



Okužbe z virusom Schmallenberg

Ivan Toplak

Študijsko gradivo pri predmetu Epizootiologija

Ljubljana, 2015

Pojav virusa Schmallenberg v Evropi

- Okužbe z virusom Schmallenberg so v Evropi prvič ugotovili leta 2011 v nemški zvezni deželi Severno Porenje-Vestfalija, do leta 2014 so prisotnost virusa dokazali v večini evropskih držav.
- Virus so pri govedu prvič dokazali v Nemčiji, v avgustu leta 2011, blizu mesta Schmallenberg in nov virus so po tem mestu tudi poimenovali.

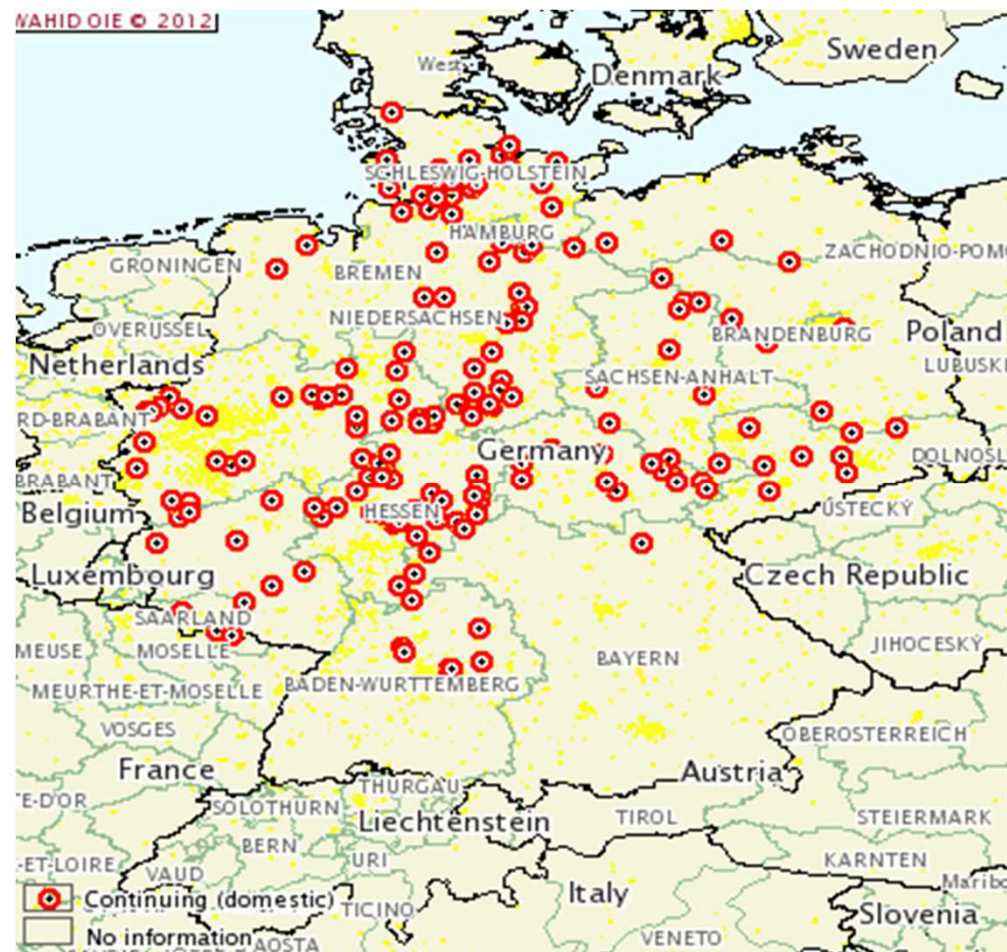
Prvi dokaz virusa Schmallenberg leta 2011



Virus Schmallenberg

- Znanstveniki iz Friedrich Loeffler Inštituta (FLI-Nacionalni raziskovalni center v Nemčiji) so v novembru 2011 poročali, da so z metagenomskim pristopom ugotovili prisotnost novega virusa v Evropi.
- Nov virus so dokazali v serumskih vzorcih odvzetih v avgustu 2011 od bolnih krav molznic, pri katerih so zaznali povišano telesno temperaturo, drisko in padec mlečnosti, kasneje pa še pri ovcah in kozah.
- Nekaj mesecev pozneje so se na okuženem območju pojavili tipični znaki okužbe pri prežvekovalcih: abortusi, mrtvorojena in malformirana teleta in jagnjeta.

Številni pozitivni primeri v Nemčiji leta 2012



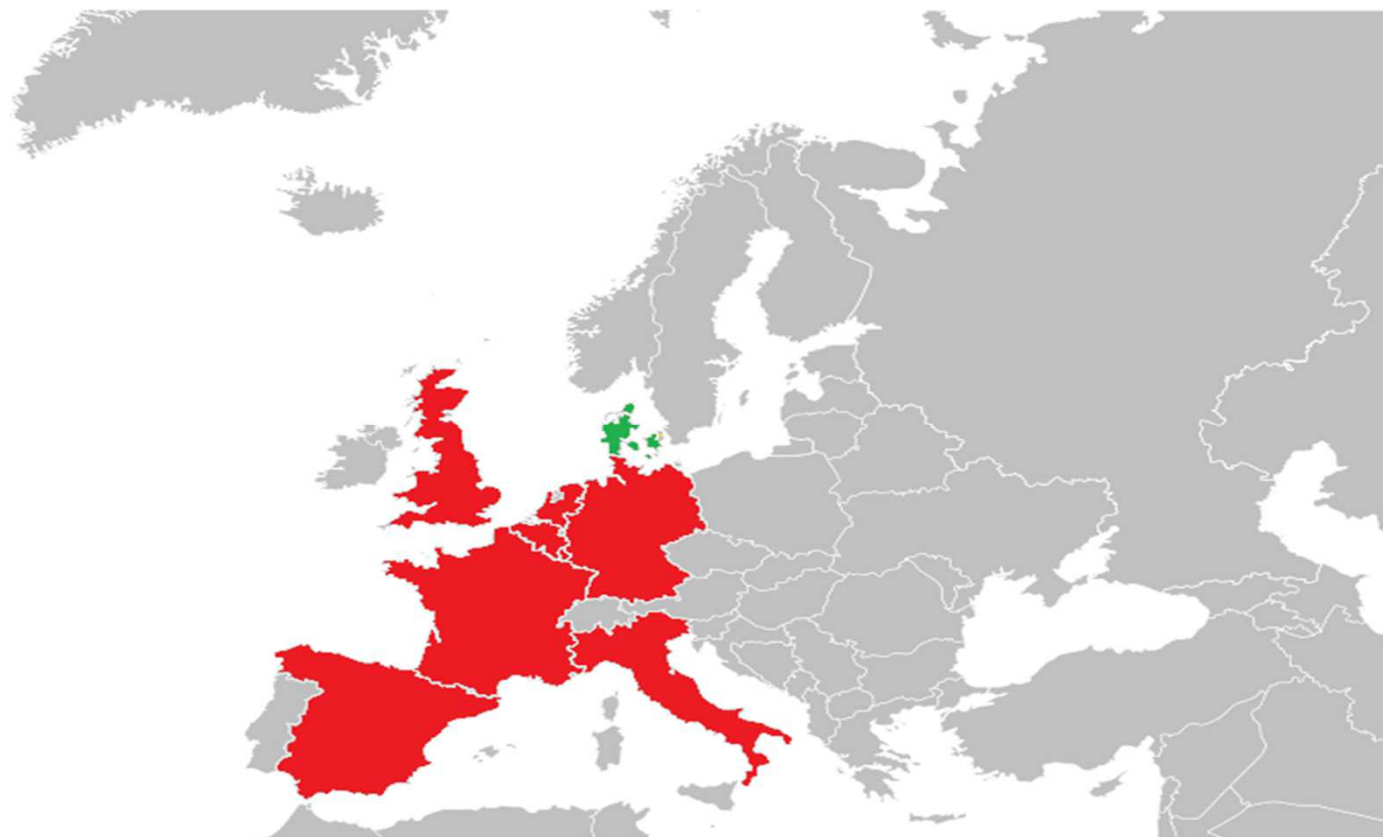
Prve prijave nove bolezni na OIE

Ker je šlo za pojav nove – do takrat še nepoznane virusne bolezni v Evropi, ki se je hitro širila, so se številne države odločile za prijavo bolezni v bazo podatkov WAHID na OIE, ki se uporablja za prijavo obvezno prijavljivih bolezni.

