

Überwachung der aviären Influenza in der Schweiz

von **Annette Sauter, Iris Brunhart, Cordia Wunderwald**
und **Jürg Danuser BVET, Barbara Thür und Anette Baumer,**
Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe IVI, Mittelhäusern
und **Richard Hoop, Nationales Referenzlabor**
für **Geflügelkrankheiten NRGK, Zürich**

Die Vogelgrippe, verursacht durch hochpathogene aviäre Influenzaviren vom Subtyp H5N1, hat sich seit 2005 von Südostasien herkommend in Europa etabliert. Sie führt in Europa immer wieder zu Ausbrüchen in Geflügelhaltungen und in der Wildvogelpopulation. Die Schweiz ist bisher von Ausbrüchen in Geflügelhaltungen verschont geblieben. In Asien und Afrika ist es 2007 zu mehreren Dutzend Todesfällen beim Menschen durch H5N1 gekommen, was das zoonotische Potenzial des Virus aufzeigt. In Europa sind bisher keine Todesfälle zu beklagen.

Ziele der Überwachung

Damit effiziente und effektive Massnahmen zum Schutz des Geflügels ergriffen werden können, ist eine umfassende Überwachung, welche auch die Wildvögel mit einbezieht, notwendig.

Mit der Überwachung der aviären Influenza in den Geflügelbeständen und bei den Wildvögeln werden drei konkrete Ziele verfolgt:

- Das Auftreten von Geflügelpest verursacht durch hochpathogene aviäre Influenzaviren wie der Subtyp H5N1 (HPAI H5N1) wird frühzeitig erkannt.
- Ein Eintrag von niedrigpathogenen aviären Influenzaviren (LPAI H5N1, H5-, H7-Subtypen) in Wildvögeln und in Geflügelbeständen wird erkannt.
- Das Vorkommen und die Verbreitungswege von Influenza-A Viren werden dokumentiert und analysiert.

Die Überwachung wird entsprechend der jeweiligen Zielsetzung und aufgrund einer Abschätzung des Risikos für das Auftreten der aviären Influenza in einzelnen Projekten durchgeführt. Die verschiedenen Projekte fokussieren auf die Beprobung von Wildvögeln und Nutzgeflügel, von denen angenommen wird, dass sie ein hohes Infektionsrisiko haben. Wasservögel gelten als Reservoir für verschiedene Subtypen der aviären Influenza (Munster et al. 2007) und halten sich vor allem im Winter in grossen Zahlen auf den Schweizer Seen auf (Keller und Burkhardt 2008). Ausserdem nimmt man an, dass bei Nutzgeflügel in Gebieten mit hohen Wasservogeldichten und in Freilandhaltungen das Risiko einer Ansteckung

am grössten ist, da bei dieser Haltungsform die Kontakte zwischen Nutzgeflügel und Wildvögeln am häufigsten sind.

Nutzgeflügel in Freilandhaltungen

Ziel der serologischen Überwachung des Schweizer Nutzgeflügels ist das Erkennen von niedrigpathogenen aviären Influenzaviren. Sie ist auf den Nachweis möglicher Infektionen mit H5- und H7-Subtypen ausgerichtet, da diese die potenzielle Gefahr in sich bergen, bei unerkannter Zirkulation zu klassischen Geflügelpestviren zu mutieren.

Die Überwachung erfolgte im Jahr 2007 an einer Stichprobe von 61 Legehennen- und 43 Biomastbetrieben zum Zeitpunkt der Schlachtung. Diese Stichprobe konnte durch 26 Legehennenherden, die im Rahmen eines EU-Projektes («Safehouse») beprobt wurden, ergänzt werden. Um festzustellen, ob in den 2006/2007 ausgewiesenen Risikogebieten ein Eintrag von aviären Influenzaviren über den Vogelzug erfolgt war, forderten die betroffenen kantonalen Veterinärbehörden weitere 44 Legehennenhalter auf, je 10 Eier pro Herde an das Untersuchungslabor einzuschicken, um sie auf Antikörper zu testen.

