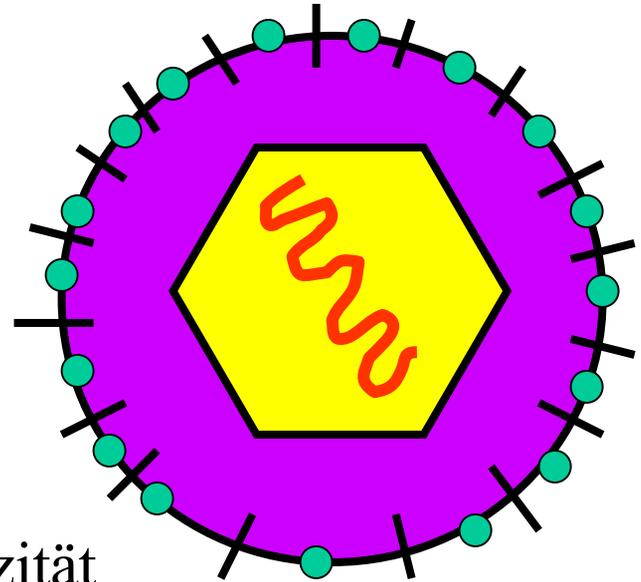
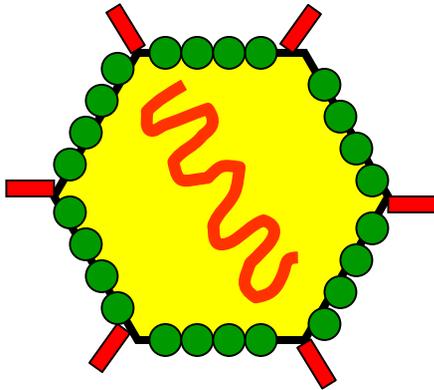


Diagnostik der Virusinfektionen des Schweines

Dr. Jens Böttcher
Zentralinstitut
des Tiergesundheitsdienstes
Bayern e.V.

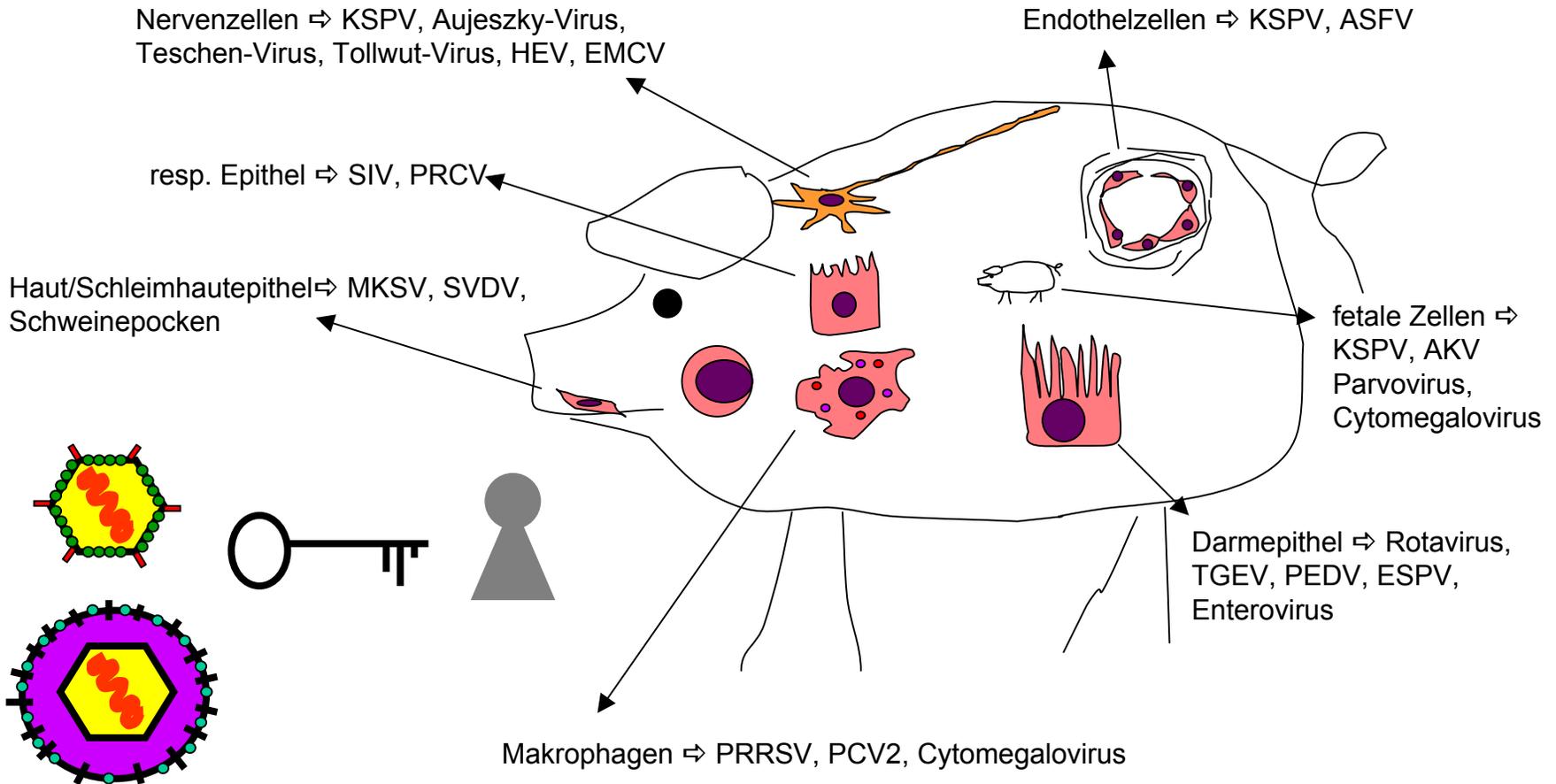
Diese Präsentation enthält Daten aus Projekten, die vom Freistaat Bayern und der Bayerischen Tierseuchenkasse gefördert wurden.

Virus



- unbehüllt/behüllt \Leftrightarrow Desinfektion/Tenazität
- RNS/DNS \Leftrightarrow Mutationsfrequenz/Stabilität
- subgenomische RNS \Leftrightarrow “Antigenic Shift“ z.B. Influenza A Virus

Schwein begegnet Virus



Sektion als Einstieg in die Diagnostik

Sektionsprojekt im TGD

Tierkörper + zusätzliches Probenmaterial

z.B. Serum, Tupferproben, Kotproben, Futterproben

Leistungen: Sektion, Histologie, Bakteriologie, Parasitologie

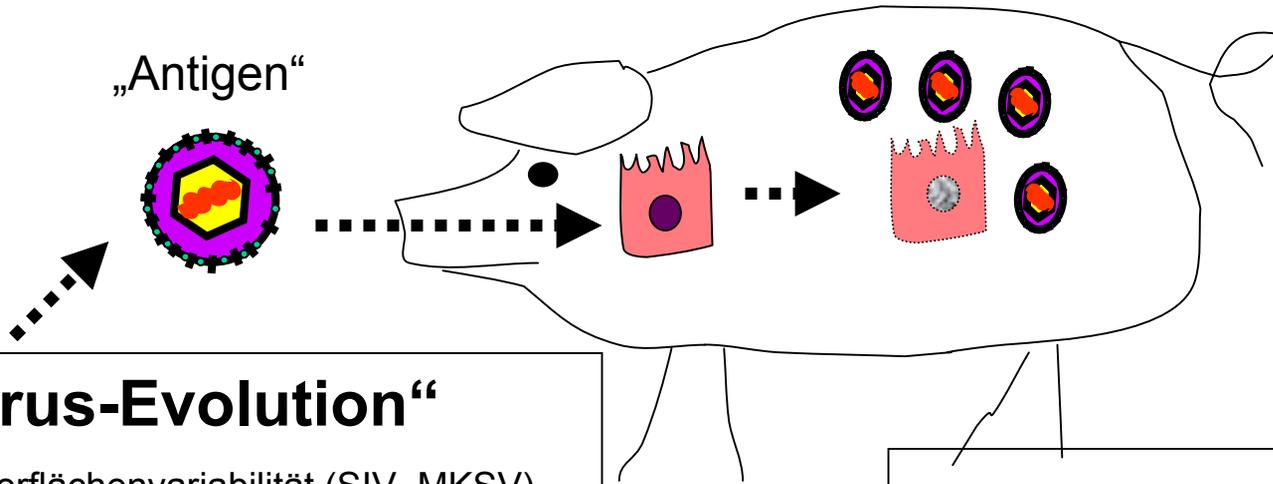
Kosten (Eigenbeteiligung): 15% bis 20%

Abholservice: ca. 35 € (Durchschnittspreis)

Gewichtsbegrenzung: 80 kg

Telefonnummer für Abholservice: 089 9091-249/248

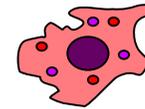
Abwehrstrategie und „Virus-Evolution“



„Virus-Evolution“

- Oberflächenvariabilität (SIV, MKSV)
- Latenz (Herpesvirus, Retrovirus)
- persistente Infektion (KSPV)
- Immuntoleranz (KSPV)
- keine neutralisierenden Antikörper (ASFV, „PRRSV“)
- Infektion von Abwehrzellen (PRRSV, Cytomegalovirus, PCV2)
- Tenazität (MKSV, Parvovirus)