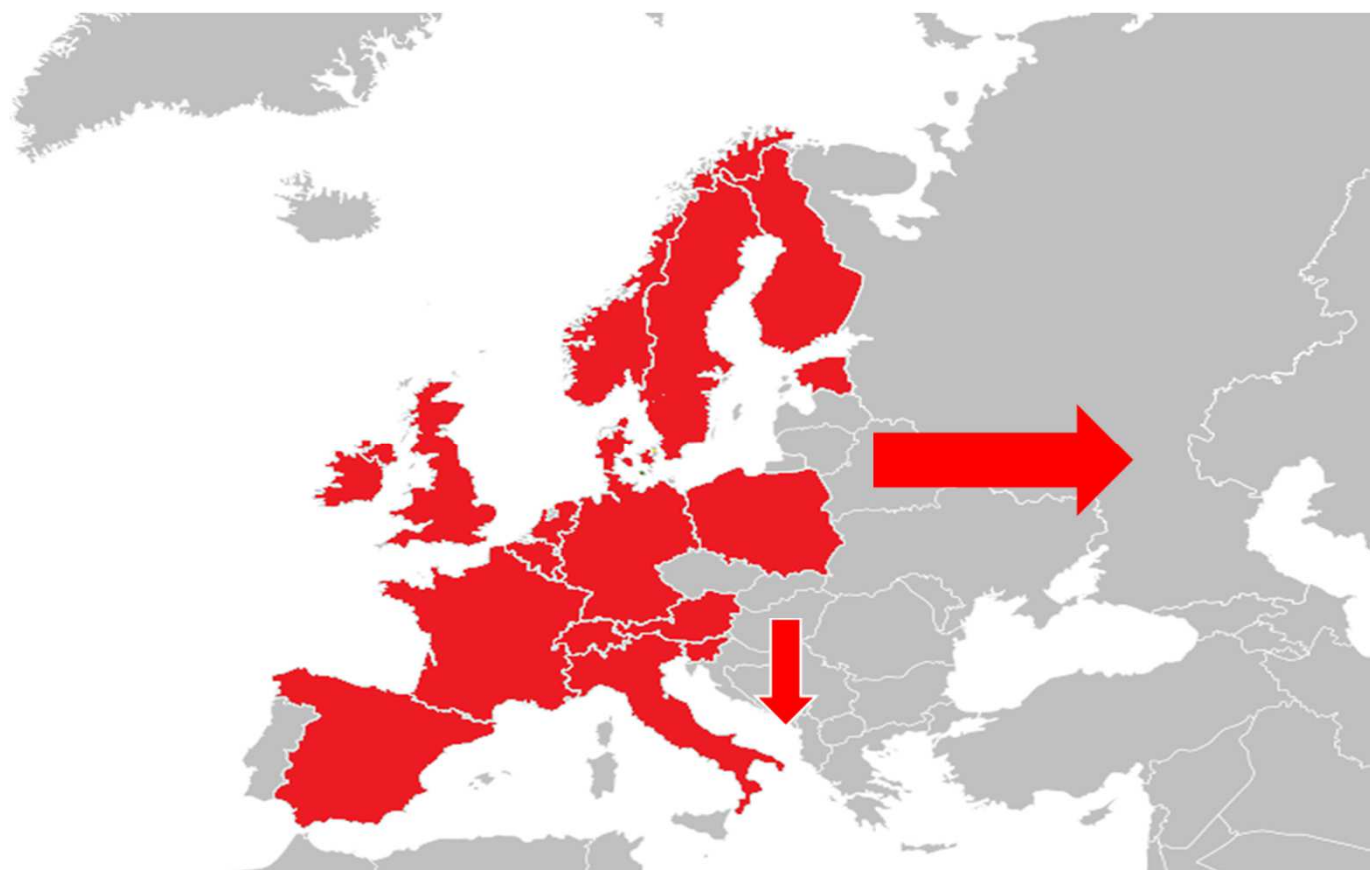
Uradna prijava okužbe z virusom Schmallenberg v posamezni državi:

- Nizozemska (4. januar 2012)
- Belgija (12. januar 2012)
- Nemčija (17. januar 2012)
- Francija (21. januar 2012)
- Velika Britanija (3. februar 2012)
- Luksemburg (17. februar 2012)
- Italija (20. februar 2012)
- Španija (13. marec 2012)

Države, v katerih so virus dokazali do maja 2012



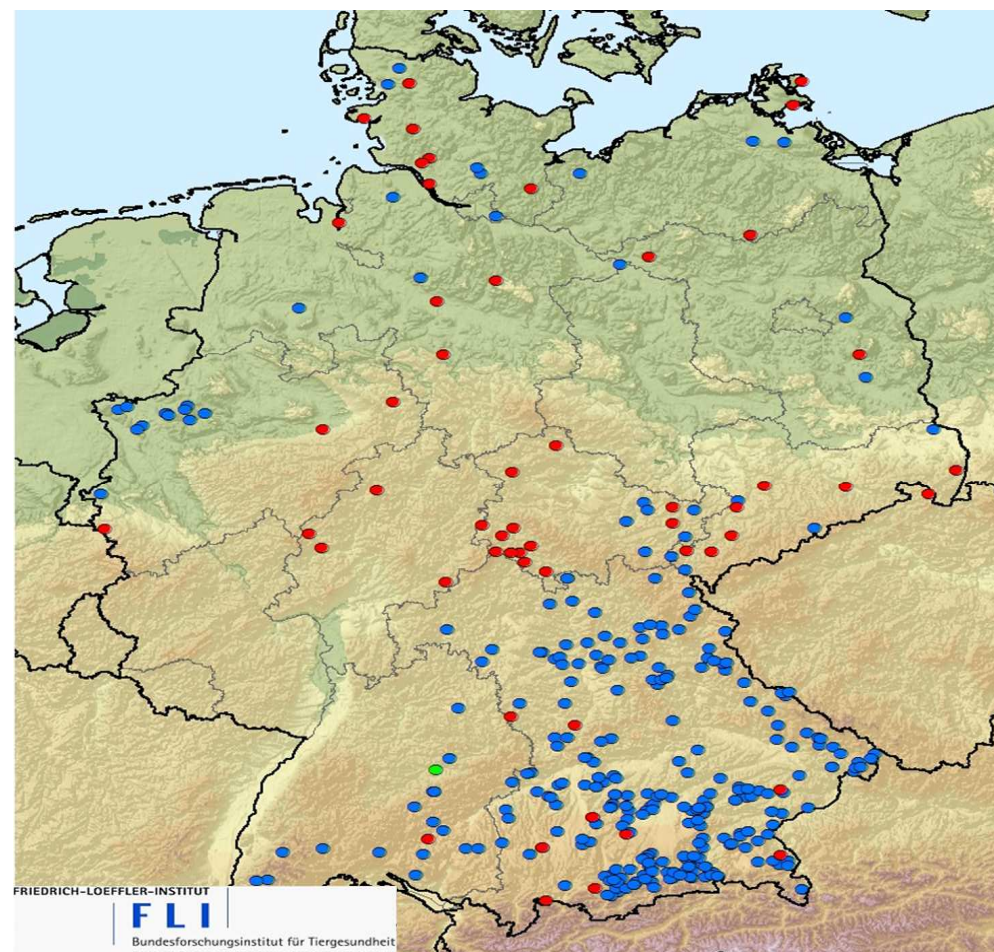
Nadaljevanje širjenja virusa v Evropi, stanje v maju 2013



Prva prijava bolezni po državah, v letu 2012 in 2013

- Švica,
- Švedska,
- Norveška,
- Irska,
- Danska,
- Poljska,
- Finska,
- Avstrija,
- Estonija,
- **Slovenija (9. januarja 2013),**
- Češka,
- Latvija,
- Madžarska,
- Romunija,
- Hrvaška,
- Srbija,
- Turčija,
- Grčija.

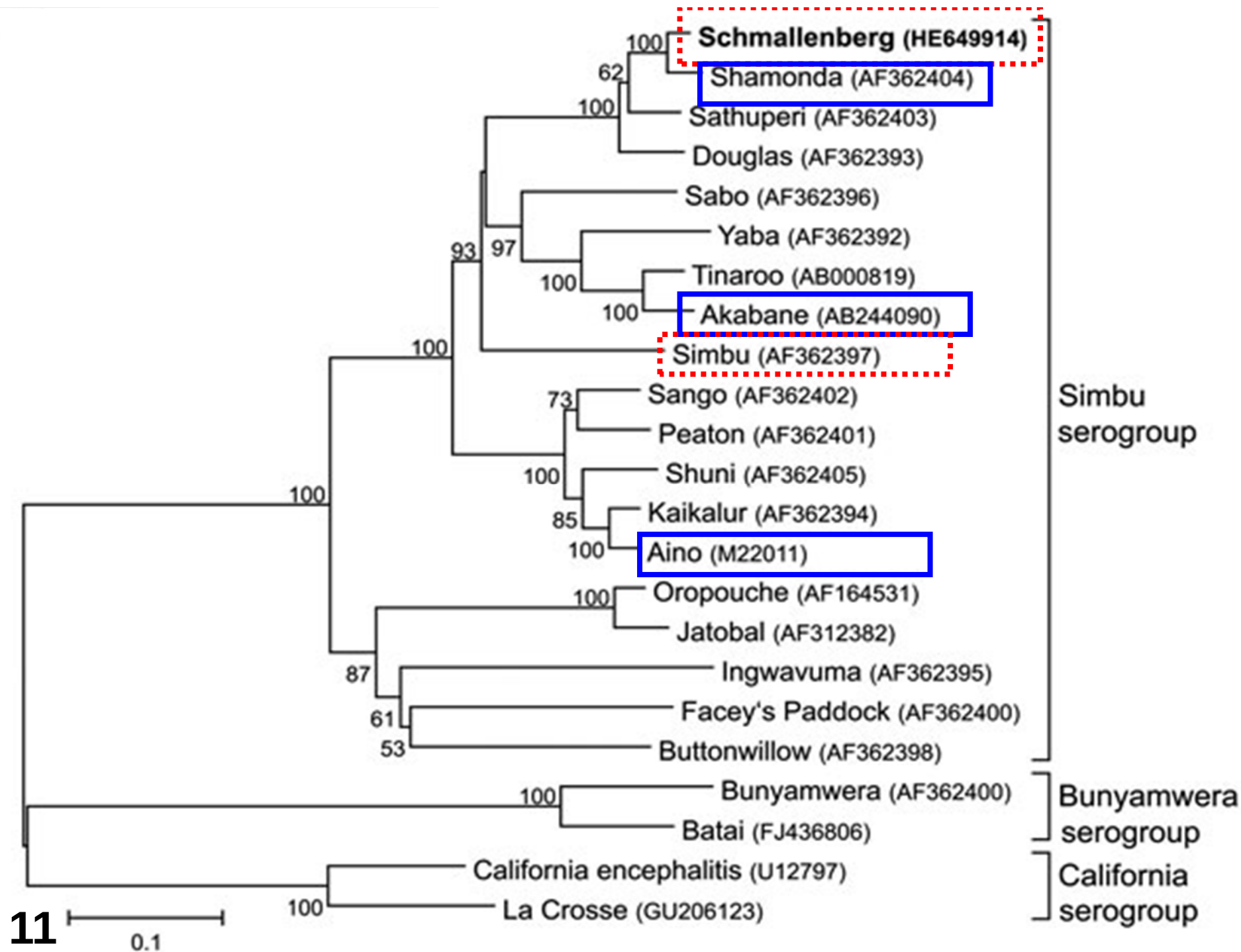
Nadaljevanje pojavljanja v Nemčiji, 2014



- koze (53 rej)
- govedo (1.478 rej)
- ovce (973 rej)

Epizootiologija

- Virus Schmallerberg spada v seroskupino Simbu roda *Orthobunyavirus*, ki je uvrščen v družino *Bunyaviridae*.
- Okužb z virusi iz seroskupine Simbu pred letom 2011 v Evropi niso zabeležili.
- Genetsko sorodni virusi Akabane, Aino in Shamonda povzročajo podobne klinične znake kot virus Schmallerberg, razširjeni pa so na območju Oceanije, Avstralije, Afrike in Azije.
- Primarni gostitelji teh virusov so insekti.



