



Neues Orthobunyavirus bei Rindern in Deutschland nachgewiesen

Informationen des Friedrich-Loeffler-Instituts

Stand Januar 2012

Das Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit (FLI), hat erstmals das Auftreten eines Virus des Genus *Orthobunyavirus* bei Rindern in Deutschland nachgewiesen. Vergleichende Analysen des Erbmaterials lassen vermuten, dass es sich um ein Virus aus der Simbu-Serogruppe (Shamonda-, Aina-, Akabane-Viren) handelt. Das Virus konnte auf Insektenzellen und später auch auf einer Hamsterzelllinie angezüchtet und weiter vermehrt werden. Aufgrund der Probenherkunft wurde es vorläufig als „Schmallenberg-Virus“ bezeichnet. Weitere Untersuchungen zur Charakterisierung des Virus und zur Epidemiologie folgen.

Bisher wurden 12 positive Proben von Rindern aus 6 verschiedenen Betrieben in Nordrhein-Westfalen festgestellt. Darunter ist auch ein Zwillingskalb, das 10 Tage vor dem Geburtstermin im Mutterleib verstarb. In der Bauchhöhlenflüssigkeit des Kalbes konnte mittels *real-time* RT-PCR „Schmallenberg-Virus“ nachgewiesen werden. Außerdem wurde bei missgebildeten Lämmern aus 14 Betrieben, davon je 7 in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen, „Schmallenberg-Virus“ im Gehirn festgestellt. Die Missbildungen sind eine Spätfolge der Infektion zu einem früheren Stadium der Trächtigkeit im Sommer/Herbst 2011.

Die Nachweismethode wurde an Institutionen in Belgien, Frankreich, England, den Niederlanden und Italien weitergegeben.

Die Niederlande meldeten vor allem Fälle bei Schafen, bisher sind über 50 Betriebe betroffen. Außerdem werden Neugeborene mit Missbildungen aus 126 Rinder-, Schaf- und Ziegenhaltungen auf das Virus untersucht. In Belgien wurde das „Schmallenberg-Virus“ ebenfalls bei Schafen festgestellt. Ein Zusammenhang zwischen einem Virusnachweis und den aufgetretenen Symptomen und Schäden ist mittlerweile sehr wahrscheinlich.

Weiterhin unklar ist, ob es sich um einen Neueintrag dieses exotischen Virus handelt oder ob Orthobunyaviren schon seit längerer Zeit bei Wiederkäuern in Europa vorkommen. Für eine weitere Bewertung dieses Virusfundes sind daher zusätzliche Untersuchungen notwendig.

Orthobunyaviren des Rindes sind in Australien, Asien und Afrika verbreitet und rufen dort in der Regel zunächst nur eine sehr milde Klinik hervor. Werden allerdings trächtige Tiere infiziert, so können zeitverzögert zum Teil erhebliche kongenitale Schäden, Frühgeburten und Störungen im Fruchtbarkeitsgeschehen auftreten. Akabane-ähnlichen Viren werden hauptsächlich durch Gnitzen übertragen. Diese beim Rind relevanten Viren stellen kein Risiko für den Menschen dar. Es handelt sich nicht um Zoonoseerreger. Aufgrund der Verwandtschaft des „Schmallenberg-Virus“ zu Shamonda-, Aino- und Akabane-Virus ist auch hier nicht von einem Risiko für den Menschen auszugehen (siehe auch Risikobewertung des European Center for Disease Prevention and Control: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DispForm.aspx?ID=795).



Zunächst Blauzungenkrankheit vermutet

Seit den Sommermonaten 2011 wurde das nationale Referenzlabor für Blauzungenkrankheit am Institut für Virusdiagnostik, FLI Insel Riems, aus Nordrhein-Westfalen über Symptome bei Milchrindern unterrichtet, die auf ein Neuauftreten der Blauzungenkrankheit hinwiesen. In verschiedenen Herden traten bei einigen Tieren Fieber über 40°C, reduziertes Allgemeinbefinden, Appetitlosigkeit sowie starker Milchrückgang (bis 50 %) auf. Nach einigen Tagen klangen diese Symptome jeweils ab.

Dieses zuvor auch in den Niederlanden beschriebene Geschehen breitete sich in Nordrhein-Westfalen weiter aus. In den Niederlanden wurde von mehr als 80 betroffenen Betrieben berichtet, wobei das klinische Bild (Fieber, Milchrückgang) teilweise zusammen mit Durchfällen und Aborten auftrat. Seit September 2011 wurden vermehrt Proben aus den betroffenen deutschen Betrieben zur Abklärung an das FLI geschickt.

Bisherige Erkenntnisse und Daten

Alle Proben wurden im Institut für Virusdiagnostik des FLI Insel Riems auf eine Reihe von Viren untersucht. Als Infektionserreger ausgeschlossen werden konnten das Virus der Blauzungenkrankheit, der Epizootischen Hämorrhagie der Hirsche (EHD), der Maul- und Klauenseuche, der Bovinen Virusdiarrhoe (BVD) und andere Pestiviren, Bovines Herpesvirus 1 und andere Herpesviren sowie Rift-Valley-Fieber-Virus und bovines Ephemeralfieber-Virus. Eine Anzucht ausgewählter Proben auf Rinderzellkulturen ergab keine nachweisbare Virusvermehrung.

