



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# Hur undkommer Schmallenbergviruset värdens immunförsvar och vilka symptom ger viruset upphov till?

*Linn Marcusson*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013:02

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2013





Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Hur undkommer Schmallengbergviruset värdens immunförsvar och vilka symptom ger viruset upphov till?**

How does the Schmallengberg virus escape the host's immune system and what symptoms are associated with the disease?

*Linn Marcusson*

**Handledare:**

Mikael Berg, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2013

**Omslagsbild:** Dödfött lamm med tecken på schmallengbergvirusinfektion. © 2013 Varela et al. PLOS Pathogens

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013:02  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Schmallengbergvirus, symptom, patogenes, tropism, interaktion med värden

**Key words:** Schmallengberg virus, symptoms, pathogenesis, tropism, interaction with the host

## Innehållsförteckning

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturoversikt.....	3
Historia.....	3
Taxonomi och virusuppbyggnad.....	4
Värdjur och spridningsvägar .....	4
Patogenes och interaktion med värdens immunförsvar.....	5
Virulensfaktorer .....	6
Interferonets roll i värdens immunförsvar.....	7
SBV är neurotropiskt i foster .....	7
Viral "clearance" i foster.....	8
Symptom .....	8
Artrogrypos .....	10
Brachygnati .....	10
Torticollis .....	10
Hydrocefalus .....	11
Hydranencefali .....	11
Mikromyeli.....	11
Historien om en kalv som föddes med porencefali i Belgien .....	11
Diskussion .....	12
Litteraturförteckning .....	14

## **SAMMANFATTNING**

Hösten 2011 drabbades Tyskland och Nederländerna av ett okänt agens som orsakade diarré, nedsatt mjölkproduktion och feber hos nötkreatur. Efter en metagenomanalys av blodprover ifrån en drabbad besättning kunde man konstatera att orsaken till utbrotten var ett nytt virus; vilket senare fick namnet Schmollenbergvirus (SBV). Ett par månader senare upptäcktes fostermisbildningar hos både nöt, får och getter på flertalet ställen i Europa, och dessa kopplades senare samman med de första utbrotten av SBV.

Viruset drabbar idisslare och verkar vara vektorburet. Vuxna idisslare som infekteras får viremi och uppvisar en kort period av diarré, nedsatt mjölkproduktion och feber – men infektionen kan också vara subklinisk och passera obemärkt. Om det vuxna djuret är dräktigt i första trimestern kan fostret infekteras. Infekterade foster är vanligen fullgångna vid födseln, men är nästan alltid dödfödda eller dör strax efteråt. Missbildningar som ses är bland annat artrogrypos, hydrocefalus, hydranencefali, torticollis, mikromyeli och muskulär hypoplasi. Nya studier visar att SBV har tropism för neuroner i fostrets centrala nervsystem; där det replikerar och orsakar skador som ger upphov till ovanstående missbildningar.

Ny forskning tyder på att SBV undkommer värdens immunförsvar genom att koda för ett icke strukturellt protein, NSs, som interfererar med värdcellernas transkription av typ I IFN. Denna information är användbar för framställandet av ett effektivt och säkert vaccin.

SBV-utbrottet i Europa är ett bra exempel på hur man genom god beredskap lyckats hantera ett fall av "emerging diseases". En del av de biologiska strategier som tagits fram i samband med SBV-forskningen kommer sannolikt också komma till användning vid andra typer av virusutbrott. Virusets alla egenskaper är dock ännu inte helt fastställda, och forskning pågår därför fortfarande runt om i Europa. Veterinärer i Sverige skall rapportera in misstänkta fall av SBV-infektion hos kalvar födda år 2013, samt hos lamm födda efter den 1 mars 2013. Anmälan görs då till Jordbruksverket eller SVA.

## **SUMMARY**

In the fall of 2011 an unidentified pathogen affected cattle in Germany and the Netherlands, causing diarrhea, reduced milk-yield and fever. Metagenomic analysis of blood-samples from an infected herd identified a new virus responsible for the outbreaks; the Schmallenberg virus (SBV). A few months later congenital malformations and stillbirths in cattle, sheep and goats were reported from several farms in Europe; and these cases were associated with the first outbreaks of SBV.

The virus affects ruminants and is most likely arthropod-borne. Infected adult ruminants exhibit viremia and display a short period of diarrhea, reduced milk-yield and fever – but subclinical cases without any symptoms may occur. If the adult animal is in its first trimester of pregnancy, the fetus might become infected. Infected fetuses are normally delivered fully matured but stillbirths or deaths shortly after parturition are common. Some of the congenital malformations that can be observed are: arthrogryposis, hydrocephalus, hydranencephaly, torticollis, micromyelia and muscular hypoplasia. New studies show that the SBV is neurotropic in the central nervous system of fetuses, where it replicates in neurons; causing the congenital malformations previously described.

Newly reported science suggests that the SBV escapes the host's immune system by coding for a nonstructural protein called NSs; which interferes with the host cells transcriptions of type I IFN. This viral determinant is important in the research for an effective and safe vaccine against SBV.

The outbreak of SBV in Europe is a good example of how we have managed to deal with an emerging disease. Some of the biological strategies produced in the research regarding SBV, will most likely be useful to other virus-related outbreaks. All characteristics regarding SBV are not yet fully understood. Therefore, research is still in progress in many places throughout Europe. Veterinarians in Sweden have to notify The Swedish Board of Agriculture or The National Veterinary Institute, if they suspect cases of SBV-infection in calves born in 2013 or in lambs born after the 1st of March 2013.

