

## INFLUENZA BIJ VOGELS EN ZOOGDIEREN: HOE STERK IS DE DIERSOORTBARRIERE?

K. Van Reeth

Laboratorium voor Virologie  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,  
Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke  
Kristien.vanreeth@UGent.be

### INLEIDING

Zuidoost-Azië is nu reeds 2 jaar in de greep van een epidemie met een hoog pathogeen aviaire influenzavirus, subtype H5N1, bij pluimvee. Als gevolg hiervan zijn meer dan 150 miljoen stuks pluimvee gestorven of opgeruimd. Ook 133 mensen in Azië werden met het H5N1-virus geïnfecteerd en voor de helft van hen was de infectie fataal. Het H5N1-virus heeft zich intussen ook verspreid naar pluimvee in Centraal-Azië en meer recent werden enkele gevallen gerapporteerd in Turkije, Roemenië en Kroatië. Om de kans op insleep van het virus in West-Europa zoveel mogelijk te beperken, werden drastische maatregelen genomen op Europees en nationaal vlak. De invoer van levende vogels, pluimveevlees, vleesbereidingen en eieren vanuit de getroffen landen werd opgeschort. In België geldt op dit moment onder andere een verzamelverbod voor pluimvee en gedomesticeerde vogels, een ophokverplichting voor pluimvee in bepaalde gebieden en een verhoogde monitoring op professionele pluimveebedrijven.

Sommige wetenschappers en politici vrezen dat het aviaire H5N1-virus een nieuwe griep пандemie bij de mens zou kunnen veroorzaken, omdat de menselijke populatie in het geheel geen antistoffen heeft tegen het H5-hemagglutinine. In het perspectief van een mogelijke пандemie hebben alle West-Europese landen een пандemiebestrijdingsplan uitgewerkt. In het kader daarvan wordt in België een voorraad antivirale middelen aangelegd en zijn er maatregelen genomen om een voldoende voorraad vaccins tegen een mogelijk пандemisch virus te verwerven.

Naast de mens blijken ook varkens, katten en tijgers gevoelig te zijn voor het H5N1-virus en dit leidt tot speculaties over een mogelijke rol van deze dieren in de overdracht van het virus naar de mens. Er is echter nog zeer weinig kennis over het gedrag van H5N1 bij zoogdieren en vele scenario's zijn eerder op veron-

derstellingen dan op wetenschappelijk gefundeerde gegevens gebaseerd.

Dit artikel is een samenvatting van een lezing gehouden op de informatieavonden over vogelpest die in november 2005 door het voedselagentschap (FAVV) werden georganiseerd voor de Vlaamse dierenartsen. In het eerste deel wordt een algemeen overzicht gegeven van influenza bij vogels en van de belangrijkste influenzagevoelige zoogdieren. Dit overzicht is geenszins volledig en belicht vooral de gegevens die belangrijk zijn voor een goed begrip van de huidige H5N1-uitbraak bij gevogelte in Zuidoost-Azië. In het tweede deel wordt dieper ingegaan op deze H5N1-uitbraak en de eventuele gevaren voor de mens. Er wordt speciaal aandacht besteed aan de mogelijke rol van huisdieren andere dan vogels in de verspreiding van H5N1 naar de mens. Het is vooral de bedoeling hypothesen en wetenschappelijk onderbouwde gegevens duidelijk van mekaar te onderscheiden.

### INFLUENZA BIJ VOGELS EN ZOOGDIEREN

#### Een virus met vele gezichten

Influenza- of griepvirussen zijn RNA-virussen met een envelop en een gesegmenteerd genoom. Deze laatste eigenschap geeft hen de mogelijkheid tot genetische "reassortering", of het uitwisselen van genfragmenten tussen 2 totaal verschillende influenzavirussen wanneer deze gelijktijdig dezelfde cel infecteren. Het centrale nucleoproteïne bepaalt het serotype - A, B of C. Influenza B- en C-virussen worden hier buiten beschouwing gelaten, omdat ze enkel voorkomen bij de mens en in de dierenwereld onbelangrijk zijn. Influenza A-virussen dragen aan hun buitenzijde 2 belangrijke glycoproteïnen: het hemagglutinine (HA) en het neuraminidase (NA). Op basis van de antigene eigenschappen van HA en NA worden deze virussen verder ingedeeld in subtypen. Tot dusver zijn 16 verschillende hemagglutininen en 9 neuraminidasen bekend die in

verschillende combinaties kunnen voorkomen. Het HA is het belangrijkste immunogene eiwit en antistoffen daartegen bieden bescherming tegenover infectie met een influenzavirus met een antigenisch verwant HA. Er is echter geen kruisimmunitet tussen verschillende subtypen: infectie of vaccinatie met één bepaald subtype beschermt dus niet tegen een daaropvolgende infectie met een ander subtype.

