

Influenza A-Viren beim Schwein: Verbreitung, genetische Variabilität und Diagnostik

Dr. Adolf Steinrigl

Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling
Abteilung Molekularbiologie

Neuer Grippeerreger (H1N1) und aktuelle veterinärmedizinische Aspekte
Wien, 07.Okt.2009

Aufbau des Vortrages



- Schweine Influenza A-Viren (SIV)
- Verbreitung der verschiedenen SIV Subtypen
- Epidemiologische Bedeutung des Schweines
- H1N1-2009 bei Schweinen
- Labordiagnostik der SIV-Infektion beim Schwein

Was sind Schweineinfluenza Viren?

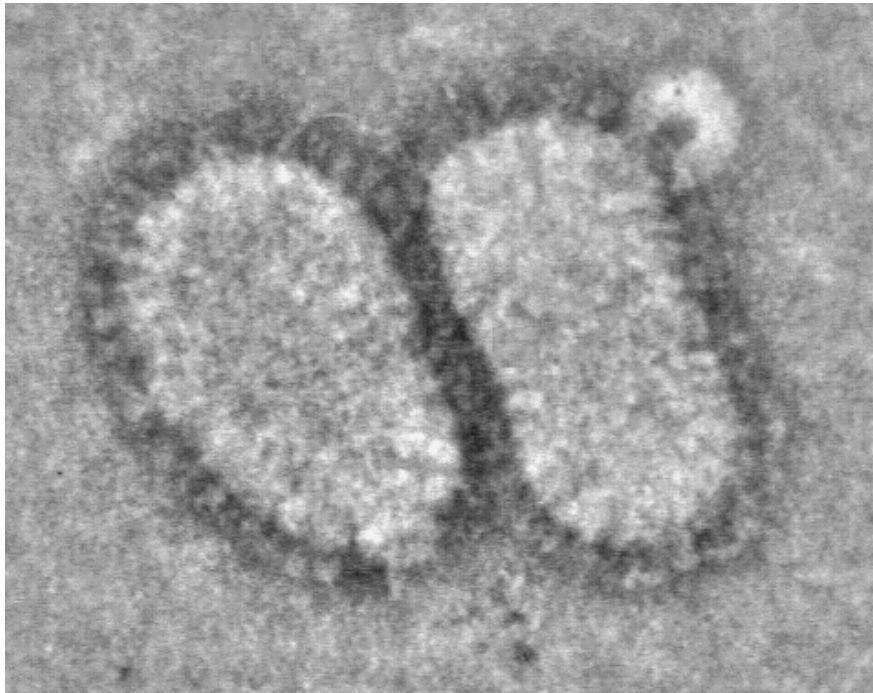
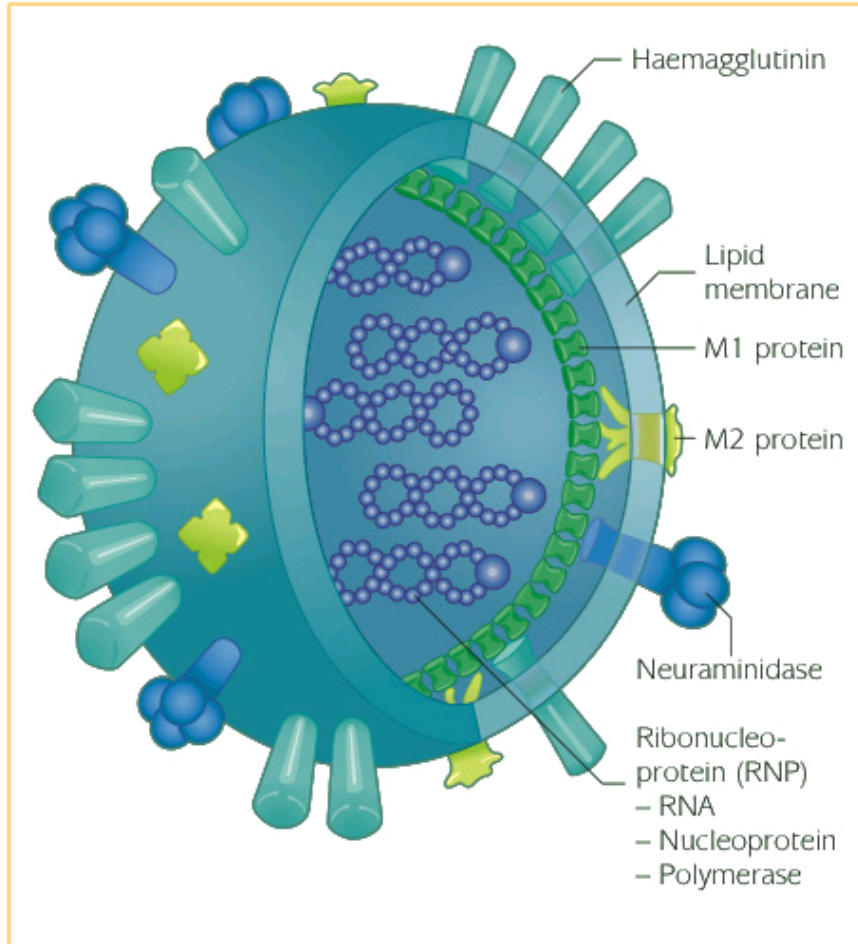


Bild: ELMI, AGES Mödling

- *Orthomyxoviridae*
- Influenza A-Viren
- behüllte, einzelstr. RNA-Viren mit segmentiertem Genom (8 Segmente)
- Vielgestaltige Viruspartikel: sphärisch – linear
- Oberflächenprojektionen

