

Infektionsimmunologie: PBL Virologie

Fallbeschreibung

In der Schweineherde von Herr Müller wurde in den letzten 6 Monaten eine Morbidität von 50% beobachtet. Die Schweine waren geringgradig abgemagert und zeigten Fieber und Husten. Zwei der schwächsten Ferkel wurden euthanasiert und Probenmaterial wurde an das Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich gesandt.

Differentialdiagnosen aufgrund der klinischen Erscheinung

Virale Erkrankungen

- **Arteriviridae:** Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)
 - Grippeähnliche Virusinfektion mit schweren Folgen für die Reproduktionsleistung
 - Auszurottende Tierseuche, CH ist frei
- **Herpesviridae:** Suides Herpesvirus 1 (Aujeszky)
 - Fieberhafte Infektion, welche sich mit einer Meningoenzephalitis oder respiratorischen Symptomen äussert
 - Auszurottende Tierseuche
- **Orthomyxoviridae:** Schweine Influenza A (SIV) (H1N1, H1N2, H3N2)
 - Symptome: Fieber, sehr schlechter Allgemeinzustand während 3-6 Tage, Husten, Nasenausfluss, hohe Durchseuchungsrate
- **Flaviviridae:** Klassische Schweinepest (KSP)
 - Symptome: Fieber, Anorexie, Depression, Diarrhöe oder Obstipation, Erbrechen, Konjunktivitis, Lähmung, rötlich-blaue Verfärbungen der Haut

Bakterielle Erkrankungen

- *Mycoplasma hyopneumoniae* (Enzootische Pneumonie (EP))
 - Zu bekämpfende Tierseuche, CH ist frei
- *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP)
 - Zu bekämpfende Tierseuche, CH ist frei
- *Mycoplasma hyorhinis*
- *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*

Parasitäre Erkrankungen

- *Metastrongylus apri*

Einschluss oder Ausschluss der Erreger

Einzuschliessen	Begründung	Auszuschliessen	Begründung
EP	Fieber, trockener Husten, schlechte Gewichtszunahme	PRRSV	I.d.R keine Kümmerer sondern Abort, keine Zyanose
SIV	Fieber, Husten, schlechter Allgemeinzustand	Aujeszky	Keine motorischen Störungen
APP	Inappetenz, Fieber, Husten	KSP	Keine veränderte Haut, kein DF, keine Lähmungen
<i>P. multocida/B. bronchiseptica</i>	Trockener Husten, Wachstumsdepression		

Sofortmassnahmen

- Meldung Kantonstierarzt und Schweinegesundheitsdienst (SGD) bei klinischem Verdacht auf EP oder APP (Hauptsymptom: Husten)
 - Bei unklaren Anzeichen: Rücksprache mit IVI und Probenentnahme durch nicht-amtlichen TA für Ausschlussuntersuchung. Ansonsten bei Verdacht Probenentnahme durch Kantonstierarzt
- Sperre 1. Grades bei klinischem Verdacht auf EP oder APP (zu bekämpfende Tierseuchen!) → Unterbindung Tierverkehr, direkte Schlachtung erlaubt
- Absonderung symptomatischer Tiere

Probenentnahme

- Nasentupfer/bronchoalveoläre Lavage
 - Influenzaverdacht: Akut erkrankte Tiere beproben (aufgrund der Erregerelimination in der Lunge)
 - Negatives Resultat nicht aussagekräftig, da Influenzaviren nur bei akut erkrankten Tieren nachweisbar sind
- Blutprobe
- Pathologie
 - Beurteilung des Lungengewebes
 - Probenentnahme des Gewebes für den Erregernachweis