Kenmerkend voor influenzavirussen is dat ze doorheen de jaren kleinere of grotere wijzigingen in hun genetische en/of antigene samenstelling ondergaan. Antigene "drift" is een wijziging in minstens 2 van de 5 antigene domeinen van het HA, als gevolg van puntmutaties die zich doorheen de jaren opstapelen in het genfragment dat codeert voor het HA. Drift-varianten worden vaak minder goed herkend en worden dus minder afgeremd door de bestaande populatie-immuniteit en zijn daardoor in staat om epidemieën te veroorzaken. Antigene "shift" is een meer drastische vorm van antigene variatie waarbij het circulerend influenzavirus wordt vervangen door een virus met een "nieuw" HA- en/of NA-subtype waartegen in het geheel geen populatie-immuniteit bestaat. Dit zeldzame verschijnsel kan aanleiding geven tot een wereldwijde influenzapandemie bij de mens, wat het geval was in 1918, 1957 en 1968. Antigene shift kan ontstaan wanneer een influenzavirus vanuit een dierlijk reservoir wordt overgedragen naar een andere diersoort of naar de mens, wat overigens zelden gebeurt. Ook genetische reassortering kan aan de basis liggen van een antigene shift, indien het HA-gen van het circulerende virus wordt vervangen door dit van een virus met een "nieuw" HA-subtype.

In de natuur komen influenza A-virussen voor bij verschillende soorten wilde en tamme vogels, bij de mens, het varken, het paard, nertsen en zeezoogdieren. Deze virussen zijn over het algemeen diersoortspecifiek en ze worden dus zelden van de ene naar de andere diersoort overgedragen. In tegenstelling tot bij wilde vogels, die gevoelig zijn voor alle bestaande influenzavirussubtypen, komen bij de mens en bij de influenzagevoelige huisdieren hoogstens enkele subtypen voor. Ook het verloop van de infectie verschilt sterk bij vogels en bij zoogdieren, zoals hieronder verder wordt uitgelegd.

### **Een vrij onschuldige infectie voor de meeste mensen, varkens en paarden**

Bij de mens, het varken en het paard veroorzaakt het influenzavirus een acute infectie van het luchtweg-epitheel. De incubatieperiode duurt slechts 1 tot 3 dagen en het virus wordt gedurende één week uitgescheiden

met de respiratoire secreties. Virusverspreiding gebeurt hoofdzakelijk door direct contact tussen besmette en gevoelige individuen en ook via de lucht over korte afstanden. De uitgebreidheid van de virusvermeerdering en het klinisch verloop worden onder meer bepaald door de mate waarin bij mens of dier antistoffen tegenover het infecterende virus aanwezig zijn. Bij gevoelige individuen veroorzaakt het virus een necrose en een afstoting van de epitheelcellen van de luchtwegen en de deëpithelisatie vormt vaak een ingangspoort voor secundaire bacteriële infecties. Hoewel de virusvermeerdering beperkt blijft tot het ademhalingsstelsel, staan de symptomen van algemeen ziek zijn vaak op de voorgrond. Bij niet-gecompliceerde infecties kan reeds binnen de week herstel optreden, maar toch heeft de ziekte belangrijke economische gevolgen onder de vorm van absentieïsme bij de mens, een verminderde groei bij het varken en slechte sportprestaties bij renpaarden. Voor elk van de drie diersoorten zijn geïnactiveerde influenzavaccins beschikbaar die op een gelijkaardige manier worden geproduceerd en hun effect uitoefenen. Hier worden voor elke diersoort enkel de belangrijkste kenmerken van de circulerende influenzavirussen en van de infectie opgesomd.

