

Serologische Untersuchung über das Vorkommen der Epizootischen Virusdiarrhoe der Schweine (EVD) in der Schweiz

Autor(en): **Hofmann, M. / Wyler, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **129 (1987)**

PDF erstellt am: **25.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-592601>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Institut für Virologie der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. R. Wyler)

Serologische Untersuchung über das Vorkommen der Epizootischen Virusdiarrhoe der Schweine (EVD) in der Schweiz

M. Hofmann und R. Wyler

1. Einleitung

Im Kot von Schweinen können Viren aus verschiedenen taxonomischen Familien nachgewiesen werden (Corona-, Adeno-, Picorna-, Parvo-, Rota-, Enteroviren usw.) [17]. Virale Enteritiden werden jedoch vor allem durch das Virus der Transmissiblen Gastroenteritis (TGEV), der Epizootischen Virusdiarrhoe (EVDV) sowie durch Rotaviren verursacht [13, 16, 18]. Während eine Rotavirusdiarrhoe nur mit milden Krankheitssymptomen einhergeht, verursachen sowohl TGE- als auch EVD-Ausbrüche infolge der damit verbundenen hohen Ferkelsterblichkeit und verminderten Gewichtszunahme bei Mastschweinen grosse wirtschaftliche Verluste.

Eine EVDV-Infektion führt bei Saugferkeln nach einer Inkubationszeit von ca. 24 Stunden zu wässrigem Durchfall und Erbrechen. Durch den massiven Flüssigkeitsverlust sterben die Ferkel nach einer Krankheitsdauer von 2 bis 5 Tagen an Dehydratation [2, 4, 5, 10, 11, 20, 21]. Bei älteren Tieren (Jäger, Mastschweine) ist die Inkubationszeit auf 2 bis 4 Tage verlängert, die Tiere zeigen ebenfalls starken Durchfall und eine massive Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens, erholen sich aber nach ungefähr einer Woche wieder. Todesfälle sind vor allem bei Masttieren ab etwa 70 kg Körpergewicht nicht selten.

Das ebenso wie das TGEV zu den Coronaviren zählende EVDV unterscheidet sich von anderen Coronaviren durch eine fehlende serologische Verwandtschaft mit anderen Vertretern dieser Familie [3, 12] sowie dadurch, dass es sich ausserhalb seines natürlichen Wirtes nicht vermehren lässt [6, 11, 20].

Da sich EVD und TGE klinisch nicht unterscheiden lassen, ist für eine gesicherte Diagnose ein Virusantigennachweis in der Dünndarmschleimhaut von erkrankten Ferkeln (direkte Immunfluoreszenz) nötig. Antikörper gegen EVDV können im Blut frühestens 10 Tage nach Infektion mittels indirekter Immunfluoreszenz erfasst werden. Dafür sind gepaarte Seren nötig, um einen Antikörpertiteranstieg aufzuzeigen.

Obwohl aus verschiedenen Ländern Berichte über das Vorkommen der EVD vorliegen [9, 16, 19], sind bisher in der Schweiz keine solchen Untersuchungen durchgeführt worden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, serologisch abzuklären, ob das EVDV eine Rolle als Verursacher akuter seuchenhafter Durchfälle in Schweinebetrieben in der Schweiz spielt. Bei diesen Ausbrüchen – landläufig oft als «Luzerner

Schysser» bezeichnet – konnte bisher nur in 2 Fällen eine Infektion mit dem TGEV nachgewiesen werden [1, 8], obwohl klinisch TGE oder EVD vermutet worden war.