Nekaterne značilnosti virusov iz rodu *Orthobunyavirus*

- Znotraj rodu je znanih 170 virusnih sevov, ki se med seboj razlikujejo po velikosti posameznih segmentov, po strukturnih proteinih in po razlikah v ohranjenih delih na 3' in 5' koncu genoma.
- Na podlagi rezultatov testa vezave komplementa (RVK) virusnevtralizacijskih testov (SNT) in testa inhibicije hemaglutinacije (IHA), lahko viruse tega rodu delimo na 18 seroskupin, mednarodni komite za taksonomijo virusov (ICTV) pa viruse znotraj rodu razvršča v 48 različnih vrst.

Genom virusa Schmallenberg

- Virus z ovojnicco.
- Velik je od 80 do 120 nm.
- Genom sestavlja negativno polarna, enojnovijačna molekula RNA.

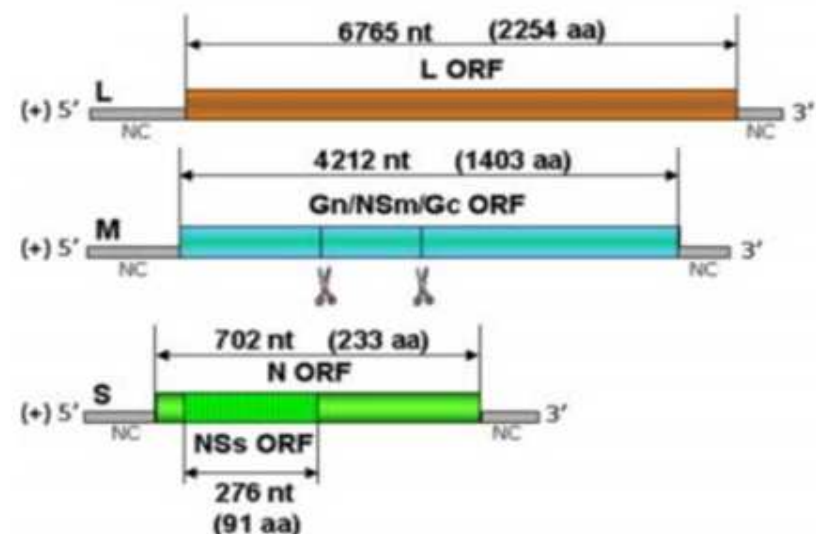
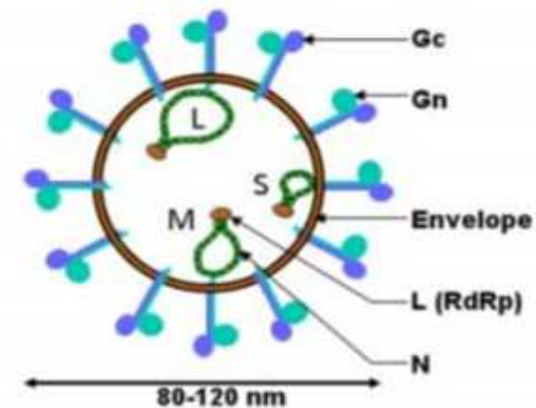
Genom virusa je segmentiran:

Genom sestavljajo trije segmenti;

Large (večji segment)

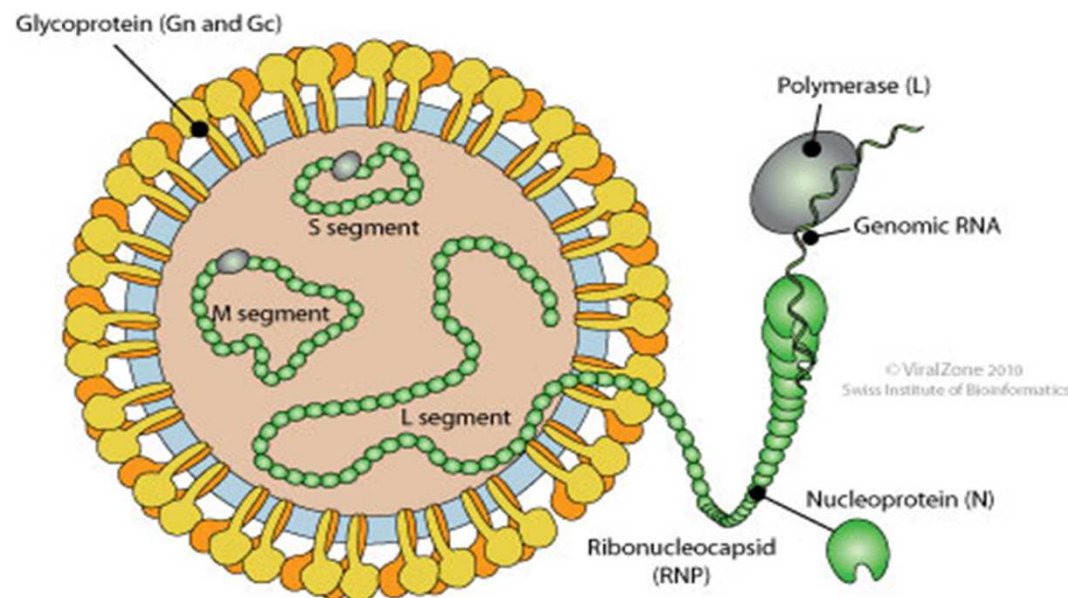
Medium (srednji segment)

Smal (manjši segment)



Segmentiran genom

- **L**arge (kodira od RNA odvisno polimerazo RNA)
- **M**edium (kodira glikoprotein Gn in Gc)
- **S**mall (kodira nukleokapsidni protein)



Podobnost virusa Schmallerberg z ostalimi virusi iz seroskupine Simbu

- Virus Schmallerberg je:
 - 69 % identičen nukleotidnemu zaporedju virusa Akabane v L segmentu.
 - 71 % identičen nukleotidnemu zaporedju virusa Ainov M segmentu.
 - 97 % identičen nukleotidnemu zaporedju virusa Shamonda v S segmentu.

Od kod se je virus vnesel v Evropo?

- Izvor virusa Schmallerberg, ki se je leta 2011 pojavil v Evropi, še ni pojasnjen.
- Na podlagi genetske primerjave treh segmentov naj bi nov virus nastal z rekombinacijo med virusom Shamonda (S segment) in še enim neidentificiranim virusom iz Simbu seroskupine.
- Po eni od hipotez, naj bi se nov virus vnesel v Evropo z okuženimi krvosesi mušicami (podobno kot virus bolezni modrikastega jezika, serotip 8).

Isti sev virusa se razširi po Evropi

- Po prvi ugotovitvi v Nemčiji so v dobrih dveh letih prisotnost okužb ugotovili v večini evropskih držav.
- Genetska primerjava sevov iz različnih evropskih držav potrjujejo, da se je od leta 2011 naprej v različnih državah po Evropi pojavljal isti sev virusa, ki je bil prvotno poimenovan kot virus Schmallenberg.

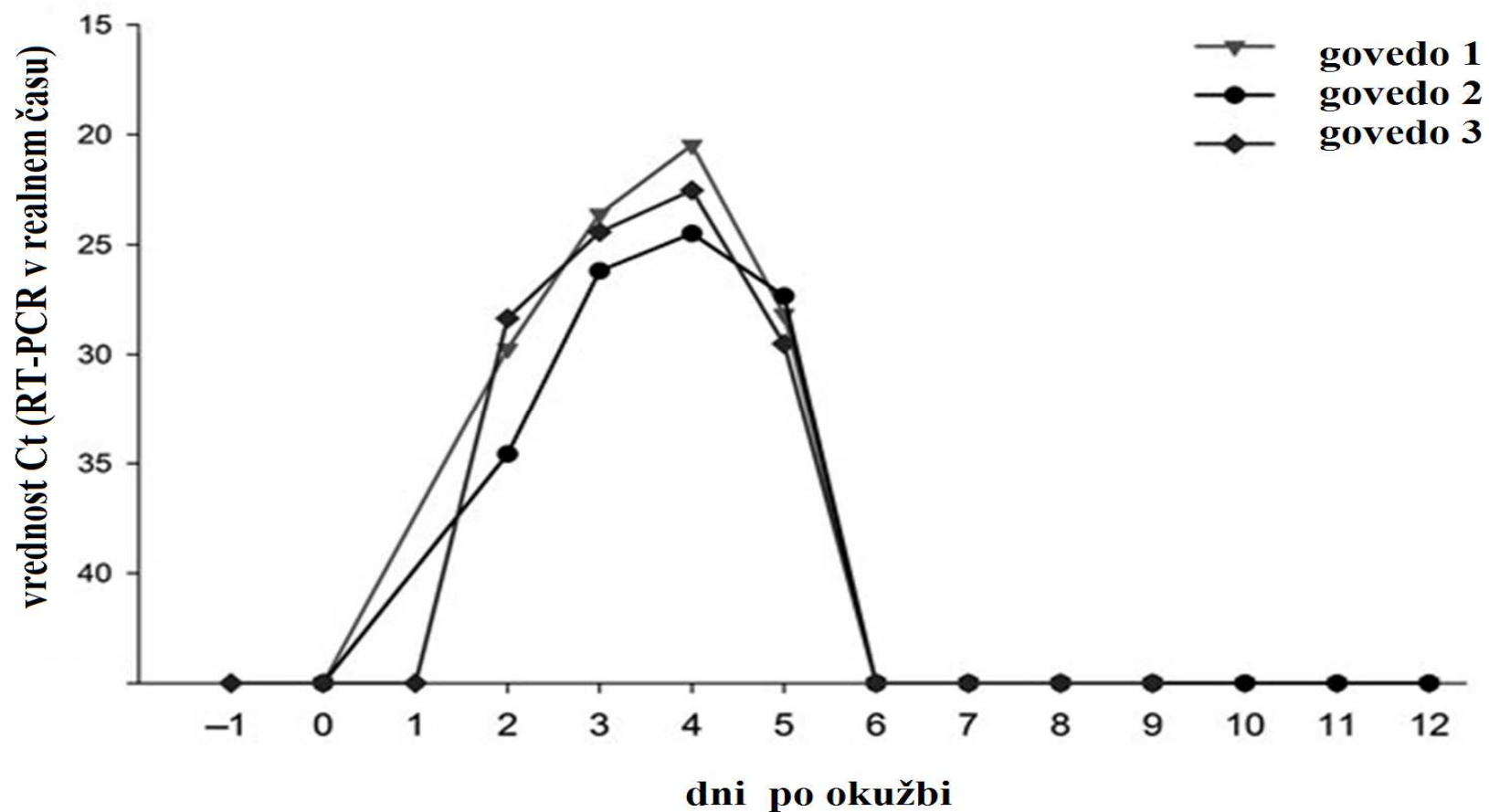
Dovzetne vrste živali

- Virus in/ali specifična protitelesa so v krvi potrdili pri govedu, ovcah in kozah.
- Specifična protitelesa so ugotovili še pri 12 vrstah divjih živali: srni, damjaku, jelenu, gamsu, bizonu, muflonu, alpaki, psu in divjem prašiču, kot tudi pri 19 različnih vrstah živali v živalskih vrtovih.