Genomorganisation der Influenzaviren



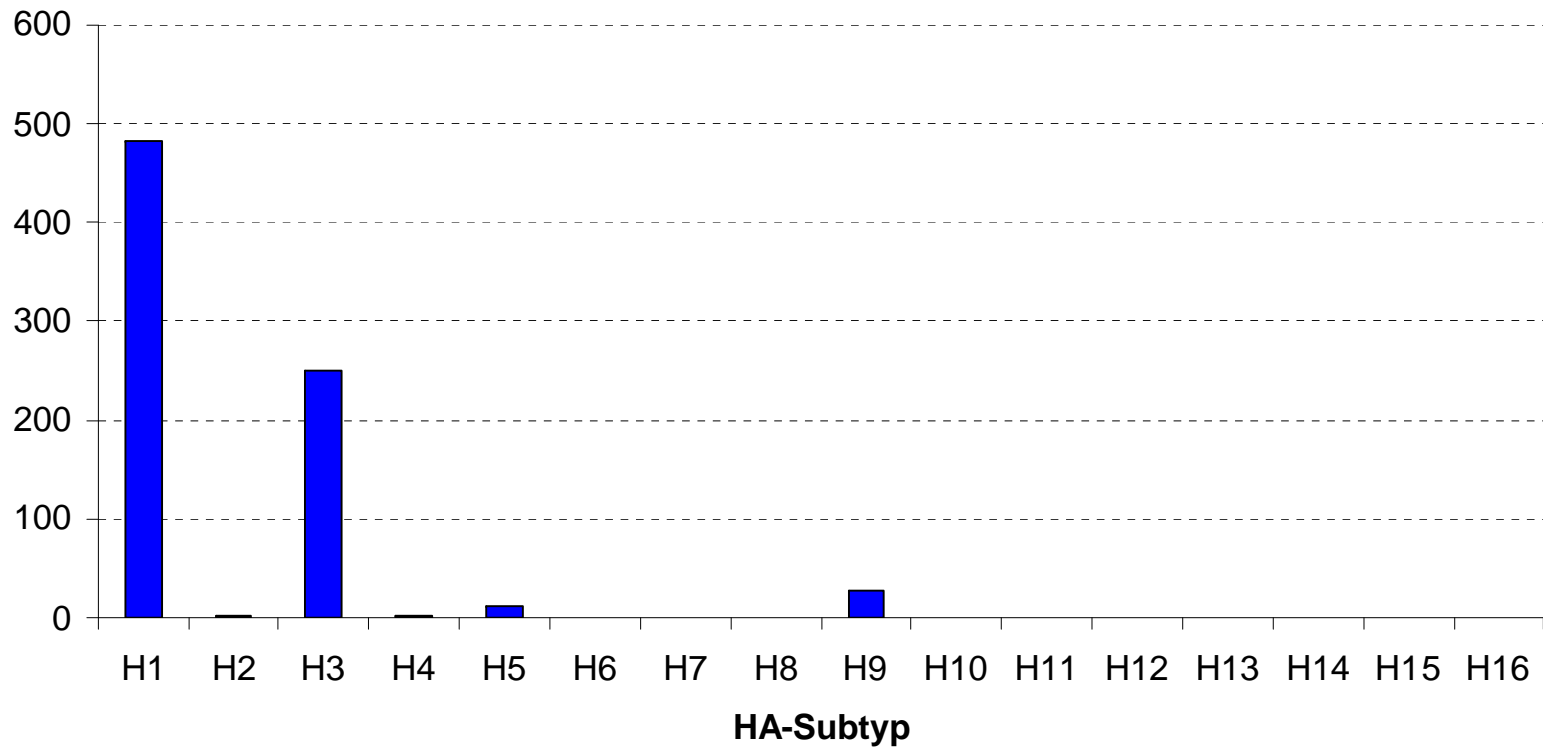
By courtesy of Elsevier.
This picture was published in Influenza Rapid Reference, (2nd Edition), Mosby/Elsevier, 2006.

Bild: www.flucentre.org

- Hämagglutinin (HA): 16 Subtypen
- Neuraminidase (NA): 9 Subtypen

⇒ Typisierung: serologisch und molekularbiologisch aufgrund der HA-NA Kombination (zB. H1N1; H3N2; H5N1; H3N8; etc.)