2. Material und Methoden

a) Serumproben

Die 2853 untersuchten Schweineseren wurden im Rahmen einer Arbeit über das Vorkommen der TGE in der Schweiz durch *M. Bereiter* entnommen [1]. Die Seren stammten einerseits von 1859 Schlachtschweinen, vor allem aus dem Schlachthof Lenzburg (keine Anamnese) und andererseits von 994 teils Mast-, teils Mutterschweinen aus 25 ausgewählten Betrieben mit Bestandesanamnese. 14 dieser Betriebe hatten Probleme mit akuten Durchfällen (738 Proben), die übrigen 11 waren gezielt ausgewählte Kontrollbetriebe ohne Durchfälle.

b) Antikörpernachweis

Antikörper gegen EVDV wurden mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenztechnik nachgewiesen [14]. Dazu infizierte man neugeborene, kolostrumfreie SPF-Ferkel, euthanasierte sie nach Beginn des Durchfalls und entnahm den Dünndarm. Davon wurden 5 µm dicke Gefrierschnitte angefertigt und während 10 Minuten in absolutem Äthanol fixiert. Die zuvor 1:100 in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) verdünnten Probeseren inkubierten wir während 2 Stunden auf den Schnitten.

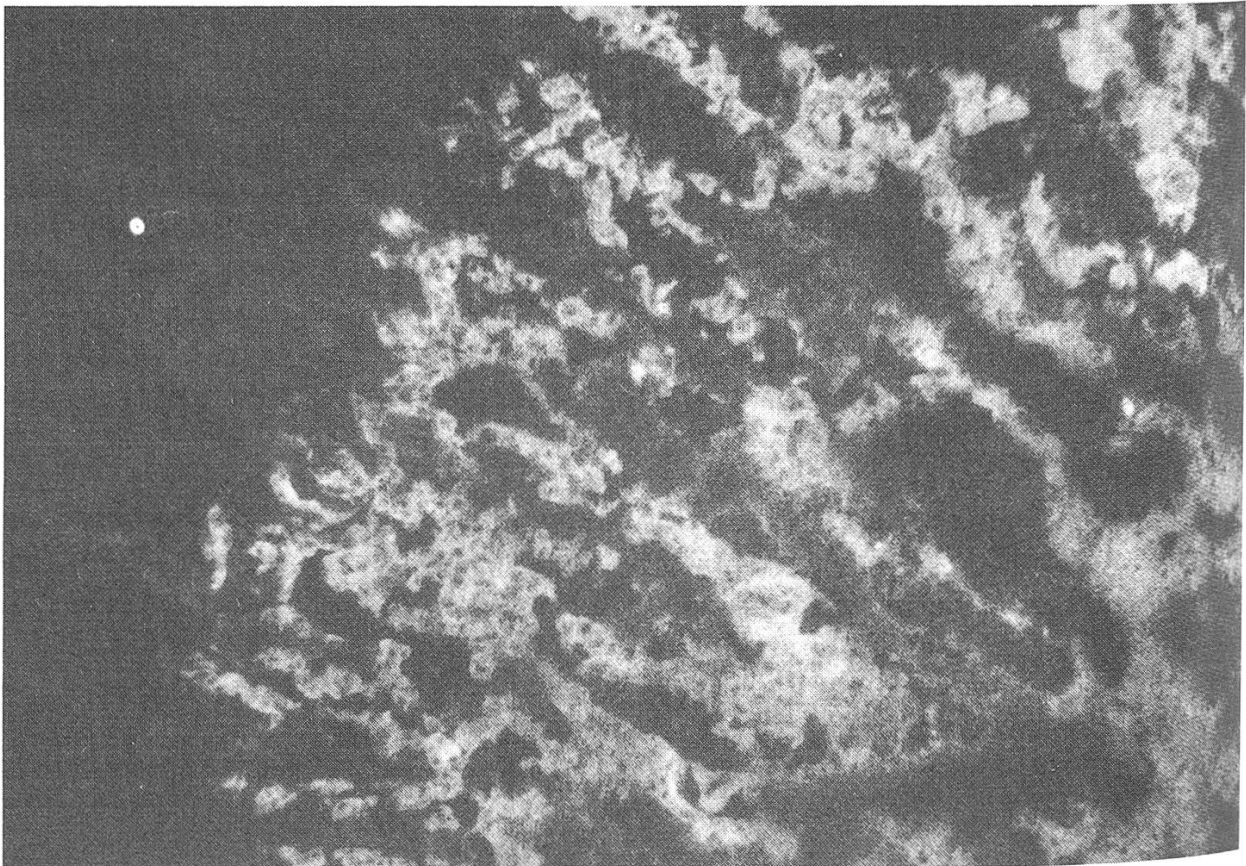


Abb. 1: Immunfluoreszenzpräparat eines Jejunum-Gefrierschnittes eines mit dem Virus der Epizootischen Virusdiarrhoe infizierten Ferkels, 25 Stunden nach Infektion. Klar zu erkennen ist der deutlich abgegrenzte darmlumenseitige, virusantigenhaltige Bereich des Zottenepithels (rechts) und das virusantigenfreie Gewebe der Zottenbasis (links).