Bij de mens circuleren de laatste decennia influenzavirussen van het subtype H1N1 en H3N2. Tijdens de periode 1957-1968 circuleerde het H2N2-subtype, maar dit is nadien uit de menselijke populatie verdwenen. In 2001 en 2002 werd een nieuw subtype, H1N2, aangetoond bij enkele mensen, maar het is voorlopig weinig verspreid en het valt af te wachten of het al dan niet zal verdwijnen. Influenza bij de mens komt vooral voor tijdens het koudere jaargetijde, vandaar de benaming "seizoengriep", en ongeveer om de 3 jaar kan men spreken van een echte griep epidemie. De typische symptomen zijn keelpijn, neusvloeit, soms een bemoeilijkte ademhaling en hoest, maar vooral koorts, vermoeidheid, een verminderde eetlust, hoofdpijn en spierpijn. Subklinische infecties komen echter ook vaak voor. Gezonde mensen herstellen snel van een influenza-infectie en sterfte wordt over het algemeen alleen gezien bij oudere personen (65-plussers) of bij mensen met chronische aandoeningen, zoals diabetici, hart- en nierpatiënten. Daarom wordt aan deze bevolkingsgroepen aangeraden om zich jaarlijks vóór het griepseizoen te laten vaccineren.

In de Europese varkenspopulatie circuleren op dit moment 3 verschillende influenzavirussubtypen: H1N1, H3N2 en H1N2. In landen en streken met een dichte varkenspopulatie zijn de 3 subtypen alle enzoëtisch. Het H1N1-virus is oorspronkelijk afkomstig van wil-

de vogels van waaruit het in zijn geheel naar het varken is overgedragen, en beide andere subtypen zijn ontstaan door reassortering. Dit laatste fenomeen komt bij het varken trouwens meer voor dan bij andere diersoorten en ook de meeste influenzavirussen die circuleren bij varkens in de VS, zijn op deze manier ontstaan. Soms ontstaat een reassortant uit een influenzavirus van het varken enerzijds en een virus van vogels of van de mens anderzijds, maar ook opeenvolgende reassorteringen waarbij virussen van alle drie de diersoorten meespelen zijn geen uitzondering.

Op pathogenetisch en klinisch vlak zijn er vele interessante gelijkenissen tussen influenza bij het varken en bij de mens. Ook de fysiologische gelijkenissen tussen varken en mens maken het varken een zeer geschikt diermodel voor de studie van de ziektemechanismen van influenza bij de mens. Het influenzavirus vermeerdert zich bij het varken in het volledige ademhalingsstelsel, maar vooral dan in de longen. In experimentele studies vindt men reeds binnen de 24 uur na een intratracheale inoculatie van influenzanaïeve biggen virustiters tot  $10^8 - 10^9$  infectieuze doses 50% per gram longweefsel. Deze piek van de virusvermeerdering gaat samen met een massale infiltratie van de bronchiolen met neutrofielen, met koorts, depressie, anorexie en een uitgesproken bemoeilijkt ademhaling met flankenslag. Gelijktijdig worden er in de longen ook hoge hoeveelheden van verschillende pro-inflammatoire cytokinen vrijgesteld, zoals interferon-alfa, tumor necrosis factor-alfa, interleukine-1 en interleukine-6. Deze cytokinen hebben een gekende rol in de pathofysiologie van ontstekingscelinfiltratie, koorts en depressie en ze werden ook bij de mens teruggevonden in neusspoelvocht tijdens het acute, klinisch manifeste stadium van een influenzavirusinfectie. Het is daarom meer dan waarschijnlijk dat de typische "griep"symptomen minstens gedeeltelijk worden gemedieerd door cytokinen.

In de praktijk is influenza één van de belangrijkste oorzaken van acute respiratoire problemen bij het varken. Toch verlopen de meeste infecties met varkensinfluenzavirussen subklinisch. Ook onder experimentele omstandigheden is het verloop mild tot subklinisch indien de virusinoculatie via intranasale weg gebeurt in plaats van direct in de trachea. Na zo'n intranasale inoculatie blijven de virus- en cytokinentiters in de longen minstens 100 maal lager dan na intratracheale inoculatie, wat wijst op het belang van de infectiedruk en de daarmee samenhangende virusproductie in de longen voor het klinisch verloop.

Uit het feit dat bij het varken soms reassortanten tussen influenzavirussen van vogels en van de mens voorko-

men, volgt dat het varken gevoelig is voor zowel humane als aviaire influenzavirussen. In één van de weinige beschikbare experimentele studies werden varkens geïnoculeerd met 38 verschillende influenzavirussen van wilde vogels en 29 daarvan, met hemagglutinesubtypen gaande van H1 tot H13, bleken zich te vermeerderen. Ook in het veld vindt men bij het varken soms influenzavirussen met HA- en/of NA-subtypen die men normaal alleen bij wilde vogels verwacht, zoals H9N2, H4N6, H3N3. Op basis van dergelijke gegevens werd het varken lange tijd beschouwd als een bijna noodzakelijke tussengastheer voor de overdracht van influenzavirussen van vogels naar de mens, maar deze hypothese werd nooit echt bewezen. Bovendien blijven H1N1, H3N2 en H1N2 de enige subtypen die zich echt hebben kunnen handhaven in de varkenspopulatie.

