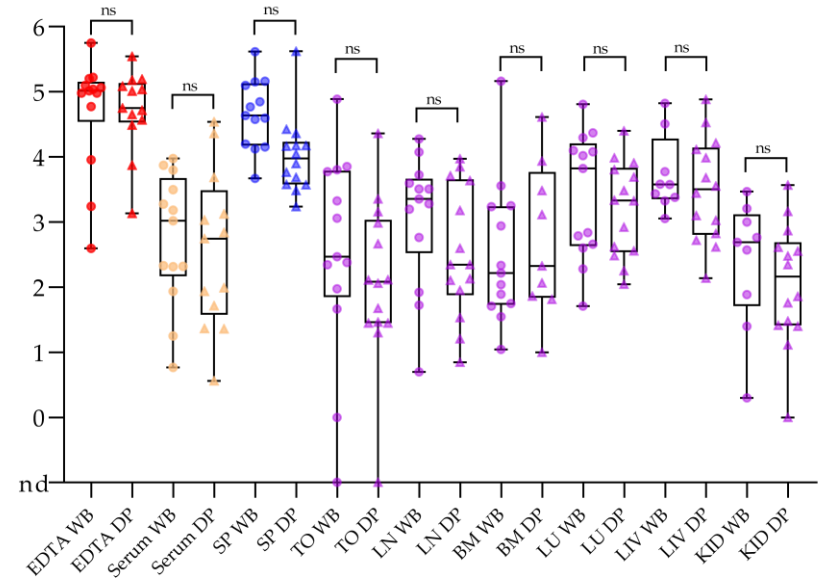
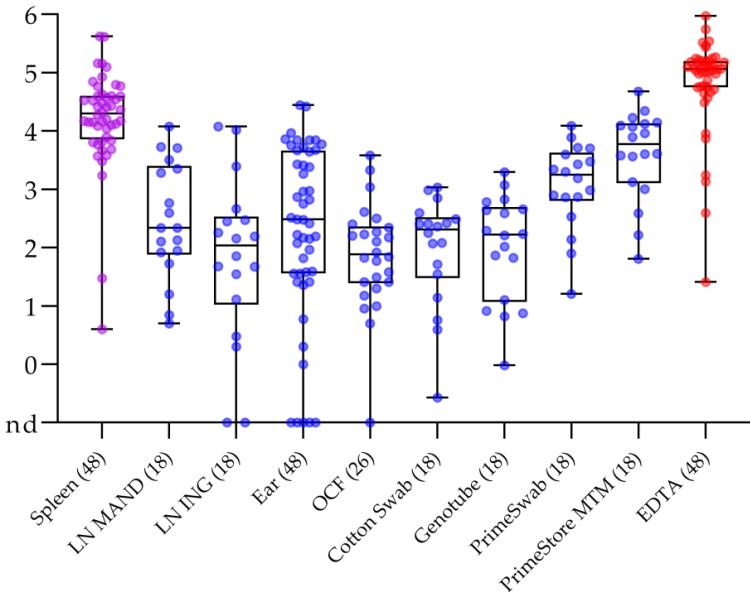
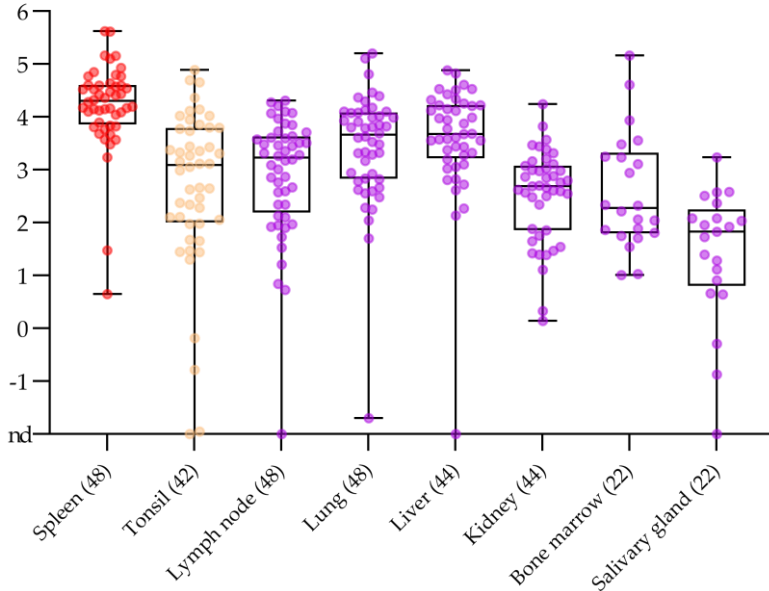