Patogeneza

- V času akutne okužbe se bolezen kaže s povišano telesno temperaturo, padcem mlečnosti in drisko.
- Večina kliničnih znakov pri obolelih živalih izgine v nekaj dneh po akutni okužbi.
- Obolele živali si popolnoma opomorejo in pridobijo specifična zaščitna protitelesa.

Kratkotrajna viremija (2 do 5 dni)

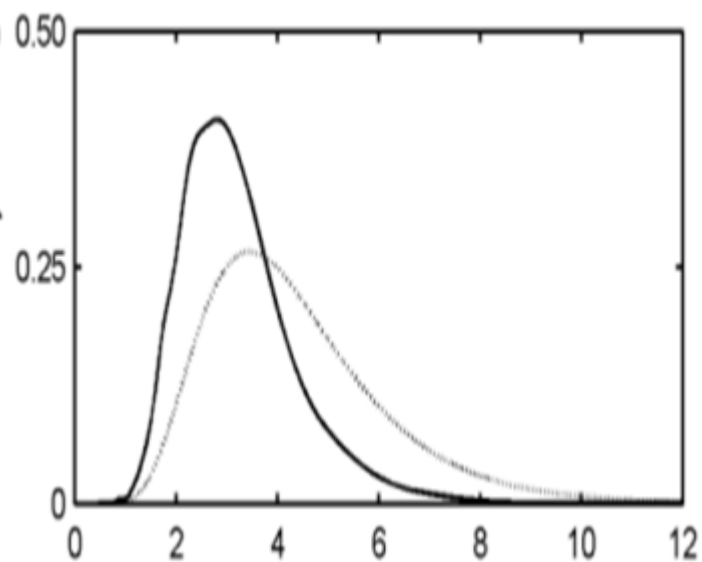


Eksperimentalna okužba

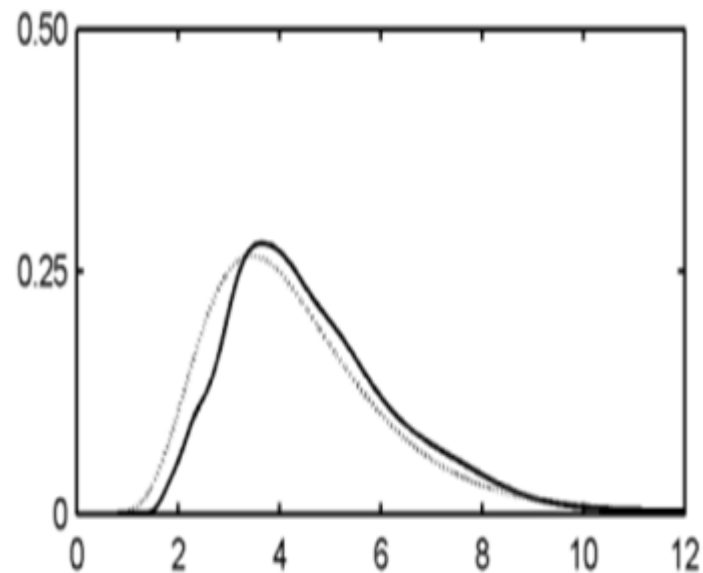
- Pri eksperimentalno okuženih živalih beležimo kratkotrajno viremijo, ki traja nekaj dni, podobno kot so ugotavljali pri naravno okuženih živalih.
- Virusno nukleinsko kislino pa so lahko v bezgavkah pri ovcah in govedu v eksperimentalnih pogojih dokazali še do 44. dneva po okužbi.

Povprečno trajanje viremije pri govedu in ovcah

pri govedu (v dnevih)



pri ovcah (v dnevih)



Patogeneza pri brejih živalih

- V številnih rejah so po okužbi z virusom Schmallerberg pri novorojenih teletih jagnjetih in kozličkih zabeležili t.i. sindrom artrogripoze in hidraencefalije (angl. arthrogriposis hydrancephaly syndrome), vendar je odstotek kliničnih primerov malformacij v okuženih rejah nizek, pod 10 %.
- Velika večina novorojenih živali je klinično zdrava.

Glavni vektor, ki prenaša virus



- Virus Schmallerberg se med dovzetnimi vrstami živali v glavnem prenaša z vektorjem, s krvosesnimi mušicami (*Culicoides sp.*).
- Viruse iz seroskupine Simbu (Sathuperi, Douglas, Akabane in Shamonda) so primarno izolirali iz mušic *Culicoides sp.*, na podlagi česar so potrdili domnevo, da tudi virus Schmallerberg prenaša isti vektor.
- Po ugotovitvi okužbe pri govedu, ovcah in kozah so v neposredni bližini okuženih rej po letu 2011 prisotnost virusa dokazali v vzorčenih krvosesnih mušicah v Belgiji, na Danskem, na Nizozemskem, v Italiji, na Poljskem in v Franciji.

Vrste *Culicoides* sp.



- Poznanih je več kot 1.200 vrst, v Evropi jih je prisotnih okrog 120 vrst.
- Mušice se okužijo med sesanjem krvi okuženih živali, ki virus nato prenašajo s piki na neokužene živali.
- V Evropi lahko številne vrste mušic iz rodu *Culicoides* sp. prenašajo virus Schmallenberg.
- Vzorčenja mušic iz rodu *Culicoides* sp., v letih od 2011 do 2012 v različnih evropskih državah, so pokazala, da od 0,10 do 2,33 % vzorcev mušic vsebuje nukleinsko kislino virusa Schmallenberg.
- Študija v Belgiji, na Nizozemskem in v Franciji so nedvoumno pokazale, da so vrste *Culicoides obsoletus*, *Culicoides scoticus* in *Culicoides chiopterus* prenašalke virusa Schmallenberg.
- Druga študija, izvedena v Belgiji v Franciji in na Poljskem je pokazala da so tudi vrste *Culicoides dewulfi*, *Culicoides pulicaris*, *Culicoides nubeculosus*, *Culicoides punctatus* prenašalci virusa.

Načini prenosa virusa Schmallenberg

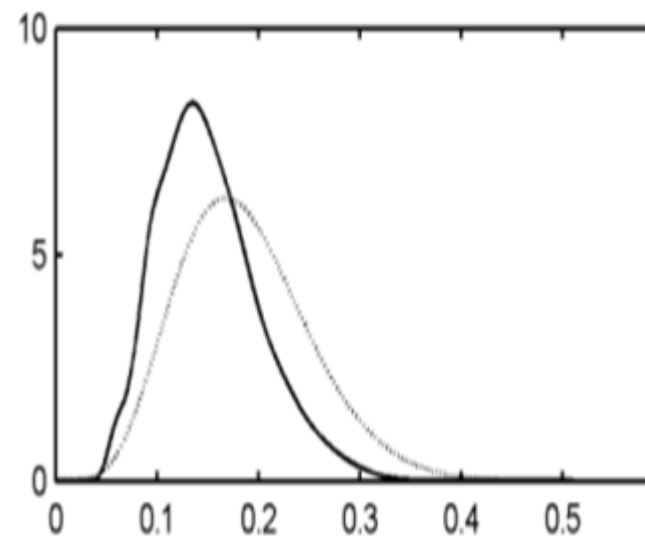
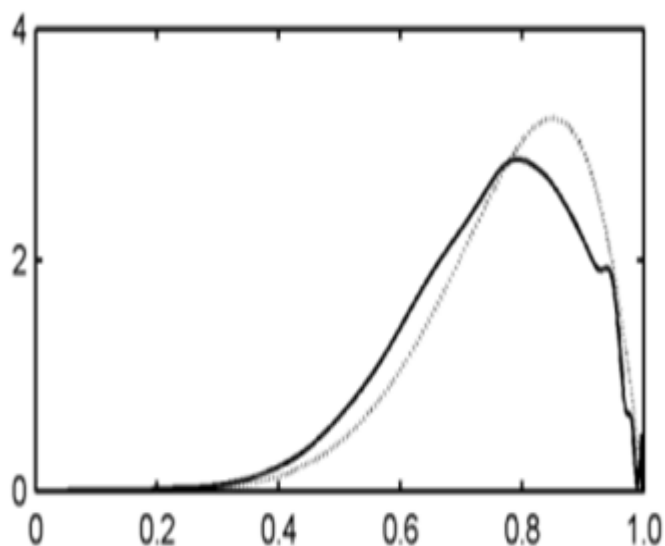
- V glavnem se virus širi z različnimi vrstami mušic iz rodu *Culicoides* sp.
- Virus prehaja preko placent in se prenaša preko okužene matere na plod (vertikalno). Vertikalnega prenosa virusa pri krvosesnih mušicah niso dokazali.
- Horizontalni način prenosa virusa, preko stika med dovzetnimi vrstami živali, ni bil dokazan.
- Virus lahko dokažemo tudi v semenu do 6 % okuženih bikov (2 - 4 dni po okužbi), vendar še ni dokazano ali se okužba širi s semenom.