Körperabwehr



- Makrophagen



- zytotoxische T-Zellen



- T-Zellen

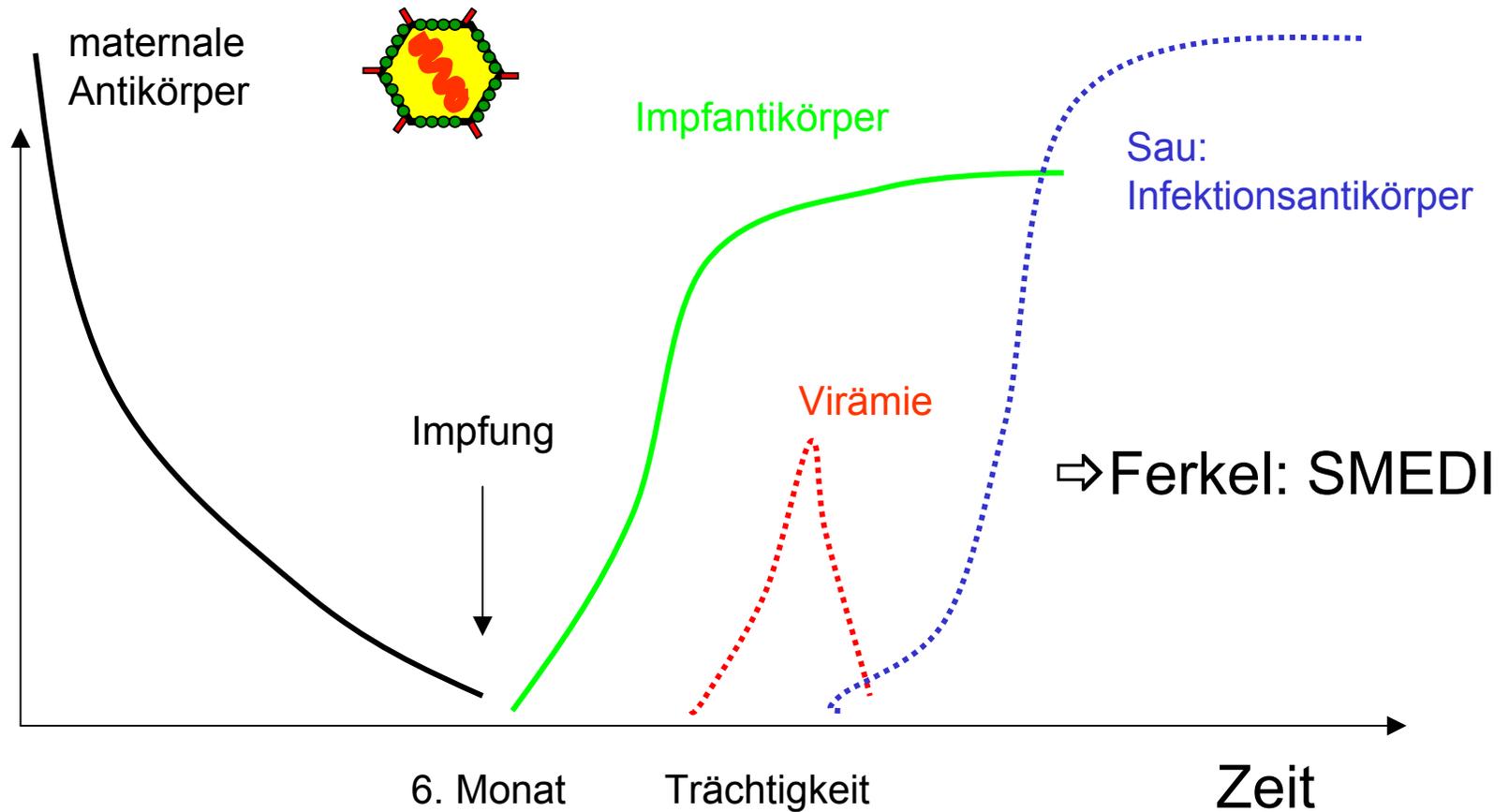


- Plasmazellen

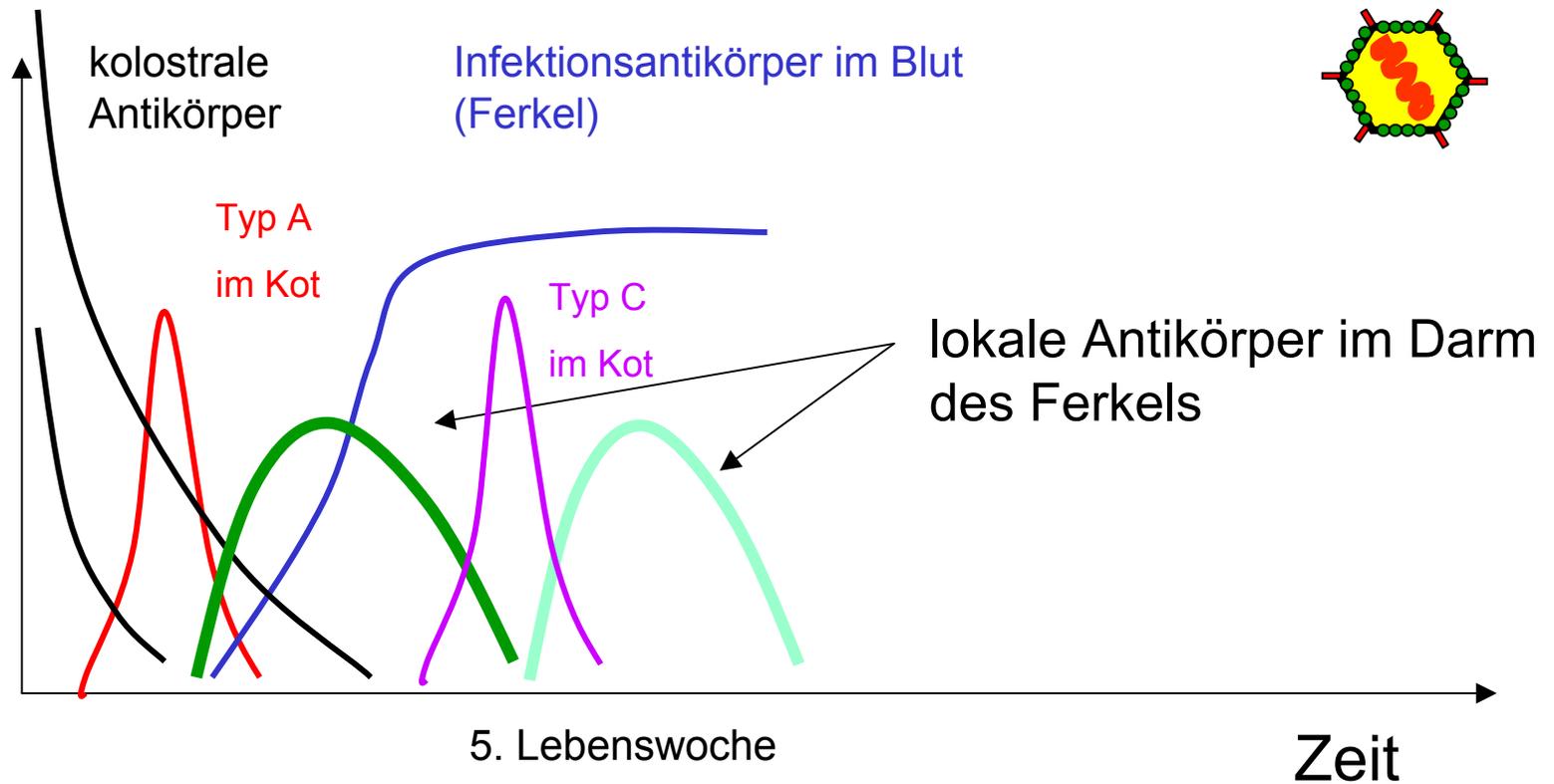


- Immunglobuline

Beispiel: Porcines Parvovirus

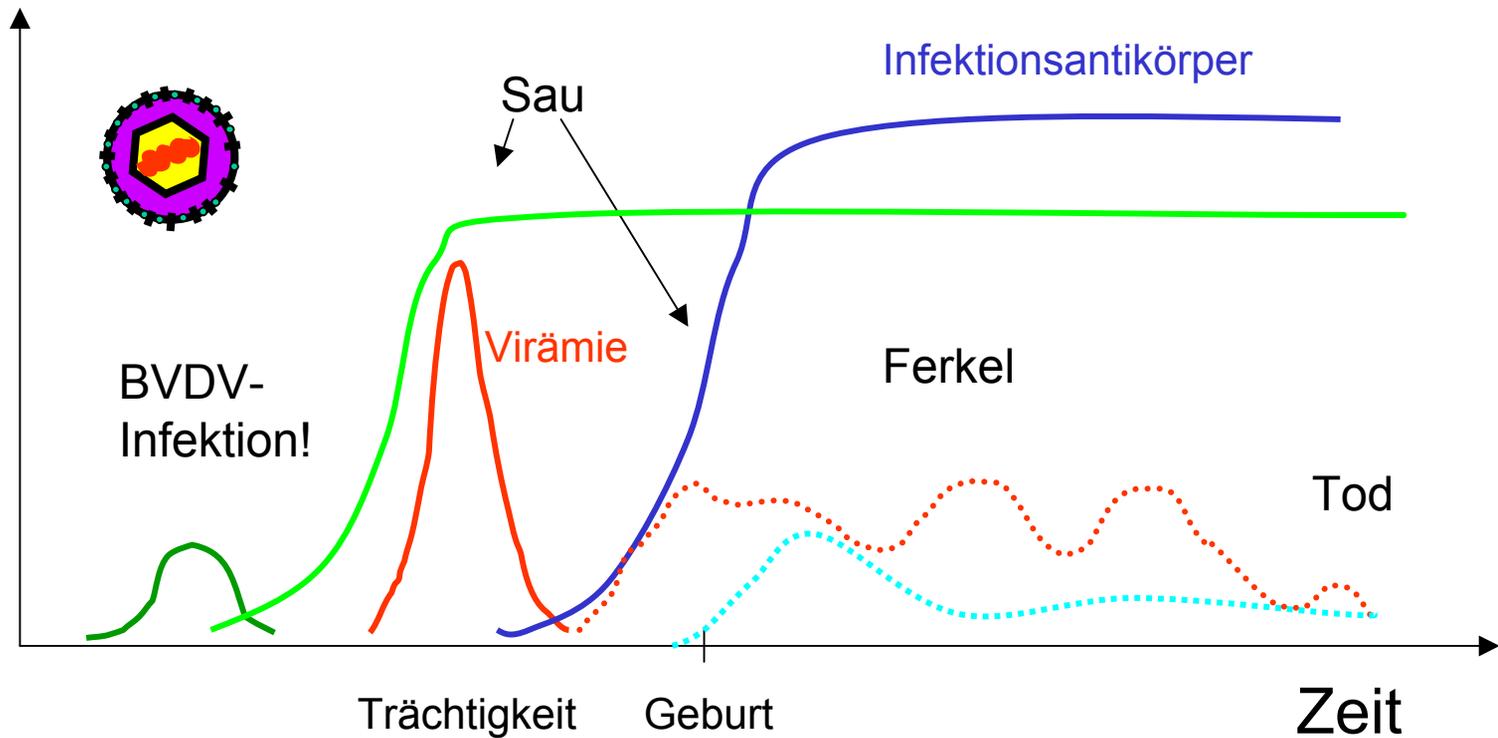


Beispiel: Rotavirus

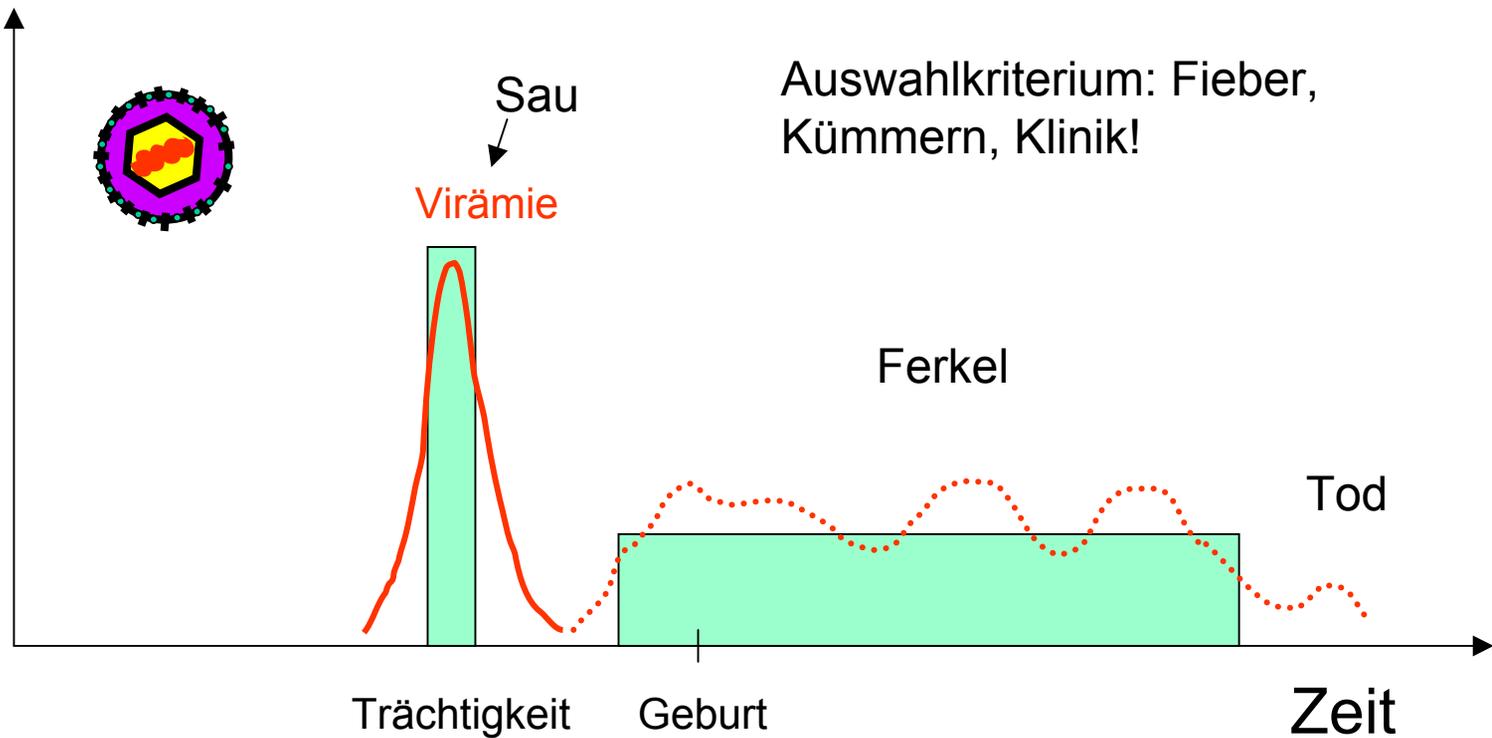


Beispiel: Schweinepest

- chronische Infektion von Ferkeln
- Kreuzreaktion mit BVDV



Virusnachweis am Beispiel der Schweinepest