Vom OIE empfohlene PCR
nach King et al., 2003

Zugelassene kommerzielle
PCR (Tiergesundheitsgesetz)

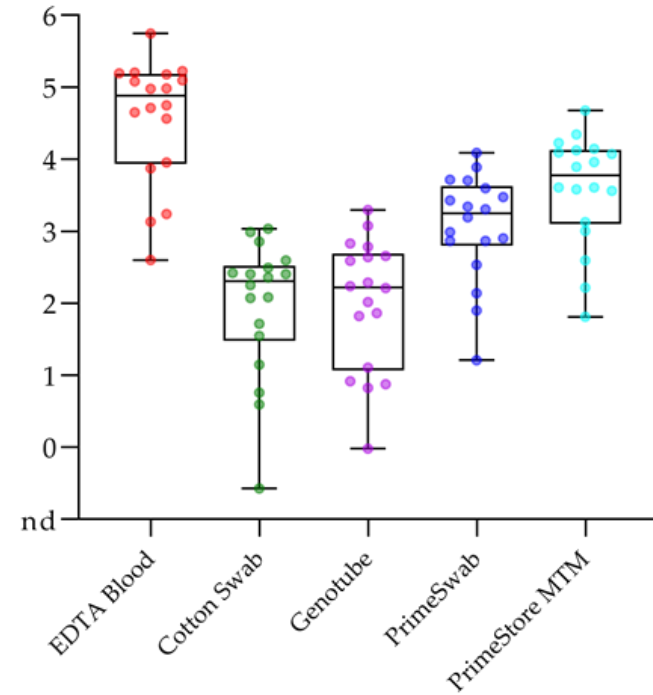
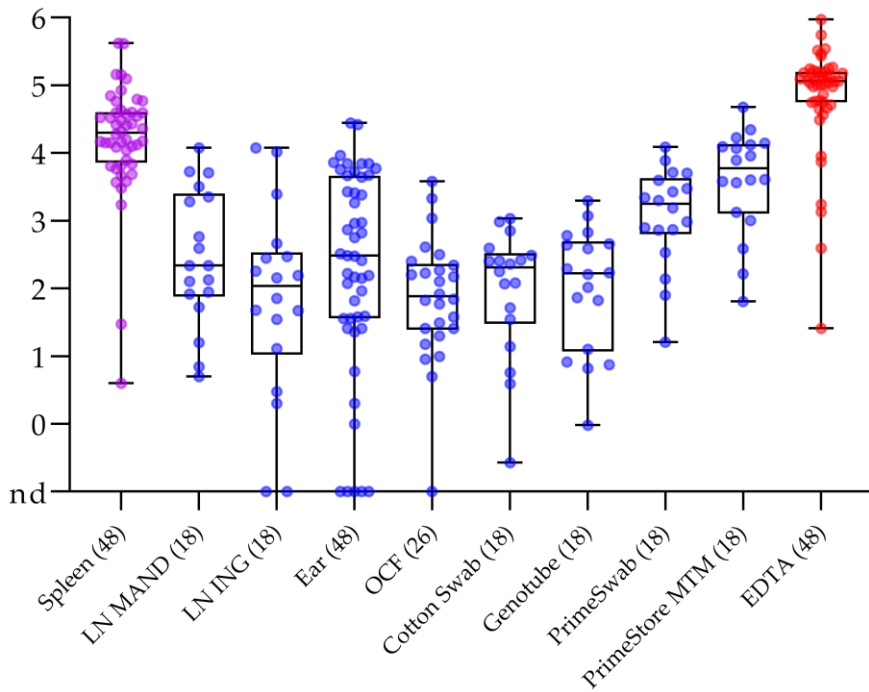
Sequenzierung repräsentativer Proben