Uspešnost prenosa iz vektorja na gostitelja in obratno

prenos z vektorja na gostitelja

&

prenos z gostitelja na vektorja

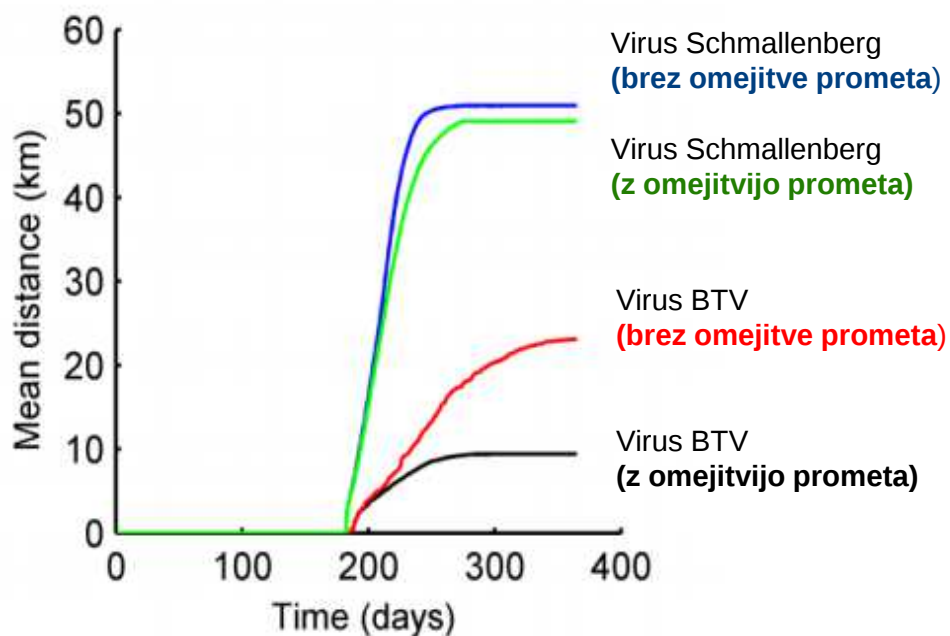
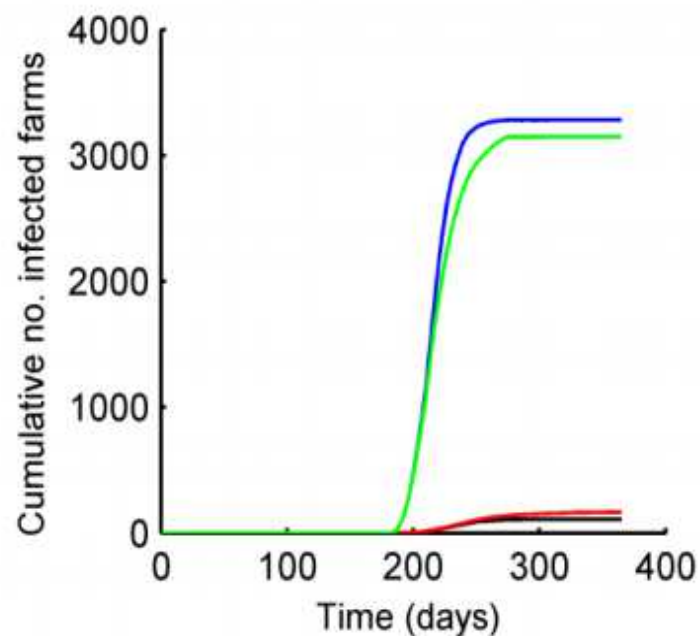


Velika razlika v hitrosti širjenja: (primerjava med virusom Schmallenberg in virusom bolezni modrikastega jezika, okužba na 182. dan leta)

število primerov

&

širjenje

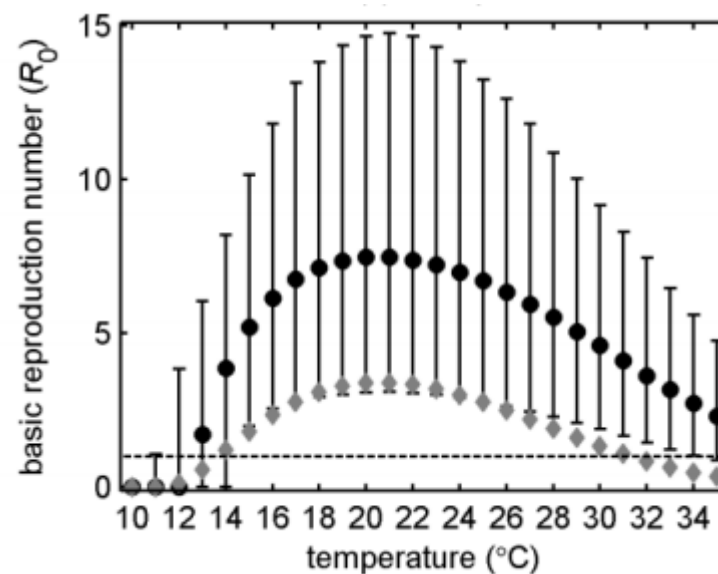
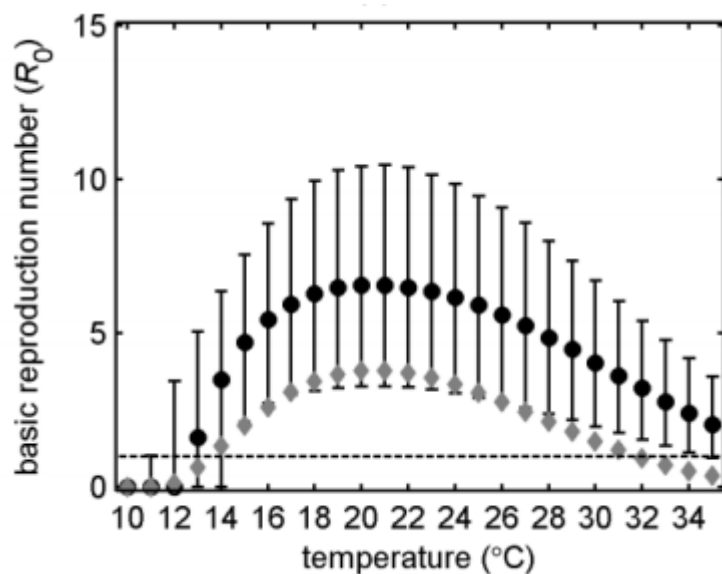


Vpliv temperature na hitrost širjenja

govedo

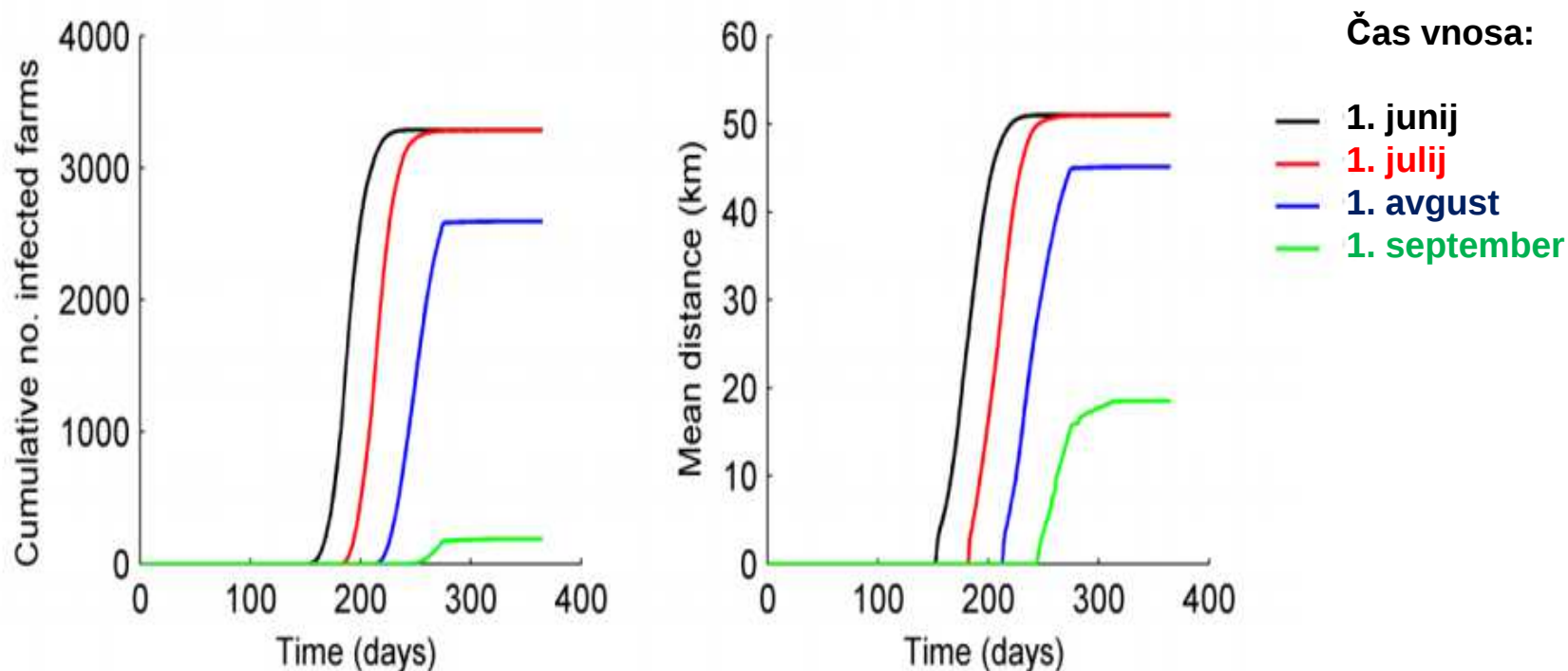
&

ovce



Vpliv časa vnosa virusa Schmallerberg v neokuženo regijo (model)

število primerov & širjenje (km)



Možni načini ohranjanja virusa Schmallenberg preko zime

- Dejstvo je, da se virus na okuženih območjih ohranja preko zime, vendar še ni popolnoma jasno, kako.
- Epidemiološki podatki potrjujejo, da se na okuženem območju virus ohranja tudi ob odsotnosti ali manjši aktivnosti vektorja (preko zime).
- Ohranjanje virusa znotraj vektorja je preko zime malo verjetna.
- Zbrani podatki ne potrjujejo, da bi lahko bil vključen še kakšen drugi vektor, preko katerega bi se virus ohranjal na okuženem območju.
- Virus Schmallenberg lahko prehaja preko placent.
- Manjši odstotek bikov, ki so se srečali z virusom lahko virus nekaj dni ali celo tednov virus izloča s semenom, vendar še ni bilo dokazano, ali je seme vir novih okužb.