## INLEDNING

Det nyupptäckta Schmallenbergviruset (SBV) har under kort tid spridits över stora delar av Europa, och mycket forskning pågår i skrivande stund för att vi skall lära oss mer om dess egenskaper. Detta leder till att publicerade studier kring viruset är nya och ny kunskap uppkommer ständigt. Tidigare forskning har framför allt fokuserat på virusets epidemiologi; så som spridning och ekonomisk påverkan hos de drabbade besättningarna. Det har även forskats en hel del om virusdiagnostik. Något färdigt vaccin finns inte och infekterade foster blir missbildade och dör nästan alltid.

I denna litteraturstudie kommer fokus att ligga på vetenskapliga studier som hittills har beskrivits angående SBVs interaktion med världens immunförsvar, samt vilka symptom som har observerats hos infekterade djur. Det vore intressant att sammanställa vad olika forskare har kommit fram till vad gäller dessa frågeställningar; då detta skulle kunna vara till en hjälp för att förstå virusets patogenes och möjliggöra framställandet av ett effektivt vaccin.

## MATERIAL OCH METODER

Eftersom SBV är såpass nyupptäckt så var det enkelt att avgränsa sökningen efter vetenskapliga studier som behandlade ovan nämnda frågeställningar; då det inte fanns så mycket publicerat kring detta agens. Databaserna Web of Knowledge, PubMed och Web of Science med sökorden: "Schmallenberg\*" AND "Pathogenesis" användes. Detta ledde till både original – och review-artiklar, vars referenser i sin tur letades upp för särskilt intressanta påståenden.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Historia

Nötkreaturbesättningar i Tyskland och Nederländerna drabbades under hösten 2011 av ett sjukdomsutbrott som gav de vuxna djuren diarré, feber och nedsatt mjölkproduktion (Hoffmann et al., 2012). Diagnoser som Blåtungevirus, Pestivirus och Mul och klövsjukevirus kunde uteslutas och symptomen varade inte särskilt länge. Man beslöt sig för att göra en metagenomanalys av blodprover ifrån infekterade djur, och detta utfördes av forskare på Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) i Tyskland (Hoffmann et al., 2012). Proverna visade sig innehålla ett nytt *Orthobunyavirus*, och eftersom dessa togs ifrån en besättning nära staden Schmallenberg i Tyskland fick det upptäckta viruset samma namn. Viruset spreds snabbt och efter ett tag hittade man positiva fall även i Frankrike, Belgien, Luxemburg, Storbritannien, Italien och Spanien (Herder et al., 2012).

En real-time quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR) utvecklades senare på FLI, vilken möjliggjorde detektion av S-segmentet i SBV-genomet (Bilk et al., 2012). Denna teknik distribuerades därefter till andra laboratorier i Europa för att möjliggöra virusdiagnostik.

Någon månad senare upptäcktes de första fallen av aborter och fostermissbildningar hos får, nöt och get i Europa; och SBV bedömdes som orsak till detta (Hahn et al., 2013). Fram till våren 2012 hade nära 3000 besättningar i Europa blivit drabbade av SBV; främst får – och nötkreaturbesättningar (Herder et al., 2012). Nu har viruset även spridits till Sverige, Norge, Finland och Polen (OIE, 2013).

Utifrån den information som i nuläget finns att tillgå är det inte möjligt att säga exakt varifrån viruset kommer, eller när det anlände till Europa (Varela et al., 2013). Dessa forskare anser det dock vara troligt att SBV kom till Europa under hösten 2011, eftersom man ännu inte har hittat SBV i sparade prover ifrån tidigare utbrott. Det faktum att andra virus ifrån serogruppen Simbu inte har upptäckts i Europa tidigare styrker också denna hypotes (Varela et al., 2013).

Enligt OIE (2013) så finns det inget färdigt vaccin mot SBV, men en prototyp är ute på marknaden. Huruvida man senare ska vaccinera eller inte kommer troligen bli mycket upp till djurägaren själv att bestämma (Simmons, 2012).

## **Taxonomi och virusuppbyggnad**

Att klargöra ett okänt virus taxonomi och uppbyggnad är självklart en viktig del i förutsättningarna för att förstå sig på virusets patogenes och interaktioner med värden.

Forskning har visat att SBV tillhör den stora virusfamiljen *Bunyaviridae*, vilken innefattar virus som kan infektera både ryggrads – och ryggradslösa djur (Varela et al., 2013). Vidare har SBV visat sig tillhöra genuset *Orthobunyavirus* samt vara nära besläktad med Shamondavirus; vilket tyder på att SBV tillhör serogruppen *Simbu* (Hoffmann et al., 2011). Virus ifrån denna serogrupp är vektorburna och orsakar aborter samt olika fostermissbildningar hos idisslare, men har tidigare endast upptäckts i Afrika, Oceanien och Asien (Varela et al., 2013).

*Orthobunyavirus* är höljeförsedda negativt enkelsträngade RNA-virus, vars genom är uppdelade i tre segment; small (S), medium (M) och large (L) (Varela et al., 2013). Dessa segment kodar tillsammans för fyra strukturella proteiner: nukleokapsidproteinet (N), glykoproteiner (Gn och Gc) och ett polymeras. Segmenten kodar även för två icke strukturella proteiner: NSs och NSm.

## **Värdjur och spridningsvägar**

Infektion med SBV har via PCR eller virusisolering kunnat påvisas hos nötkreatur, får, get, bison och rådjur (OIE, 2013). Hos kronhjort, alpaca och mufflonfår har infektion endast kunnat påvisas genom serologi.