Matrizes



Alternative Beprobung

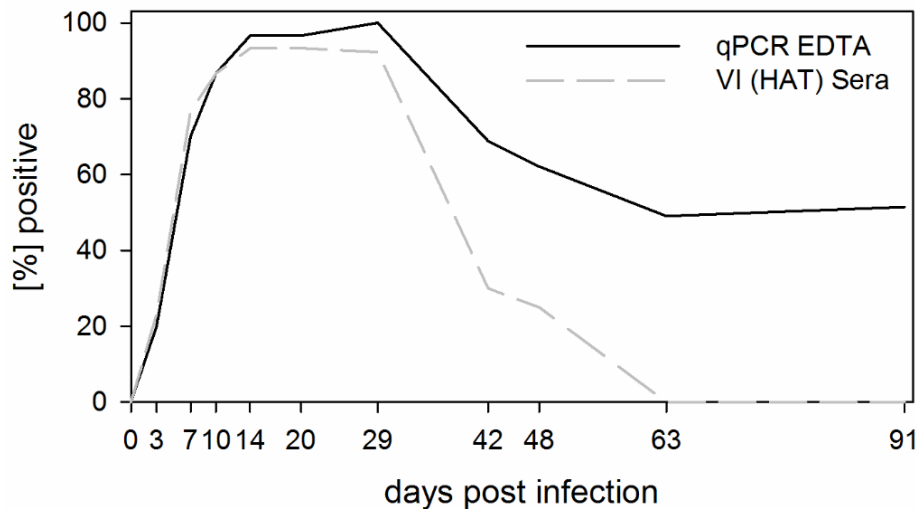
- Different stages of infection
- Different genotypes
- Wild boar and domestic pigs



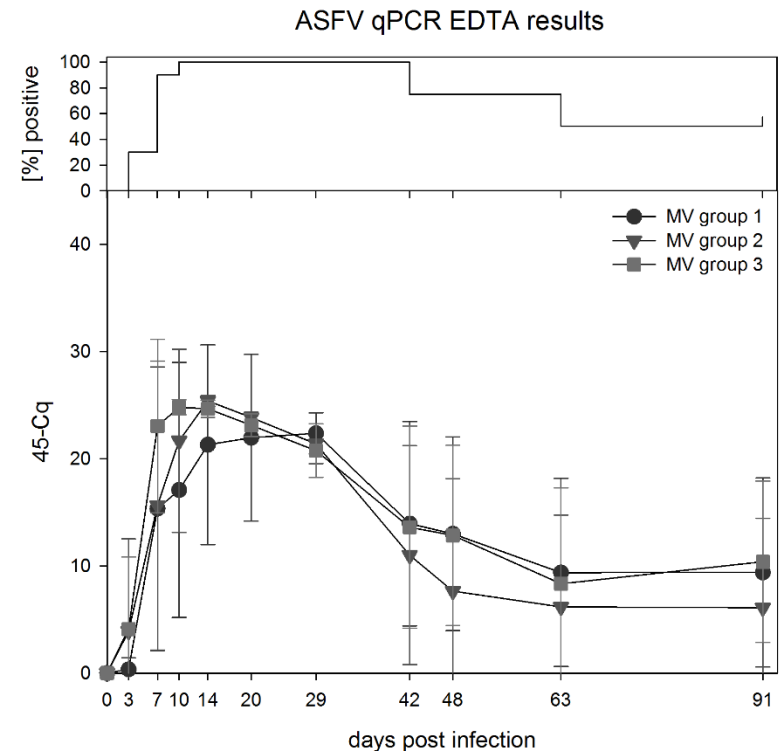
Was können wir erwarten?

Wann immer Sie eine Probe oder eine Testpriorität auswählen: Behalten Sie die Infektionsbiologie und die Pathogenese im Auge!

- ASPV ist ursprünglich ein ARBO-Virus, Blut enthält hohe Viruslasten
- Die Virämie ist ziemlich lang, auch bei rekonvaleszenten Tieren
- Wählen Sie ggf. ein krankes Schwein, um erste Proben zu erhalten!
- Virales Genom ist NICHT infektiöses Virus!

