

Methoden zum Nachweis der Vogelgrippe

Urs Nydegger

«pipette» hat bereits in ihrer ersten Ausgabe 1/2004 das Problem der Vogelgrippe thematisiert und verpflichtet sich, die gefährliche Entwicklung dieser Tierseuche aus der Nähe zu verfolgen. Somit darf die geneigte Leserschaft der «pipette» in den folgenden Nummern dieses Jahres eine gestreute Beitragsserie zu diesem Thema erwarten.

Die Agenturmeldung, dass Ende Februar 2006 auf der Ostseeinsel Rügen nun Katzen gefunden wurden, welche sich beim Verzehr infizierter toter Vögel angesteckt hätten, bringt das Problem Vogelgrippe zu einer neuen Dimension, jener der in Europa erfolgten Ansteckung von anderen Säugetieren als Menschen und Schweinen, von welcher letzteren man bereits wusste, dass deren Atemwege Rezeptoren sowohl für Vogel- wie auch menschliche Grippeviren aufweisen.

Der sporadische, in fast zu 50% der Fälle tödlich verlaufende Übertritt des H5N1-Virus (Zoonose) auf 114 Menschen während der Periode 2004–2005 hat die Weltöffentlichkeit verängstigt und nicht zuletzt auch bei der WHO die Besorgnis heraufbeschworen, dass die nächste Grippe, nämlich eine Influenza-A(H5N1)-Virus-Pandemie, unmittelbar bevorsteht [2]. Zwei Eigenarten der gegenwärtigen Vogelgrippe ragen hervor: die Prädominanz von befallenen Kindern / jungen Erwachsenen und die hohe Mortalitätsrate [3, 4].

Oberflächenproteine

Influenza-Viren sind RNS-Viren, welche eine lipidhaltige Hülle besitzen. Influenza-A-Viren sind dafür bekannt, dass sie eine grosse Variabilität der Oberflächenproteine aufweisen. Das heisst, sie können ihr Gesicht, woran das Wirt-Immunsystem sie erkennt, maskenhaft ändern. Hauptsächlich sind zwei Glykoproteine auf der Oberfläche des Virus dafür verantwortlich,

das Hämagglutinin (HA) und die Neuraminidase (NA). Beim befallenen Wirt werden dagegen Antikörper produziert, welche das Virus neutralisieren.

Genetische Rekombination

Wovor jedermann sich fürchtet, ist die sogenannte genetische Rekombination verschiedener Influenzavirus-Subtypen in einem gemeinsamen Wirt. Eine solche Vermischung kann zu einem neuen Virus-Stamm führen («shift»). Influenza-A-Viren haben ein in 8 verschiedene Segmente unterteiltes RNS-Genom. Diese Segmentierung des Genoms erlaubt dem Virus den Austausch von Stücken unterschiedlicher Stämme, sofern ein gemeinsamer Wirt gleichzeitig infiziert werden kann. Die Pandemie-Viren von 1957 und 1968 scheinen so entstanden zu sein. Dagegen scheint das Influenza-Killer-Virus von 1918 (>40 Millionen Menschenopfer) allerdings eher durch eine Anhäufung von Punktmutationen sich direkt von einem Vogelvirus aus an den Menschen angepasst zu haben. Diese Hinweise wurden kürzlich in den Arbeiten von Taubenberger et al. und in [5] beschrieben.

Übertragungswege und klinische Symptomatik

Der Übertragungsweg der Viren sind Tröpfchen, direkter Kontakt mit Sekreten von Erkrankten und indirekter Kontakt mit verunreinigten Gegenständen. In der aktuellen Situation beobachtet man die Übertragung auf den Menschen nur bei direktem Kontakt mit erkranktem Geflügel. Zum grossen Glück kennen wir weltweit noch keine direkte Ansteckung von Mensch zu Mensch durch H5N1 [6]. Die klinische Erscheinungsform der Erkrankung beim Menschen äussert sich dadurch, dass in 100% der Fälle Fieber, in zwei Dritteln der Fälle entzündliche Symptome des oberen Respirationstraktes, Pneumonie (58%) und gastrointestinale Symptome

(50%) auftreten. Bis jetzt lässt H5N1 also keinen deutlichen Organotropismus erkennen, wie z.B. die Hepatitisviren vorwiegend die Leber aufsuchen. Leukopenie, Lymphopenie sind Risikofaktoren, wie auch vorgerücktes Alter. Die Komplikationen umfassen Enzephalopathie, Multiorgan-Versagen mit vorwiegend Nieren- und Herz-Insuffizienz, Lungenblutungen, Pneumothorax und Panzytopenie – dem Tod unmittelbar voraus geht das Atemversagen.

Bei befallenen Menschen konnte Virus in zerebrospinaler Flüssigkeit, im Stuhl, in Atemwegsabstrichen und in Serum nachgewiesen werden.