Schmallenbergviruset verkar vara ett vektorburet virus, med hänsyn till det faktum att det hittats i svidknott av genus *Culicoides spp.* i Danmark samt vetskapen om att alla andra virus inom Simbuserogruppen sprids via insekter (Varela et al., 2013). Detta resonemang styrks av OIE (2013) som menar att epidemiologiska studier har visat att SBV drabbar idisslare via



insektsbett. Enligt OIE (2013) så är det inte troligt att vidare smittspridning kan ske genom direktkontakt mellan djur, utan den sker istället intrauterint mellan moder och foster. SBV har även hittats i nötsperma, men fler studier krävs för att avgöra om detta kan utgöra en smittkälla. Viruset verkar inte ha en zoonotisk karaktär. OIE (2013) är dock noga med att poängtera att fler studier behöver göras för att bekräfta virusets spridningsvägar.

### Patogenes och interaktion med värdens immunförsvar

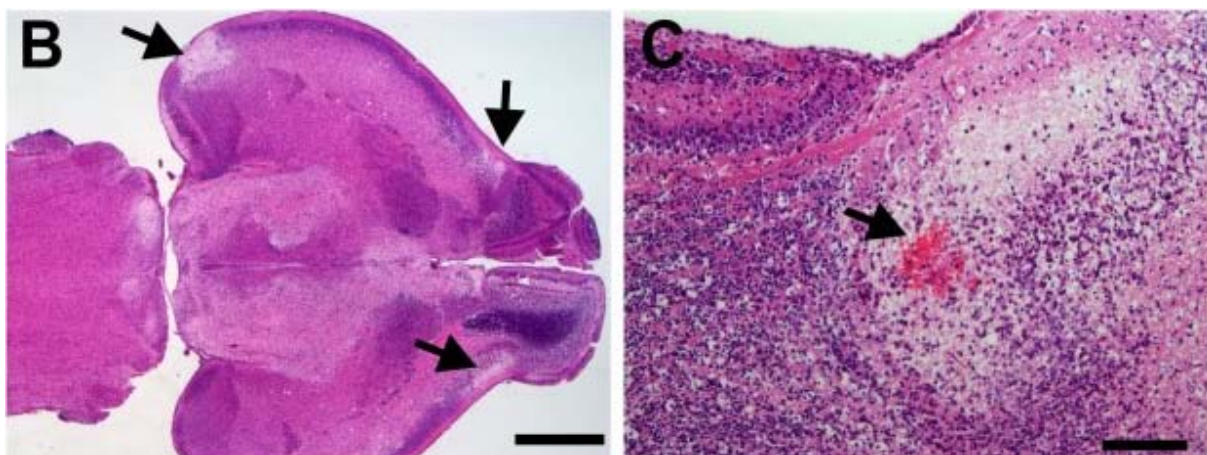
Då en vuxen idisslare blir biten av en SBV-infekterad insekt uppstår viremi efter en inkubationstid på cirka tre till fem dagar (SVA, 2013). Viremin tros sedan kvarstå i cirka två till fem dagar, och om djuret är dräktigt i första trimestern så kan fostret infekteras intrauterint och skadas.

Tabell 1. Första dräktighetstrimestern för några idisslare (SVA, 2013)

Djurslag	Tid
Får	0-3 månader
Get	0-3 månader
Nötkreatur	0-5 månader

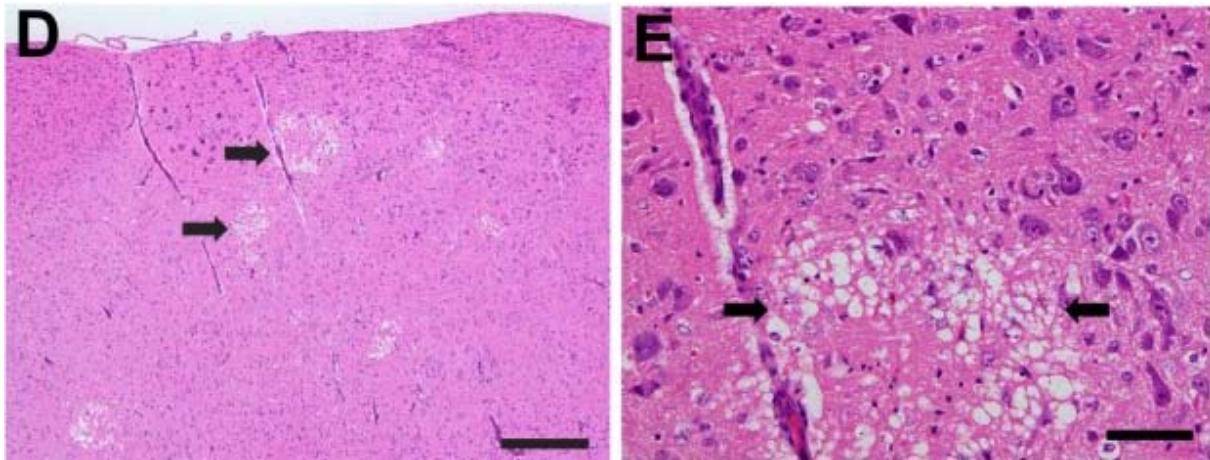
Ett forskarteam har nyligen publicerat data ifrån både *in vivo* och *in vitro* studier vad gäller SBVs patogenes, tropism och interaktion med värdens immunförsvar (Varela et al., 2013). De använde sig av reverse genetics för att få fram syntetiskt SBV som senare skulle kunna studeras. Metoden gick ut på att celler ifrån bland annat får transfekterades med tre plasmider innehållande cDNA för vardera segment i viruset. Viruset började sedan föröka sig i cellerna och kunde senare isoleras; man hade nu fått fram syntetiskt SBV (sSBV).