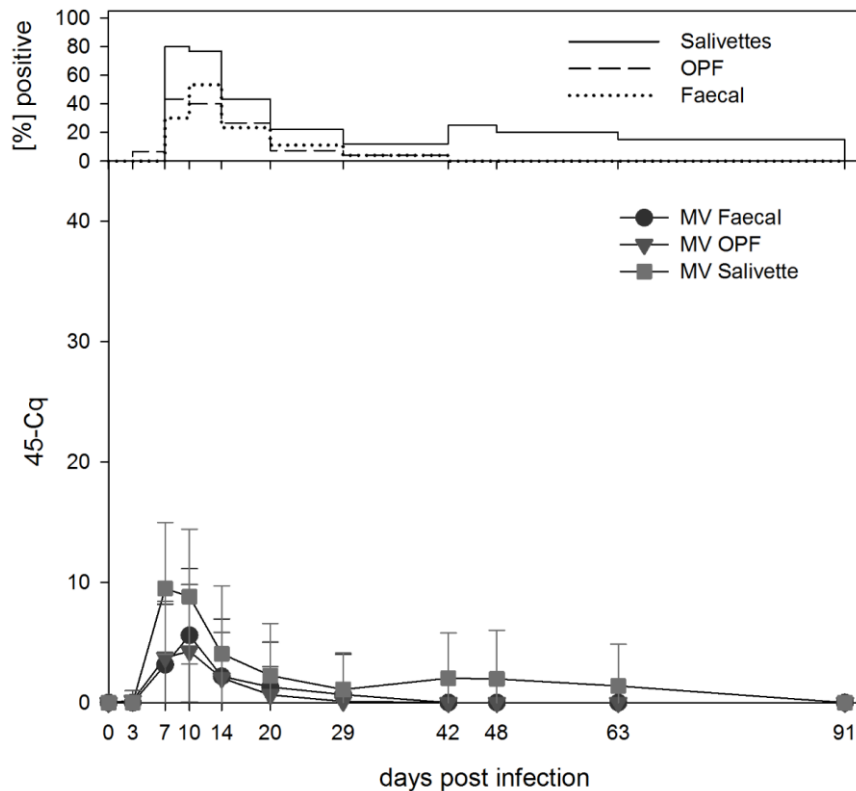


- Kein Nachweis 164 Tage nach der Infektion



Was können wir erwarten? II

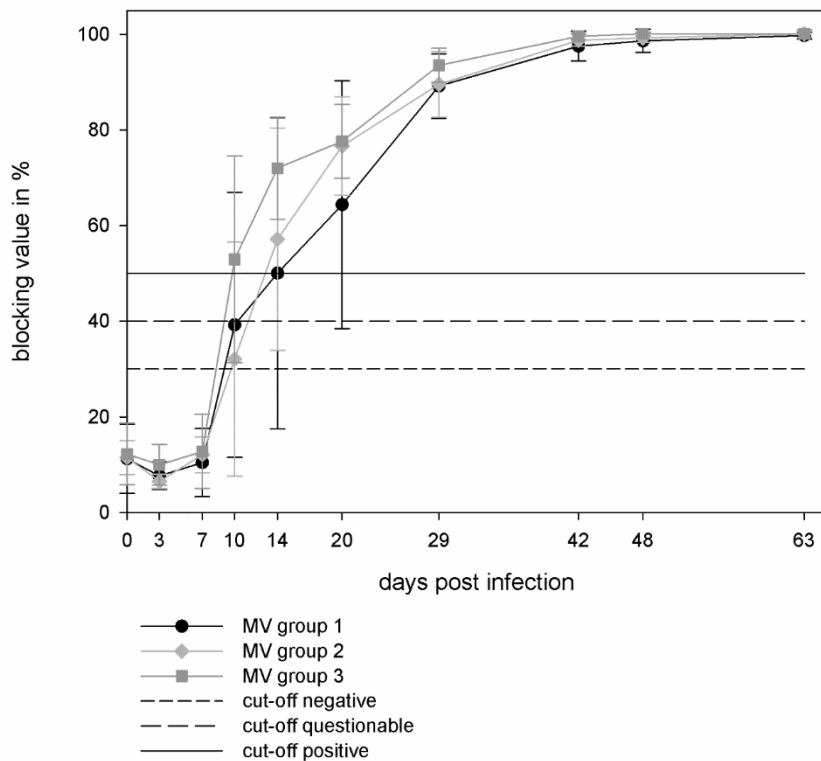
Wann immer Sie eine Probe oder eine Testpriorität auswählen: **Behalten Sie die Infektionsbiologie und die Pathogenese im Auge!**