Diagnostische Tests

- Virusnachweis mittels quantitativer Polymerasen-Kettenreaktion (qPCR): Genmaterial wird durch eine DNA-Polymerase vervielfacht.
 - Bei Influenzaviren benötigt es zusätzlich eine Reverse Transkriptase, die das Virusgenom – ssRNA – in DNA umschreibt.
 - qPCR = modifizierte PCR, bei welcher die Amplifikation der DNA direkt in der Probe während der PCR gemessen werden kann. Zwei Möglichkeiten:
 1. mittels dem Farbstoff SYBR-Green (Anlagerung an dsDNA, Messung unter UV-Licht)
 2. Zugabe eines sequenzspezifischen Oligonukleotids (Sonde), welches an beiden Enden fluoreszierende Marker enthält. Die Sonde wird durch die Polymerasereaktion abgebaut, die beiden Fluorofore trennen sich und die Amplifikation ist ebenfalls unter UV-Licht messbar.
 - C_t-Wert: die Anzahl benötigter Zyklen zur Überschreitung eines bestimmten Basiswertes der Fluoreszenz. Je kleiner der C_t-Wert, desto mehr DNA war im Ausgangsmaterial enthalten.
- Pathologie: zwei euthanasierte Ferkel eingesendet und deren Lungengewebe makroskopisch und histologisch untersucht
- Antikörperrnachweis mittels ELISA oder Hämagglutinationshemmtest möglich (nur gepaarte Serumproben im Abstand von zwei bis vier Wochen aussagekräftig)

Ergebnisse der Untersuchungen

- **Pathologie**
 - **Makroskopisch:** Bronchointerstitielle Pneumonie mit entzündlichen Prozessen an der Alveolarwand, des interalveolären und interlobulären Bindegewebes sowie der Bronchialschleimhaut
 - o Homogen diffus verteilte Veränderungen aller Lungenlappen (verstärkt im kaudodorsalen Lungenbereich)
 - o Nekrosen des bronchialen und bronchiolären Epithels
 - **Histologisch:** zahlreiche Lymphozyten, Akkumulation von Makrophagen in bronchialen und bronchiolären Lumen nach Schädigung und Ablösung von Epithelzellen
- **Bakteriologie:** Negativ: *Actinobacillus pleuropneumoniae*; negativ: *Mycoplasma hyopneumoniae*
- **qPCR:** Positiv: Influenza A-Virus; negativ: pandemischer Subtyp H1N1

Diagnose

Gemäss Diagnostikresultaten und klinischen Symptomen → Durchseuchung des Bestandes mit Influenza-A-Virus

Behandlung

- Symptomatische Therapie
 - Antipyretika, Flüssigkeitstherapie
- Antibiotika
 - bei bakteriellen Sekundärinfektionen
- Prophylaxe
 - Stallklima verbessern (Frischluftzufuhr erhöhen, Schadgase/Staub gering halten, Stalltemperatur optimieren, Luftfeuchtigkeit erhöhen)
 - Impfung: in CH nicht zugelassen!!!
- Überwachung
 - Projekt «Überwachung der Schweineinfluenza bei Schwein und Mensch»: Für Schweine mit grippeähnlichen Symptomen gilt bei Schweinehaltern eine Meldepflicht an den Schweinegesundheitsdienst (SGD).
 - Beim Betriebsbesuch werden Nasentupfer von akut erkrankten Tieren (grippeähnliche Symptomen) genommen und auf Influenzaviren untersucht. Schweinehalter mit grippeähnlichen Symptomen müssen ebenfalls mit Nasentupfern beprobt werden.
 - Das Risiko der Entstehung neuer Influenzavirusvarianten minimieren: Zugang zum Schweinestall begrenzen, Hygiene (spezielle Schutzkleidung nur für Schweinestall, Hände/Arme vor dem Betreten und beim Verlassen des Schweinestalls waschen), Verschleppung minimieren (Schweinestall nur mit Hygienemaske betreten, Kontakt minimieren/vermeiden).