Unga möss infekterades med viruset och avlivades efter 72 och 120 timmar. Deras hjärnor undersöktes därefter histologiskt och de som varit infekterade i 72 timmar visade bilateral vakuolisering av neuropil i mesencefalon och yttre delen av cortex (figur 1. B), samt blödningar i nekrotiska områden av cortex (figur 1. C).



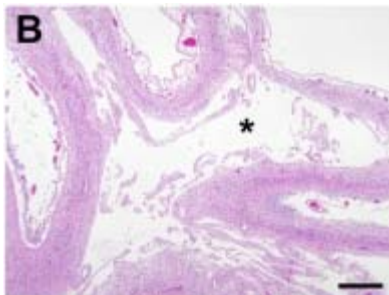
Figur 1. svart linje = 2mm (B) resp 200  $\mu$ m (C) © 2013 Varela et al. PLOS Pathogens

Genom immunohistokemi kunde man visa att det var neuroner som hade infekterats. Hjärnor ifrån möss som varit infekterade i 120 timmar visade multifokal vakuolisering av den vita substansen i storhjärnan (figur 2. D-E).



Figur 2. svart linje = 500 $\mu$ m (D) resp 100  $\mu$ m (E) © 2013 Varela et al. PLOS Pathogens

I senare studier på naturligt *in utero*-infekterade lamm och kalvar kunde forskarna hitta SBV på liknande ställen som hos mössen (figur 3. B), och dessutom hittades en hel del virus i den grå substansen utav ryggmärgen. Enligt Varela et al., (2013) så ”indikerar dessa studier att SBV replikerar i hjärnans och ryggmärgens neuroner hos naturligt infekterade djur”.



Figur 3. Cortex ifrån ett *in utero*-infekterat lamm. (\*) indikerar att vit substans saknas. Den grå substansen har mindre tjocklek än normalt (svart linje = 2 mm). © 2013 Varela et al. PLOS Pathogens

### Virulensfaktorer

För att bestämma avgörande molekylära faktorer för virusets virulens, så valde forskarna att genom reverse genetics skapa en muterad version av SBV som ej innehöll det icke strukturella proteinet NSs; kallad SBV $\Delta$ NSs (Varela et al., 2013). Detta protein har tidigare visat sig vara viktig för flera *Orthobunyavirus* vad gäller interaktionen med värdens immunförsvar, då det inhiberar syntes av typ I IFN (IFN-  $\alpha$  och  $\beta$ ) på transkriptionsnivå i värdceller (Bouloy et al., 2001).

Forskarna injicerade därefter ett antal NIH-Swiss möss intracerebralt med sSBV, SBV $\Delta$ NSs eller kulturmedium; varav den sistnämnda gruppen fungerade som kontroll (Varela et al., 2013). Resultatet visade att alla möss i kontrollgruppen överlevde, att alla möss som fått sSBV dog inom ett antal dagar och att de möss som fått SBV $\Delta$ NSs överlevde betydligt längre; och att hela 40-60% av dessa överlevde infektionen helt. Virulensen hos SBV verkade således bero en hel del på NSs proteinet, och detta ville man undersöka vidare. Forskarna valde därför

att infektera humana celler som de visste kunde producera interferoner, med antingen SBVΔNSs eller sSBV, och tog efter en viss tid tillvara på en del av dessa celler och inaktiverade virus i dem med hjälp av UV-ljus. Cellerna inkuberades därefter i en annan typ av cellinje, CPT-Tertceller, vilka är oförmögna att bilda eget interferon men svarar bra på de interferoner andra celler i deras närhet bildar. För att se om de humana cellerna som blivit infekterade med SBVΔNSs eller sSBV kunde producera interferoner som i sin tur skulle kunna skydda CPT-Tertcellerna, så infekterade man CPT-Tertcellerna med Encefalomyocarditvirus. Resultatet visade att de CPT-Tertceller som inkuberats med celler som tidigare blivit infekterade med sSBV inte klarade sig mot Encefalomyocarditvirus, eftersom det inte producerades något interferon. De CPT-Tertceller som inkuberats med celler som tidigare blivit infekterade med SBVΔNSs klarade sig däremot, eftersom interferon fanns tillgängligt och Encefalomyocarditvirus är känslig mot det. Denna studie utfördes senare på celler ifrån får med liknande resultat.

För att se hur NSs proteinet fungerade *in vivo* så injicerades möss som var oförmögna att själva bilda interferon med antingen SBVΔNSs, sSBV eller kulturmedium (kontrollgrupp) intracerebralt (Varela et al., 2013). Resultatet visade att mössen var lika känsliga mot sSBV som mot SBVΔNSs.

Det verkar alltså som att NSs proteinet kan interagera med värdens immunförsvar genom att inhibera interferonsyntesen i värdcellerna (Varela et al., 2013). Forskarna kunde även visa att det sannolikt är transkriptionen av typ I IFN som påverkas vid en infektion med SBV; vilket stämmer väl överens med hur många andra *Orthobunyavirus* fungerar.

