

Handout Fall 18

Fallbeschreibung

Der 5 Monate alte Hund Veton (männl., American Bully) wird in der Kleintierklinik des Tierspitals Zürich vorgestellt. Anamnese: Seit einem Tag Anorexie, Erbrechen und Durchfall (progressiv blutig). Wurde nie entwurmt, 2x geimpft im August und September 2016 (DHPPi & Lepto6)
Befunde der Eintrittsuntersuchung: Hund in Seitenlagen, HF: 160, trockene SH, KFZ: 4s, schmerzhaftes, geblähtes Abdomen, geröteter und kotverschmierter Anus, US: mgr. Enteropathie und Durchfall, lgr. Abdominalguss, mgr. multifokale Lymphadenopathie, keine Hinweise für Invagination

Welche Aetiologien konnten sie aufgrund der klinischen Erscheinungen einschliessen/ausschliessen?

Einschliessen:	Ausschliessen:
Viren: Parvo-, Corona-, Paramyxo-, Rotaviren Bakterien: Clostridien perfringens, E.coli, Leptospiren, Salmonellen, Campylobacter, Yersinia (-> werden mit AB abgetötet)	Parasiten: Giardia, Hakenwürmer, Cystoisospora canis (-> Invaginationen kommen bei diesen Parasiten gehäuft vor. Zudem erbricht der Hund, was kein typisches Symptom dieser Parasiten darstellt) Vergiftung: Eine Vergiftung verläuft meist perakut.

Sofortmassnahmen?

- Flüssigkeitstherapie: Infusionen Kristalloide und Colloid
- Antibiotika (Ampicillin, Sulfactan, Enrofloxatin), Entwurmung
- Antiemetika (Maropitant, Paspetin, Onsansentron), Magenschutz (Omeprazol), Schmerzmittel (Puprenofin und Minalgin), Enterogelan, Diätfutter
- Isolation des Tieres

Welche Proben haben sie erhoben?

- Blutprobe → Nachweis/Ausschluss von Vergiftung, Viren
- Kotprobe → Nachweis/Ausschluss von Parasiten, Bakterien
- (Zusätzliche Option: Urinprobe → Nachweis/Ausschluss von Vergiftung/Drogentest)

Welche Untersuchungen haben sie veranlasst?

- Koprologie: (Sedation, Flotation)
- Blutuntersuchung
 - Rapidpoint
 - Gerinnung (ROTEM-Test)
- SNAP-Test (=Abstrichtest von Kot am Anus)

Ergebnisse der Untersuchungen (Bezug auf virologische Eigenschaften)

Relevante Befunde der Labordiagnostik:

- Hgr. Leukopenie mit 1.5% stabkernigen Neutrophilen: Nebst mitotisch aktiven Zellen in der S-Phase sind vor allem Zellen des Immunsystems betroffen. Eine Vermehrung in Lymphozyten führt zu starker Virämie.
- Gerinnung (ROTEM): Extem/Fitem: normal
- Mikrobiologischer Untersuchungen Parvo Snap Test positiv: Für vollständige Diagnose nicht ausreichend. Es ist zusätzlich eine anatomisch-pathologische Untersuchung sowie Histologie anzuordnen.
- Verlust von Elektrolyten (Na, K, Cl, P) und Protein durch Vernichtung von Darmepithelzellen und Durchfall.
- Krankheitssymptome sind erklärbar durch Vernichtung der Zielzellen durch die Virusreplikation, z.B. der Darmepithelzellen, Myokardzellen, Zellen des Kleinhirns sowie der B- und T-Lymphozyten.

Welche Erreger konnten sie einschliessen/ausschliessen? (begründen sie jeweils mit Bezug zu virologischen Eigenschaften)

Einschliessen	Begründung	Ausschliessen	Begründung
Canines Parvovirus (CPV)	Virusvermehrung findet in Zellen der S-Phase statt. Besonders bei einem Junghund sind viele Zellen mitotisch aktiv.	Canine Adenovirus (CAV-2) (HCC)	Virusvermehrung in den Mandeln mit Vermehrung über LK. Smptome: Tonsillitis, Husten, Ödem, Leberinsuffizienz.
Canines Coronavirus (CCoV)	Das Virus greift die Enterozyten der Darmzotten an und führt somit zur Malabsorbtion und der Symptomatik Durchfall.	Canine Parainfluenza (CPIV)	Replikation in Epithelzellen der Atmungssystems. CPIV + <i>Bordetella bronchiseptica</i> .
Canine Rotavirus (RVC)	Greifen wie das Coronavirus die Enterozyten im Darm an und führen zu Malabsorbtion und Durchfall. (Aber Moderater flüssiger schleimige Durchfall)		
Staupevirus (CDV)	Es gibt verschiedene Verlaufsformen, z. B. Magen-Darm-Trakt Form --> Durchfall und Erbrechen.		