Stichprobengröße

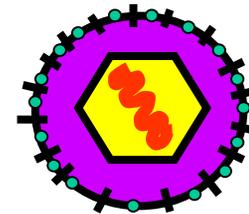
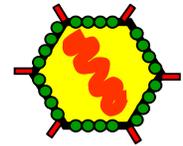
Tierzahl	Prävalenz (Anteil Merkmalsträger)		
	50%	25%	10%
10	4	7	10
50	5	10	22
100	5	10	25
250	5	11	27
500	5	11	28

Achtung: Stalleinheiten, Altersgruppen

Direkter Erregernachweis

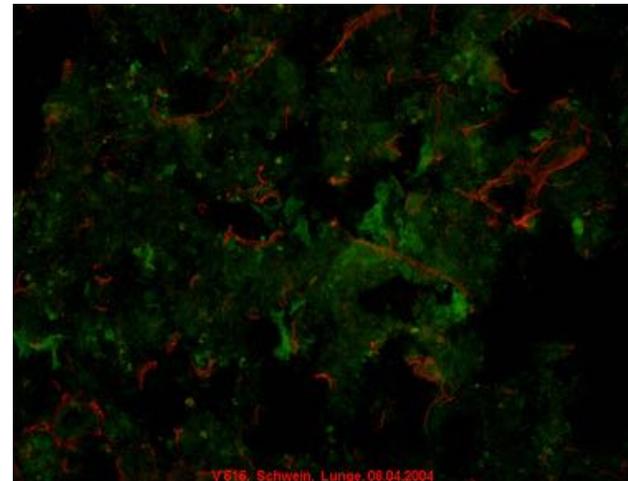
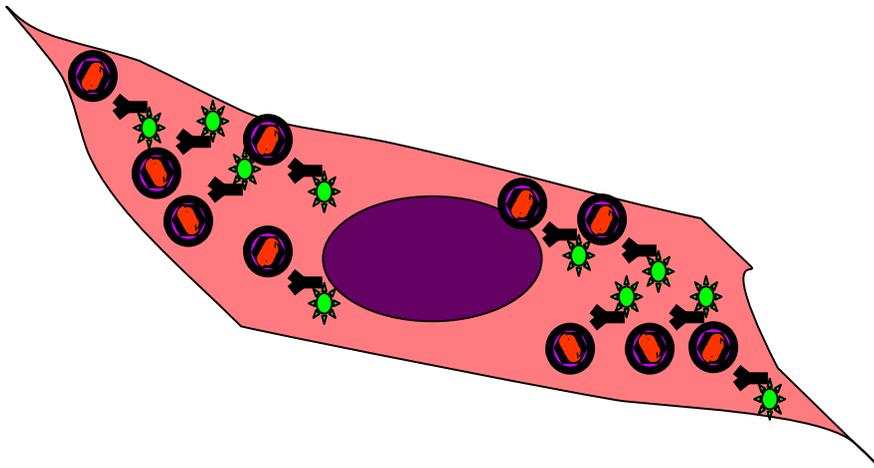
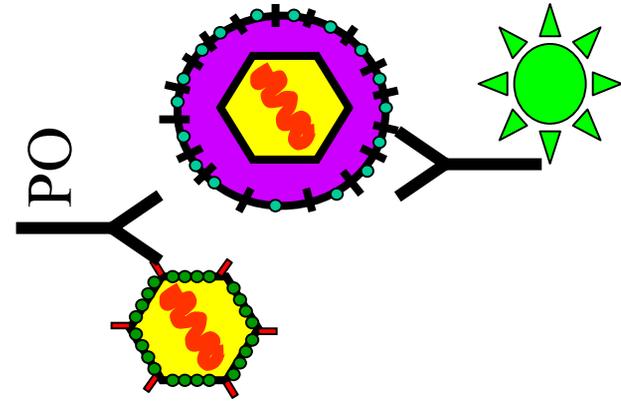
Direkter Erregernachweis