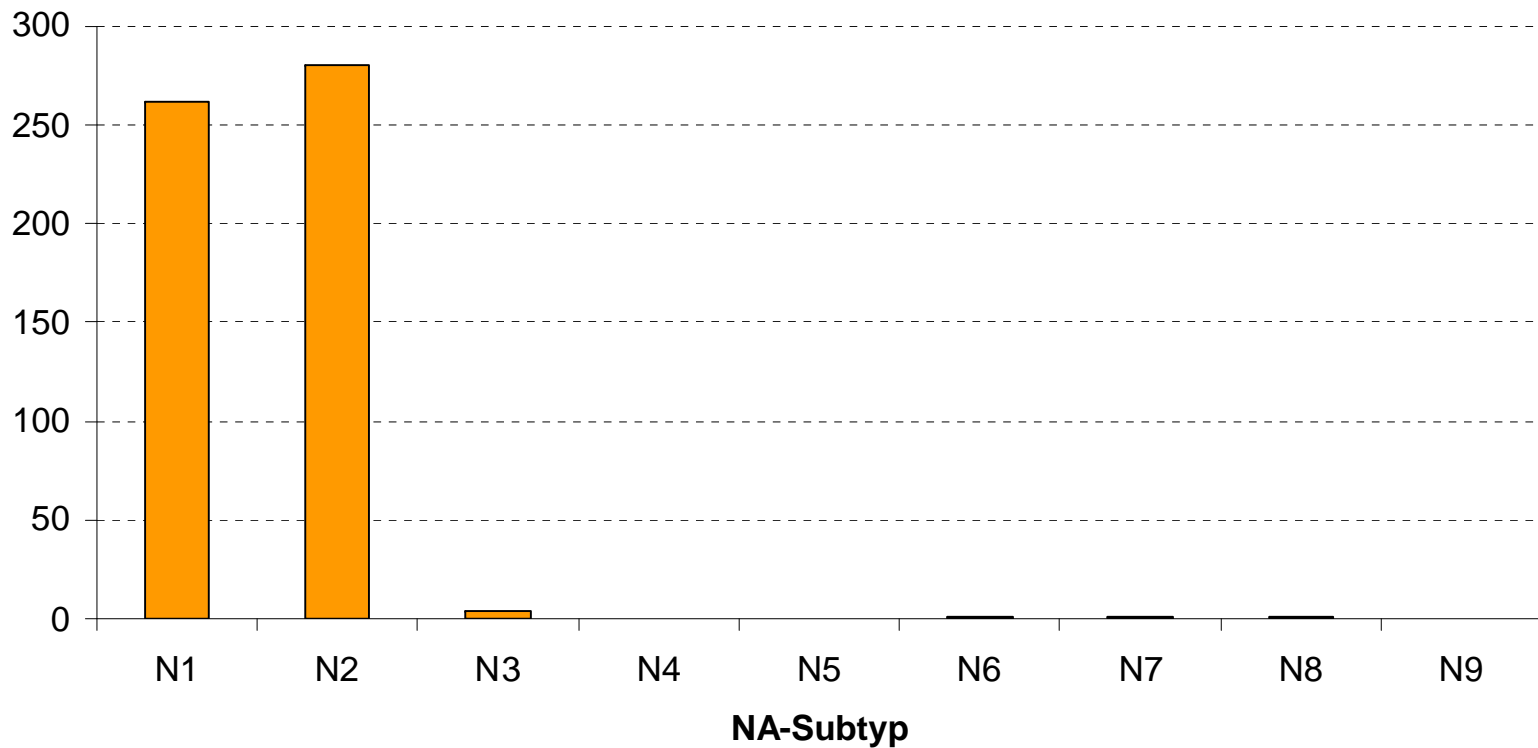
Zuordnung der SIV-Sequenzen in der Datenbank zu HA-Subtypen



www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/ accessed:16.09.09




SIV NA-Subtypen

Zuordnung der SIV-Sequenzen in der Datenbank zu NA-Subtypen



www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/ accessed:16.09.09

SIV HA-NA Subtypen

| HA-NA Subtyp | Anzahl Sequenzen | Vorkommen |
|--|------------------|------------------------|
|  H1N1 | 331 | Amerika, Asien, Europa |
|  H1N2 | 128 | Amerika, Asien, Europa |
| H3N1 | 9 | Amerika, Asien, Europa |
|  H3N2 | 233 | Amerika, Asien, Europa |
| H5N1 | 10 | Asien |
| H5N2 | 2 | Asien |
| H9N1 | 0 | |
| H9N2 | 28 | Asien |



Alle gängigen SIV-Impfstoffe enthalten H1N1 und H3N2 Viren, aber kein H1N2

swH1N1 ist nicht gleich swH1N1...



| Subtyp | Verbreitung | Anmerkungen | Erstisolation |
|--------|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| H1N1 | Amerikas (Europa) Asien | „Klassisches“ H1N1 | 1930 (1918) |
| | Eurasien | Vogelvirus-ähnlich | 1979 |
| | Nordamerika | 3x Reassortant | 1998 |
| H3N2 | Eurasien Amerikas Afrika | Menschenvirus-ähnlich | 1970 |
| | Nordamerika, Asien | 3x Reassortant | 1998 |
| H1N2 | Eurasien | H1N1/H3N2 | 1980 |
| | Europa | H1N1/H3N2 | 1994 |
| | Nordamerika, Asien | 3x Reassortant | 1999 |

Können SIV Menschen infizieren?



- Gelegentlich Infektion von Menschen mit SIV, führt normalerweise nicht zur Etablierung beim Menschen
- SIV-Antikörper bei Menschen mit häufigem Schweinekontakt - Tierärzte (z.B. Deutz et al., 1997) Schlachter, Landwirte
- Mensch > Mensch Übertragung von SIV unüblich, Ausnahme: Fort Dix, NEW JERSEY, USA, 1976 (230 infizierte Soldaten)

Ursachen der Influenzavirus Variabilität



- Die Gensegmente der Influenzaviren haben sich im Lauf der Evolution in verschiedene Subtypen (H1, H2,...) unterteilt; diese Evolution setzt sich fort
- Die einzelnen Gensegmente sind zwischen verschiedenen Influenzaviren austauschbar (Rekombination, Reassortierung)

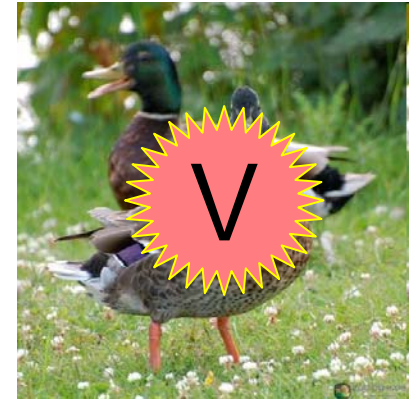
Epidemiologische Bedeutung des Schweines als Wirtstier



Das Schwein ist das ideale Mischgefäß für die Rekombination von Inflenzaviren, weil:

- Als einziges empfängliches Säugetier weltweit in Massen gehalten
- Massentierhaltung: beständiger Zustrom von Influenza-naiven Tieren
- Häufiger Kontakt zu Menschen und Vögeln
- Zellen des Schweine-Atmungsstraktes besitzen Rezeptoren für menschliche und Vogel-Influenza A-Viren