Wie lautet ihre begründete Diagnose?

Da im Snap-Test Parvo positiv ist, deutet dies höchst wahrscheinlich auf Parvovirus hin.

SNAP Test: ist ein schneller EIA (Enzymimmunoassay) zum Nachweis von caninem Parvovirus CPV-Oberflächen-AG im Kot von infizierten Hunden.

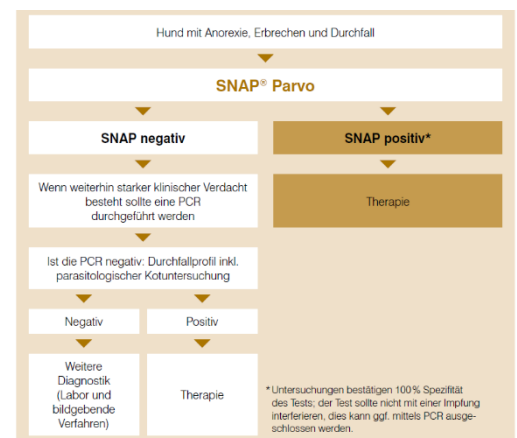
2 Komponenten: 5 Abstrichtupfer mit Anti-Parvovirus: HRPO-Konjugat sowie 5 SNAP Testeinheiten (bestehend aus 0.4ml Waschlösung und 0.6 ml Substratlösung)

Testdurchführung:

Gebraucht wird eine Kotprobe von Hunden, welche man mit einem Abstrichtupfer entnehmen kann. Die Probe kann 24h bei 2-8° gelagert werden, sollte aber bei längerem Aufbewahren eingefroren werden

Prinzip:

- AG wird gebunden, wenn enzymgebundener AK aus dem Konjugat mit der Kotprobe vermischt wird
- Auf Matrix auftragen: diese ist mit antigenspezifischen AK beschichtet
- Konjugat und AG binden an den matrixgebundenen AK und bilden ein sogenanntes Sandwich
- Der SNAP Schnelltest wird durch Herunterdrücken aktiviert
- Waschschrift: Entfernung von unspezifisch, nicht gebundenem Konjugat und Kotbestandteilen von der Matrix
- Substrat fließt über die gewaschene Matrix und reagiert mit Konjugat --> Farbanzeige --> ablesen eines gefärbten Punktes



Interpretation

Zur Ermittlung der Testergebnisse werden die Reaktionsanzeigen im Ergebnisfenster abgelesen und die Farbintensität im Indikatorfeld mit dem neg. Kontrollfeld verglichen

- Pos. Ergebnis: Probeanzeige ist dunkler als diejenige der negativen → Vorhandensein von Parvovirus-AG
- Neg. Ergebnis: Nur positive Kontrollanzeige hat Färbung
- Ungültiges Ergebnis
 - Neg. Kontrolle (Rückversicherung gegen falsch pos. Ergebnisse --> wenn neg. Kontrollanzeige eine deutlichere/dünnere Färbung aufweist als die Kontrollanzeige)
 - Keine Färbung --> wenn positive Kontrolle keine Färbung anzeigt
 - Hintergrund: Eine gewisse Hintergrundfarbe ist normal, wenn diese aber das Testergebnis beeinflusst, dann muss der Test wiederholt werden

Zuverlässigkeit

Zeitfenster: CPV-Ausscheidung idR 4-7d nach der Infektion und korreliert mit dem Auftreten von klinischen Symptomen. Ausnahme bei Welpen mit starken maternalen AK -> hier kann sich die Virusausscheidung im Kot um 1-2d verschieben

Ab Tag 8-10 nach Infektion: Virusausscheidung nimmt ab --> WICHTIG: Kotprobe zu Beginn der klinischen Symptomen nehmen

Welche Behandlungsoptionen erwägen sie? Wie gehen sie weiter vor? (begründen sie jeweils mit virologischen Grundlagen)