### ***Interferonets roll i värdens immunförsvar***

Interferoner är oerhört viktiga cytokiner i det medfödda immunförsvaret, och har som uppgift att skydda värden mot bland annat virusinfektioner genom att främja syntes av antivirala proteiner och bidra till att det adaptiva immunförsvaret aktiveras (Blakqori et al., 2007). Det finns både typ I IFN ( $\alpha$  och  $\beta$ ) och typ II IFN ( $\gamma$ ) (Tizard, 2009, 299). En liten produktion av IFN-  $\alpha$  initieras i bland annat lymfocyter och makrofager som blivit infekterad av virus, men vissa dendritiska celler kan bilda stora mängder typ I IFN genom att endast få stimuli ifrån ett viralt agens. IFN-  $\beta$  produceras i virusinfekterade fibroblaster. Typ I IFN släpps därefter ut till omkringliggande celler och binder till receptorer på dessa. Flertalet genuttryck kommer då att stimuleras; vilket försätter cellerna i ett antiviralt stadium. Exempel på sådana antivirala aktiviteter är aktivering av särskilda enzymer; vilka startar en reaktion som avslutas med att viralt RNA bryts ned (Tizard, 2009, 301). IFN-  $\alpha$  främjar också övergången ifrån medfött – till adaptivt immunförsvar (Tizard, 2009, 302).

### ***SBV är neurotropiskt i foster***

Hahn et al., (2013) har studerat SBVs patogenes och tropism genom framställandet av en *in situ* hybridiseringsmetod; vilken möjliggjorde detektion av m-RNA tillhörande SBV i infekterade vävnader. Distributionen av m-RNA undersöktes i centrala nervsystemet hos 82 naturligt infekterade idisslare (46 lamm, 2 killingar och 34 kalvar). Hos 10 stycken av djuren undersöktes dessutom förekomsten av viralt m-RNA i organ som placenta, ögon, hjärta,

uterus, lever, njurar med mera. Forskarna visste att alla djur var infekterade med SBV eftersom de tidigare visat positivt vid en RT-qPCR undersökning. Med en *in situ* hybridiseringsmetod kan man finna viralt m-RNA i celler utan att först förstöra den cellulära strukturen, vilket gör den till en utmärkt metod för att studera exakt var viruset befinner sig. En RT-qPCR undersökning är förvisso känsligare vad gäller detektion av viralt m-RNA, men denna bidrar endast med ett övergripande värde för hela vävnaden. m-RNA hittades med hjälp av *in situ* metoden inuti neuroner i cerebrum, cerebellum, hjärnstammen och medulla oblongata hos sju lamm, en killing och två kalvar. Inga tecken på förekomst av SBV hittades i övriga undersökta organ. Enligt studien Hahn et al., (2013) har SBV tropism för neuroner i fostrets centrala nervsystem, vilket stämmer väl överens med vad studien Varela et al., (2013) kommit fram till.

En bidragande faktor till att endast 10 av 82 djur visade förekomst av SBV i studien Hahn et al., (2013) trodde forskarna kunde vara att antalet m-RNA:n tillhörande SBV i många celler låg under detektionsnivån för *in situ* metoden men ej för RT-qPCR. De tyckte därför att *in situ* hybridiseringsmetoden mest var användbar till att detektera SBV under virusets aktiva infektionsfas, då antalet m-RNA kopior i cellerna är högre.

### ***Viral "clearance" i foster***

En forskargrupp (Regge et al., 2012) har utfört en vetenskaplig studie vars huvudfråga innefattade att komma underfund med huruvida SBV kunde rensas ifrån infekterade foster. Hos de flesta undersökta lammen och hos en del av kalvarna hittade dessa forskare antikroppar mot SBV i thorakalvätska. Ett möjligt scenario är att antikropparna genom opsonisering hjälper till att eliminera SBV, men forskarna vet ingenting säkert ännu. De lamm och kalvar som undersöktes i studien var alla dödfödda och uppvisade typiska missbildningar för *in utero* -infektion med SBV, så uppenbarligen räcker inte dessa antikroppar till för att skydda fostret. Att färre kalvar än lamm visade förekomst av antikroppar mot SBV i denna studie (Regge et al., 2012) trodde forskarna berodde på att dessa kalvar inte hade hunnit bli tillräckligt immunologiskt kompetenta vid infektionstillfället; vilket i sin tur medförde att de inte kunde bilda några antikroppar mot viruset.

### **Symptom**

Akut infektion med SBV karakteriseras av en övergående mild period av feber, diarré och minskad mjölkproduktion hos det infekterade djuret (Sailleau et al., 2013). Det verkar främst vara vuxna nötkreatur som visar upp denna akuta fas, så det är troligt att denna del av infektionen hos övriga vuxna idisslare är subklinisk (OIE, 2013).

Foster som infekterats intrauterint är vanligen dödfödda eller dör en tid efter födseln. De är ofta färdigutvecklade men visar upp olika former av missbildningar (SVA, 2013).

Ett forskarteam publicerade i juni 2012 en studie de gjort med avseende på vilka malformationer som kan hittas hos domesticerade idisslare som blivit naturligt infekterade *in utero* med SBV (Herder et al., 2012). Studien omfattade observerade förändringar i vävnader ifrån 58 djur som alla var positiva för SBV i RT-qPCR, och samtliga djur var aborterade eller

dödfödda. Djuren bestod av 40 stycken lamm, 16 stycken kalvar och 2 stycken killingar. Både honor och hanar ingick i studien.