- Die Ausscheidung mit Se- und Exkreten ist eher gering (Eignung der Matrices?)
- Abstriche sind bei Einzeltieren möglicherweise nicht hilfreich...
- Hämorrhagische Anzeichen erleichtern die Erkennung (blutige Kot- oder Mund-Rachen-Abstriche)

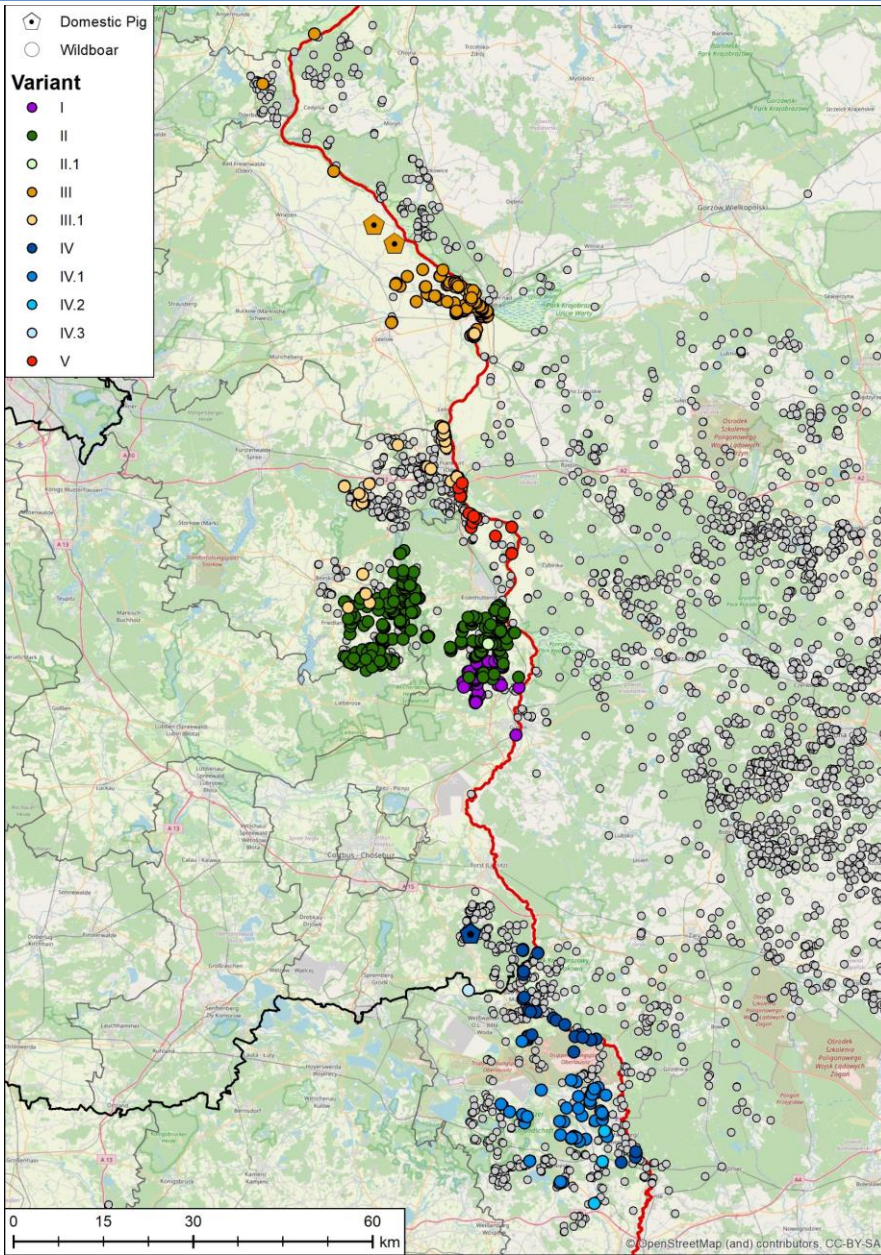
Was können wir erwarten? III

Wann immer Sie eine Probe oder eine Testpriorität auswählen: **Behalten Sie die Infektionsbiologie und die Pathogenese im Auge!**