Trajanje imunosti po okužbi

- Po okužbi si večina živali v okuženi reji v dveh do treh tednih popolnoma opomore in pridobi specifična protitelesa, ki jih lahko dokažemo s testom ELISA.
- Pri živalih, ki so se srečale z virusom Schmallerberg, lahko specifična protitelesa dokazujemo še najmanj eno leto po okužbi, lahko tudi dalj časa.
- Pri različno prizadetih, slabo vitalnih teletih, jagnjetih, kozličkih, ki kažejo živčne znake, slab sesani refleks, lahko z dokazom prekolostralnih protiteles potrdimo, da so se z virusom okužili že intrauterino.

Seroprevalenca v okuženih državah

Seroprevalenca je v govejih mlečnih rejah visoka (podatki iz let 2012 in 2013):

- 95,5 - 99,76 % (Nizozemska in Belgija)
- 86,3 % (Danska)

Seroprevalenca okužb je v letu 2012 bila pri ovcah podobno visoka kot pri govedu:

- 97,1 % (Nizozemska)
- 58,7 – 84,31 % prevalenca znotraj rej

Pri kozah je okužba manj pogosto ugotovljena (podatki za leto 2012):

- 40,68 % (Belgija)
- 36,7 % v severnem delu Nemčije
- 43,8 % v južnem delu Nemčije

Cepljenje proti virusu Schmallenberg

Živali je možno pred okužbo zaščititi s cepljenjem.
Cepljene živali pridobijo zaščitna nevtralizacijska protitelesa v dveh do treh tednih po cepljenju.

V Evropi sta odobreni dve cepivi:

- Bovilis SBV (MSD Animal Health)
- SBVvax (Merial)

Prva ugotovitev okužb z virusom Schmallenberg v Sloveniji

- V januarju 2013 smo ugotovili prvi primer okužbe.
- V reji z 23 ovcami je rejec opazil povečano smrtnost novorojenih jagnjet, skupno zabeleženih 9 abortusov.
- Po rojstvu petih mrtvih jagnjet je rejec poklical veterinarja, ki ga je napotil na Nacionalni veterinarski inštitut (NVI), kjer je bila izvedena patološka, bakteriološka in virološka diagnostika.

Prizadeta jagnjeta iz prve pozitivne reje (januar 2013)



Foto: T. Paller

Patološka slika pri raztelesbi

- Pri raztelešenih jagnjetih smo ugotovili več različnih razvojnih napak in patoloških sprememb, kot so: izrazito skrajšana spodnja čeljust (*brachygnathia inferior*), v stran zavrt vrat (*torticollis*), razvojne napake na sklepih (*arthrogryposis*), razvojne napake na možganih (*hydrocephalus internus*, *hypoplasia cerebelli*) in povečan timus.
- Eno od raztelešenih jagnjet je imelo vzdolžno zvito hrbtenico (*scoliosis*).

Prizadeto jagnje iz prve pozitivne reje (tortikolis)



Foto: T. Paller

Prizadeta jagnjeta iz prve pozitivne reje (brahignatija)



Foto: T. Paller

Prizadeto tele (artrogripoza)



Prizadeto tele (tortikolis)



Prizadeto tele (artrogripoza in tortikolis)



Foto: T. Paller

Prizadeto tele (skolioza)



Prizadeti veliki možgani teleta (hipoplazija)

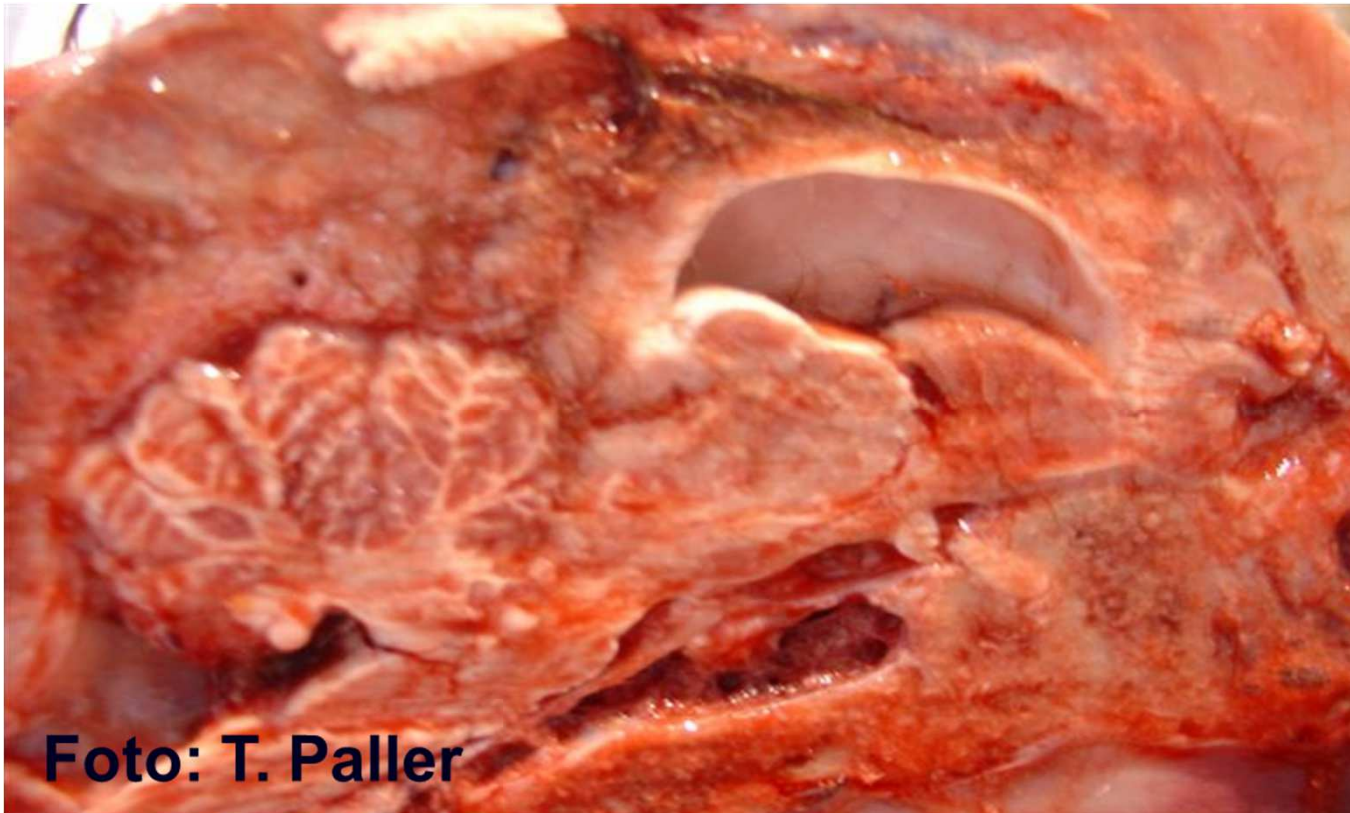
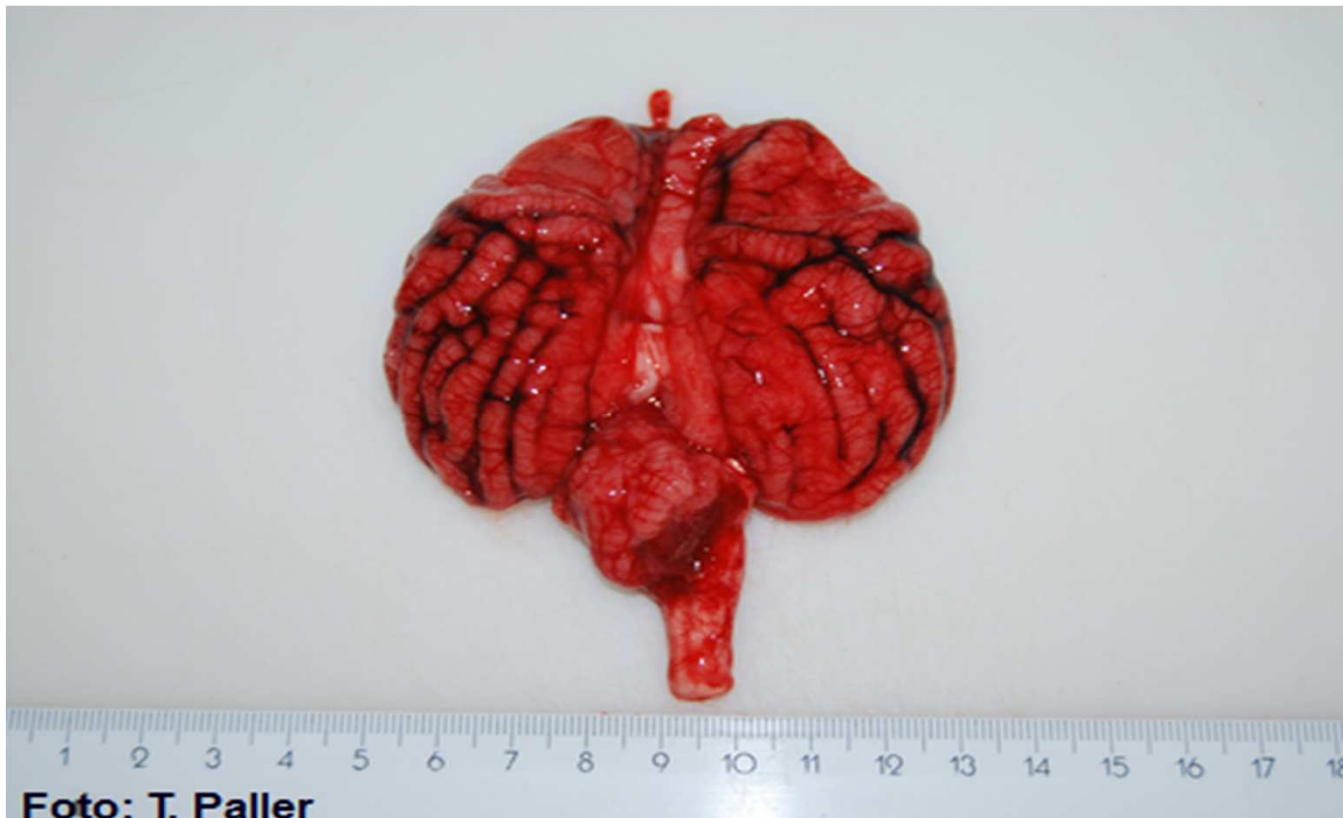


