



Frau Doris Schröder

Zentralabteilung
Leitung: Dietmar Nobis

Justizariat

bearbeitet von:

Telefon:

Fax: 038351/7 1219

E-Mail:  fli.de

Zeichen od. AZ: C200 706 03

Datum: 22.04.2024

Ihre Nachfrage vom 23.02.2024 zu unserer Beantwortung Ihrer IFG-Anfrage „Aviäre Influenza, Nachweismethoden“ [#295637] vom 15.02.2024

Sehr geehrte Frau Schröder,

in der o.g. Angelegenheit möchten wir zu Ihrer Nachfrage vom 23.02.2024 wie folgt Stellung nehmen:

Zu 1.):

Sie haben mich auf Hassan et al. verwiesen. Dieser Artikel enthält u.a. nicht die Information zu einer Virenlast in Bezug zur Probenmenge. Bitte übersenden Sie mir die vom FLI vorgegebene Methodik zur Probennahme und des durchgeführten RT-qPCR Tests (TierGesG §27 (5) 1) bzw. die entsprechenden Arbeitsanweisungen des FLI.

Wie bereits erläutert, führt das FLI keine eigenen Probennahmen im Rahmen der hoheitlichen Diagnostik durch, sondern erhält Probenmaterialien zur weiteren Untersuchung aus den Bundesländern.

In Bezug auf geeignete Untersuchungsmethoden verweisen wir auf die Methodensammlung zu AI

https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00027413/TS11-TS20a-TK17a-AI-2021-02-03-bf.pdf

sowie die zugelassenen kommerziellen Testkits zum Nachweis und zur Subtypisierung von Influenza A Viren bei Vögeln. Die aktuelle Liste zugelassener Kits können sie hier einsehen:

https://www.fli.de/fileadmin/FLI/Service/Zulassungsstelle/deutsch/02_d_Zul_Mittel.pdf

Die Gebrauchsinformationen der Kits geben entsprechende, detaillierte Hinweise zur Verwendung.

Da es kein zugelassenes Kit für die Pathotypisierung mittels RT-qPCR gibt, finden sie in der Anlage die FLI-eigene Laborarbeitsanweisung *NRL-AI PCR 40* samt Anlage dazu,

deren Methodik im Übrigen der bereits ihnen zugänglich gemachten Veröffentlichung von Hassan et al. entspricht.

Zu 2.)

Hier fehlt die Beantwortung von a). Ansonsten sind die Aussagen unklar und ohne für mich verständlichen Informationsgehalt. Daher bitte ich Sie, mir den vollständigen dazugehörigen Untersuchungsbericht zu senden.

Aus unserer Sicht haben Sie alle dazu wichtigen Informationen erhalten. Insbesondere wurden mit der Veröffentlichung alle für die Beurteilung der Ergebnisse erforderlichen Daten vorgelegt. Im Übrigen berufen wir uns auf den Ablehnungsgrund des § 6 Satz 1 IFG („Schutz des geistigen Eigentums“ - vgl. dazu das Urteil des VG Braunschweig vom 26.06.2013, Az.: 5 A 33/11, Rn. 26 ff).

Ihre Frage unter a) wurde wie folgt beantwortet: „Für eine Reihe der in Hassan et. al. benannten Testsysteme wurden Vergleichswerte auf der Basis der Nukleinsäurekopienzahl ermittelt. Hierbei ergab sich für die generisch eingesetzte real time RT-PCR (RT-qPCR) mit dem Zielgen „M“ eine untere Detektionsgrenze von 10-50 Kopien je Ansatz.“

Sollte es Ihnen verständlicherweise schwerfallen, fachliche Aussagen nachzuvollziehen, empfehlen wir das Hinzuziehen eines Experten/einer Expertin im Bereich der veterinärmedizinischen Diagnostik. Eine Behörde ist nach dem IFG grundsätzlich nicht zur inhaltlichen Aufbereitung vorhandener amtlicher Informationen verpflichtet.

Sie schreiben: „ohne Infektiösität keine Replikation“.

Ist die Infektiösität nicht abhängig von der Fähigkeit eines Pathogens zur Invasion eines Wirtes und einer Reproduktion (Replikation) in ihm? Wie berücksichtigt das FLI, dass Nukleinsäuren eine hohe Stabilität aufweisen, weshalb nicht intakte oder nicht umhüllte Viren in die Quantifizierung eingeschlossen werden? Da ich vermute, dass die vom FLI ermittelten Vergleichswerte einen gewissen Aufschluss dazu geben können, bitte ich Sie, mir die vollständige Studie zukommen zu lassen.

Der diagnostische Nachweis der HPAI wurde Ihnen bereits in unserem Schreiben vom 15.02.2024 dargelegt. Für die Rechtsgrundlagen der zu führenden Nachweise verweisen wir auf das Europäische Tiergesundheitsgesetz. Weitere Erläuterungen zur Diagnostik der HPAI finden Sie z.B. in den Unterlagen der Weltgesundheitsorganisation für Tiere (WOAH, vormals OIE) (Chapter 3.3.4 des Manual of Diagnostic Tests and Vaccines, for Terrestrial Animals, twelfth edition 2023).

https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm

Selbstverständlich ist es so, dass der Nachweis von Virusgenom mittels PCR keinen Rückschluss auf etwaig vorhandene Infektiosität erlaubt. Dies ist nach den gesetzlichen Vorgaben auch nicht erforderlich. Als ein Beispiel einer Korrelation von Infektiosität (gemessen in Zellkultur) und PCR Cq-Werten haben wir eine exemplarische Tabelle angefügt. Hier wurde das Virusisolat A/chicken/DE-NI/AI 4286/2022 (HPAIV H5N1, clade 2.3.4.4b) in log₁₀ Schritten verdünnt; Aliquots der Verdünnungen wurden in Zellkultur (permanente Hepatozytenlinie aus dem Huhn: LMH) auf Infektiosität untersucht und in der RT-qPCR (Zielgen: M Segment) untersucht. Grün gekennzeichnet sind in der PCR als

positiv gewertete Verdünnungsstufen. Die Spalte TCID₅₀/mL gibt die rechnerisch ermittelte mittlere Infektiosität an.