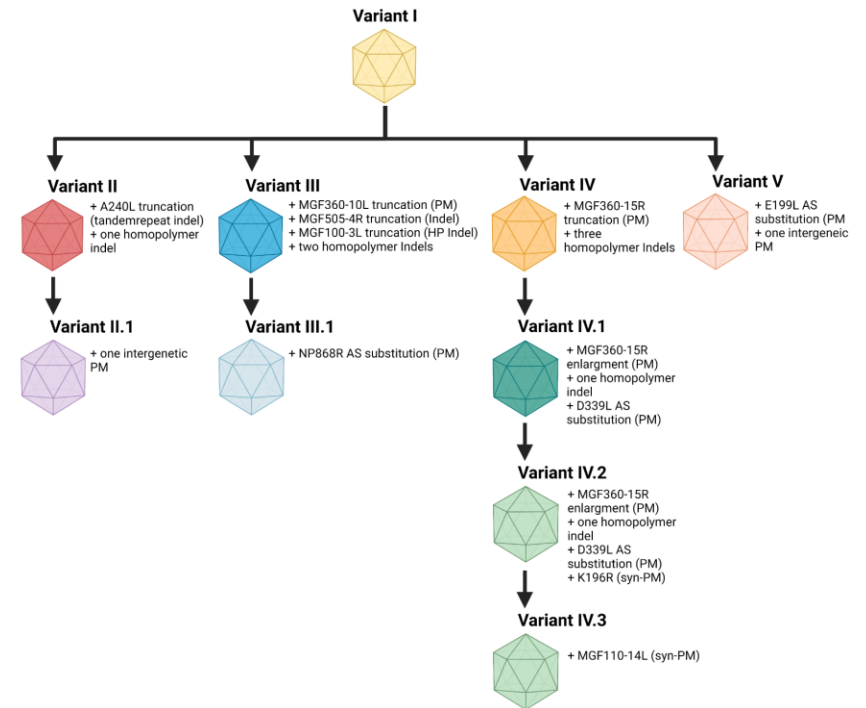


- Antikörper treten etwa zwischen Tag 7 und 14 nach der Infektion auf
- Kein prädiktiver Wert für den endgültigen Krankheitsverlauf
- Antikörper geben Aufschluss über das Alter der Infektion
- Nutzung des Antikörpernachweises zur Bestimmung von Hochrisikoperioden
- Erkennung von Infektionen mit Stämmen geringerer Virulenz (die unbemerkt blieben)

Ein Virus überrascht uns...