*Tabell 2. De vanligaste defekterna i rörelseapparaten och nervsystemet som hittades hos lamm*

<b>Defekt</b>	<b>Antal</b>
Artrogrypos	37
Brachygnati	14
Kuravtur av ryggraden; t.ex. torticollis och kyfos	15
Uni – eller bilateral hydrocefalus	26
Hydranencefali	6
Cerebellär hypoplasi	26

I sex stycken lamm hittades dessutom hypoplastisk skelettmuskulatur, vilken innehöll ett lägre antal och mindre storlek av myofibriller. Virusorsakade skador på CNS tros ligga bakom denna muskulär hypoplasi (Varela et al., 2013). Det resonemanget styrks av Zachary & McGavin (2012, 893) som menar att skador på nervsystemet hos foster kan orsaka minskad innerivering av muskelfibrer, vilket leder till att dessa inte kan utvecklas normalt och muskelskador fås.

Hos 10 stycken lamm fann man perivaskulär infiltration av inflammatoriska celler (lymfocyter och makrofager) i både grå och vit substans.

*Tabell 3. De vanligaste defekterna i rörelseapparaten och nervsystemet som hittades hos killingar*

<b>Defekt</b>	<b>Antal</b>
Artrogrypos	2
Deformation av kotor	1
Porencefali	1

Inflammationsbilden hos killingen av hanligt kön liknade den hos lamm, medan honan saknade inflammatoriska förändringar i CNS. Hos hannen hittades dessutom pulmonär hypoplasi.

Tabell 4. De vanligaste defekterna i rörelseapparaten och nervsystemet som hittades hos kalvar

Defekt	Antal
Artrogrypos	12
Brachygnati	3
Kurvatur av ryggraden: t.ex. torticollis och kyfos	10
Kraniala missbildningar	8
Hydrocefalus	3
Hydranencefali	2
Cerebellär hypoplasi	6
Hypoplasi av hjärnstammen	3
Mikromyeli	2

Pulmonär hypoplasi hittades hos en kalv och hypoplastisk skelettmuskulatur hittades hos en annan. Vad gäller den inflammatoriska bilden så hade en kalv en mild form av meningit utan perivaskulär infiltration av inflammatoriska celler .

Forskarna undersökte även andra organ ifrån de olika djurslagen som urinblåsa, uterus, placenta, äggstockar, lever och perifera nerver; men alla dessa saknade betydande histologiska förändringar (Herder et al., 2012).

### **Artrogrypos**

Innebär enligt Zachary & McGavin (2012, 963) ”en medfödd kontraktion av en led som ofta förekommer bilateralt”. Åkomman kan orsakas av en intrauterin infektion som skadat fostrets nervsystem, vilket leder till muskelatrofi som i sin tur leder till artrogrypos. Se figur 4. A.

### **Brachygnati**

Överbett på grund av för kort underkäke (Zachary & McGavin 2012, 330). Se figur 4. A.

### **Torticollis**

Kontraktion av djurets cervikala muskulatur leder till detta tillstånd, vilket innebär att djurets nacke vrids om (Blood et al., 2007, 1810). Se figur 4. A.



Figur 4. Dödfött lamm naturligt *in utero*-infekterat med SBV . © 2013 Varela et al. PLOS Pathogens

### **Hydrocefalus**

Vattenskalle. Enligt Zachary & McGavin (2012, 799) är detta en vanlig medfödd åkomma då fostret har drabbats av en viral intrauterin infektion. Det finns flera olika typer av hydrocefalus, men den som hittades i den nämnda studien (Herder et al., 2012) var antingen uni – eller bilateral, ventriklarna var dilaterade och det omkringliggande parenkymet till dessa ventriklar var destruerat. Basala ganglia var dock relativt opåverkade.

### **Hydranencefali**

Enligt Zachary & McGavin (2012, 797) så innebär detta tillstånd förekomst av stora vätskefyllda hålrum i cerebrum vilka egentligen skall bestå av vit substans. Felaktig utveckling av cerebrum kan ge denna åkomma som anses vara en allvarligare form av porencefali. I den nämnda studien (Herder et al., 2012) så var denna missbildning associerad med en ansamling av gitterceller samt nekros av neuroparenkym.

### **Mikromyeli**

Tillstånd då djurets ryggmärg är betydligt mindre än normalt (Blood et al., 2007, 1148). I den nämnda studien (Herder et al., 2012) så var denna missbildning associerad med att stora delar av den grå och vita substansen i ryggmärgen var borta, och endast några få neuroner kunde hittas i ventralhornen.

### **Historien om en kalv som föddes med porencefali i Belgien**

Garigliany et al., (2012) beskrev grava kliniska symptom hos en en vecka gammal kalv; vilka troligen berodde på en intrauterin infektion med SBV. Dräktigheten hade pågått i nio månader och fyra dagar, vilket var helt normalt. Kalven visade tecken på allvarliga skador i cortex, mesencefalon och basala ganglia genom att uppvisa hypertoni, blindhet, ha onormalt starka reflexer (hyperreflexer) samt svårigheter att stå upp på egen hand. Beteenden som att suga och svälja fungerade dock fortfarande normalt. Kalven blev tillslut tvungen att avlivas och obduktionen visade bland annat att två vätskefyllda cystor hade ersatt hemisfärerna i cerebrum, och att occipitalloberna var helt vätskefyllda. Storleken och formen på både cerebrum, hjärnstammen och diencefalon var dock normal. Kalven fick diagnosen kraftig porencefali/hydranencefali.

Prover togs ifrån olika delar av hjärnan samt andra organ och undersöktes med RT-qPCR. Resultatet påvisade SBV i hjärnan, medan alla andra vävnadsprover visade negativt. Dessa forskare (Garigliany et al., 2012) föreslår att SBV infekterar fostret *in utero* genom att passera placenta och därefter ta sig in i fostrets nervsystem; där det förhindrar vidare utveckling av celler i cerebrums cortex och/eller orsakar nekros.