1. Immunhistologie (Pestivirus)
2. Zellkultur (Problem: primäre Zellkulturen!)
3. Eikultur (SIV, Pocken)
4. Polymerase-Ketten-Reaktion (PRRSV, Parvovirus, SIV, PCV2)
5. Immunfluoreszenz (PRRSV, SIV, PPV, KSPV)
6. Elektronen-Mikroskopie
7. ELISA (Rotavirus, PCV2)



Virusidentifizierung

1. markierte Antikörper (monoklonal, polyklonal)
2. Neutralisationstest
3. Hämagglutinationshemmungstest



Regelungen des Gesetzgebers für Virusinfektionen

Anzeigepflicht

- **Afrikanische Schweinepest**
- **Klassische Schweinepest**
- **Aujeszky'sche Krankheit**
- **Maul und Klauenseuche**
- **(Vesikuläre Stomatitis)**
- **Bläschenkrankheit**
- **(vesikuläres Exanthem)**
- **Teschener Krankheit**
- **Tollwut**

Meldepflicht

- **transmissible Gastroenteritis (TGE)**

Virusinfektionen und Altersgruppen

Virus	mat.AK	Sau	Saugferkel	Absatz/Läufer	Mastschwein
PPV	3-6 Mon	SMEDI (<70. T)			
PCMV	5-6 Wo	(SMEDI)		EK-Rhinitis	
PEV		(SMEDI)			
PEV 1				Lähmungen	
PCV2	5 Wo			PMWS	PDNS
PRRSV	5 Wo	Spätabort		resp. Symptome	resp. Symptome
SIV	4-16 Wo	akute Lungenentz. „Fieber-Aborte“	akute Lungenentz.	akute Lungenentz.	akute Lungenentz.
PRCoC	3-6 Wo				
HEV	4-8 Wo		VW-Krankheit, <3 Wo		
TGEV	3-6 Wo		Durchfall (<5 Wo)		
PEDV	2-4 Wo	Durchfall, Rückenmuskelnekrose	Resistenz!	Durchfall	Durchfall, Rückenmuskelnekrose
RotaV	IgA: 5-10 T, laktogene Immunität		Durchfall	(Durchfall)	

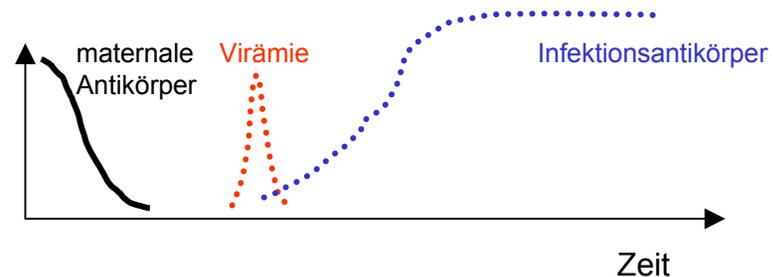
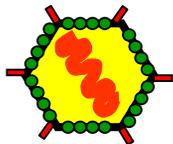
Diagnostik

Krankheit	Virus	Virämie	Probe	Methode - Virusnachweis	Methode - Serologie
PRRS	PRRSV	+	Blut, Nasentupfer, Lungenlavage, Feten	PCR (EU/US), IF, (ZK)	ELISA
PMWS/PDNS	PCV2	+	Blut, Kot, Lungenlavage	PCR (ZK – PK15) ELISA	ELISA
Influenza	SIV	-	Nasentupfer Lungenlavage	Eikultur, IF, PCR	ELISA (H1/H3) HAH
Parvovirose (SMEDI)	PPV	(+)	Feten (Lunge) <16 cm SSL	PCR, IF	HAH, ELISA (Fetus!)
Epizootische Virusdiarrhoe	PEDV	-	Kot, Dünndarm	IF, PCR	ELISA
EK-Rhinitis (SMEDI)	PCMV	+	Lungenlavage, Nasentupfer, Feten	IF, basophile EK, PCR	-
Rotavirus	PRV	-	Kot	ELISA	-
Enterovirus (SMEDI)	PEV	(+)	Feten	ZK -Serotypisierung	-
Pocken	PPoV	(+)	Pockenmaterial	Eikultur PK15	-

Serologie – Nachweis von Antikörpern

Serologische Fragestellungen

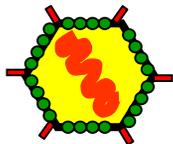
- Abwesenheit der Erkrankung (Inkubationszeit, Serokonversion)
- indirekter Erregernachweis (Titeranstieg, gepaarte Serumproben!)
- Kontrolle des Impferfolges
- optimaler Impfzeitpunkt (maternale Antikörper)
- epidemiologische Fragestellungen



Bewertung serologischer Resultate

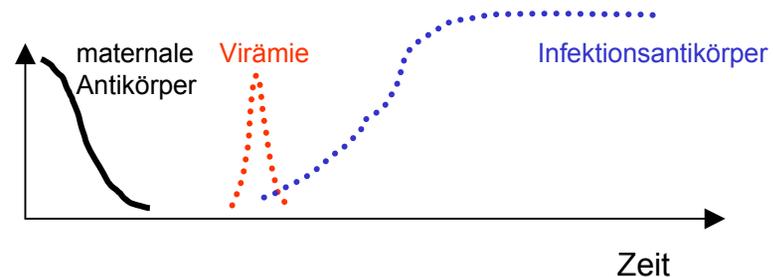
positiv

- Infektion vor mehr als 5-14 Tagen
- maternale Antikörper
- Impfantikörper
- Kreuzreaktionen
- unspez. Reaktionen



negativ

- Freiheit (Inkubationszeit!)
- < Nachweisgrenze
- falsches Antigen
- Immuntoleranz
- nur lokale Immunantwort



Bestandskontrolle über Kolostrum?

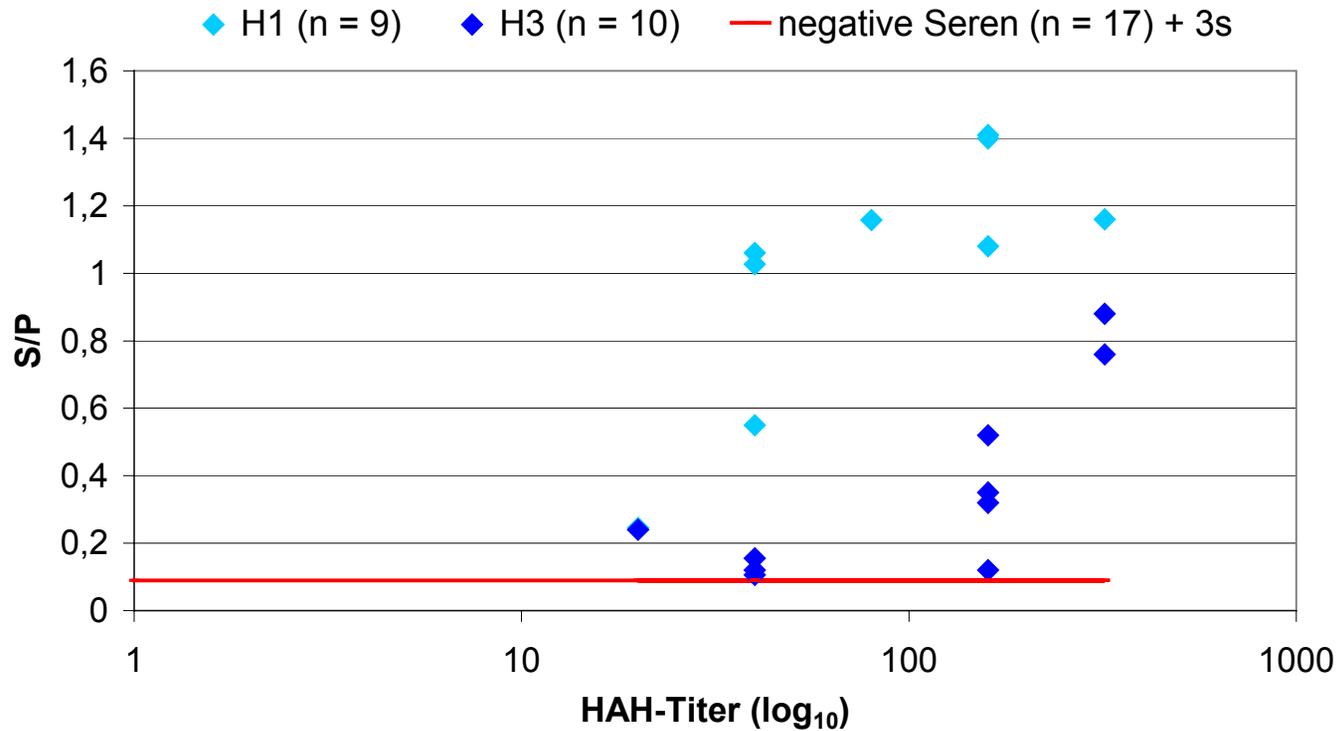
- Kolostrumentnahme unter der Geburt
(4 Stunden!)
- Einfrieren der Kolostrumproben (-20°C)
- zugelassene Tests:
 - Enzootische Pneumonie
 - *Sarcoptes suis* (Räude)