Die Laborarbeiten wurden am Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe (IVI) in Mittelhäusern und am nationalen Zentrum für Geflügel- und Kaninchenkrankheiten (NRGK) in Zürich vorgenommen. Für die Untersuchung der Blut- und Eidotterproben kamen kommerziell erhältliche ELISA-Systeme (indirekt, kompetitiv) zum Einsatz. Als Bestätigungstest für



Abbildung 1: Geographische Verteilung der Reusen und Herkunft der Proben April 2007–März 2008.

ELISA-positive Seren dient der Hämagglutinationshemmungstest zum Nachweis spezifischer H5- bzw. H7-Antikörper aviärer Influenzaviren. Bei keiner der insgesamt 174 beprobten Geflügelhaltungen gab es Hinweise für das Vorliegen einer Infektion mit H5- bzw. H7-Subtypen aviärer Influenzaviren.

Geflügelhaltungen in Risikogebieten

Ziel der Überwachung ist das Erkennen von aviären Influenzaviren in Geflügelhaltungen aus Gebieten mit hohen Wasservogelkonzentrationen.

Im Winter 2007/2008 wurde auf eine generelle Einstellungsspflicht für Nutzgeflügel rund um Gewässer mit hoher Wasservogeldichte verzichtet. Stattdessen bezeichnete das BVET aufgrund einer Risikoabschätzung Gebiete mit einem erhöhten Risiko für die Einschleppung der Geflügelpest (Verordnung des BVET vom 28. 9.2008; SR 916.403.11). In diesen fünf Gebieten mit hoher Wasservogelkonzentration, den sogenannten Risikogebieten, wurden Geflügelhaltungen zwischen November 2007 und April 2008 überwacht. Die ausgewählten Gebiete waren der Bodensee, die Dreiseenregion, der Genfersee, der Zürichsee und der Vierwaldstädtersee. Dabei wurden zum einen Geflügelhaltungen kontrolliert, die unabhängig von ihrer Grösse verschiedene Arten (Truten, Enten oder Gänse) gemeinsam halten, und zum anderen reine Hühnerbetriebe mit weniger als 100 Tieren. Bei Hühnerbetrieben mit über 100 Tieren sollte ein Eintrag von HPAI H5N1 erkannt werden, da dieser in kurzer Zeit zu hoher

Mortalität führt. Bei Enten und Gänsen hingegen kann eine Infektion asymptomatisch verlaufen. Insgesamt wurden 265 Betriebe zufällig zur Beprobung ausgewählt. Bei Haltungen mit weniger als 15 Tieren wurden alle Tiere beprobt, bei grösseren Haltungen je nach Betriebsgrösse zwischen 15 und 25 Tiere. Es wurden kombinierte Abstriche aus Rachen und Kloake entnommen. Die Proben wurden mit molekularbiologischen Methoden im Nationalen Referenzlabor für Geflügelkrankheiten (NRGK) in Zürich auf Influenza A, und bei einem positiven Resultat auch auf H5 und H7 untersucht.

Mit Stand vom 31. März 2008 wurden 108 Betriebe untersucht. Alle Proben waren negativ für Influenza-A Viren.

Tot und krank aufgefundene Vögel

Ziel des passiven Monitorings ist das frühzeitige Erkennen der Geflügelpest in Wildvögeln verursacht durch hochpathogene aviäre Influenzaviren wie dem Subtyp H5N1.

Die Untersuchung von tot aufgefundenen Wildvögeln läuft seit September 2005. Das Bundesamt für Veterinärwesen (BVET) rief die Öffentlichkeit dazu auf, Funde von zwei oder mehr toten Wasservögeln den Behörden zu melden. Die Kantonstierärzte entnehmen diesen Tieren Tupferproben aus Rachen und Kloake, und bewahren die Kadaver bis zum Vorliegen des Untersuchungsergebnisses auf. Die Proben werden mit molekularbiologischen Methoden auf Influenza A, und bei einem positiven Resultat auch auf H5 und H7 untersucht. Die Untersuchungen