Virusnachweis

Der Virusnachweis ist theoretisch mit den unten erwähnten Methoden möglich. Dabei muss aber darauf hingewiesen werden, dass in der aktuellen Lage nur gewisse Techniken zum Einsatz kommen und auch die von den Behörden angeordneten Vorgehensweisen eingehalten werden müssen:

1. Viruskultur: möglich, in der aktuellen Lage aber nicht empfohlen.
2. RT-PCR für den Nachweis von Influenza A (H5N1). «Primers» zum Nachweis des Genoms für H5 und für N1 werden vor allem benützt. Es werden auch kommerzielle Kits angeboten, wobei beachtet werden muss, dass das Virus sich verändert und aus diesem Grunde die Sensitivität der Kits fortlaufend überprüft werden muss.
3. Antigen-Schnellnachweis mittels Elisa Technik: Es gibt kommerzielle Produkte, die dies können. Diese Tests weisen aber eine begrenzte Empfindlichkeit auf, und im Falle eines negativen Resultates kann eine Infektion nicht ausgeschlossen werden.
4. Serologischer Nachweis spezifischer Antikörper: Dies ist möglich, wobei zu erwähnen ist, dass es im Moment keine kommerziellen Produkte gibt. Serologischer Nachweis

spezifischer Antikörper würde dazu dienen, epidemiologische Untersuchungen durchzuführen, nicht aber dazu, eine akute Infektion nachzuweisen.

Es ist am besten, wenn Abstriche möglichst früh nach Beginn der Symptome eingesandt werden, wobei hier die optimalen Proben noch nicht bekannt sind. Es gibt Hinweise aus Asien, dass Rachenabstriche besser sind als Nasenabstriche (6). Weiter proximal im Atembaum entnommene Proben sind noch ungenügend untersucht, ob sie bessere Ergebnisse bringen als jene aus dem Rachen.

Der Nachweis von viraler RNA mittels RT-PCR ist die empfindlichste Technik. Mittels spezifischen Primern gegen das Hämagglutinin-Gen und/oder das Neuraminidase-Gen kann der Subtyp des Influenza-Virus direkt nachgewiesen werden. In der aktuellen Lage ist es wichtig, dass die von den Behörden (BVET und BAG) vorgegebenen Abklärungsabläufe eingehalten werden. Dies ist vor allem nötig, damit allfällige Herde eingegrenzt und Personen mit Kontakt zu erkranktem Geflügel und Erkrankten genau überwacht werden können.

Die Berücksichtigung der Biosicherheit ist geboten, wenn eine Probe als H5N1-kontaminiert erkannt wurde. Der Umgang mit den Proben muss heute unter einer Biosicherheitsstufe 3 erfolgen entsprechend den Empfeh-

lungen der WHO. Dies, obwohl einige Autoren meinen, es habe sich bis jetzt niemand mit solchen Viren an klinischem Material infiziert und das Risiko sei nicht grösser als dasjenige für gewöhnliche humanpathogene Influenza-Proben. Die heutigen Sicherheitsregeln erfordern, dass, sobald der Verdacht auf das Vorhandensein eines Erregers der Sicherheitsstufe 3 oder 4 besteht, die entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen eingehalten werden müssen.

Für den Nachweis von aviären Influenza A (H5N1) werden die Proben (Kloakentupfer) verdächtiger Tiere eingesandt ans Referenzlabor für Geflügelkrankheiten an der Universität Zürich. Dies muss immer in Absprache mit dem Kantonstierarzt erfolgen.

Für den Nachweis von Influenza A (H5N1) bei humanen Verdachtsfällen müssen Nasen- und Rachenabstriche nach vorheriger Absprache mit dem Kantonsarzt in einer Spezialpackung an das Nationale Influenzazentrum in Genf eingesandt werden.

Antikörpernachweis mittels verschiedener Techniken wie Virusneutralisation, ELISA oder Western Blots sind für epidemiologische Studien geeignet, nicht aber für die Bestätigungsd Diagnose im individuellen Fall [7]. Kommerzielle Produkte sind in der Schweiz noch nicht erhältlich und machen wie schon gesagt für die Abklärung individueller Fälle keinen Sinn.

Wen soll man testen?

In der Schweiz werden nur Verdachtsfälle abgeklärt, welche die Kriterien erfüllen, wie sie vom Bundesamt für Gesundheit definiert worden sind. Dazu konsultieren Sie bitte die Internetseite des BAG oder dessen wöchentlich erscheinendes Publikationsorgan.

«pipette» startet binnen kurzem eine Umfrage in unserem Lande, wo welche Testsysteme angeboten werden.

Literatur

- 1 INFLUENZA: Bird Flu Moves West, Spreading Alarm. *Science* 2006;311(5764):1084b.
- 2 Monto AS. The threat of an avian influenza pandemic. *N Engl J Med* 2005;352:323.
- 3 Stohr K. Avian influenza and pandemics – research needs and opportunities. *N Engl J Med* 2005;352:405.
- 4 Bartlett JG, Hayden FG. Influenza A (H5N1): will it be the next pandemic influenza? Are we ready?. *Ann Intern Med* 2005;143:460.
- 5 Salyers A. The past is prologue, study the past – an archeological approach to unearthing the secrets of the 1918 virus. *New York Academy of Sciences Magazine Update*, February 2006:24–25.
- 6 Beigel JH, Farrar J, Han AM et al. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005;353:1374.
- 7 Rowe T, Abernathy RA, Hu-Primer J et al. Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. *J Clin Microbiol* 1999;37:937.
- 8 Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W et al. Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004; *Emerg Infect Dis* 2005;11:201.