⇒ Validierung weiterer Tests für diese Anwendung notwendig!

Perspektive: Ermittlung der optimalen Impfzeitpunkte der Ferkel

Problem: Influenza-Serologie

Gegenüberstellung der HAH-Titer und S/P-Werte monospezifischer Seren



Ergebnisse der Serologie (2003)

	Tierzahl	Probenzahl untersucht	Anteil Proben	Ergebnisse ELISA			Prävalenz
	Anzahl	Anzahl	(Promille)	negativ Anzahl	gbw Anzahl	positiv Anzahl	Prozent
Bayern	3437274	4014	1,2	2451	63	1500	38,9
Oberbayern	510353	593	1,2	361	13	219	39,1
Niederbayern	1166699	914	0,8	607	14	293	33,6
Oberpfalz	285172	369	1,3	259	1	109	29,8
Oberfranken	227367	139	0,6	112	4	23	19,4
Mittelfranken	534285	611	1,1	435	11	165	28,8
Unterfranken	154141	112	0,7	89	3	20	20,5
Schwaben	559257	1276	2,3	588	17	671	53,9

Bayern: Nachweis von Seroreagenten in 396 Beständen (66%).

Einfluss der Impfung

- Vorbericht ohne Impfstatus
- Mastschweine: 2,2% geimpft (LKV-Bericht, 2002)
- Sauen: 5% geimpft (pers. Mittlg. Niemeyer, SGD)
- ungeimpfte Bestände n = 16
 - ❖ Einzeltier-Seroprävalenz 33%
 - ❖ Anteil positiver Bestände 75%

Virus- und Antikörpernachweise 2004

	n	IF	PCR	Brutei	Serologie positiv
Bestände	200	7 3,5%	43 21%	8 4%	110 55%
Proben	997	12 1,2%	102 10,2%		308 31%

Nächster Schritt: Typisierung

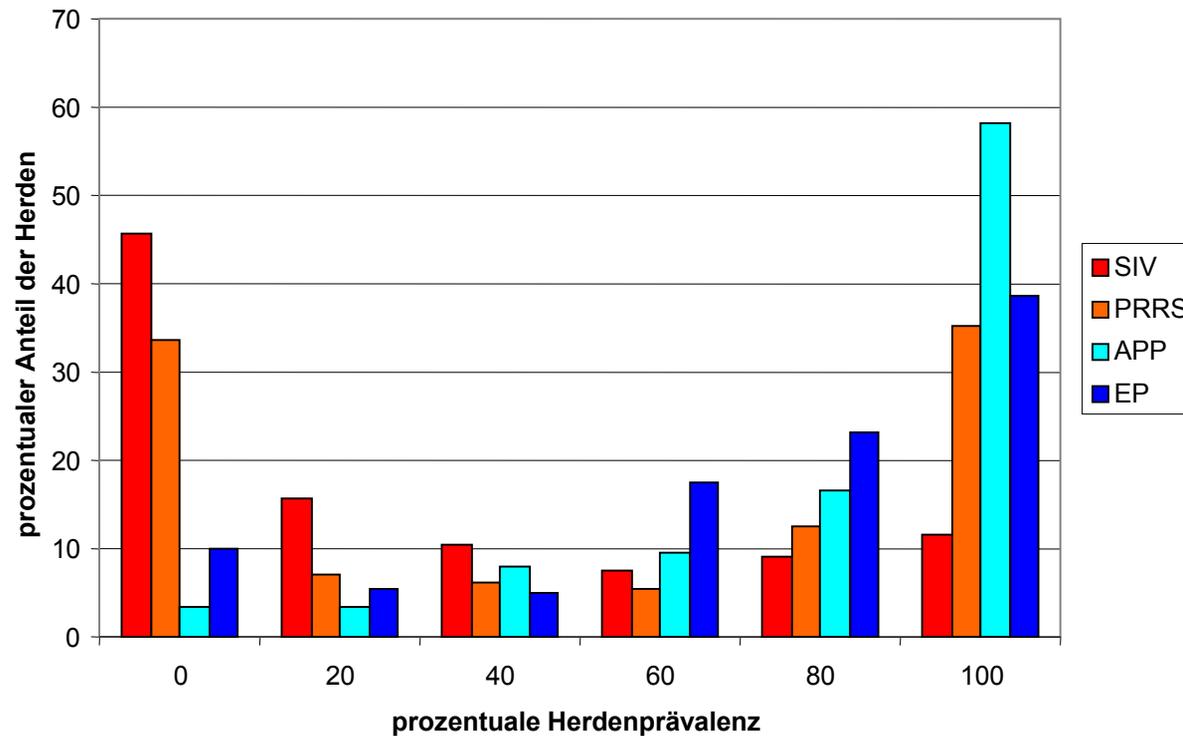
Projekt 000104_2005

Wir bitten um jeweils **5 Nasentupfer** aus Beständen mit auffälliger respiratorischer Problematik, um weitere Virusisolate sicherzustellen.

Eigenbeteiligung: 15%

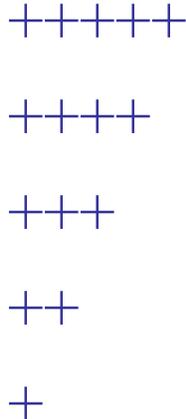
Serologische Herdenprävalenzen (2004)

Serologische Herdenprävalenzen für 4 Erreger (SIV, PRRSV, M. hyopneumoniae (EP), A. pleuropneumoniae (APP))