Foto: T. Paller

Prizadeti možgani teleta (hipoplazija)



Diagnostika okužb z virusom Schmallenberg

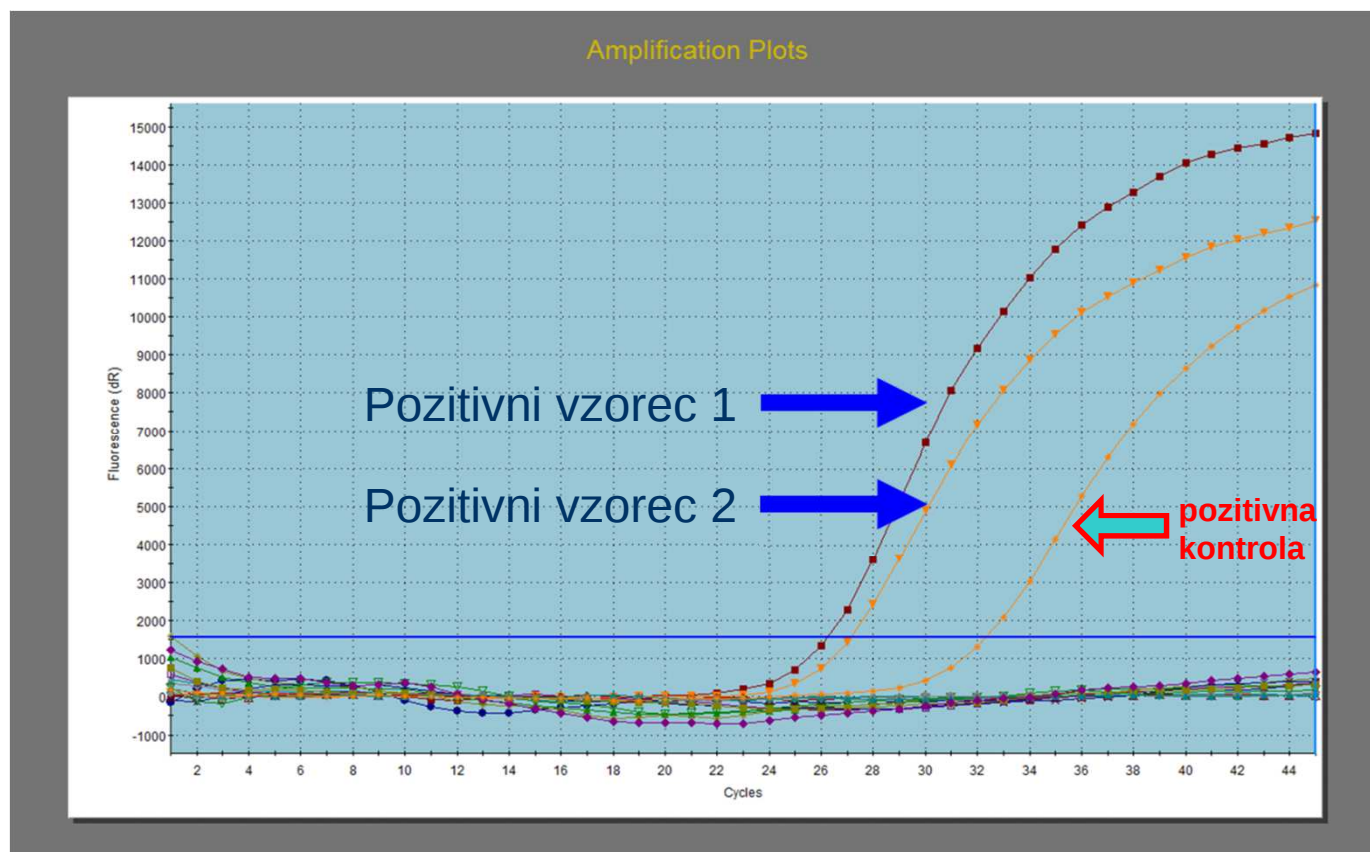
Dokaz virusa:

- Metoda RT-qPCR za dokaz nukleinske kisline virusa Schmallenberg (razvita v Friedrich Loeffler Institute, Nemčija), dostopni so tudi že komercialni testi RT-qPCR za dokaz nukleinske kisline virusa Schmallenberg (Virotype SBV, Qiagen, Nemčija; TaqVet SBV, LSI, Francija).
- Vzorci za preiskavo:
- **serum ali kri z EDTA** (klinična slika: povišana telesna temperatura, padec mlečnosti, driska).
- **možgani, podaljšana hrbtenjača, vranica, kri** (abortusi, fetusi, mrtvorojeni, spački).

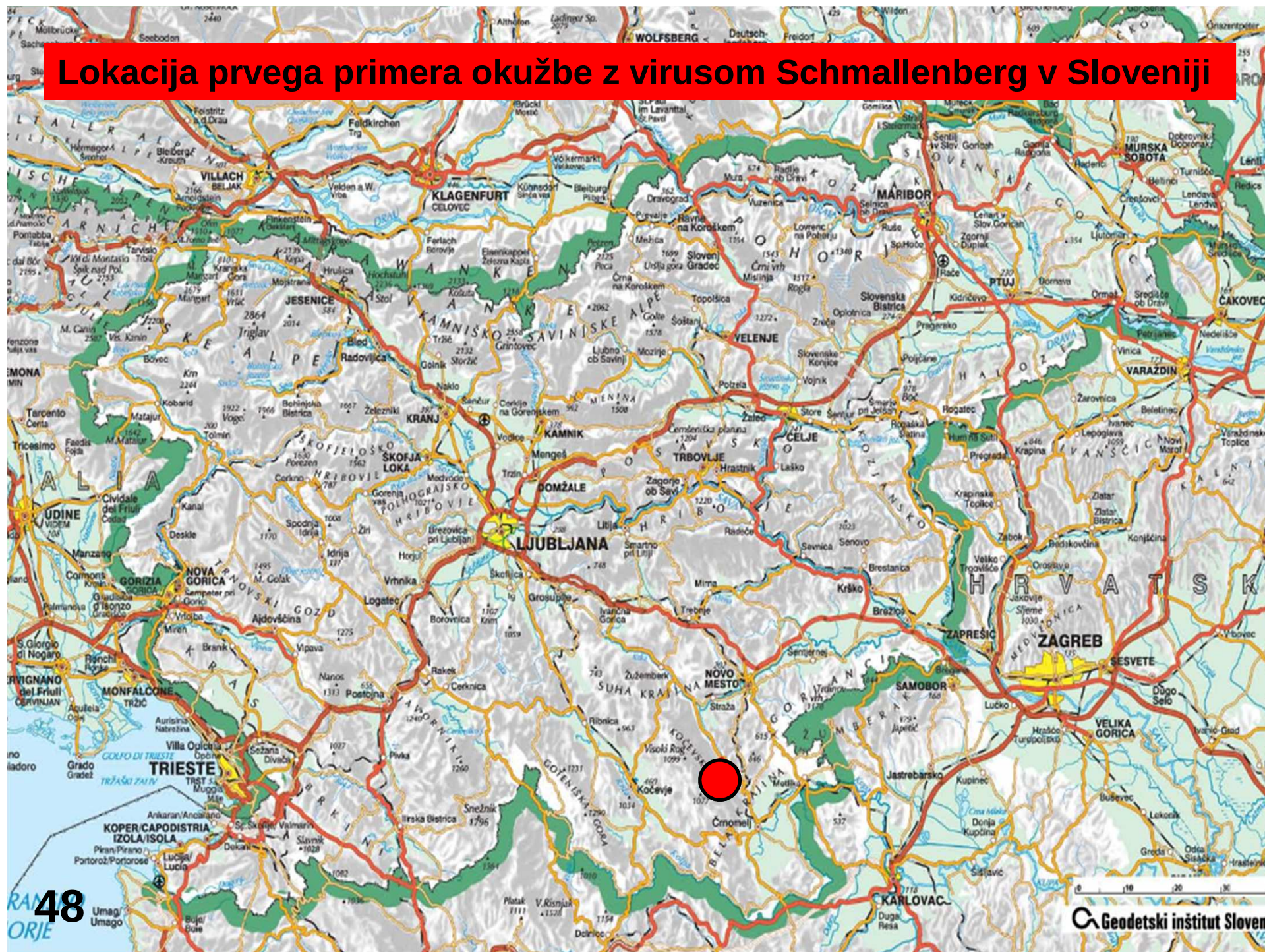
Dokaz protiteles:

- test ELISA
- preiskava se opravi na vzorcu seruma.