- 1.) Bei positivem Snap-Test noch zusätzlich PCR um den Verdacht wirklich zu bestätigen
- 2.) Isolation, damit keine weiteren Tiere angesteckt werden
- 3.) Impfung: Modifizierter Lebendimpfstoff (CPV-2 oder CPV-2b) (da inaktivierte Impfstoffe nur eine kurzweilige Immunität verursachen). Mögliche Ursachen für das Ausbrechen der Krankheit trotz Impfungen
 - Dem Impfzeitpunkt sollte eine grosse Beachtung geschenkt werden, denn ein Grund für das Versagen der Impfung stellt die Interferenz mit maternalen Antikörpern dar. Dabei wird der Aufbau einer Immunität durch das Vorhandensein von maternalen Antikörpern gestört. Grundsätzlich findet die Grundimmunisierung gegen Parvo mit 8-9 Wochen, 12 Wochen, 16 Wochen und mit 6-12 Monaten statt. (Eine korrekte Grundimmunisierung kann anhand der Fallbeschreibung nicht evaluiert werden, da der genaue zeitliche Rahmen nicht bekannt ist.)
 - Es gibt unterschiedliche Meinungen bezüglich der Effizienz von CPV-2-basierten Impfungen gegenüber den neuen Feldstämmen. Somit könnte ein aggressiver Stamm, trotz einer korrekten Impfung, eine Infektion verursachen.
 - Zudem stehen in der Schweiz unterschiedliche Impfstoffe gegen Parvoviren zur Verfügung, welche sicherlich Unterschiede in der Herstellungsart, der Dosierung und dem Virusstamm aufzeigen.
 - Zudem kann ein Parvotest mit Durchfallkot kurz nach einer Impfung zu falsch-positiven Ergebnissen führen, da der modifizierte Lebendimpfstoff in der Darmmukosa replizieren kann. Somit sollte der genaue Zeitpunkt der letzten Impfung erfragt werden.

Was wissen sie über das Virus?

Parvovirus

Taxonomie: Familie: Parvoviridae, Genus : Parvovirus.

Genom, Struktur: unsegmentiert, einzelsträngigen DNA, unbehüllt, ikosahedraler Symmetrie. 2 offene Leseraster (ORF) und an den beiden Enden palindromische Sequenzen. Die eine ORF kodiert für virale Enzyme zur DNA-Replikation, das andere für die Kapsidproteine. Von den Kapsidproteinen gibt es zwei (VP1 und VP2).

Rezeptor: Neuraminsäurehaltige, zelluläre Rezeptoren

Replikationszyklus: Die Virusvermehrung findet nur in empfänglichen, schnell wachsenden Zellen statt, die die S-Phase durchlaufen. Parvoviren gehören zur Typ II Baltimore-Klassifizierung. Für die mRNA-Synthese muss zuerst mithilfe von zellulären Enzymen der komplementäre DNA-Strang synthetisiert werden. Dadurch entsteht die doppelsträngige DNA. Diese wird von zellulären RNA-Polymerasen in die mRNA umgeschrieben und mit zellulären DNA-Polymerasen repliziert. Das Genom enthält an beiden Enden Hairpins, welche als Primer für die DNA-Synthese dient.

Stämme: Felines Parvovirus (FePV), und canines Parvovirus 1 und 2 (CPV-1 und CPV-2).

Wie findet die Infektion statt? Die Parvoviren besitzen eine hohe Tenazität. Deshalb ist kein direkter Kontakt für die Übertragung notwendig. Ausgeschieden werden die Viren über den Kot und auch Oropharynx. Die Virusaufnahme erfolgt meistens oral.

Quellen und Literatur

Mathias Ackermass (Hrsg.), Virus-Handbuch für Veterinärmediziner, 1. Auflage 2013, S. 78-85

Tobler/Ackermann/Fraefel, Allgemeine Virologie, 1. Auflage 2016, S. 42

Review "Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c", Elsevier Veterinary Microbiology, 2012

Hartmann, K. Untersuchungen zur Diagnose und Therapie der Caninen Parvovirose. LMU (2015) München, Deutschland.

Muñoz, P. Enfermedades Infecciosas de los Carnívoros. Dpto. Sanidad Animal. 2016. España.

Ortega, F. Identificación de Parvovirus, Rotavirus y Coronavis en Perros con Gastroenteritis. UAEM, 2015.