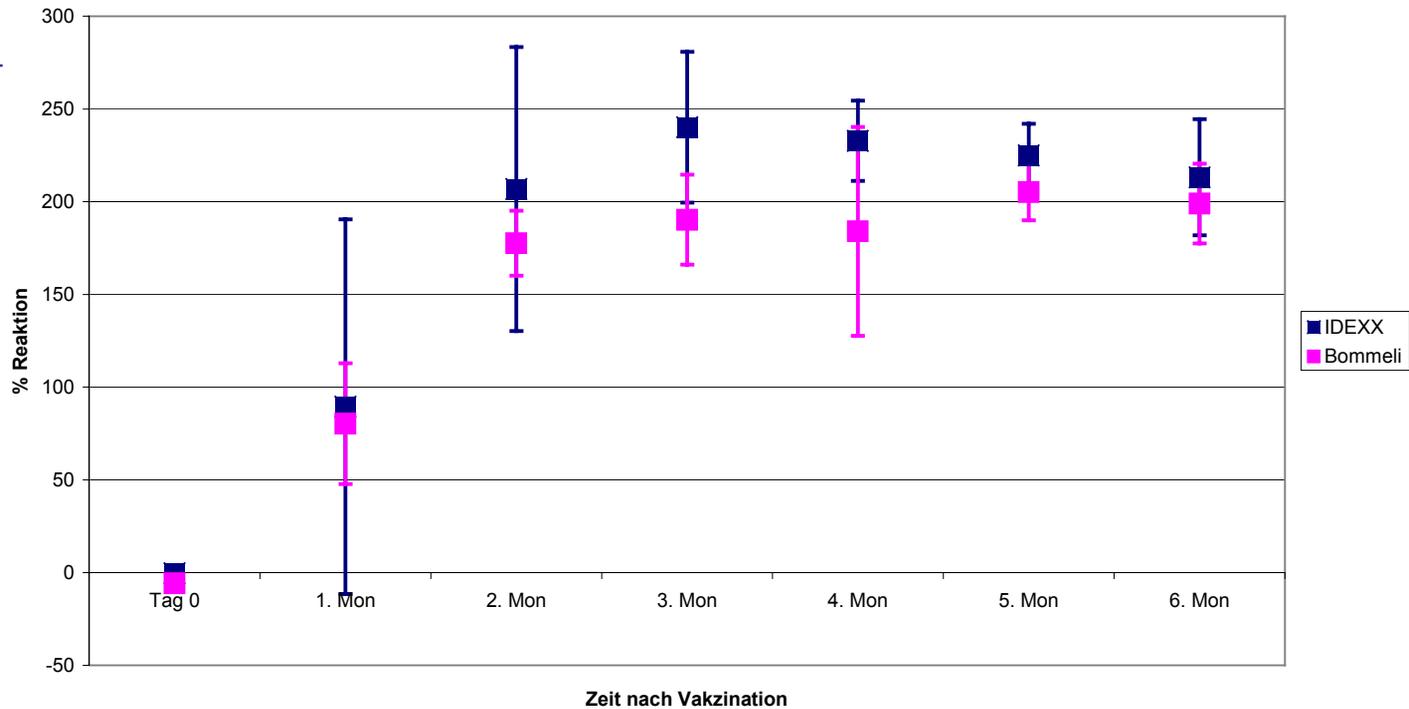


PRRS: Reaktionen nach Impfung

IDEXX- Bewertung



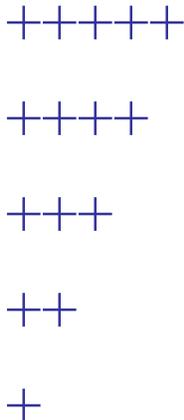
PRRS-Antikörper-Verlauf bei 11 Schweinen nach einmaliger Vakzination mit Porcilis-PRRS gemessen mit zwei kommerziellen Testkits. Dargestellt wurde der Mittelwert +/- einfacher Standardabweichung



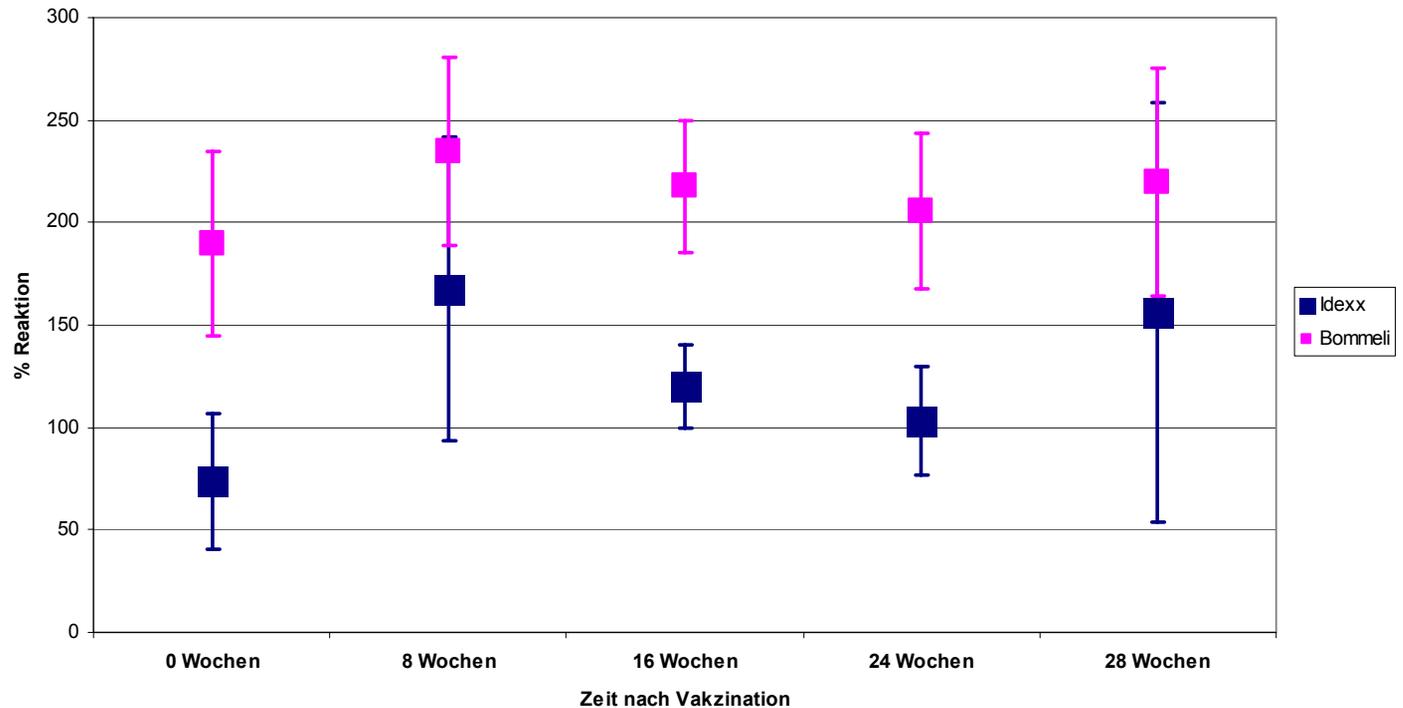
Gangl, A., M. Ritzmann und J. Böttcher, AVID 2004

PRRSV im Bestand – 2x geimpfte Sauen

IDEXX- Bewertung



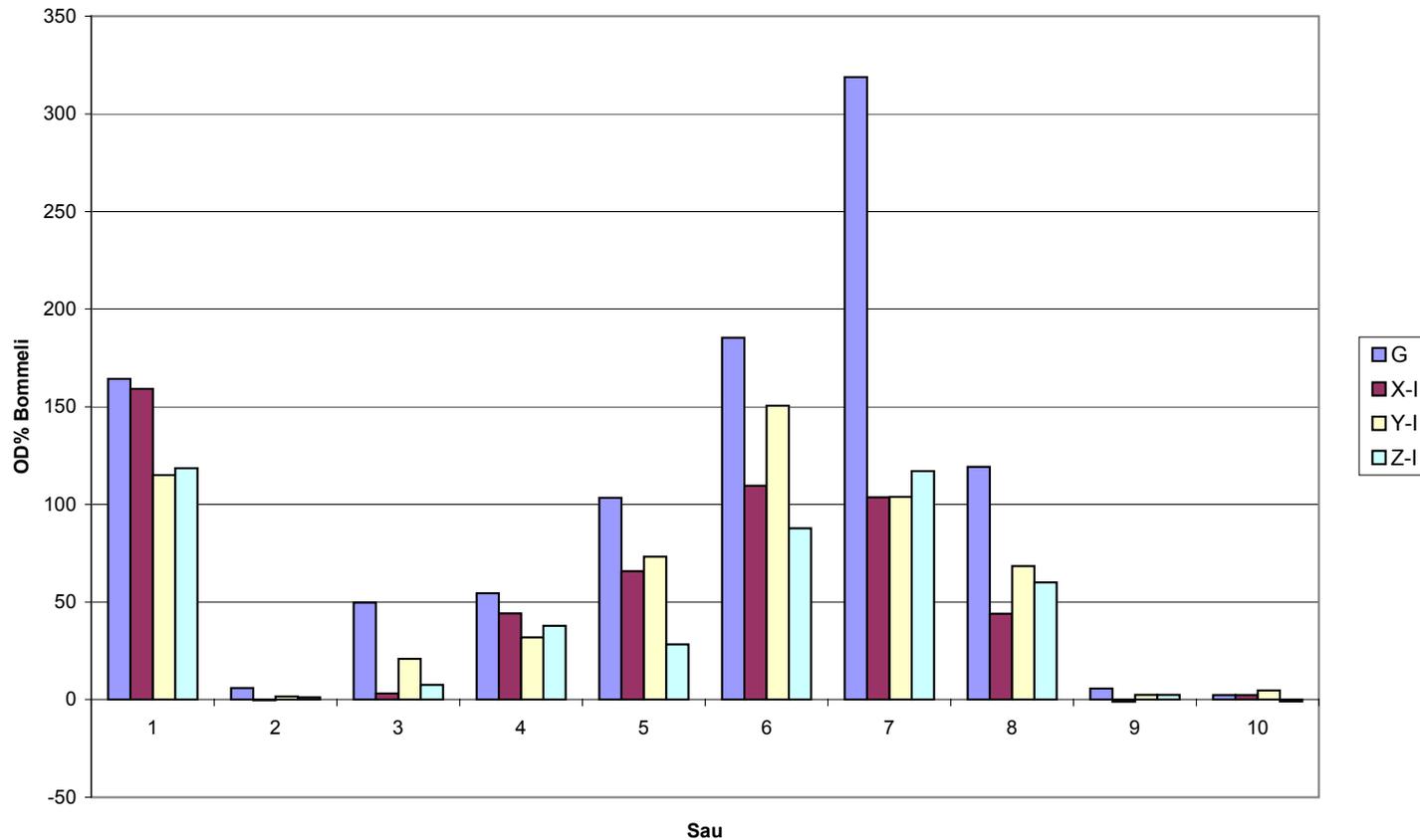
PRRS-Antikörper-Verlauf bei 5 Schweinen bei zweimaliger Vakzination mit Porcilis-PRRS gemessen mit zwei kommerziellen Testkits. Dargestellt wurde der Mittelwert +/- einfacher Standardabweichung