Das Schwein als Mischgefäß für Influenza A-Viren



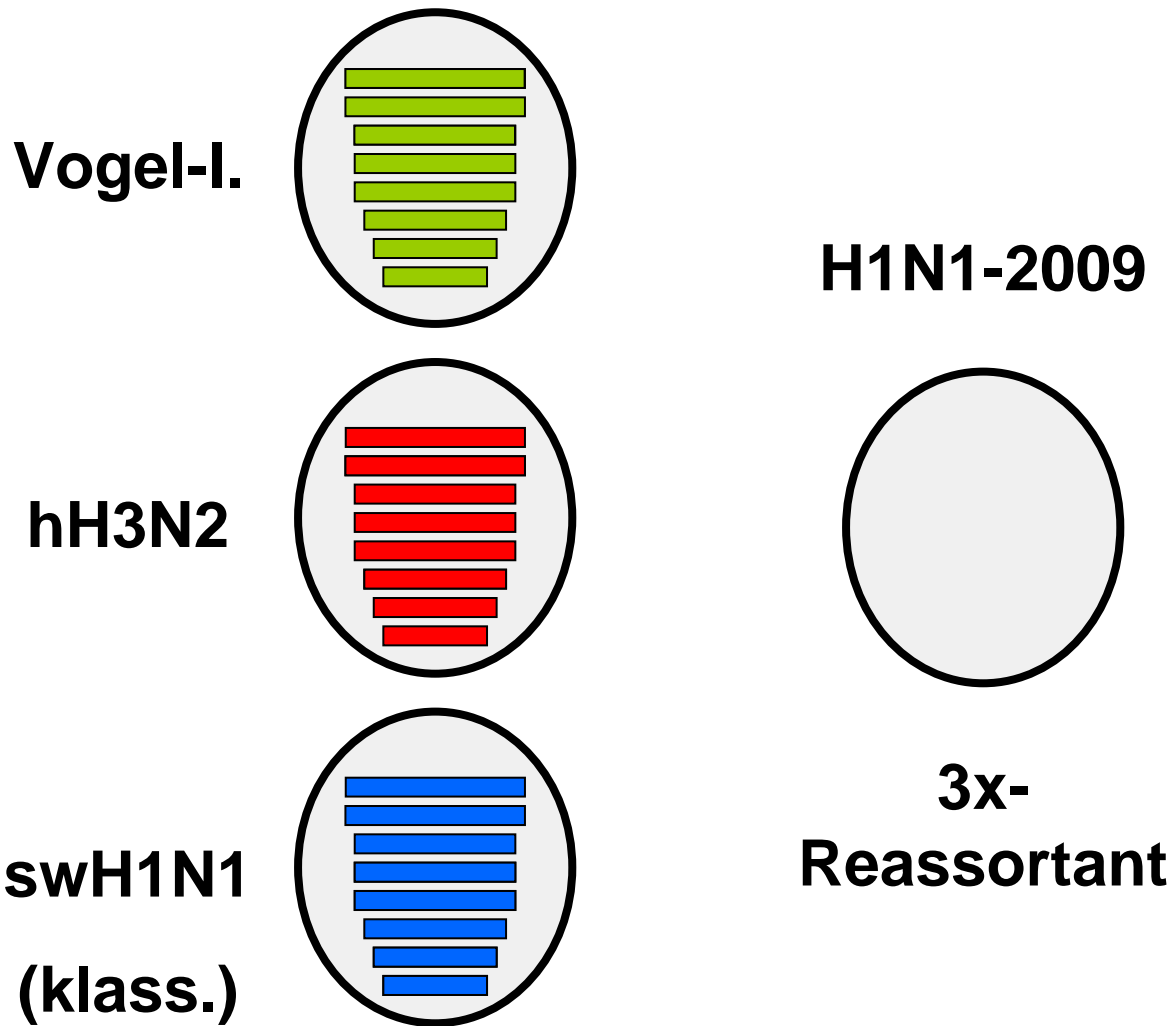
Bildquellen: www.artbible.info;
www.zoologie.de

Was ist H1N1-2009?



- Influenza A Virus, Subtyp H1N1, pandemische Verbreitung im Menschen
- Entstanden durch Reassortierung aus zwei verschiedenen SIV
- Übertragung Mensch > Mensch, nicht Schwein > Mensch
- Wahrscheinlicher Zeitpunkt der Entstehung im Schwein: zwischen 1992 und 2000; Entstehungsort: ????
- Wahrscheinlicher Zeitpunkt der Übertragung auf Menschen: Beginn 2009; Ort: Nordamerika

Entstehung von H1N1-2009



Kann H1N1-2009 auf Haustiere überspringen?