## DISKUSSION

I litteraturstudien framgår att det finns en stor skillnad på foster och vuxna djur vad gäller de symptom som SBV ger upphov till. Vuxna djur kan drabbas av en akut infektion, men denna är mild och övergående – och är i många fall även subklinisk. Foster drabbas däremot betydligt hårdare såvida de blir infekterade intrauterint under den första trimestern utav dräktigheten (SVA,2013). I studien Varela et al., (2013) har forskarna en intressant idé om den möjliga orsaken till varför foster är särskilt känsliga under denna tid, och det är att fostrets blod-hjärnbarriär ännu ej är helt färdigställd vid denna del av dräktigheten. De menar att viruset har full möjlighet att infektera fostrets nervsystem under tiden mellan att placentomen har utvecklats, tills dess att fostrets blod-hjärnbarriär börjar utvecklas. Detta skulle då kunna förklara varför CNS-missbildningar endast ses hos foster och inte hos vuxna djur med en fullt utvecklad blod-hjärnbarriär. Hos idisslare sker ingen överföring av antikroppar mellan moder och foster *in utero* (Regge et al., 2012), vilket förklarar varför infekterade vuxna idisslare som bildat antikroppar mot SBV ändå inte kan skydda sitt foster med dessa. Utökade studier kring antikroppssvaret hos infekterade idisslare vore värdefullt, då detta kan leda till ökad kunskap angående eventuell immunitet mot framtida SBV-infektioner.

Hos vuxna idisslare ses viremi under cirka två till fem dagar (SVA, 2013). Då viruset är i blod kan det snabbt spridas i kroppen, vilket skulle kunna förklara den allmänpåverkan med nedsatt mjölkproduktion, diarré och feber som observerats i den akuta fasen hos vissa vuxna idisslare. Varför den akuta fasen särskilt har setts hos nötkreatur och inte hos andra idisslare har inte några studier kunnat förklara ännu.

Forskare runt om i Europa verkar vara eniga om att SBV är ett neurotropiskt virus och att de vanligaste CNS-missbildningarna hos infekterade foster är: cerebellär hypoplasi, hydranencefali, porencefali, hydrocefalus och mikromyeli. De vanligaste missbildningarna vad gäller rörelseapparaten hos infekterade foster verkar vara artrogrypos, brachygnati, torticollis och muskulär hypoplasi. Alla dessa missbildningar stämmer väl överens med att viruset skulle ha tropism för nervvävnad, vilket gör att den iakttagelsen verkar vara korrekt. OIE (2013) menar på att graden av missbildning beror på när fostret i fråga har blivit infekterat under dräktigheten. Vidare studier kring det vore mycket intressant att få ta del av.

Enligt studien Varela et al., (2013) så har NSs proteinet stor betydelse vad gäller SBVs interaktion med värdens immunförsvar. Eftersom SBV sannolikt är vektorburet är det inte särskilt konstigt att det snabbt måste interagera med värdens immunförsvar för att kunna komma upp i de viremiska nivåer som krävs för att möjliggöra vidare smittspridning. Forskarna i studien Blakqori et al., (2007) anser att vissa virus i familjen *Bunyaviridae* har utvecklat NSs proteinet just på grund av detta. NSs proteinet förhindrar syntes av typ I IFN i värdceller, vilket gör att viruset tidigt kan undkomma värdens immunförsvar eftersom det är den medfödda immuniteten som motarbetas.

Att det nyupptäckta SBV verkar vara vektorburet är inte heller särskilt konstigt, eftersom dessa typer av virus har en stor potential att ge upphov till ”emerging – och re-emerging



diseases”. I dagens samhälle har vi ett levnadssätt som gynnar vektorspridning; vi reser mer och handeln har blivit mer global. Dessutom gör rådande och framtida klimatförändringar att vissa typer av vektorer kan klara av att leva i nya områden vars miljö de tidigare inte klarat av. Enligt Varela et al., (2013) hade till exempel virus ifrån serogruppen Simbu tidigare endast upptäckts i Afrika, Asien och Oceanien. OIE (2013) anser att ytterligare studier behöver göras för att bekräfta virusets spridningsvägar, då exempelvis en upptäckt zoonotisk potential hos SBV skulle kunna få mycket stora konsekvenser eftersom viruset sprids snabbt.

För att utöka kunskapen angående infektionsläget i Sverige skall veterinärer rapportera in misstänkta fall av SBV-infektion hos kalvar födda under år 2013, samt hos lamm födda efter den 1 mars 2013 (SVA, 2013). Anmälan görs då till Jordbruksverket eller SVA.

Utav de studier som behandlats här verkar det som att forskare runt om i Europa har en ganska bra bild av hur SBV fungerar. Studien av Varela et al., (2013) kan vara till stor hjälp för utvecklingen av ett effektivt och säkert vaccin, då denna har klaggjort mycket angående virusets patogenes och virulensfaktorer. Frågan huruvida vi skall bry oss om att vaccinera djuren kvarstår dock; och detta kommer säkerligen också att bli en ekonomisk fråga för djurägaren. De vuxna djuren drabbas inte särskilt hårt, utan det är foster som kan ta skada. Om framtida studier dessutom visar att SBV-infekterade vuxna idisslare som tillfrisknat blir långvarigt immuna så resulterar detta troligen i ett lägre antal missbildade foster. Deformerade foster kan dock leda till svårare förlösningar vilket är farligt för moderdjuret (SVA, 2013). Enligt OIE (2013) så skulle man kunna minska antalet missbildade foster genom att försöka betäcka djuren då de potentiella vektorerna för SBV är mindre aktiva. Detta i kombination med ett vaccin i de mest vektortäta områdena skulle kunna vara ett bra sätt att dra ner på smittrycket.