Gangl, A., M. Ritzmann und J. Böttcher, AVID 2004

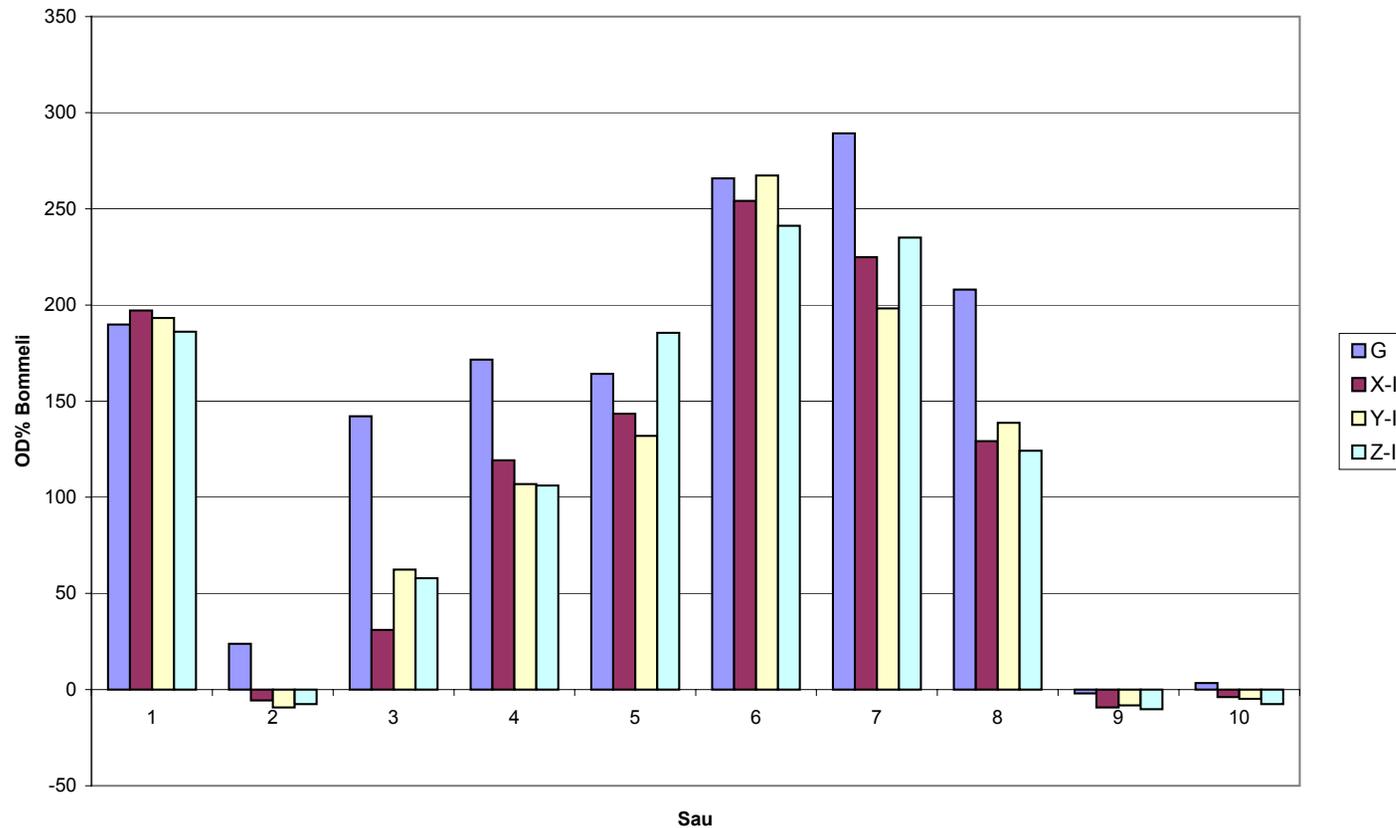
PRRS: Antikörpernachweis bei Ferkeln – Idexx

PRRS-Antikörper (Idexx-ELISA) bei Sau a.p (G) und bei 3 Ferkeln (X, Y, Z) 4 Wochen p.n.