➤ Natürliche Übertragung

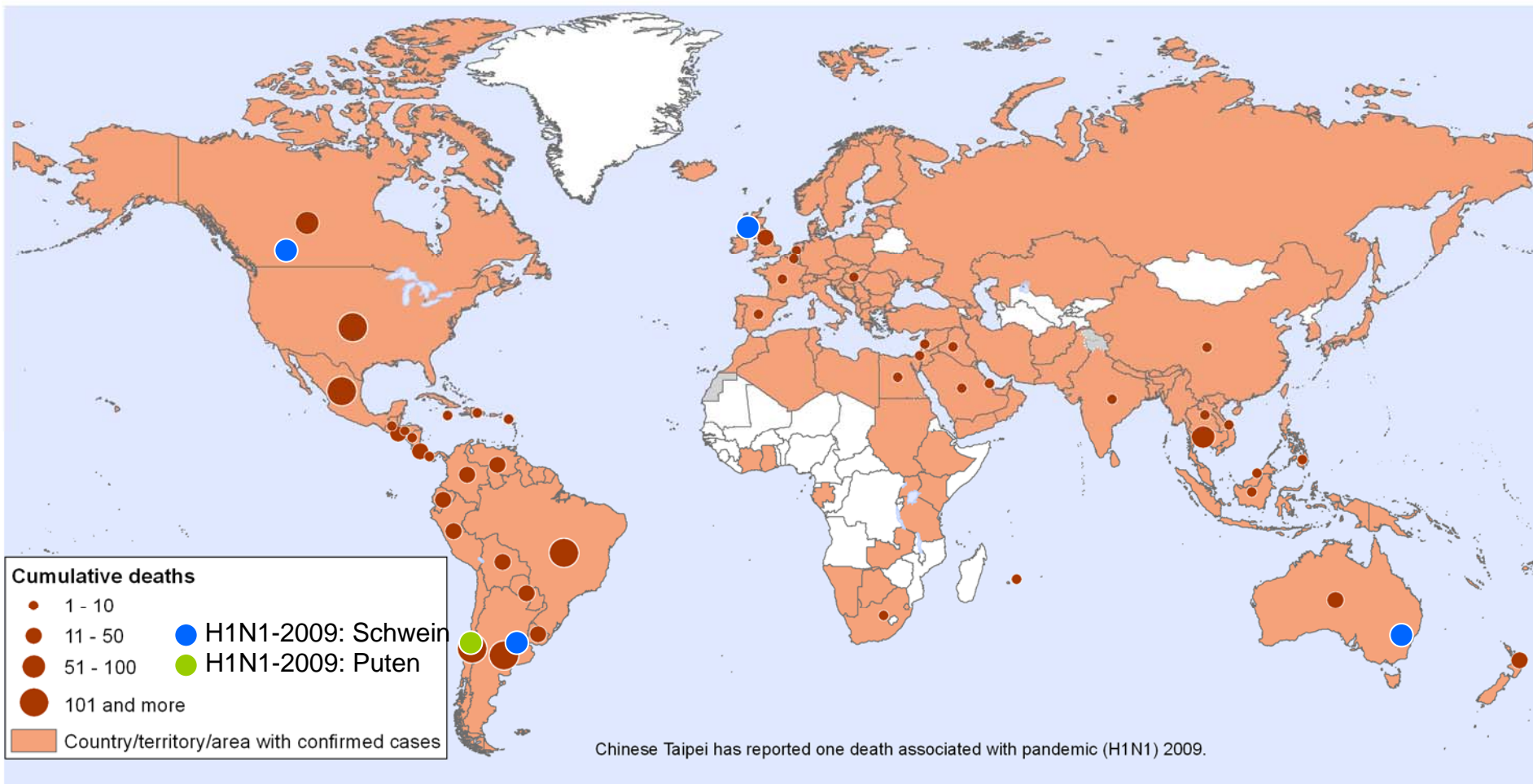
○ Übertragungen auf Schweine:

- Apr. 2009, ALBERTA, Canada
- Jun. 2009, BUENOS AIRES, Argentinien (2 Farmen)
- Jul. 2009, NEW SOUTH WALES, Australien
- Sep. 2009, NORTHERN IRELAND, UK (3 Farmen)

○ Übertragung auf Puten:

- Jul. 2009, VALPARAISO, Chile (2 Farmen)

Countries, territories and areas with lab confirmed cases and number of deaths as reported to WHO



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: World Health Organization
 Map Production: Public Health Information and Geographic Information Systems (GIS)
 World Health Organization



© WHO 2009. All rights reserved

Map produced: 19 August 2009 13:38 GMT

SIV-Diagnostik bei der AGES



Serologisch

- Test: **AK-ELISA**
- Test: **Hämagglutinationsinhibitionstest (HAH)**
- Probenmaterial: Vollblut bzw. Serum

Virologisch

- Test: **Immunfluoreszenz**
- Probenmaterial: Lunge
- Test: **Virusisolation**
- Probenmaterial: Lunge, Tupfer

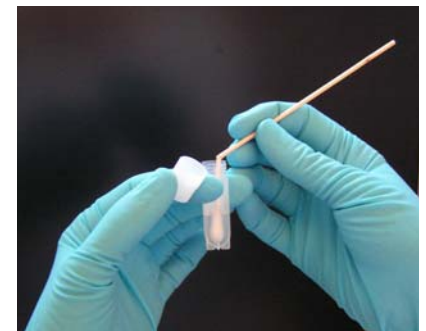
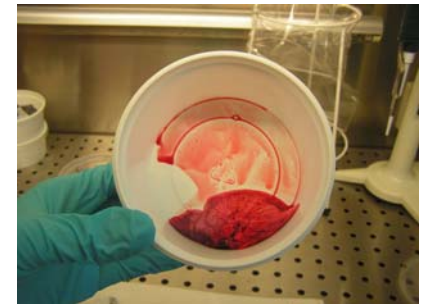
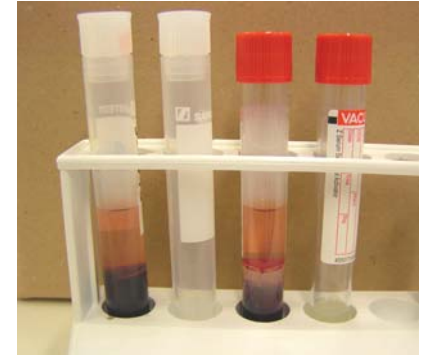
Molekularbiologisch

- Test: **real-time RT-PCR**
- Probenmaterial: Nasen-/Rachentupfer. Organe des Respirationstraktes
- z.T. spezifisch für bestimmte Virusvarianten (z.B. für H1N1-2009)
- Test: **RT-PCR und Sequenzierung**
- Zur Bestätigung, Typisierung, Phylogenetische Analyse

Probeneinsendung an die AGES



- Für Serologie: Vollblut, Serum in entsprechenden Röhrchen, (z.B. Vacutainer® , o.ä.)
- Organe so frisch wie möglich, gekühlt
 - Für Molekularbiologie: einfrieren möglich, optional in speziellem Transportmedium (z.B. RNAlater™)
- Tupfer: in Puffer/Antibiotikalösung – von der AGES anforderbar