Nach dreimaliger Waschung der Präparate in PBS wurde ein 1:100 in PBS verdünntes anti-Schweine-IgG-FITC-Konjugat (Nordic, Netherlands) während 30 Minuten überschichtet. Nach nochmaliger Waschung konnten die Schnitte in einem Leitz-Mikroskop mit Auflichtfluoreszenz ausgewertet werden. Die Beurteilung erfolgte anhand des Auftretens virusspezifischer zytoplasmatischer Fluoreszenz in den Zottenepithelzellen. Seren, die 1:100 verdünnt (Nachweisgrenze) keine spezifische Fluoreszenz zeigten, stuft man als negativ ein. Positive Seren wurden mit einem Faktor 2 austitriert, wobei als Titer diejenige Verdünnung galt, bei der die spezifische Zottenepithelfluoreszenz gerade noch deutlich erkennbar war [7].

3. Ergebnisse

Nachdem in Vorversuchen die einzelnen Testschritte optimiert worden waren, liessen sich alle Seren anhand der Zottenepithelfluoreszenz, welche sich auf den darmlumenseitigen Teil der Zotten beschränkte, eindeutig beurteilen (Abb. 1). Bei dem zuerst durchgeführten Screening (Serumverdünnung 1:100) wiesen 29 der 1859 Schlachttiere (1,6%) Antikörper gegen EVDV auf. In 7 der 14 Betriebe mit Durchfallproblemen fanden sich Tiere mit Antikörpern gegen EVDV und in einem Bestand gleichzeitig mit Antikörpern gegen TGEV. In einem weiteren Betrieb konnten nur Antikörper gegen das TGEV nachgewiesen werden. In den übrigen 5 Betrieben waren weder EVDV- noch TGEV-Antikörper festzustellen. Die Durchseuchungsrate pro Betrieb schwankte zwischen 17% und 100%. Alle Seren aus den 11 Betrieben ohne Durchfall waren frei von EVDV-Antikörpern (Fig. 1).