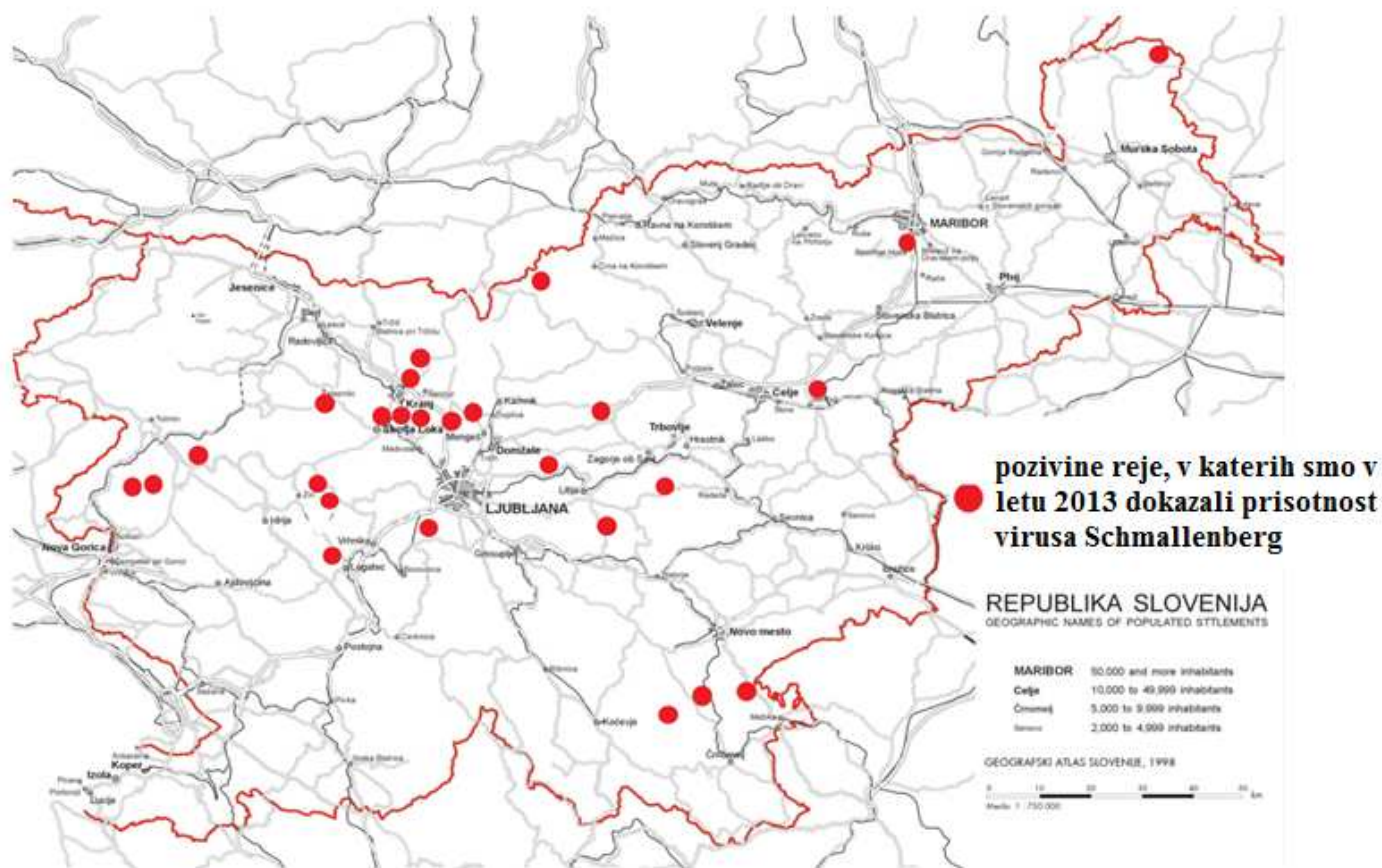
Dokaz prisotnosti virusa z metodo RT-PCR v realnem času



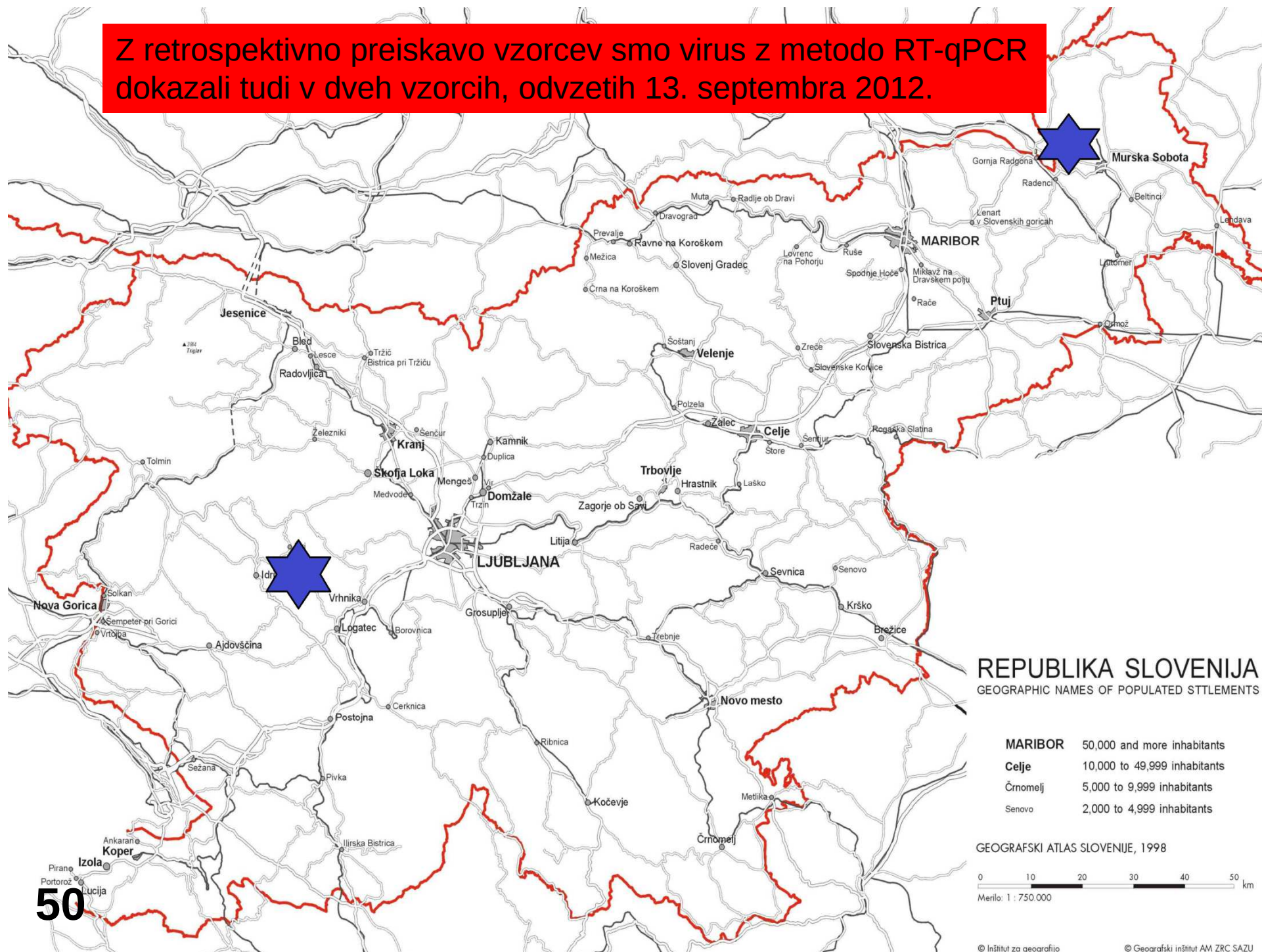
Lokacija prvega primera okužbe z virusom Schmallenberg v Sloveniji



Pozitivne reje, v katerih smo dokazali virus Schmallenberg v letu 2013



Z retrospektivno preiskavo vzorcev smo virus z metodo RT-qPCR dokazali tudi v dveh vzorcih, odvzetih 13. septembra 2012.



Pričakovanja v prihodnjih letih

- Populacija govedi, ovc in koz je bila v letih od 2011 do 2013 v Evropi prekužena, vendar bo čez nekaj let populacija na okužbo znova popolnoma občutljiva.
- Zato lahko pričakujemo nov izbruh, zelo verjeten pa je tudi nov vnos podobnega virusa.
- Z uporabo preventivnega cepljenja dovzetnih živali lahko zmanjšamo škode.
- Škode bodo tudi v prihodnje neposredne (abortusi, prizadetost novorojenih mladičev) in posredne (omejitve v prometu in omejitve s semenom, ki jih lahko uvedejo tretje države).

Literatura

- Beer M, Conraths FJ, van der Poel WH. "Schmallenberg virus" – a novel Orthobunyavirus emerging in Europe. *Epidemiol Infect* 2013; 141: 1-8.
- Hoffmann B, Scheuch M, Höper D, et al. Novel Orthobunyavirus in cattle in Europe, 2011. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 469-472.
- Garigliany MM, Bayrou C, Kleinen D, Cassart D, Desmecht D. Schmallenberg virus in domestic cattle, Belgium, 2012. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1512-1514.
- Goller KV, Höper D, Schirrmeier H, Mettenleiter TC, Beer M. Schmallenberg virus as possible ancestor of Shamonda virus. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1644-1646.
- European Food Safety Authority (EFSA). Schmallenberg virus: State of the art. *EFSA J* 2014; 12(5): 3681.
- Kaba J, Czopowicz M, Witkowski L. Schmallenberg Virus antibodies detected in Poland. *Transbound Emerg Dis* 2013; 60: 1-3.
- De Regge N, Deblauwe I, De Deken R, et al. Detection of Schmallenberg virus in different *Culicoides* spp. by real-time RT-PCR. *Transbound Emerg Dis* 2012; 59: 471-475.
- Rasmussen LD, Kristensen B, Kirkeby C, et al. *Culicoides* as vectors of Schmallenberg virus. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1204-1206.
- Larska M, Polak MP, Grochowska M, Lechowski L, Zwiazek JS, Zmudzinski JF. First report of Schmallenberg virus infection in cattle and midges in Poland. *Transbound Emerg Dis* 2013; 60: 97-101.
- Mansfield KL, La Rocca SA, Khatri M, Johnson N, Steinbach F, Fooks AR. Detection of Schmallenberg virus serum neutralising antibodies. *J Virol Meth* 2013; 188: 139-144.
- Bilk S, Schulze C, Fischer M, Beer M, Hlinak A, Hoffmann B. Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Veterinary Microbiol* 2012; 159: 236-238.
- De Regge N, van den Berg T, Georges L, Cay B. Diagnosis of Schmallenberg virus in malformed lambs and calves and first indications for virus clearance in the fetus. *Veterinary Microbiol* 2013; 162: 595-600.
- Schiefer P, Steinrigl A, Wodak E, Schmoll F. Rapid spread of Schmallenberg virus in Austrian domestic ruminants. *International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance* 2013: 184.
- Toplak I, Starič J, Cociancich V, Rihtarič D, Paller T. The first evidence of Schmallenberg virus infections in Slovenia: detection of antibodies in cattle since august 2012. In: 13th Middle European Buiatrics Congress, 5-8 June, 2013: 46-49.
- van Maanen C, van der Heijden H, Wellenberg GJ, et al. Schmallenberg virus antibodies in bovine and ovine fetuses. *Vet Rec* 2012, doi:10.1136/vr.101061.
- Toplak I, Cociancich V, Rihtarič D, Juntos P, Paller T. First detection of Schmallenberg virus infections in Slovenia, 2012. *Slov Vet Res* 2014; 51: 43-51.