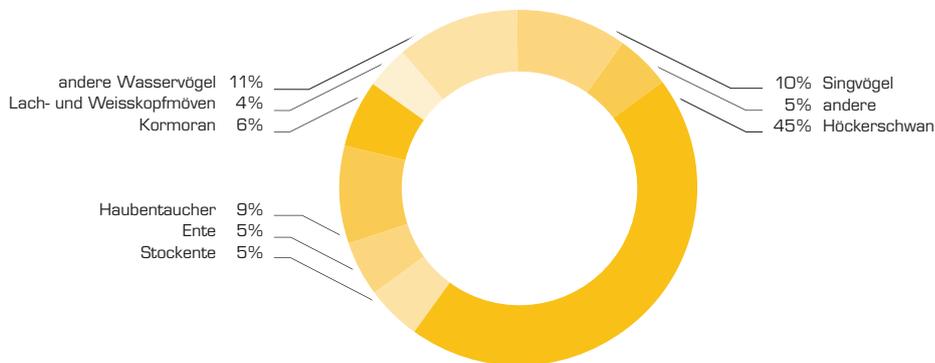


Abbildung 2: Artenzusammensetzung der 110 Totfunde April 2007–März 2008.

finden am Nationalen Referenzlabor für Geflügelkrankheiten (NRGK) in Zürich statt, das im Bedarfsfall auch für die Sektion der Kadaver zur Verfügung steht.

Von April 2007 bis März 2008 wurden 110 Proben von toten Vögeln untersucht. Keine der Proben war positiv für Influenza A Viren. Die geringe Probenzahl bei den Totfunden ist unter anderem durch die milden Wintertemperaturen und eine gesunkene Aufmerksamkeit der Bevölkerung für tote Vögel zu erklären. Die Totfunde stammten vor allem vom Genfersee und vom Bodensee und dem Rhein entlang bis Basel (Abb. 1).

In 85 % der Fälle wurden Wasservögel beprobt. Dabei fällt auf, dass grössere Arten, wie Höckerschwäne und Kormorane sehr stark vertreten sind (Abb. 2). Ausserdem müsste die Artbestimmung verbessert werden, da 5 % der Proben von unbestimmten «Enten» stammten und für 4 der 5 Proben in der Kategorie «andere» jegliche Artangabe fehlte.

Monitoring lebender Wasservögel

Ziel der Überwachung lebender Wasservögel ist festzustellen, welche hoch- und niedrig-pathogenen Subtypen aviärer Influenzaviren in der Schweiz bei Wasservögeln zirkulieren.

Die aktive Überwachung wird von Oktober bis Mai durchgeführt und konzentriert sich auf Gebiete mit hohen Wasservogelkonzentrationen aber auch auf kleinere Gewässer. Im Winter 2007/2008 wurden Tiere untersucht, welche bei der ordentlichen Jagd erlegt oder in Reusen gefangen wurden. Am Bodensee wur-

den im Rahmen des Projektes Constanze zusätzlich eine Sentinel-Anlage betrieben und im Sommer Schwäne von Hand gefangen und beprobt (siehe Kasten Constanze).

Den Tieren wurden Abstriche aus der Kloake und Rachen entnommen, welche im Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe (IVI) in Mittelhäusern auf aviäre Influenza untersucht wurden. Bei einem positiven Test wurden sie zusätzlich auf die Subtypen H5, H7 und N1 untersucht. In einem weiteren Schritt wurden alle positiven Influenza-A Proben sequenziert, um den Virussubtyp zu bestimmen.

Von April 2007 bis März 2008 wurden 798 lebende Vögel beprobt. Aviäre Influenza-A Viren wurde in 24 Proben nachgewiesen.

An den auf der Karte angegebenen Standorten (Abb. 1) wurden meist mehrere Proben erhoben. Die Jagdproben stammten aus den Kantonen Aargau, Neuenburg, Schwyz, Thurgau und Waadt. Es wurden zudem Beifänge aus Fischernetzen aus dem Kanton Thurgau beprobt, welche in der Karte als Jagdproben eingezeichnet sind. Die Reusen befanden sich in der Bolle di Magadino am Lago Maggiore, am Boden- und am Sempachersee. Die Reuse am Bodensee ist in der Karte zweimal eingezeichnet, weil sie während des Winters verschoben wurde.