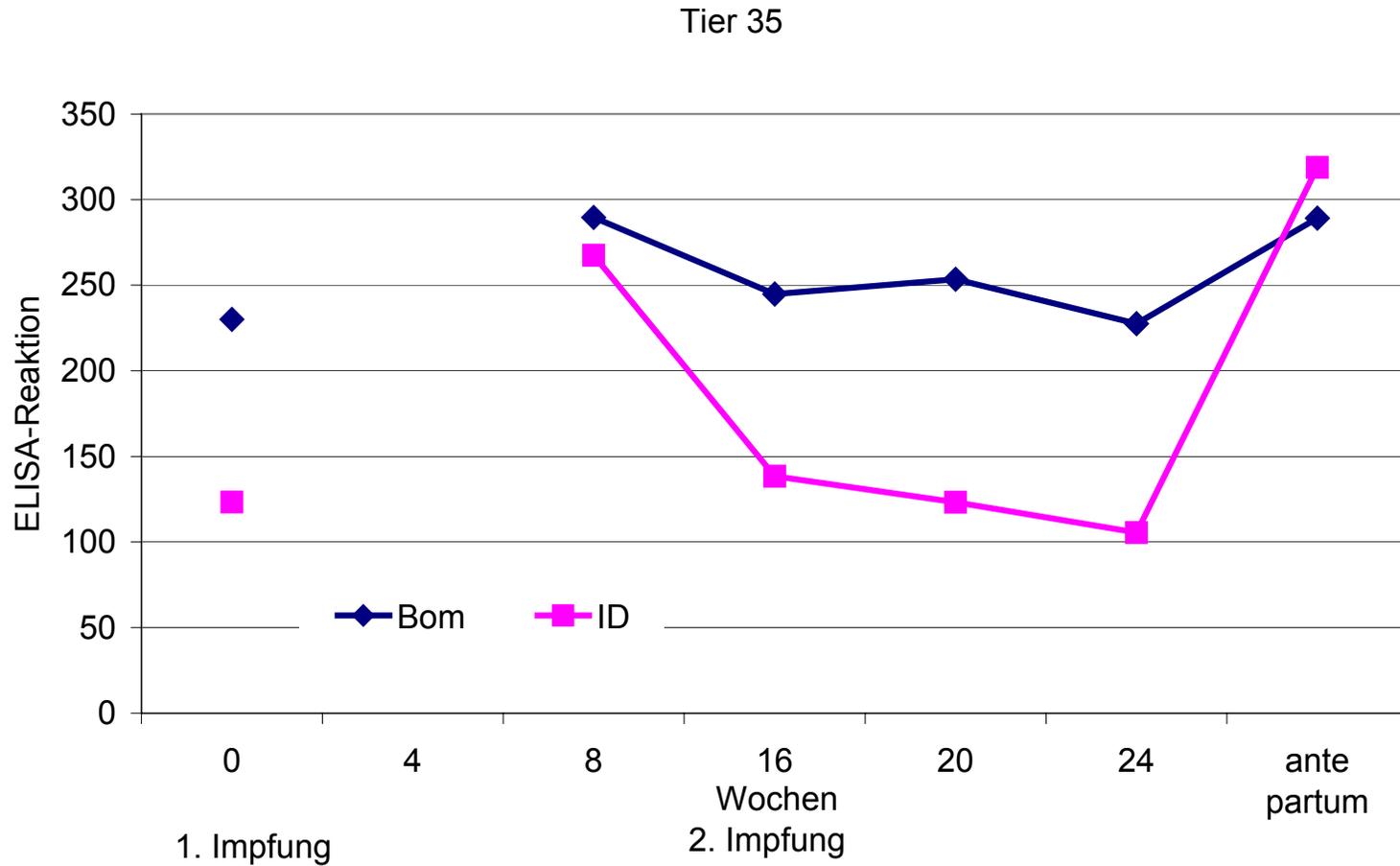


PRRS: Antikörpernachweis bei Ferkeln – Bommeli

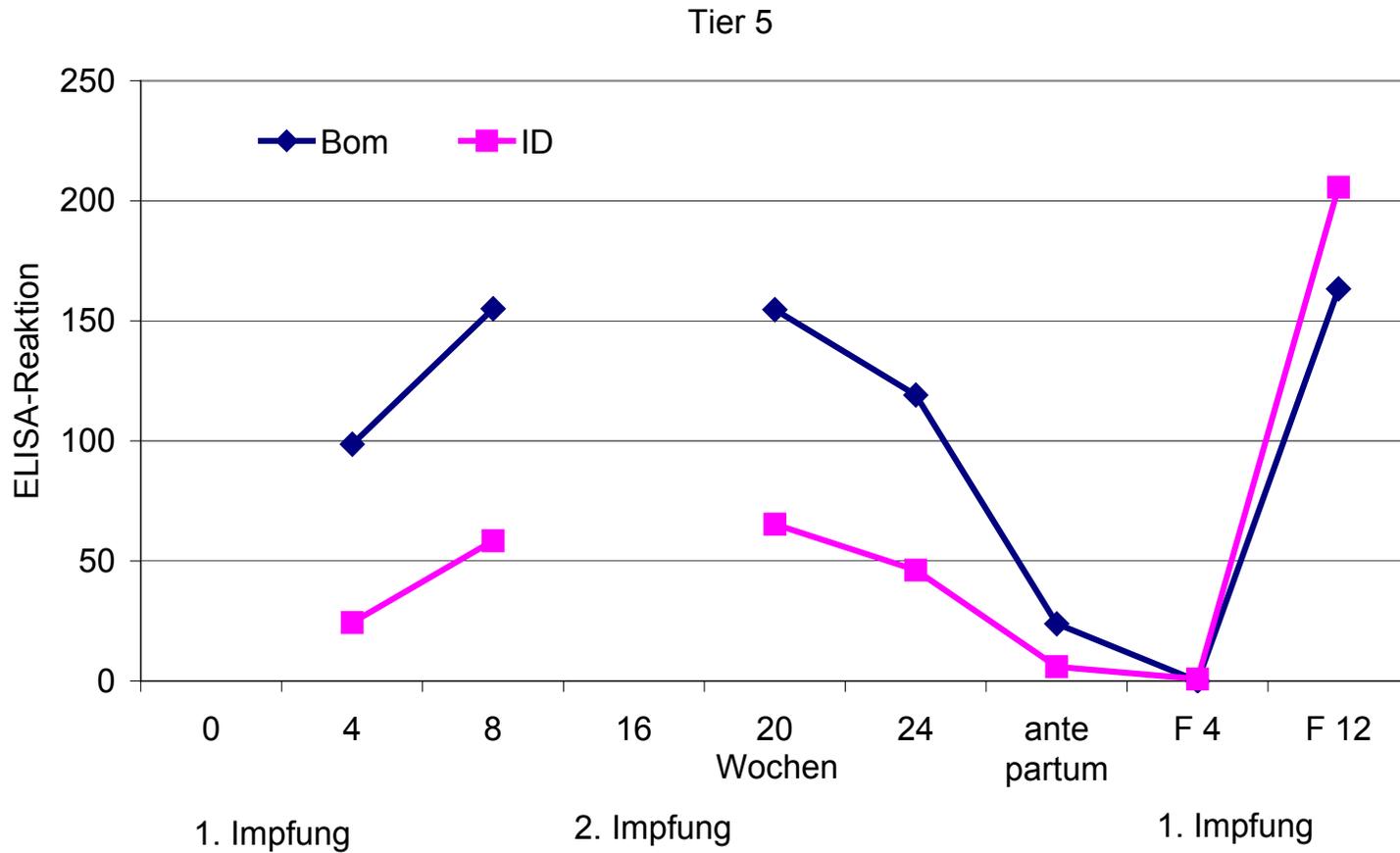
PRRS-Antikörper (Bommeli-ELISA) bei Sau a.p (G) und bei 3 Ferkeln (X, Y, Z) 4 Wochen p.n.



PRRS: „Sau 35“

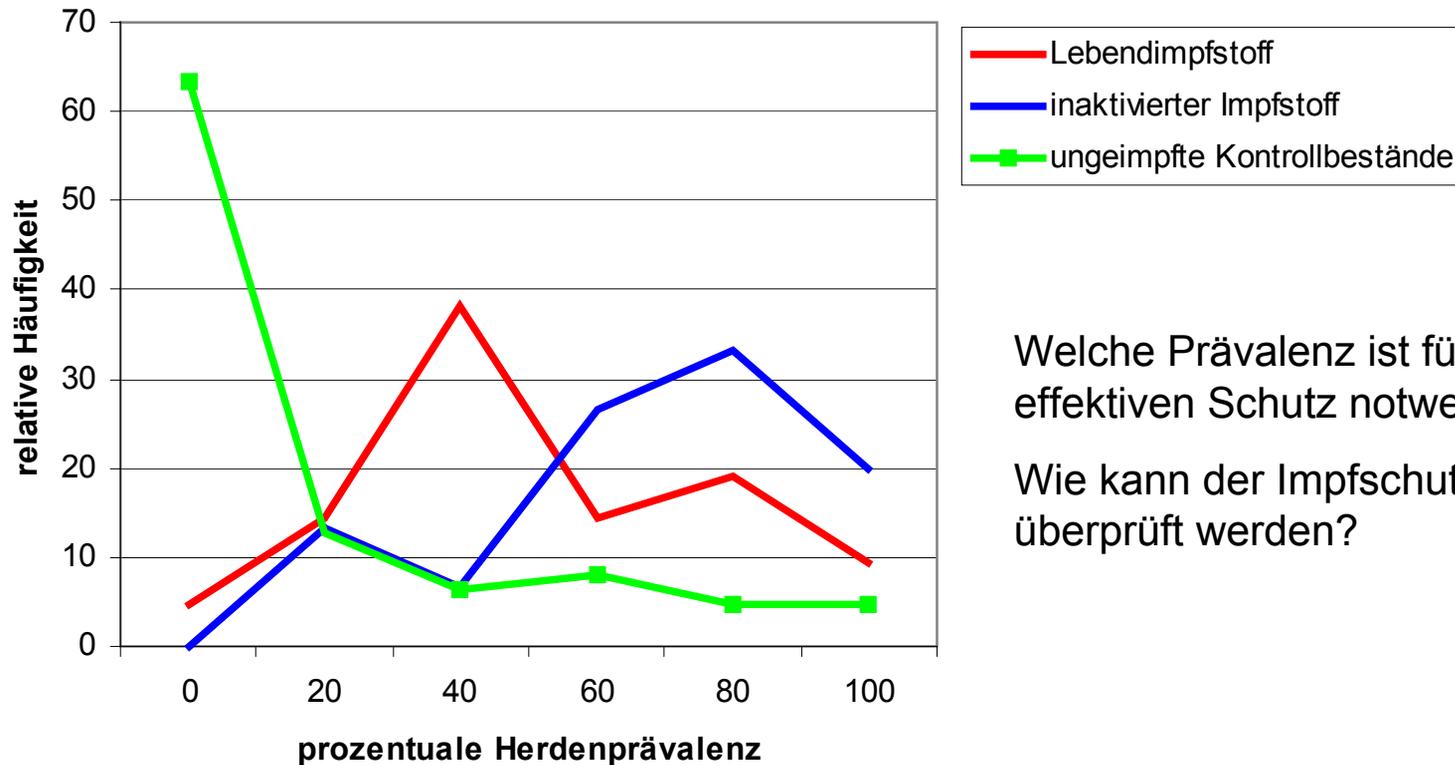


PRRS: „Sau 5“



PRRS: Herdenprävalenzen in 99 Beständen

PRRS: relative Häufigkeitsverteilung der serologischen Herdenprävalenzen in Impfbeständen und Beständen ohne Impfung



Welche Prävalenz ist für einen effektiven Schutz notwendig?

Wie kann der Impfschutz überprüft werden?

Götz, Melzig u. Böttcher 2004

Multiplex-PCR – Nona-PCR

- PRRSV EU
- PRRSV US
- PCV2
- Influenzavirus A
- Cytomegalovirus
- PCoV
- M. hyopneumoniae
- M. hyorhinis

Respiratorische Krankheitserreger
beim Schwein

Anwendung auf Lungenlavage
oder Nasentupfer

Probleme der Multiplex-PCR

Parameter

- PRRSV EU
- PRRSV US
- PCV2

- Influenzavirus A
- Cytomegalovirus
- PCoV
- M. hyopneumoniae
- M. hyorhinis

Bewertung

PRRS: Ringversuch ⇔

Nested PCR > single PCR > mp PCR

PCV2: real-time PCR ~ Klinik

NEU: Antigen- und Antikörper-ELISA

SIV: Typisierung? Tupfer > Lavage

PCMV: hohe Prävalenz

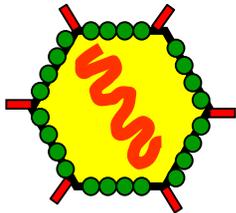
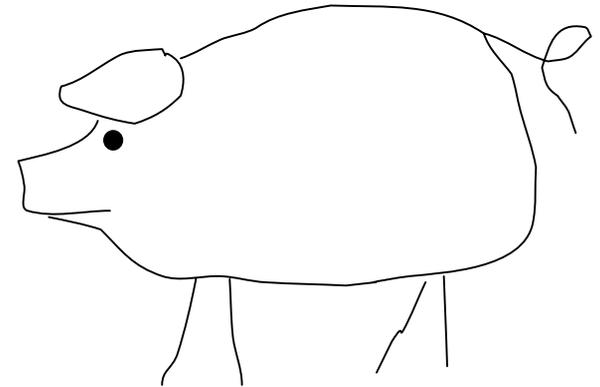
PCoV: klinische Bedeutung?

EP: Tupfer > Lavage

M. hyorhinis: Bedeutung

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

**Hier steht das Schwein auf dünnen Beinen,
kerngesund, so will ich meinen.**



**Doch schaut ein Virus um die Ecke,
so bleibt das Schwein schnell auf der Strecke!**