Befundinterpretation und Testdauer I

- ELISA-positiv: Antigenkontakt ist erfolgt, d.h. Feldinfektion oder Impfung; muss nicht akut sein.
Testdauer: 1-2 Tage
- HAH: Typisierung des Erregers möglich; Titererhöhung zwischen paarigen Serumproben > akute Infektion.
Testdauer: 1-2 Tage; p. Seren: 3-4 Wochen

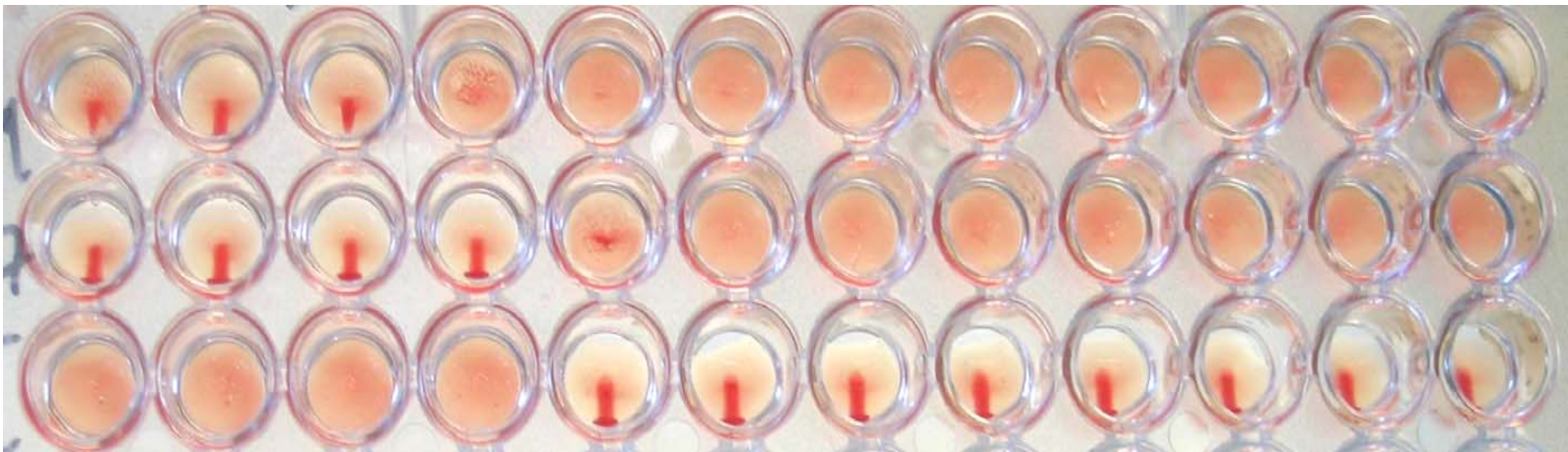


Bild: VIRO, AGES Mödling

Befundinterpretation und Testdauer II

- **Immunfluoreszenz:** Direkter Erregernachweis, kein Hinweis auf Infektionsfähigkeit. Testdauer: **1 Tag**
- **Virusisolierung:** Direkter Nachweis von replikationsfähigem Virus. Testdauer: **3-10 Tage**

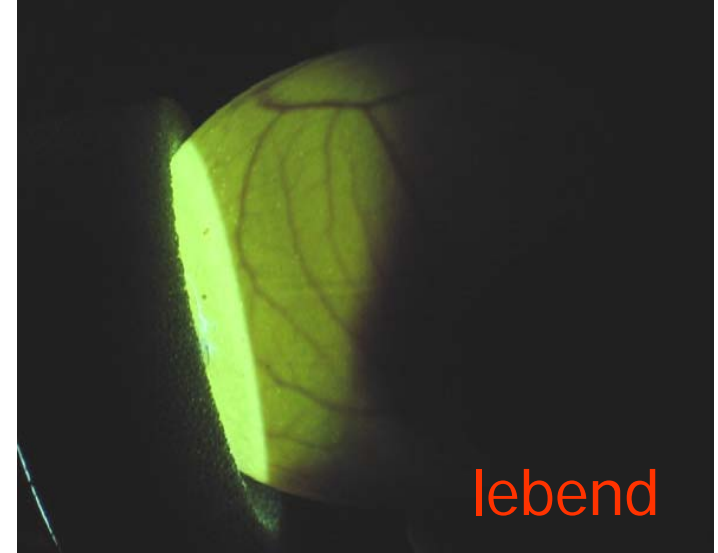
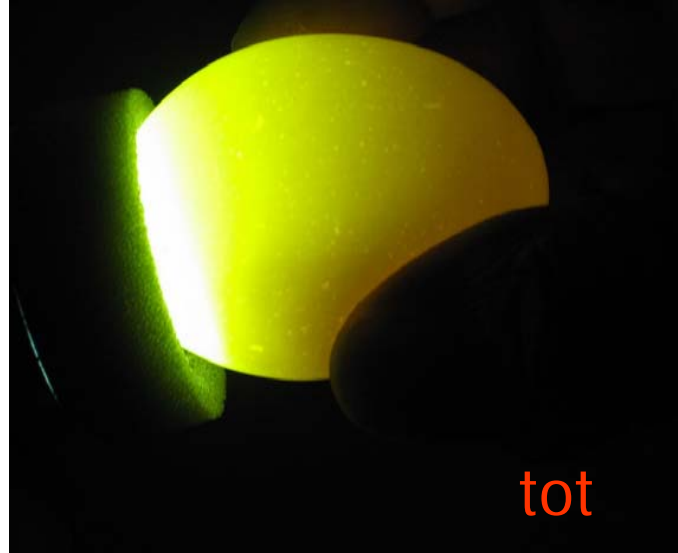
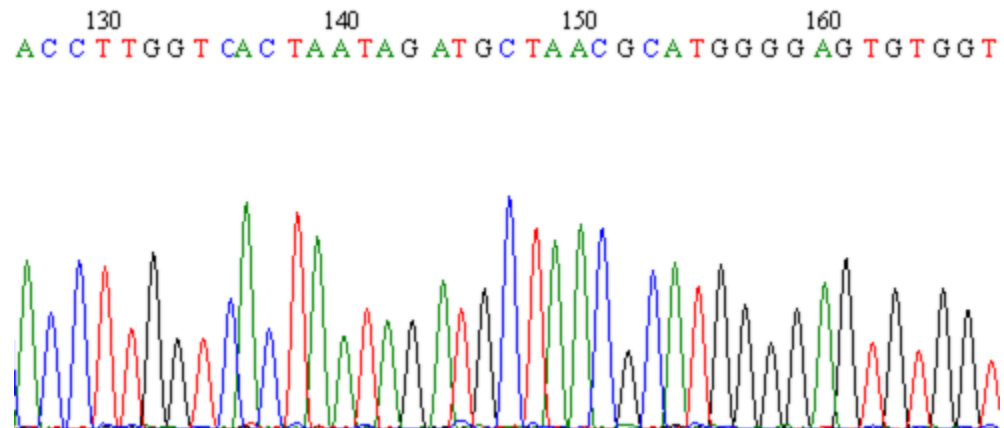
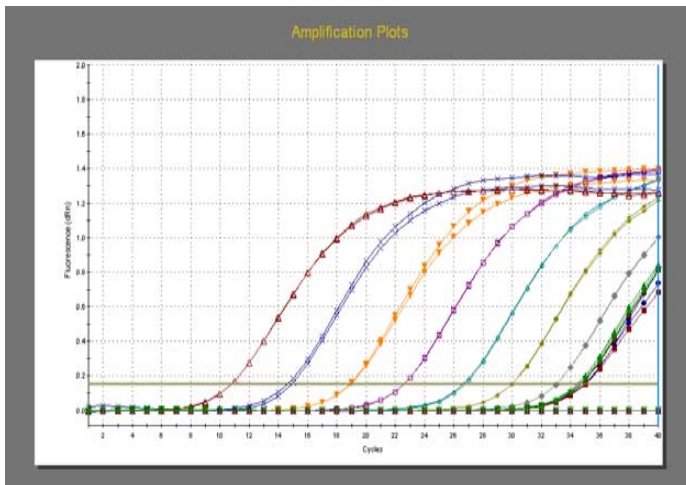