Die Artenzusammensetzung bei den Lebendfunden unterscheidet sich wesentlich von den Totfunden. Bei den Lebendfunden ist der Beitrag der einzelnen Arten ausgeglichener, wobei Stock-, Reiher-, Tafelente und Blässhuhn den grössten Anteil haben (Abb. 3). Alle Lebendfunde wurden auf Artniveau bestimmt. Sieben Krickenten, elf Stockenten, zwei Reiherenten, ein Gänsesäger, eine Schnatterente, eine Tafel-

Abbildung 3: Artenzusammensetzung der 798 Lebendfunde April 2007–März 2008.

Tabelle: Von Februar 2006 bis März 2008 durch die Überwachung in der Schweiz bei Wildvögeln nachgewiesene Subtypen von aviären Influenza A-Viren.



Art	Influenza A-positiv	Pathogenität							hoch
		niedrig						hoch	
		unbestimmt	H2N8	H3N5	H5Nx	H6N8	H7Nx	H12N2	H5N1
Höckerschwan <i>Cygnus olor</i>	16	9			1	4			2
Krickente <i>Anas crecca</i>	7	6			1				
Stockente <i>Anas platyrhynchos</i>	17	10	2	1			1	1	2
Tafelente <i>Aythya ferina</i>	7								7
Reiherente <i>Aythya fuligula</i>	8	2							6
Schnatterente <i>Anas strepera</i>	1	1							
«Ente»	8								8
Gänsesäger <i>Mergus merganser</i>	2 ¹								1
Blässhuhn <i>Gallinula chloropus</i>	4								4
Teichhuhn <i>Fulica atra</i>	1	1							
Zwergtaucher <i>Tachybaptus ruficollis</i>	2								2
Haubentaucher <i>Podiceps cristatus</i>	1								1

¹ Ein Gänsesäger wurde positiv für H5N1 getestet, die Pathogenität war nicht bestimmbar.

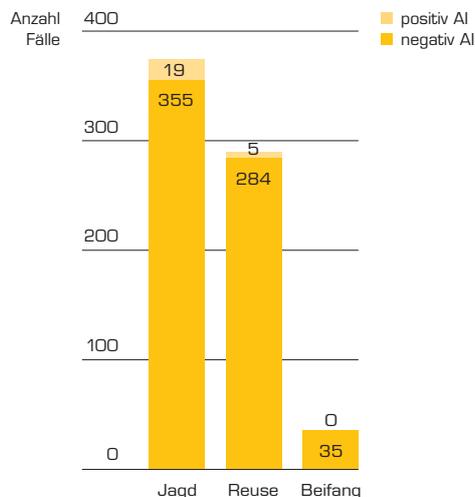


Abbildung 4: Beiträge der Erhebungssysteme April 2007–März 2008.

ente und ein Teichhuhn waren positiv für Influenza-A Viren.

Die meisten Proben wurden durch die Jagd erhoben (Abb. 4). 19 der 374 Jagdproben wurden positiv auf aviäre Influenza-A Viren getestet. Von den 289 Reusenfängen waren nur fünf Individuen positiv, wobei 84% dieser Proben aus der Reuse am Sempachersee stammten. Zusätzlich wurden 35 Beifänge aus Fischernetzen untersucht, alle mit negativem Resultat.

Nachdem im Frühjahr 2006 HPAI H5N1 in 32 Totfunden nachgewiesen wurde, gab es bis im Juli 2007 noch 6 Influenza-A positive Lebendfunde. Im August und September 2007 wurden im Rahmen des Constanze Projektes 99 Höckerschwäne am schweizerischen Ufer des Bodensees von Hand gefangen. Bei 14 von ihnen wurden aviäre Influenza-A Viren gefunden. Zwischen Oktober 2007 und März wurden weitere 21 Influenza-A positive Individuen getestet. Drei davon waren H5 positiv. Eine Krickente aus der Jagd war aber negativ für N1. Ein gesunder erlegter Gänsesäger vom Neuenburgersee war positiv für H5N1. Die Pathogenität war jedoch nicht bestimmbar. Eine gesunde Tafelente aus der Reuse am Sempachersee wurde am 19. Februar 2008 positiv auf H5N1 getestet und mittels Sequenzierung als hochpathogen bestimmt. Da in beiden H5N1 Fällen gleichzeitig erhobene Proben vom gleichen Ort negativ waren und es zu keinem Seuchengeschehen kam, wurden keine zusätzlichen Massnahmen ergriffen.