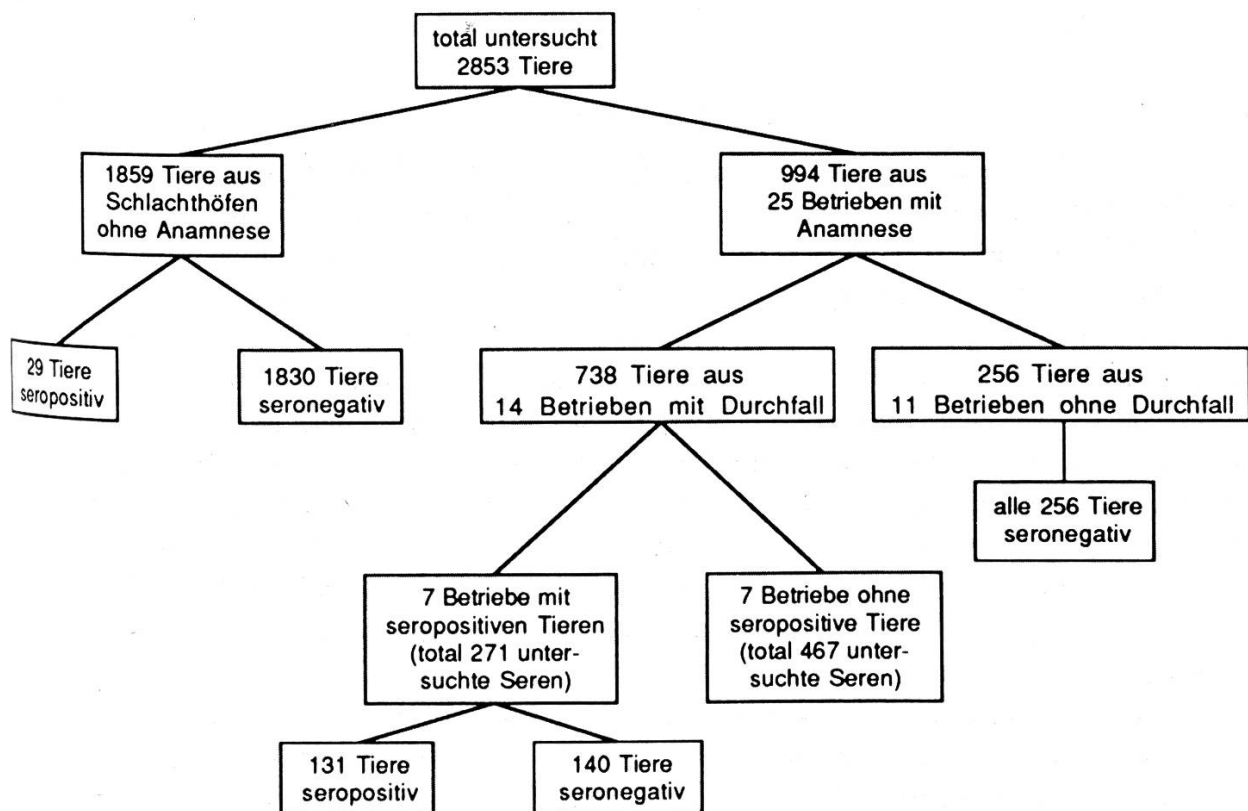


Fig. 1: Übersicht über die serologische Untersuchung von Schweinen auf Epizootische Virusdiarrhoe in der Schweiz.

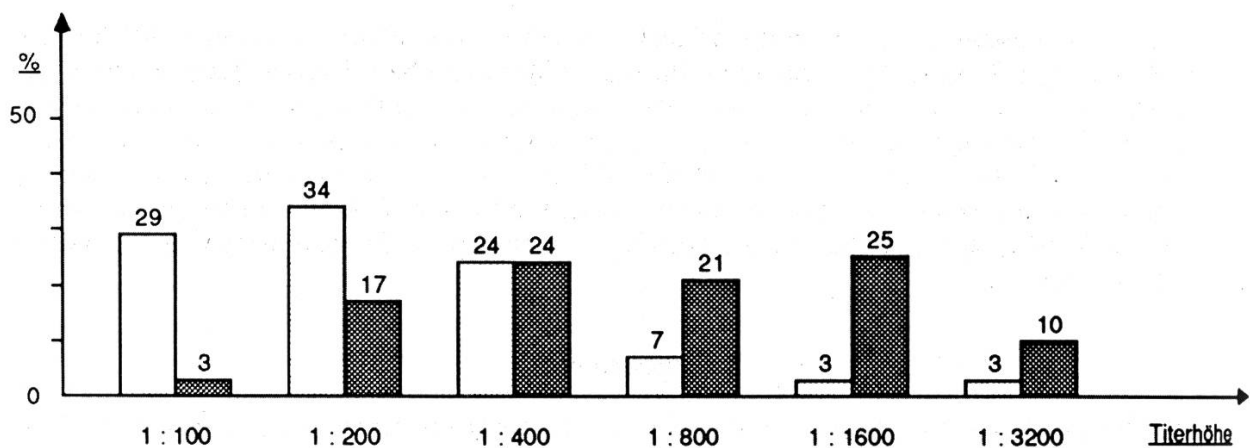


Fig. 2: Antikörpertiter gegen das Virus der Epizootischen Virusdiarrhoe bei Schlachtschweinen (heller Raster) und bei Tieren aus Beständen mit Durchfallproblemen (dunkler Raster) (Zahlen über den Balken = Prozentwerte).