Het paard is gevoelig voor influenzavirussen van het subtype H7N7 en H3N8. Waarschijnlijk circuleert op dit ogenblik alleen nog H3N8, en hiervan bestaat er een "European-like" en een "American-like" antigenen lijn. De influenzavirussen van het paard vertonen minder antigenen drift dan deze van de mens, maar meer dan deze van het varken. Omdat drift vooral plaatsvindt onder druk van antistoffen opgebouwd na vroegere infecties, is het logisch dat dit verschijnsel meer voorkomt bij diersoorten met een langere levensduur. Het virus vermeerdert zich bij het paard eveneens in het epitheel van de bovenste en diepere luchtwegen, met bronchitis, bronchiolitis en interstitiële pneumonie tot gevolg. Volledig gevoelige paarden kunnen hoge koorts ontwikkelen, naast depressie, anorexie, dyspnee en een droge hoest. Secundair bacteriële infecties worden gevreesd omdat ze chronische bronchitis - bronchiolitis en pneumonie kunnen veroorzaken. Vaccinatie wordt bij het paard echter algemeen toegepast waardoor influenza-uitbraken niet zo vaak worden gezien of beperkt blijven in omvang. Omdat het paard geen rol speelt in de transmissie van influenzavirussen naar de mens, wordt er hier weinig aandacht aan besteed.

### Een variabele pathogenese en symptomen bij vogels

Bij een groot aantal wilde vogelsoorten komen allerlei influenzavirussubtypen voor. De meest gevoelige vogels behoren tot de orden van de *Anseriformes* (eenden, ganzen ...) en *Charadriiformes* (steltevogels, alken, sterns, meeuwen ...). Bij deze vogels vermeerdert het virus zich in het epitheel van het ademhalingsstelsel en de darm. Met de feces worden hoge hoeveelheden virus (tot  $10^{8.7}$  egg infectious doses 50% per gram feces van geïnfecteerde eenden) uitgescheiden gedurende een periode van 3 tot 4 weken. Op



verzamelplaatsen van trekvogels kon men influenzavirussen isoleren uit ongeconcentreerde watermonsters van meren en vijvers. Van groot belang is dat deze wilde vogels vrijwel nooit ziek worden tijdens de infectie. Tot voor kort werd slechts één uitbraak beschreven met klinische symptomen, bij sternes in Zuid-Afrika waarbij massale sterfte optrad. Door het migratiegedrag van wilde vogels kunnen ze, als asymptomatische dragers, influenzavirussen over lange afstanden meedragen en via hun uitwerpselen verspreiden naar pluimvee of ook naar het varken. Vooral wilde eenden doen dienst als een soort influenzavirusreservoir voor andere diersoorten. De prevalentie van influenza-infecties bij wilde vogels varieert sterk in verschillende studies en is afhankelijk van de geografische locatie, het soort vogel, de leeftijd en de hiermee samenhangende immuunstatus. In een recent Europees onderzoek werden fecesstalen van 15057 wilde vogels, waaronder eenden, ganzen en meeuwen, onderzocht en 2,3 % van de dieren was positief in de polymerase kettingreactie. Zoals verder uitgelegd is slechts een fractie van de influenzavirussubtypen die bij wilde vogels voorkomen, potentieel gevaarlijk voor andere vogelsoorten.

Ook gedomesticeerde vogels zijn gevoelig voor meerdere influenzavirus subtypen: kippen, kalkoenen, patrijzen, fazanten, kwartels, struisvogels, papegaaiachtigen, zangvogels en vele andere. In de meeste West-Europese landen komen influenzavirussen slechts sporadisch voor bij gevogelte maar ze kunnen eventueel geïntroduceerd worden via wilde vogels. Bij tamme vogels is het ziekteverloop buitengewoon variabel en afhankelijk van verschillende factoren, zoals de virusstam en virusdosis, de vogelsoort, de leeftijd en omgevingsfactoren. Van groot belang is de virulentie van het virus, en men maakt een onderscheid tussen "laagpathogene" en "hoogpathogene" aviaire influenzavirussen. De meeste virusstammen zijn "laag pathogeen" voor pluimvee. De vermeerdering blijft dan meestal beperkt tot het ademhalingsstelsel of de darm zonder of met milde symptomen, en soms gebruikt men ook de benaming "mildpathogeen". De klinische manifestaties worden echter ook bepaald door de vogelsoort en kippen, en vooral kalkoenen behoren tot de meest gevoelige soorten. Deze laatste vertonen vaak ademhalingsstoornissen, sinusitis en depressie. Zware ademhalingsstoornissen en sterfte worden vooral gezien in geval van secundair bacteriële infecties.