Es wird angenommen, dass aviäre Influenzaviren ständig in der Wasservogelpopulation zirkulieren, deshalb entsprechen die Nachweise den Erwartungen. Sie zeigen aber auch, dass die Probennahme und Diagnostik funktioniert.

Welche Erkenntnisse lassen sich aus der bisherigen Überwachung der Vogelgrippe in der Schweiz und Europa ziehen ?

In der Schweiz sind keine Fälle von Geflügelpest in Geflügelhaltungen aufgetreten und es wurden im Jahr 2007 auch keine Influenza-A Viren in Hausgeflügel nachgewiesen. Da die Überwachung auf Betriebe mit erhöhtem Risiko fokussierte, kann vermutet werden, dass es eher selten zu einer Übertragung von Influenzaviren von Wildvögeln zum Geflügel gekommen ist. In Europa ist es 2007 in mehreren Ländern (Deutschland, Grossbritannien, Tschechien, Polen, Ungarn) zu vereinzelt Ausbrüchen in Geflügelhaltungen gekommen.

Die Resultate der Wildvogel-Überwachung in der Schweiz stimmen weitgehend mit den Ergebnissen der gesamteuropäischen Überwachung überein. Niedrig- und hochpathogene Viren werden selten nachgewiesen, in der Schweiz waren zwischen April 2007 und März 2008 36 von 757 Proben positiv für Influenza-A Viren, eine war hochpathogen. In Europa waren im Jahr 2006 1620 Fälle niedrigpathogen und 590 Fälle hochpathogen aus über 140 000 Proben (Hesterberg et al. 2007). In beiden Überwachungen trugen Höckerschwäne und Stockenten am häufigsten Influenza-A Viren und wiesen auch eine höhere Variabilität bei den Subtypen auf als andere Wasservogelarten.

Hochpathogene H5N1 Stämme wurden vor allem in Totfunden nachgewiesen; in der Schweiz bei einem Lebendfund (2008) und 32 Totfunden (2006). In der europäischen Überwachung wurden im Jahr 2006 39 lebende Höckerschwäne positiv auf hochpathogenes H5N1 ge-

testet, welche alle aus derselben Quarantänegruppe von 113 Schwänen in der Region von Torunski in Polen stammten.

Alle Komponenten der Überwachung sind notwendig, um einen Eintrag von Influenza-A Viren frühzeitig zu erkennen.

Die Resultate der Untersuchungen zeigen, dass das passive Monitoring eine gute Quelle für den Nachweis von HPAI H5N1 ist. Wichtig ist dabei, dass die Bevölkerung für die Thematik sensibilisiert ist und Totfunde tatsächlich auch gemeldet werden.

Für die Früherkennung von niedrig-pathogenen Viren ist aber auch ein aktives Monitoring notwendig. Diese Überwachung muss entsprechend den vorhandenen Risiken durchgeführt werden. Auch braucht es eine Kombination der Methoden bei der Erhebung (Haltungen, Schlachthöfe, Jagd, Reusen, Handfänge, Sentinel-Anlagen) und bei der Diagnostik im Labor (Erregernachweis, Serologie). Für das Überwachen der Wasservögel hat sich das Betreiben von Sentinel-Anlagen als effizient und zuverlässig erwiesen. Bei den anderen Ansätzen muss mit einem grossen Aufwand und mit stark variierenden Fangzahlen gerechnet werden.

Die Überwachung des Nutzgeflügels in Freilandhaltungen und Risikogebieten ist ebenfalls ein wichtiger Bestandteil für die Prävention der Ausbreitung von Influenza-A Viren. Im Gegensatz zu der Schweiz, in der es bis jetzt keine Nachweise gibt, wurden aviäre Influenzaviren der Subtypen H5 und H7 in der gesamteuropä-

ischen Überwachung in Geflügelhaltungen verschiedener Länder gefunden.