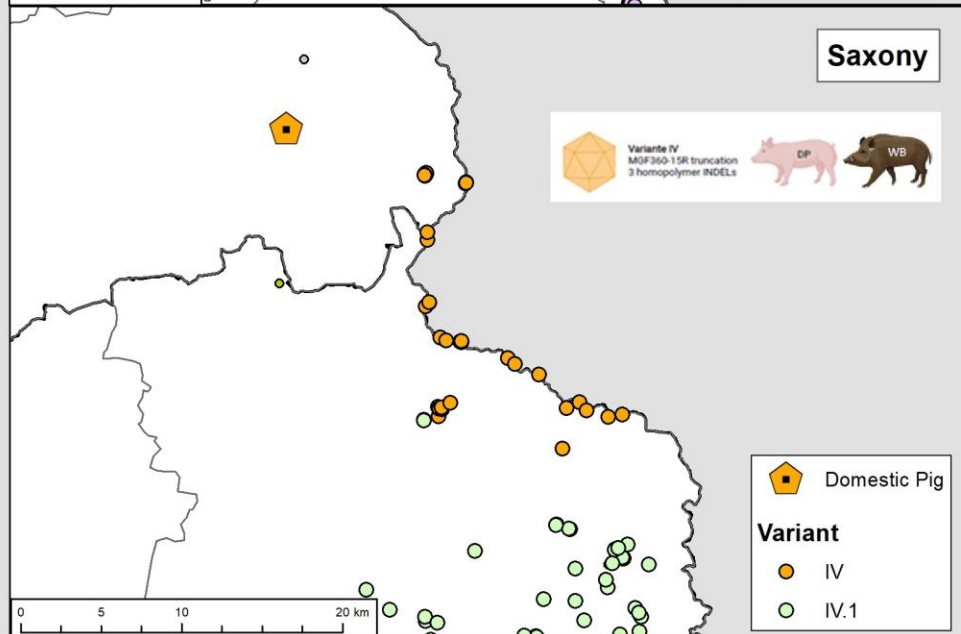
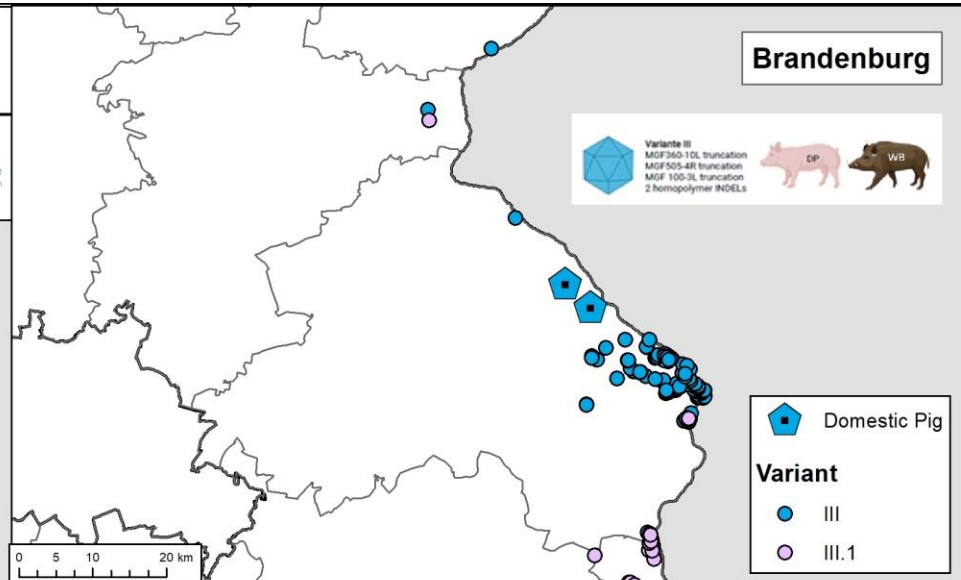
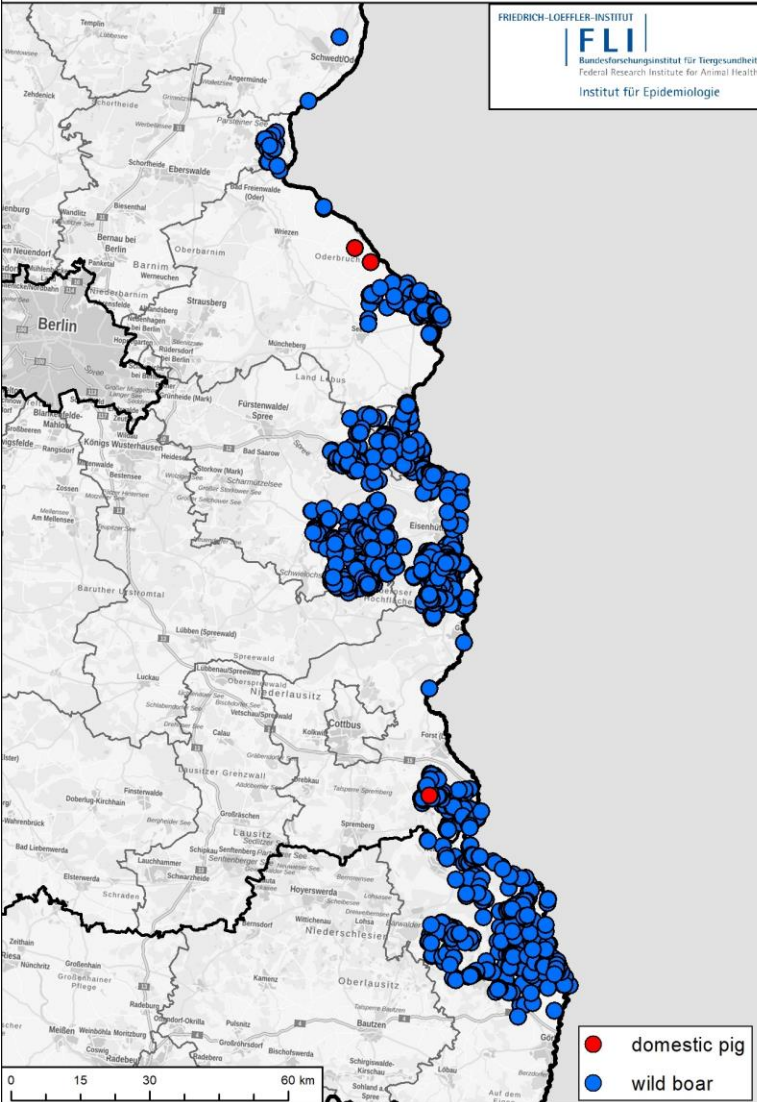