Bild: VIRO, AGES Mödling

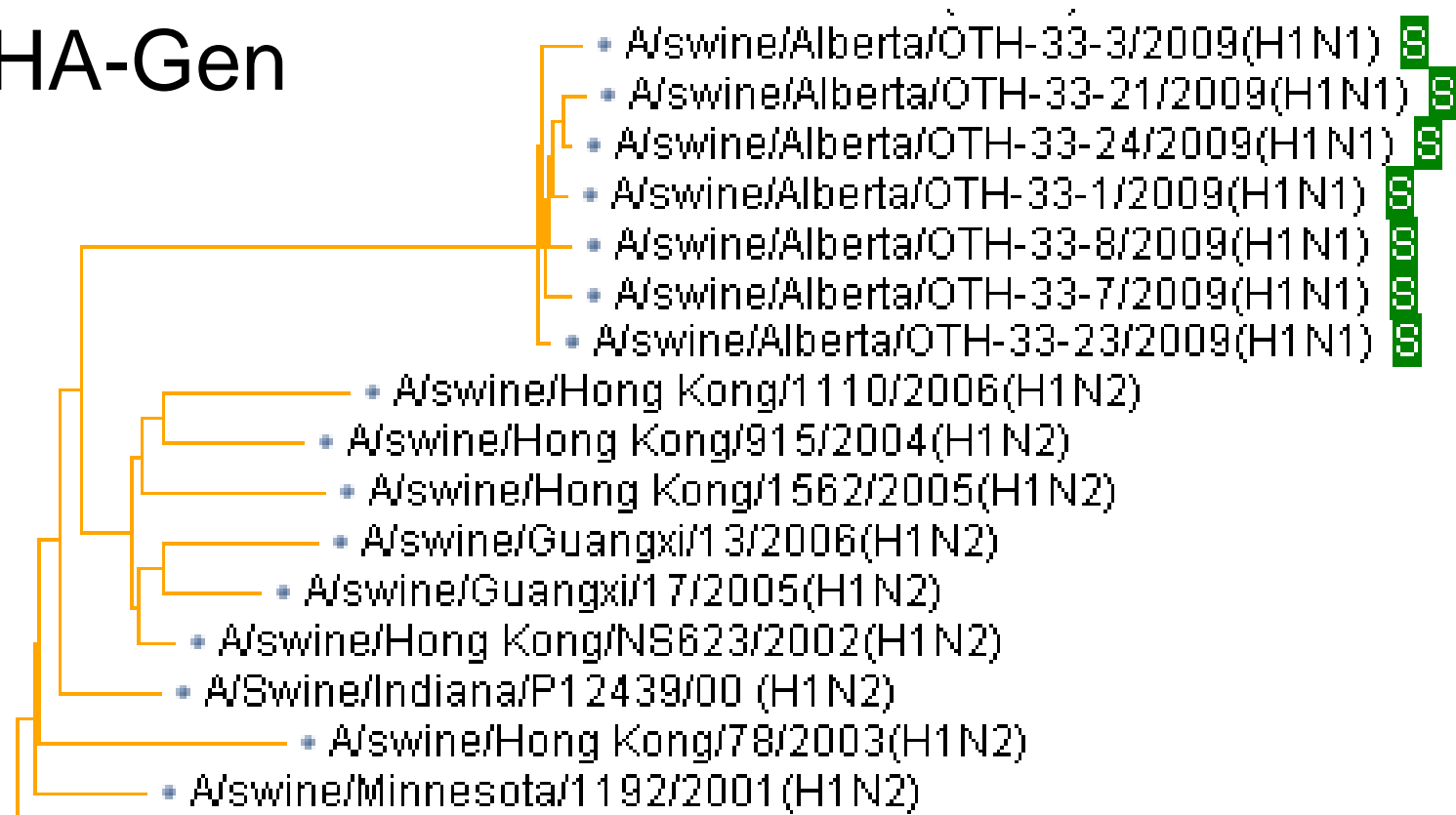
Befundinterpretation und Testdauer III

- **(Real-time) RT-PCR:** Direkter Erregernachweis, hochsensitiv, kein Hinweis auf Infektionsfähigkeit. Quantitative Aussage (real-time RT-PCR). Teilw. Typisierung möglich. Testdauer: **1-2 Tage**
- **Sequenzierung:** Bestätigung der RT-PCR, Typisierung Testdauer: **2 Tage**; Phylogenetische Analyse



Phylogenetische Analyse von H1N1-2009 in Schweinen/Kanada

HA-Gen

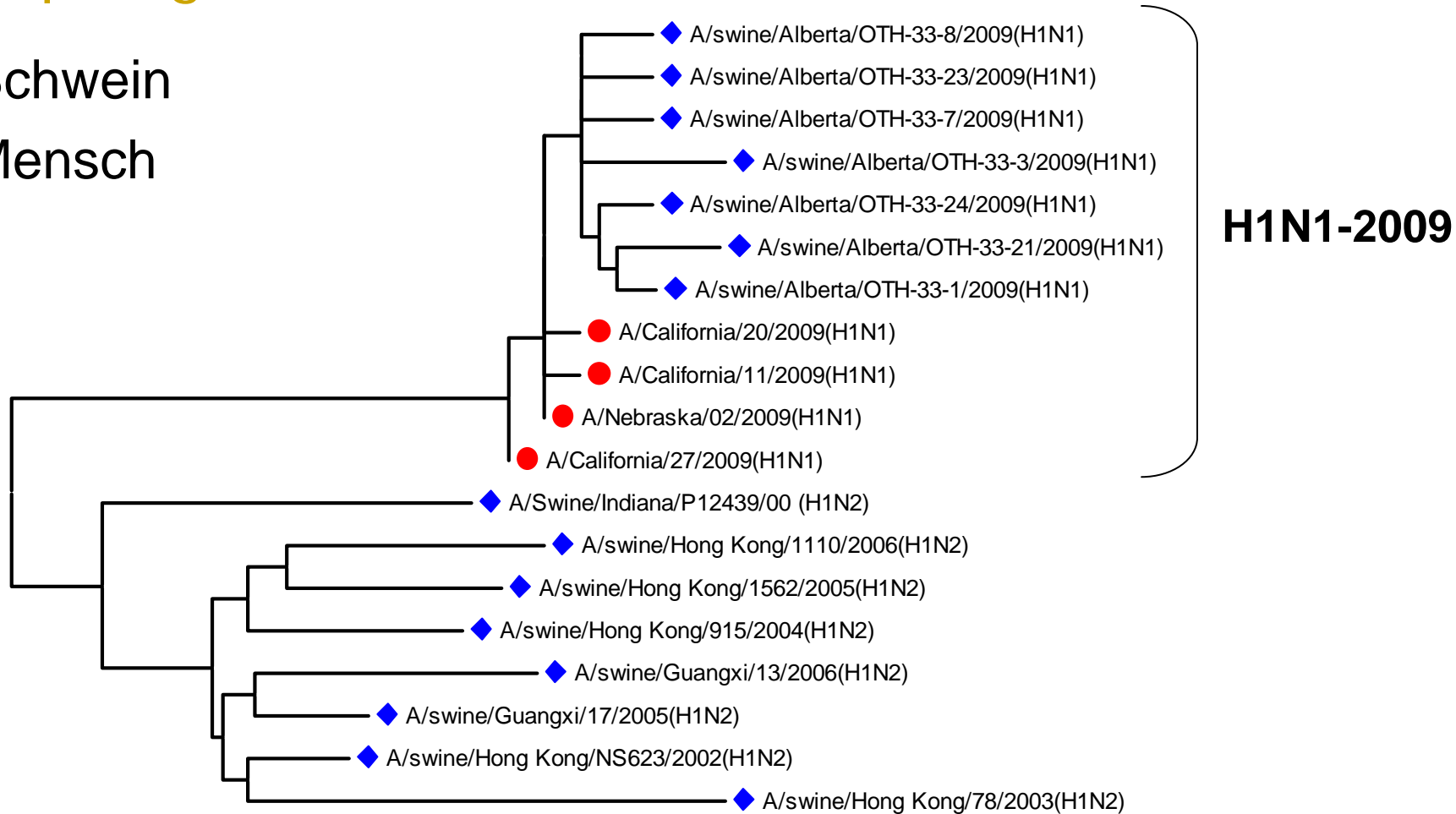


→ H1-Subtypen aus Asien und USA sind am ähnlichsten

H1N1-2009: Infektionen bei Menschen und Schweinen haben gemeinsamen Ursprung

◆ Schwein

● Mensch



0.005

Danksagung



*AGES-Institut für
veterinärmedizinische
Untersuchungen Mödling*

Ao. Univ. Prof. Dr. Petra Winter

Abteilung Molekularbiologie

Dr. Sandra Revilla-Fernández

Abteilung Virologie

Dr. Eveline Wodak

Abteilung ELMI-Labor

Dr. Susanne Richter



Bereichsleiter Veterinärmedizin

Univ. Prof. Dr. Josef Köfer