Bei der Titration positiver Seren ergaben sich Titerwerte zwischen 1:100 und 1:3200, wobei die mittlere Titerhöhe der Schlachthofseren bei 1:160, diejenige der Betriebsseren bei 1:690 lag (Fig. 2). Ein von Prof. *M. Pensaert*, Belgien, erhaltenes Hyperimmunserum wies zum Vergleich einen Titer von 1:12 800 auf.

Bei den durch EVDV verursachten Ausbrüchen von Durchfällen konnte keine saisonale Häufung festgestellt werden, und es waren sowohl Zucht-, als auch Mastbetriebe davon betroffen.

4. Diskussion

Die indirekte Immunfluoreszenztechnik erlaubte den spezifischen Nachweis von EVDV-Antikörpern, da die virusantigenhaltigen Dünndarmepithelzellen klar vom übrigen nicht infizierten Zottenepithel abgegrenzt waren. Die nicht infizierten Zellen auf dem Schnitt dienten als negative Kontrolle.

Infektionen mit dem EVDV konnten damit erstmals zweifelsfrei in der Schweiz nachgewiesen werden. Vor allem in Mastbetrieben scheint die EVD aufzutreten. Obwohl die Anzahl der untersuchten Betriebe zu klein ist, um allgemein gültige Aussagen machen zu können, darf angenommen werden, dass EVDV bei etwa 50% der Fälle von akuten Enteritiden ätiologisches Agens war. Es kommt ihm dabei eine grössere Bedeutung zu als dem TGEV. Zu berücksichtigen bleibt aber, dass nicht in jedem Fall mit Antikörpernachweis bei einem Tier das EVDV Ursache des aktuell vorliegenden Durchfalls war. Es ist durchaus möglich, dass eine weiter zurückliegende Infektion im Bestand vorlag.

Die festgestellten Differenzen in den Durchseuchungsraten decken sich mit den unterschiedlichen klinischen Krankheitsverläufen in den Betrieben. Fig. 2 zeigt, dass Seren aus Betrieben mit Durchfallproblemen (Bestandsseren) hohe Antikörpertiter aufwiesen, was darauf hindeutet, dass EVDV wirklich für das aktuelle Durchfallproblem verantwortlich war.

Bei einem Betrieb stellte man eine Doppelinfektion mit EVDV und TGEV fest, was infolge der fehlenden antigenen Verwandtschaft durchaus möglich ist.

Was die Prävalenz des EVDV in der gesamten Schweinepopulation betrifft, erstaunt die niedrige Durchseuchungsrate von nur 1,6%. In anderen Ländern weist ein viel höherer Prozentsatz der Schlachtschweine Antikörper gegen EVDV auf. So sind es zum Beispiel in Belgien zwischen 50% und 80% der Schweinemastbetriebe (*Pensaert*, persönl. Mitteilung). Die von uns getesteten Schlachthofseren waren vorgängig auf Antikörper gegen TGEV untersucht worden. Es wäre möglich, dass durch das Gefrieren und Auftauen der Seren ein Antikörpertiterverlust unter die Nachweisgrenze eintrat und deshalb die Seren fälschlicherweise als negativ beurteilt wurden.

Mit den uns zur Verfügung stehenden Nachweismethoden für Antikörper gegen EVDV und TGEV ist es in Zukunft möglich, wenigstens bei einem Teil der Durchfallausbrüche eine ätiologische Diagnose zu stellen. Diese Untersuchungen führt das Institut für Virologie der Universität Zürich durch.