Alleen bepaalde influenzavirussen met een hemagglutinine van het subtype H5 of H7 kunnen "hoogpathogeen" zijn voor pluimvee. De virusver-

meerdering blijft dan niet beperkt tot het ademhalingsstelsel en de darm, maar het virus verspreidt zich via het bloed naar verschillende interne organen en naar de hersenen. In verschillende inwendige organen, het cardiovasculair en het zenuwstelsel kunnen ernstige ontstekingsletsels en necrose ontstaan. Mogelijke symptomen zijn verminderde voer- en wateropname, zenuwstoornissen, depressie, legdaling, respiratoire en spijsverteringsstoornissen. Vooral bij kippen en kalkoenen kan de mortaliteit 100% bedragen. In bepaalde gevallen verloopt de infectie zo acuut dat sterfte zonder voorafgaande klinische symptomen optreedt. Deze veralgemeende infectie met een duidelijk zeer agressief virus wordt "vogelpest" genoemd. Toch zijn bepaalde vogelsoorten veel minder gevoelig. Zo veroorzaken hoogpathogene virussen slechts uitzonderlijk ziekte bij tamme eenden of bij wilde vogels. Ook duiven zijn duidelijk vrij resistent tegenover infectie in vergelijking met andere vogelsoorten. Virusexcretie gebeurt via de respiratoire secreties en vooral via de feces en kan gemakkelijk 3 tot 4 weken aanhouden. De overdracht van het virus kan plaats vinden door direct contact tussen besmette en niet-besmette dieren, maar ook indirect, vooral via voorwerpen die gecontamineerd zijn met mest van besmette dieren, zoals laarzen of transportmiddelen. Vogelpest is een aangifteplichtige aandoening die voorkomt op lijst A van de wereldorganisatie voor diergezondheid (OIE). Hoewel er vaccins tegen H5- en H7-virussen bestaan, werd er in Europa om verschillende redenen gekozen voor een non-vaccinatiebeleid.

Men heeft tegenwoordig reeds veel inzicht in de genetische basis van de virulentie van H5- en H7-influenzavirussen voor pluimvee. Van cruciaal belang daarbij is de aminozuursequentie ter hoogte van de "cleavage site", de splitsingsplaats of breukzone van het hemagglutinine dat op het virus voorkomt als een precursor eiwit, het HA0. Dit HA0 moet door proteasen van de gastheer gesplitst worden in een HA1- en een HA2-gedeelte alvorens het functioneel wordt en de viruspartikels infectieus zijn. Laagpathogene aviaire influenzavirussen hebben op deze splitsingsplaats een enkel basisch aminozuur (arginine), zodat de splitsing alleen kan gebeuren door trypsineachtige enzymen die voorkomen in het ademhalingsstelsel en in de darm. Hierdoor is het virus niet in staat om zich buiten deze organen te begeven en verloopt de infectie mild. Hoogpathogene aviaire influenzavirussen bezitten daarentegen multiële basische aminozuren (arginine en lysine) op de splitsingsplaats. Bijgevolg kan de splitsing van het HA0 bewerkt worden door al-

gemeen voorkomende gastheerproteasen, waarvan furine waarschijnlijk één van de belangrijkste is, en kan het virus zich vermeerderen in alle vitale organen. Nochtans zijn ook laagpathogene H5- of H7-virussen potentieel gevaarlijk voor pluimvee omdat ze door insertie of substitutie van slechts enkele nucleotiden kunnen muteren naar de hoogpathogene vorm. Men heeft ook duidelijke aanwijzingen dat uitbraken van hoogpathogeen H5 of H7 bij pluimvee vooral voorkomen nadat de dieren eerst geïnfecteerd werden met een laagpathogeen virus van hetzelfde subtype van wilde watervogels. Deze overdracht is mogelijk wanneer pluimvee direct of indirect in contact komt met de feces van besmette wilde vogels. De huidige opvatting is dat de mutatie pas gebeurt nadat het virus kortere of langere tijd circuleert bij pluimvee. Uit dit alles volgt dat de kans op uitbraken van vogelpest verhoogt naarmate pluimvee meer mogelijkheden tot contact met uitwerpselen van wilde vogels heeft.