Verdünnungsstufe	ct- Wert	TCID ₅₀ /ml
unverdünnt	15,01	92800000000
10 ⁻¹	17,13	9280000000
10 ⁻²	20,9	928000000
10 ⁻³	24,25	92800000
10 ⁻⁴	27,13	9280000
10 ⁻⁵	30,66	928000
10 ⁻⁶	34,17	92800
10 ⁻⁷	37,14	9280
10 ⁻⁸	>40, neg	928
10 ⁻⁹	>40, neg	92,8
10 ⁻¹⁰	>40, neg	9,28

Zu 3.)

Es werden Zielgene benannt, aber keine ct Werte/Grenzwerte. Bitte reichen Sie diese nach bzw. sollten diese in den Arbeitsanweisungen ja auch enthalten sein.

Proben mit einem Cq-Wert <40 werden als positiv gewertet.

Zu 5.)

Auch wenn diese Unterscheidung gesetzlich nicht erforderlich ist - Sie als den Gesetzgeber beratendes Referenz- und Forschungslabor, sind angehalten, mehr zu untersuchen, als im Tiergesundheitsgesetz für eine Feststellung eines Ausbruches gefordert wird. Bitte beantworten Sie also meine Frage - in Bezug auf ct Werte und Viruslasten.

Wir haben ausreichend dargelegt, dass die von ihnen erwünschte Unterscheidung anhand der gesetzlich festgelegten Regelungen nicht erforderlich bzw. irrelevant ist. Kontaminationsprävention im Labor wird anhand der ihnen bereits beschriebenen Maßnahmen sichergestellt.

Rechtlich entscheidend für die Diagnose ist der Nachweis des Virus **oder seiner Genombestandteile**. Dabei ist es unerheblich, ob der Genomnachweis mit dem Nachweis einer Infektiosität korreliert.

Zu 6.)

Mit der NTC und der PTC wird kontrolliert, dass das Messsystem mit allen Schritten das tut, was es soll. Findet eine Geräte-Kalibrierung im Sinne einer Quantifizierung der Infektiosität demzufolge nicht statt?

Eine „Quantifizierung der Infektiosität“ erfolgt bei molekularen Nachweisen per se nicht.

Zu 7.)

Da Sie keine Protokolle gesendet haben, aber auf das Handbuch verweisen, übersenden Sie dieses bitte.

Das QM-Handbuch des FLI führt in puncto Auswahl, Verifizierung und Validierung von Verfahren (SOP 7.2, Version 03, Norm 2018) entscheidend aus:

„Die in den Laboratorien des FLI angewandten Methoden sind:

- **Anerkannte Untersuchungsmethoden**, das heißt Standardmethoden nationaler und internationaler Organisationen (z.B. Amtliche Methoden, von der OIE, EU oder vom AVID validiert),
- **In der Literatur beschriebene**
 - bewährte, anerkannte Methoden oder
 - neu beschriebene oder wesentlich modifizierte Standardmethoden
- **Hausmethoden**, das heißt selbst entwickelte oder stark modifizierte anerkannte Methoden.“

Alle drei Kriterien treffen auf die in der AI-Diagnostik angewandten Verfahren zu:

Ein Großteil der eingesetzten Methoden wurde hier im Hause im Rahmen von Forschungsprojekten entwickelt (Bulletpunkt 3).

Die resultierenden Verfahren wurden publiziert und der wissenschaftlichen Gemeinschaft zur weiteren unabhängigen Prüfung zur Verfügung gestellt (Bulletpunkt 2). Die diesbezüglichen Publikationen wurden in der vorangegangenen Kommunikation mit Ihnen benannt.

Aufgrund ihrer Eignung sind viele dieser Verfahren in Standardmethoden internationaler Organisationen übergegangen (Bulletpunkt 1) und werden dort empfohlen (siehe z.B. die Webseite des europäischen Referenzlabors für AI und ND: <https://www.izsvenezie.com/reference-laboratories/avian-influenza-newcastle-disease/diagnostic-protocols/>

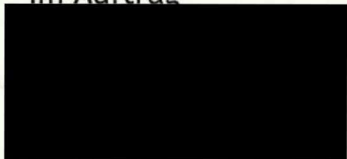
HA and NA subtyping of Avian influenza virus by real-time RT-PCR (Hassan et al., 2022; James et al., 2018; Hoffmann et al., 2016) (Released on 28/09/23)
--

IZSve

SOP VIR 1004

Diese Verfahren haben somit externe, unabhängige Validierungen in der genannten Institution durchlaufen und bilden damit ein wichtiges Fundament auch der international angewandten Methodik.

Mit freundlichen Grüßen
Im Auftrag


Justiziarin