Zusammenfassung

Seren von 2853 Mast- und Mutterschweinen wurden mittels eines indirekten Immunfluoreszenztests auf Antikörper gegen das Virus der Epizootischen Virusdiarrhoe (EVDV) der Schweine untersucht. 29 von 1859 Seren (1,6%) von zufällig ausgewählten Schlachttieren wiesen Antikörper gegen das EVDV auf. In 7 von 14 untersuchten Schweinemast- und -zuchtbetrieben mit akuten Durchfallproblemen («Luzerner Schysser») fanden sich Tiere mit Antikörpern gegen das EVDV. Der Anteil seropositiver Tiere pro Betrieb lag zwischen 17% und 100%. Die in der indirekten Immunfluoreszenz ermittelten Titer betragen 1:100 (Nachweisgrenze) bis 1:3200. Das EVDV spielt offensichtlich auch in der Schweiz eine Rolle als Erreger akuter seuchenhafter Durchfälle bei Schweinen.

Résumé

Des sérums de 2853 truies et cochons gras furent examinés à l'aide d'un test d'immunofluorescence indirecte pour la présence d'anticorps contre le virus de la diarrhée épidémique (DVEV) du porc. 29 de 1859 sérums (1,6%) collectionnés dans des abattoirs contenaient des anticorps contre DVEV. Dans 7 de 14 porcheries avec des problèmes d'entérites, des bêtes montrant des anticorps anti DVEV furent décelées. Le pourcentage d'animaux séropositifs par exploitation variait entre 17% à 100% et les titres d'anticorps dans les sérums des 1:100 (limite de détection) à 1:3200. Avec ces examens la présence de la DVE fut prouvée en Suisse orientale et centrale et on a pu montrer que le DVEV joue un rôle important comme agent infectieux dans les diarrhées chez le porc.

Riassunto

2853 sieri di scrofe e maiali da ingrasso sono stati analizzati mediante un test d'immunofluorescenza indiretta per verificare la presenza di anticorpi contro il virus della diarrea virale epizotica (DVEV). 29 su 1859 sieri (1,6%) di animali da macello scelti a caso contenevano anticorpi contro il virus dell'DVE. In 7 su 14 aziende d'ingrasso e riproduzione di suini con problemi acuti di diarrea («Luzerner Schysser») sono stati trovati animali con anticorpi contro il virus dell'DVE. La percentuale di animali sieropositivi oscillava tra il 17% ed il 100%. I titoli accertati mediante il test d'immunofluorescenza indiretta andavano da 1:100 (diluizione minima) fino a 1:3200. Ne risulta l'evidenza che pure in Svizzera il virus dell'DVE giuoca un ruolo come agente patogeno della diarrea acuta epidemica dei suini.

Summary

2853 sera from breeding sows and fattening pigs were examined for the presence of antibodies to the virus of the Porcine Epidemic Diarrhoea (PEDV) of pigs by an indirect immunofluorescence test.

29 of 1859 sera (1.6%) from randomly selected fattening pigs contained antibodies to the PEDV. Animals with antibodies to the PEDV could be found in 7 from 14 checked fattening and breeding herds, which had problems with acute diarrhoea. The percentage of seropositive pigs per herd ranged from 17 to 100%. The titers in the indirect immunofluorescence test varied from 1:100 (lowest possible dilution) to 1:3200. Obviously also in Switzerland the PEDV is playing a part as pathogenic agent of acute epidemic diarrhoea in pigs.