Tegenwoordig worden de benamingen “vogelgriep”, “aviaire influenza” en “vogelpest” door mekaar en niet altijd in de juiste betekenis gebruikt. De eerste twee termen hebben een brede betekenis en verwijzen naar een infectie van vogels met om het even welk influenzavirus, ook laagpathogene stammen. Zoals hogervermeld bedoelt men met “vogelpest” de klinisch zeer ernstige en veralgemeende infectie van pluimvee met een hoogpathogeen H5- of H7-influenzavirus. In de pers wordt dit soms ook aangeduid als “de gevaarlijke variant van het vogelgriepvirus”.

## HET HOOGPATHOGENE H5N1-INFLUENZAVIRUS BIJ PLUIMVEE IN AZIË

### Chronologie van H5N1 in Azië

Een hoogpathogeen H5N1 aviair influenzavirus werd eigenlijk reeds in 1996 aangetroffen bij zieke tamme ganzen in het zuiden van China. In 1997 veroorzaakte het H5N1-virus een eerste meer ernstige uitbraak bij pluimvee in Hong Kong. Ook 18 mensen werden door besmet pluimvee geïnfecteerd en 6 van hen stierven. Tot vóór die tijd waren er bijna geen gedocumenteerde gevallen van directe influenzavirus-overdracht van vogels naar de mens en deze bevinding was dus in strijd met de klassieke hypothese dat zo'n overdracht bij voorkeur via het varken als tussengastheer gebeurt. Anderhalf miljoen kippen en andere vogels werden toen zeer snel opgeruimd zodat het virus werd uitgeroeid in Hong Kong. Uit virologisch onderzoek is echter gebleken dat hoogpathogene

H5N1-virussen gedurende de volgende jaren uitgebreid zijn blijven circuleren bij ganzen, eenden en andere tamme watervogels in Zuid-China, al dan niet met klinische symptomen. Men vermoedt dat met H5N1-besmette, maar klinisch gezonde tamme eenden een belangrijke rol hebben gespeeld in huidige H5N1-epidemie. In dit opzicht verschilt de huidige vogelpestuitbraak dus van de meeste voorgaande uitbraken, waarbij laagpathogene H5- of H7-virussen van wilde eenden naar pluimvee zijn overgegaan en pas na passage bij pluimvee gemuteerd zijn naar de hoogpathogene vorm.

In december 2003 en januari 2004 werden uitbraken met H5N1 vrijwel gelijktijdig gerapporteerd bij pluimvee in 8 verschillende Aziatische landen: China, Cambodja, Indonesië, Japan, Korea, Laos, Thailand en Vietnam. Maleisië vervoegde de lijst in augustus 2004. De voorbije maanden werden er ook haarden van H5N1 gemeld op pluimveebedrijven in Rusland en Kazachstan. Zeer recent waren er enkele gevallen in Turkije, Roemenië en Kroatië.

Hoewel er sinds 1959 op wereldvlak 24 uitbraken van hoogpathogene aviaire influenza bij pluimvee waren, wekt de huidige uitbraak om 3 redenen meer ongerustheid. In de eerste plaats is de geografische verspreidheid en de grootschaligheid van deze uitbraak nooit gezien. Er zijn alleszins reeds meer dan 150 miljoen stuks pluimvee in Azië gestorven of opgeruimd en het blijft gissen naar het exacte aantal. Ondanks talrijke pogingen tot bestrijding is de situatie in de meeste Aziatische landen niet onder controle en het H5N1-virus is in grote gebieden enzoötisch bij pluimvee. Een tweede uniek feit is dat het hoogpathogene Aziatische H5N1-virus ook bij wilde vogels infectie, ziekte en sterfte kan veroorzaken. In één van de grootste natuurreservaten in het westen van China zijn in 2005 naar schatting meer dan 1000 wilde vogels, vooral ganzen en ook meeuwen, gestorven aan een infectie met H5N1. Tot voor kort wezen alle gegevens erop dat wilde vogels alleen dragers zijn van laagpathogene H5- of H7-influenzavirussen, en dat de zeldzame infecties met hoogpathogene virussen bij wilde vogels gewoonlijk asymptomatisch blijven. Doordat het virulente H5N1-virus bij pluimvee in sommige Aziatische landen zodanig sterk verspreid is, heeft er een soort “spill over” naar de wilde vogelpopulatie plaats gegrepen. De introductie van het H5N1-virus in Rusland en in Kazachstan wordt toegeschreven aan de migratie van besmette wilde vogels vanuit China maar dit werd nooit echt bewezen. In West-Europa werden maatregelen genomen om de mogelijkheden tot contact tussen wilde en tamme vo-