Da weitere Fälle auftraten und mit herkömmlichen Verfahren keine Ergebnisse erzielt werden konnten, wurde ein am Institut für Virusdiagnostik vor kurzem etabliertes Verfahren der sogenannten Metagenom-Analyse eingesetzt. Diese sehr aufwändige und teure Technik erlaubt den ungezielten Nachweis von Erbmaterial (Genom) potentieller Infektionserreger bzw. von Genomsequenzen in Probenmaterial jeder Art. Die Nachweisrate hängt dabei stark vom Mengenverhältnis zwischen Erregergenom und Wirtsgenom ab. Das FLI setzt für die Analyse ein Gerät der Firma Roche (Genome Sequencer FLX) ein. Im Rahmen eines EU-Projektes (EMPERIE) und eines BMBF-Netzwerkes (PHÄNOMICS) wird die Metagenomanalyse am FLI seit Monaten durchgeführt und validiert.

Die so optimierten Verfahren wurden Anfang November 2011 für die Analyse eines Pools aus 3 Proben aus einem Betrieb in Schmallenberg (Hochsauerlandkreis) eingesetzt. Die Proben stammten von Tieren mit dem Vorbericht Fieber (>40°C) und starkem Milchrückgang (bis zu 50%).

Die Metagenomanalyse zeigte das Vorkommen von viralen Genomsequenzen mit der höchsten Homologie zum Genus der *Orthobunyaviren* in der Familie der *Bunyaviridae*. Weitergehende Analysen zeigten, dass die höchste Verwandtschaft der Sequenzen zu den sogenannten Akabane-, Aino- und Shamonda-Viren besteht.

Das Genom der Orthobunyaviren besteht aus drei Segmenten (L, M, S), wobei die gefundenen Sequenzabschnitte allen drei Segmenten zugeordnet werden konnten. Die Ähnlichkeiten schwankten dabei je nach Sequenzabschnitt und Vergleichsvirus zwischen ca. 60 und 95%.



Mit Hilfe der Sequenzinformation wurden mehrere *real-time* RT-PCR Tests entwickelt und die Proben (Blut oder Serum) damit weiter untersucht. Dabei zeigte sich, dass alle drei Proben des Pools der Metagenomanalyse positiv waren. Eine Probe zeigte einen Ct-Wert von etwa 26.

Die Untersuchung mittels PCR ergaben bis heute insgesamt mindestens 12 positive Proben in 6 Betrieben, wobei einige mit Ct-Werten von unter 30 als klar positiv eingestuft werden können. Mehr als 90 untersuchte Rinderproben aus nicht betroffenen Gebieten (Süddeutschland, Mecklenburg-Vorpommern) waren eindeutig negativ.

Es wurde mit Hilfe des Virusisolates ein Serumneutralisationstest etabliert, mit dem nun erste serologische Untersuchungen durchgeführt werden. Ein ELISA-Test ist in der Entwicklung.

Schlussfolgerungen

Die beschriebenen Sequenzfunde sowie die Daten der *real-time* RT-PCR weisen erstmals das Auftreten eines Virus des Genus *Orthobunyavirus* in Rindern in Deutschland nach. Die Sequenzhomologie lässt vermuten, dass es sich um ein Virus aus der Simbu-Serogruppe handelt. Das Virus wird aufgrund der Probenherkunft vorläufig als „Schmallenberg-Virus“ bezeichnet.

Das Auftreten der Symptome von August bis Ende Oktober und das nun berichtete Abklingen sprechen für ein Arbovirus als Ursache. Akabane-Virus und ähnliche Viren werden hauptsächlich durch Gnitzen übertragen. Ähnliche Übertragungswege könnten auch für das „Schmallenberg-Virus“ möglich sein und damit ein weiteres Indiz für einen ursächlichen Zusammenhang mit dem beobachteten klinischen Geschehen darstellen.

Es wurden weitere Untersuchungen eingeleitet, welche die optimierte und erweiterte Erregeranzucht, die Inokulation von Rindern, die Entwicklung einer serologischen Diagnostik sowie die Testung weiterer Proben aus dem betroffenen Gebiet umfassen. Zudem werden weitere epidemiologische Untersuchungen erfolgen.

Orthobunyaviren des Rindes sind in Asien, Australien und Afrika verbreitet und induzieren dort in der Regel zunächst nur eine sehr milde Klinik. Werden allerdings trächtige Tiere infiziert, so treten zeitverzögert zum Teil erhebliche kongenitale Schäden, Frühgeburten und Störungen im Fruchtbarkeitsgeschehen auf.

Die Untersuchungen werden sich daher auf die intensive Beobachtung des Krankheitsgeschehens in der Region des Virusfundes konzentrieren. Zur weiteren Abklärung des Krankheitsgeschehens und insbesondere zur Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem neu gefundenen Erreger und der beobachteten Klinik sollten insbesondere Blutproben von akuten Verdachtsfällen (Fieber >40°C, gestörtes Allgemeinbefinden, massiver Milchrückgang) sowie von klinisch auffälligen Neugeborenen (Totgeburten, Fehlbildungen, Aborten) dem Institut für Virusdiagnostik (FLI Insel Riems, Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems) für weitere Untersuchungen zur Verfügung gestellt werden (Ansprechpartner: PD Dr. Martin Beer, martin.beer@fli.bund.de).