Literaturverzeichnis

- [1] *Bereiter M.*: Untersuchung über das Vorkommen von Transmissibler Gastroenteritis (TGE) in der Schweiz. Inaugural-Dissertation der Vet. Med. Fakultät der Universität Zürich (1987). – [2] *Chasey D. and Cartwright S.F.*: Virus-like particles associated with porcine epidemic diarrhoea. *Res. Vet. Sci.* 25, 255–256 (1978). – [3] *Dea, S. et al.*: An outbreak of diarrhoea in piglets caused by a coronavirus antigenetically distinct from transmissible gastroenteritis virus. *Can. Vet. J.* 26, 108–111 (1985). – [4] *Debouck P. and Pensaert M.B.*: Experimental infection of pigs with a new porcine enteric coronavirus, CV777. *Am. J. Vet. Res.* 41, 219–223 (1980). – [5] *Debouck P. et al.*: The pathogenesis of an enteric infection in pigs, experimentally induced by the coronavirus-like agent, CV777. *Vet. Microbiol.*, 6, 157–165 (1981). – [6] *Hess R.G. et al.*: Neue Aspekte der Virusätiologie bei Durchfallerkrankungen des Schweines: Vorkommen von Infektionen mit dem Epizootischen Virusdiarrhoe (EVD)-Virus. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 93, 445–449 (1980). – [7] *Hofmann M.*: Seroepidemiologische Untersuchungen über das Vorkommen der Epizootischen Virusdiarrhoe (EVD) der Schweine in der Schweiz und Versuch der Virusvermehrung in Zellkulturen. Inaugural-Dissertation der Vet. Med. Fakultät der Universität Zürich (1987). – [8] *Koch W. et al.*: Erster Nachweis von transmissibler Gastroenteritis der Schweine (TGE) in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 127, 589–595 (1985). – [9] *Leopoldt D. et al.*: Neue virusbedingte Durchfallerkrankungen des Schweines (TGE-ähnliche Erkrankungen). *Mh. Vet. Med.* 36, 411–415 (1980). – [10] *Pensaert M.B.*: Porcine epidemic diarrhoea. In: *Diseases of swine*, 5th edition (Leman A.D. et al., eds), pp. 344–346. Iowa State University Press, Ames, IA (1981). – [11] *Pensaert M.B. and Debouck P.*: A new coronavirus-like particle associated with diarrhoea in swine. *Arch. Virol.* 58, 243–247 (1978). – [12] *Pensaert M.B. et al.*: An immunoelectron microscopic and immunofluorescent study on the antigenetic relationship between the coronavirus-like agent, CV777, and several coronaviruses. *Arch. Virol.* 68, 45–52 (1981). – [13] *Pensaert M.B.*: Virale Enteritiden beim Schwein. *Pro Veterinario* 3/85, 9–12 (1985). – [14] *Prager D. und Witte K.H.*: Die serologische Diagnose der Epizootischen Virusdiarrhoe (EVD) des Schweines mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenztechnik (IIFT). I. Einfluss verschiedener Parameter auf den Antikörper-Titer. *Tierärztl. Umschau* 36, 404–414 (1981). – [15] *Prager D. und Witte K.H.*: Die serologische Diagnose der Epizootischen Virusdiarrhoe (EVD) des Schweines mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenztechnik (IIFT). II. Antikörper-Antwort nach experimenteller Infektion. *Tierärztl. Umschau* 36, 477–480 (1981). – [16] *Prager D. und Witte K.H.*: Die Häufigkeit von Transmissible Gastroenteritis (TGE)- und Epizootische Virusdiarrhoe (EVD)-Virusinfektionen als Ursache seuchenhafter Durchfälle in westfälischen Schweinezucht- und -mastbeständen. *Tierärztl. Umschau* 38, 155–158 (1983). – [17] *Rutishauser U.P. und Wyler R.*: Kurze Literaturübersicht über die im Digestionstrakt der Schweine nachgewiesenen Viren. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 126, 447–452 (1984). – [18] *Rutishauser U.P. et al.*: Häufigkeit des Virusnachweises in Kotproben von Schweinen mit Durchfall einschliesslich Steatorrhoe. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 126, 453–466 (1984). – [19] *Turgeon D.C.*: Coronavirus-like particles associated with diarrhoea in baby pigs in Quebec. *Can. Vet. J.* 21, 100–101 (1981). – [20] *Witte K.H. et al.*: Die Epizootische Virusdiarrhoe (EVD). *Tierärztl. Umschau* 36, 235–250 (1981). – [21] *Wood E.N.*: An apparently new syndrome of porcine epidemic diarrhoea. *Vet. Rec.* 100, 243–244 (1977).

Verdankungen

Die Autoren danken: Herrn Prof. M.B. Pensaert, Gent (Belgien) und Herrn Prof. K.H. Witte, Arnsberg (BRD) für die Überlassung der EVDV-Hyperimmunseren und -Konjugate, sowie Herrn M. Bereiter für die Überlassung der Schweineseren.