gels te verminderen, zoals de ophokverplichting, om zo de kans op insleep van het virus minimaal te houden. Het moet echter duidelijk worden gesteld dat de rol van wilde vogels in de verspreiding van het hoogpathogene H5N1-virus voorlopig onbekend blijft. Het is bijvoorbeeld onduidelijk of de met H5N1-geïnfecteerde en meestal zieke wilde vogels nog in staat zijn om zich ver te verplaatsen. Een derde belangrijk feit is dat het H5N1-virus vanuit besmet pluimvee kan overgaan naar de mens en dat de mortaliteit bij de mens ongeveer 50% bedraagt.

### H5N1 bij de mens: een reden tot ongerustheid?

Voorlopig blijft het een mysterie waarom het H5N1-virus ook voor de mens zo buitengewoon virulent is. Het is alleszins duidelijk dat de besmetting via het ademhalingsstelsel gebeurt en dat het virus zich hoofdzakelijk in de diepere luchtwegen vermeerderd, met name in type II-pneumocyten in de longen. Soms wordt ook viraal RNA teruggevonden in de darm, maar de betekenis hiervan is nog onduidelijk en er is zeker geen veralgemeende infectie zoals bij pluimvee. De meeste gevallen van H5N1 werden gediagnosticeerd bij kinderen en jonge volwassenen. Koorts en influenza-achtige stoornissen van de diepere luchtwegen zijn de voornaamste symptomen. Spijsverteringsstoornissen en symptomen die wijzen op een aantasting van de bovenste luchtwegen worden slechts bij een beperkt aantal patiënten gezien. Sterfte treedt over het algemeen 8 tot 13 dagen na de eerste symptomen op, door progressieve respiratoire insufficiëntie die vaak wordt vergezeld van secundaire sepsis en multi-orgaan falen. Vrijwel alle patiënten ontwikkelen een primaire virale pneumonie en het histopathologisch onderzoek van de longen toont dif-

fuse alveolaire longschade. *In vitro*-onderzoeken en een beperkt aantal onderzoeken bij H5N1-patiënten suggereren dat hoogpathogene H5N1 virussen bij de gastheer een veel meer uitgesproken en langdurige productie van pro-inflammatoire cytokinen bewerkten dan “gewone” humane H1N1- en H3N2-influenzavirussen. Een overproductie van cytokinen, zoals tumor necrosis factor-alfa, interleukine-1 beta, interleukine-6 en verschillende interferonen zou dus een gedeeltelijke verklaring kunnen bieden voor de ernstige kliniek en longpathologie.

Toch moet ook worden gewezen op het relatief geringe aantal gevallen van H5N1 bij de mens in vergelijking met het aantal infecties bij pluimvee. Inderdaad, over een periode van 2 jaar werden slechts 133 gevallen bij de mens waargenomen en dit in minder dan de helft van de Aziatische landen met besmet pluimvee (Tabel 1). De meeste gevallen kwamen voor in Thailand en Vietnam, waar ook de infectie bij pluimvee het meest verspreid is. In alle gevallen ging het over mensen die intensief contact hadden met besmet pluimvee. Eén van de belangrijkste bevindingen is bovendien dat het virus voorlopig niet van mens tot mens wordt overgedragen. Alle gegevens wijzen erop dat het virus zich zeer moeilijk vermeerderd in het ademhalingsstelsel van de mens en dat het aanzienlijke genetische wijzigingen zou moeten ondergaan om zich vlot tussen mensen te kunnen spreiden. Dit zijn slechts enkele redenen waarom vele virologen het weinig waarschijnlijk achten dat H5N1 zich tot een pandemisch influenzavirus voor de mens zou ontwikkelen. Doemscenario's over 60 tot 120 miljoen doden wereldwijd zijn dan ook eerder gebaseerd op hypothesen en schattingen dan op wetenschappelijk gefundeerde gegevens. Het staat buiten twijfel dat er in de nabije of verre toekomst nog een influenzapandemie

**Tabel 1. Bevestigde gevallen van H5N1 aviaire influenza bij mensen in Azië (Bron: Wereldgezondheidsorganisatie, 29 november 2005).**

Plaats	Jaar	Aantal mensen	
		geïnfecteerd	Gestorven
Vietnam	2003-04-05	93	42
Thailand	2003-04-05	21	13
Cambodja	2005	4	4
Indonesië	2005	12	7
China	2005	3	2
Totaal	2003-04-05	133	68

aankomt, maar er is weinig kans dat deze zal worden veroorzaakt door een virus met een H5. Men vergeet vaak dat slechts 3 verschillende hemagglutinenen (H1, H2, H3) en 2 neuraminidasen (N1, N2) betrokken waren bij de pandemieën van de afgelopen eeuw en het blijft nog de vraag of andere subtypen zich ooit voldoende zullen kunnen aanpassen aan de mens.