Sammanfattningsvis kan det konstateras att SBV-utbrottet i Europa är ett bra exempel på hur man genom god beredskap lyckats hantera ett fall av ”emerging diseases”. En del av de biologiska strategier som tagits fram i samband med SBV-forskningen kommer sannolikt också komma till användning vid andra typer av virusutbrott. Forskningsresultat ifrån olika länder har samordnats och har resulterat i att man på kort tid fått fram mycket värdefull information. Dock krävs fortfarande att studier kring virusets egenskaper fortgår, då vi exempelvis behöver få gamla studier bekräftade, samt undersöka om infekterade idisslare blir immuna under en längre period; och i så fall om ett vaccin verkligen behövs.

## LITTERATURFÖRTECKNING

Bilk, S., Schulze, C., Fischer, M., Beer, M., Hlinak, A. & Hoffmann, B. (2012). Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Veterinary Microbiology*, 159, 236-238.

Blakqori, G., Delhaye, S., Habjan, M., Blair, C., Vargas, I., Olson, K., Yazdi, G., Fragkoudis, R., Kohl, A., Kalinke, U., Weiss, S., Michiels, T., Staeheli, P. & Weber, F. (2007). La Crosse Bunyavirus Nonstructural Protein NSs Serves To Suppress the Type I Interferon System of Mammalian Hosts. *Journal of Virology*, 81, 4991-4999.

Blood, D.C. et al., (2007). *Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary*. 3. uppl. St. Louis. Saunders Elsevier. Sid. 1810, 1148.

Bouloy, M., Janzen, C., Vialat, P., Khun, H., Pavlovic, J., Huerre, M. & Haller, O. (2001). Genetic Evidence for an Interferon-Antagonistic Function of Rift Valley Fever Virus Nonstructural Protein NSs. *Journal of Virology*, 75, 1371-1377.

Garigliany, M., Hoffmann, B., Dive, M., Sartelet, A., Bayrou, C., Cassart, D., Beer, M. & Desmecht, D. (2012). Schmallenberg Virus in Calf Born at Term with Porencephaly, Belgium. *Emerging Infectious Diseases*, 18, 1005-1006.

Hahn, K., Habierski, A., Herder, V., Wohlsein, P., Peters, M., Hansmann, F. & Baumgärtner, W. (2013). Schmallenberg Virus in Central Nervous System of Ruminants. *Emerging Infectious Diseases*, 19, 154-155.

Herder, V., Wohlsein, P., Peters, M., Hansmann, F. & Baumgärtner, W. (2012). Salient Lesions in Domestic Ruminants Infected With the Emerging So-called Schmallenberg Virus in Germany. *Veterinary Pathology*, 49, 588-591.

Hoffmann, B., Scheuch, M., Höper, D., Jungblut, R., Holsteg, M., Schirrmeier, H., Eschbaumer, M., Goller, K., Wernike, K., Fischer, M., Breithaupt, A., Mettenleiter, T. & Beer, M. (2012). Novel Orthobunyavirus in Cattle, Europe, 2011. *Emerging Infectious Diseases*, 18, 469-471.

OIE. OIE Technical Factsheet on Schmallenberg virus. [online] (2013-02-01) Tillgänglig: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our\\_scientific\\_expertise/docs/pdf/A\\_Schmallenberg\\_virus.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/A_Schmallenberg_virus.pdf). [2013-03-07]

Regge, N., Berg, T., Georges, L. & Cay, B. (2013). Diagnosis of Schmallenberg virus infection in malformed lambs and calves and first indications for viral clearance in the fetus. *Veterinary Microbiology*, 162, 595-600.

Sailleau, C., Bréard, E., Viarouge, C., Desprat, A., Doceul, V., Lara, E., Languille, J., Vitour, D., Attoui, H. & Zientara, S. (2013). Acute Schmallenberg Virus Infections, France, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 19, 321-322.

Simmons, A. (2012). Schmallenberg virus in 2012/13. *Veterinary Record*, doi: 10.1136/vr.e8629.

SVA. Information till veterinärer om Schmallenbergvirus. [online] (2013-01-21) Tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Far-och-get/Schmallenbergvirus/Information-till-veterinarer-om-Schmallenbergvirus/>. [2013-03-11]

SVA. Schmallenbergvirus hos idisslare. [online] (2013-03-04) Tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Far-och-get/Schmallenbergvirus/>. [2013-03-07]

Tizard, I.A. (2009). *Veterinary Immunology an introduction*. 8. uppl. St. Louis. Saunders Elsevier. Sid. 299, 301-302.

Varela, M., Schnettler, E., Caporale, M., Murgia, C., Barry, G., McFarlane, M., McGregor, E., Piras, I., Shaw, A., Lamm, C., Janowicz, A., Beer, M., Glass, M., Herder, V., Hahn, K., Baumgärtner, W., Kohl, A. & Palmarini, M. (2013). Schmallenberg Virus Pathogenesis, Tropism and Interaction with the Innate Immune System of the Host. *PLOS Pathogens*, 9, doi: e1003133.

Zachary, J.A. & McGavin, M.D. (2012). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5. uppl. St. Louis. Elsevier. Sid. 330, 797, 799, 893, 963.