Das Influenzavirus

Erreger:

- Familie: Orthomyxoviridae
- Struktur: helikales Nukleokapsid, behüllt
- Genom: negativ polarisierte, segmentierte ssRNA
 - Influenza A: 8 Segmente, Subtypen: 18 HA / 11 NA (verschiedene Säugetiere z.B. Mensch, Schwein, Pferd; sowie Vögel)
 - Influenza B: 8 Segmente, keine Subtypen (z.B. Mensch und Robben)
 - Influenza C und D: 7 Segmente, keine Subtypen (z.B. Mensch, Hund und Schwein)

Virusreplikation:

- Attachment, Zelleintritt
 - Bindung von Hämagglutinin (HA) an Zellrezeptor
 - Clathrinabhängige Endozytose, Fusion mit der Endosomenmembran
- Uncoating:
 - Senkung des pHs im Endosom
 - konformationelle Änderung im HA-Protein → Exposition eines Fusionspeptides → Fusion Virushülle mit Endosomenmembran
 - Einstrom von Protonen durch Pore, die von viralem M2 gebildet wird → Ablösung M1 von Ribonukleotidsegmenten
- Transkription und Translation
- Replikation des Genoms
 - Replikation im Zellkern
 - Bindung NEP mit Zellkernexportsignal an Ribonukleoproteinsegmente → Export aus Zellkern
 - Hämagglutinin (HA), Neuraminidase (NA) und M2 via sekretorischer Transport an Zellmembran verankert
- Assembly und Zellaustritt
 - Assembly an Zellmembran, wo sich die viralen Hüllproteinen befinden, dann Zellaustritt durch Membranknospeung

Epidemiologie:

- Schwein als Mischgefäss für Influenzaviren (besitzt Rezeptoren für aviäre und humane Rezeptoren)
- Virusreservoir für Influenza A: Wasservogel (tragen alle HA- und NA-Subtypen)
- Impfung in CH nicht erlaubt, Überwachungsprogramm
- Zoonosegefahr bei gewissen Subtypen (z.B. H1N1) → Mensch steckt sich sporadisch mit Schweineinfluenzaviren an

Klinik:

- Saisonal (v.a. Winter)
- Respiratorische Symptome und Fieber
- Selten Abort
- Schnelle Durchseuchung eines Bestandes

Strategie:

- «Hit and run»
 - Schnelle Durchseuchung
- Shift und Drift
 - Shift: RNA-Segmente zweier unterschiedlicher Subtypen werden ausgetauscht → Bildung neuer Subtypen
 - Drift: kleinere Veränderung der Oberflächenantigene durch Anhäufung von Punktmutationen (HA, NA)
- Cap-Snatching
 - 5'-methylierte Cap-Struktur der zellulären mRNA wird als Primer für die Transkription viraler RNA verwendet
 - mRNA des Wirts wird gleichzeitig zerlegt → Ribosom wird für Synthese der viralen mRNA verwendet

Literaturverzeichnis

- Ackermann, M., Engels, M., Fraefel, C., Laimbacher, A., Metzler, A., Schwyzer, M., & Tobler, K. (2013). Virus-Handbuch für Veterinärmediziner. Stuttgart: UTB-Verlag
- Bachofen, C., 2020. Influenzavirus Vorlesungsunterlagen, unveröffentlicht, Universität Zürich, Vetsuisse Fakultät
- Sidler, X., 2020. Erkrankungen der Atemwege beim Schwein Vorlesungsunterlagen, unveröffentlicht, Universität Zürich, Vetsuisse Fakultät, Seite 22
- Tobler, K., Ackermann, M., Fraefel, C. (2016). Allgemeine Virologie. Stuttgart: UTB-Verlag
- Killoran KE, Leedom Larson KR., 2016, Porcine respiratory coronavirus. Swine Health Information Center and Center for Food Security and Public Health
- Baumgärtner, W., Gruber, A. D. (2015). Spezielle Pathologie für die Tiermedizin. Stuttgart: Enke Verlag
- Actinobacillose der Schweine (APP), Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen BLV, 04.07.2017. Abgerufen 20.09.2020, von <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierseuchen/uebersicht-seuchen/alle-tierseuchen/app.html>
- Schweineinfluenza bei Schwein und Mensch, Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen BLV, 23.03.2020. Abgerufen 20.09.2020, von <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tiergesundheits/frueherkennung/schweineinfluenza-schwein-mensch.html>