Es ist davon auszugehen, dass es weiterhin zu Ausbrüchen von Vogelgrippe im europäischen Raum kommen wird und deshalb die Vogelgrippe zukünftig ein fester Bestandteil der Zoonosenüberwachung bleiben wird.

Referenzen

- Defra 2008 www.defra.gov.uk/animalh/diseases/notifiable/disease/ai/index.htm, Stand 13. März 2008
- Hesterberg U, Harris K, Cook A and Brown I (Veterinary Laboratories Agency) 2007: Annual report of the EU Avian Influenza Surveillance in wild birds 2006. European Commission SANCO/10194/2007 REV 1
- Keller V and Burkhardt M 2008: Monitoring Überwinternde Wasservögel: Ergebnisse der Wasservogelzählungen 07/2006 in der Schweiz, Schweizerische Vogelwarte, Sempach.
- FLI2007 Epidemiologisches Bulletin 09/2007, Friedrich Löffler Institut, Wusterhausen.
- Munster VJ, Baas C, Lexmond P, Waldenström J, Wallensten A, Fransson T, Rimelzwa GF, Beyer WEP, Schutten M, Olsen B, Osterhaus ADME and Fouchier RAM 2007: Spatial, Temporal, and Species Variation in Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds. *PLOS Pathogens* 3(5): e61
- Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenström J, Osterhaus A and Fouchier R 2006: Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science* 312: 384–8.

Forschungsprojekt «Constanze»

Das internationale Forschungsprojekt, bei dem Forscher aus den drei Anrainerstaaten des Bodensees die Vogelgrippe im Zusammenhang mit den Wildvögeln im Bodenseegebiet untersuchen, hat ein Jahr nach Projektstart erste Erkenntnisse gewonnen.

Im Rahmen der aktiven Überwachung wurden rund um den Bodensee 3 Teichanlagen mit je 15 flugunfähigen Stockenten als Wächter-Enten erstellt, die in regelmässigen Abständen auf das Vorhandensein von Influenza A-Viren untersucht werden. Diese sogenannten Sentinel-Enten erhalten regen Besuch von Wildenten, die potenzielle Virus-Träger sind. Durch die regelmässige Beprobung der Sentinel-Enten wird ein Virus-Eintrag schnell festgestellt. Schon im ersten Betriebsjahr hat sich gezeigt, dass diese Überwachungsmethode erfolgreich ist, da in allen drei Anlagen mindestens zwei verschiedene Einträge niedrigpathogener Grippeviren nachgewiesen werden konnten. Durch die regelmässige Probenentnahme konnte auch der Verlauf dieser asymptomatischen Infektionswellen untersucht werden. Interessant dabei ist, dass infizierte Sentinel-Enten das Virus nur während einer kurzen Phase von rund 2 Wochen ausscheiden. Stockenten mit einem Antikörperschutz gegen einen bestimmten Influenza A Subtypen bleiben zudem empfänglich für eine Infektion mit einem anderen Influenza A Subtypen.

Ein weiteres Element der aktiven Überwachung am Bodensee bildet die Beprobung von auf der Jagd erlegten oder in Bodennetze getauchten Enten und von Wildvögeln, die mit Hilfe von zwei Reusen (Kreuzlingen und Radolfzell) gefangen werden. Diese Proben ermöglichen eine kontinuierliche Erfassung des Infektionsstatus der Wasservögel. Mittels einer grossangelegten Fang- und Beprobungsaktion wird zudem einmal jährlich der Infektionsstatus der Schwäne am Bodensee untersucht.

Seit dem Projektstart im September 2006 wurden insgesamt 778 Wildvögel beprobt, davon 329 in der Schweiz, 369 in Deutschland und 80 in Österreich. Bei 29 Vögeln konnten Influenza A-Viren verschiedener niedrigpathogener Subtypen nachgewiesen werden. In keinem Fall trat der hochpathogene Subtyp H5N1 auf.