- NGS of representative strains
- Tailored PCRs
- Sanger sequencing
- Spatial clustering



African Swine Fever positive pig farms and wild boar in Brandenburg and Saxony (Sequence data)

Source: TSN (Status: 01.09.2020 - 20.09.2021)



Ukraine zum Vergleich...



1 Ukraine 10 (Cov 111)
 31.10.2017
 - 3 synonymous point mutations
 - 1 non-synonymous point mutation

2 Ukraine 20 (Cov 95,3)
 16.08.2017
 - 3 synonymous point mutations
 - 4 non-synonymous point mutations
 - 2 indels with frameshift

3 Ukraine 12 (Cov 186,7)
 16.07.2017
 - 2 non-synonymous point mutations

4 Ukraine 24 (Cov 174,4)
 24.08.2018
 - 1 synonymous point mutation
 - 1 non-synonymous point mutation

5 Ukraine 23 (Cov 160)
 05.03.2018
 - 3 synonymous point mutations
 - 3 non-synonymous point mutations



- Germany and Poland since 2020/2021
- 5 Frameshifts
- 2 Truncations
- 7 non-synonymous PM
- 3 synonymous /IG PM

Received: 28 April 2021 | Revised: 3 July 2021 | Accepted: 18 July 2021

DOI: 10.1111/tbed.14248

ORIGINAL ARTICLE

Transboundary and Emerging Diseases

WILEY



Lateral flow assays for the detection of African swine fever virus antigen are not fit for field diagnosis of wild boar carcasses

Paul Deutschmann | Jutta Pikalo | Martin Beer | Sandra Blome

Field samples from carcasses (n=16)					qPCR	LFA without modification		LFA after freeze-thawing		Ab detection
Sample	Sample Origin	Species	ASFV strain	p72 genotype	cq	Result	Interpretation	Result	Interpretation	
C1	carcass	wild boar	Germany-WT	II	14	positive	TP	positive	TP	negative
C2	carcass	wild boar	Germany-WT	II	16	negative	FN	positive	TP	negative
C3	carcass	wild boar	Germany-WT	II	25	negative	FN	negative	FN	negative
C4	carcass	wild boar	Germany-WT	II	15	negative	FN	positive	TP	negative
C5	carcass	wild boar	Germany-WT	II	17	negative	FN	negative	FN	negative
C6	carcass	wild boar	Germany-WT	II	25	negative	FN	positive	TP	negative
C7	carcass	wild boar	Germany-WT	II	19	negative	FN	negative	FN	negative
C8	carcass	wild boar	Germany-WT	II	30	negative	FN	negative	FN	negative
C9	carcass	wild boar	Germany-WT	II	19	negative	FN	positive	TP	negative
C10	carcass	wild boar	Germany-WT	II	17	negative	FN	negative	FN	negative
C11	carcass	wild boar	Germany-WT	II	19	negative	FN	negative	FN	negative
C12	carcass	wild boar	Germany-WT	II	17	positive	TP	negative	FN	negative
C13	carcass	wild boar	Germany-WT	II	18	negative	FN	positive	TP	negative
C14	carcass	wild boar	Germany-WT	II	19	negative	FN	negative	FN	negative
C15	carcass	wild boar	Germany-WT	II	16	negative	FN	positive	TP	negative
C16	carcass	wild boar	Germany-WT	II	22	negative	FN	negative	FN	negative

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