De minimale kans dat het H5N1-virus zich toch aan de mens zou aanpassen, wordt uiteraard wel groter naarmate het virus sterker verspreid is bij het pluimvee omdat dit samenhangt met het aantal gevallen bij de mens. Daarom moet in de eerste plaats de infectie bij pluimvee met alle mogelijke middelen bestreden worden. Verder is het ook essentieel om na te gaan of naast de mens andere zoogdiersoorten gevoelig zijn voor H5N1 en dus een mogelijk risico vormen in de verspreiding van het virus. Andere H5N1-gevoelige diersoorten zijn het varken en katachtigen. Hun mogelijke rol wordt hieronder besproken.

### H5N1 bij het varken

Het varken is één van de weinige zoogdiersoorten, naast zeehonden, walvissen en nertsen, waarbij in de natuur soms influenzavirussen voorkomen die volledig van aviaire oorsprong zijn. In vergelijking met deze andere diersoorten vormt het varken een meer waarschijnlijke besmettingsbron voor de mens. In Vietnam, één van de landen waar H5N1 het hardst heeft toegeslagen, werd daarom serologisch onderzoek gedaan bij varkens met de bedoeling na te gaan of ze onder natuurlijke omstandigheden met het H5N1-virus kunnen geïnfecteerd worden. Drieduizendhonderdvijfenzeventig sera werden verzameld in 3 verschillende slachthuizen gedurende de periode september 2003 – juni 2004. Een zeer klein aantal van de onderzochte dieren (0,25%) had antistoffen tegen H5N1 in de virusneutralisatietest. Vervolgens werden in een beperkte experimentele studie 4 biggen intranasaal geïnoculeerd met 4 verschillende H5N1-isolaten uit Thailand of uit Vietnam. Lage hoeveelheden virus werden geïsoleerd uit neusswabs gedurende de eerste 3 of 4 dagen na de inoculatie en ook uit de tonsillen, trachea en longen van de meeste biggen na euthanasie op dag 6. Er werd geen virus geïsoleerd uit de darm, het bloed, de milt of de nieren, zodat men veronderstelt dat de H5N1-infectie bij het varken beperkt blijft tot de luchtwegen. Ondanks het buitengewoon virulent karakter van het virus voor pluimvee werden bij het varken enkel een licht verhoogde lichaamstemperatuur en een milde tot matige interstiële pneumonie opgemerkt. Bovendien bleek het H5N1-virus niet in staat om zich vanuit de geïn-

culeerde biggen te spreiden naar gevoelige contactdieren.

Het gedrag van dit hoogpathogene H5N1-virus bij het varken vertoont merkwaardige gelijkenissen met dit van het H7N7-virus dat in 2003 een uitbraak van vogelpest veroorzaakte bij pluimvee in Nederland. Ook dit H7N7-virus had zich in het veld verspreid naar een beperkt aantal mensen en varkens, en de gevoeligheid van het varken werd eveneens bevestigd in experimentele studies. Varkens met antistoffen tegen het H7N7-virus werden alleen aangetroffen op 13 van de 43 onderzochte gemengde bedrijven met varkens en besmet pluimvee en niet op gemengde bedrijven waar het pluimvee preventief werd opgeruimd of op gewone varkensbedrijven. Op de 13 H7N7-besmette gemengde bedrijven was gemiddeld 13,8% van de onderzochte varkens positief en bij een nieuw onderzoek één maand later bleek dat het virus zich niet verder had verspreid in de varkenspopulatie. Na een experimentele intranasale inoculatie van SPF-biggen met het H7N7-virus was de virusexcretie zeer kortdurend en wisselvallig. Er waren in het geheel geen klinische symptomen en, net zoals voor het H5N1-virus, was er geen virusoverdracht naar gevoelige contactdieren.

Op basis van deze beperkte gegevens kunnen we stellen dat nauw contact met besmet pluimvee of blootstelling aan een zeer hoge virusdosis vereist is voor infectie van het varken met hoogpathogene aviaire influenzavirussen. Zowel in Azië als in Nederland vormde besmet pluimvee de bron van infectie voor het varken én voor de mens. In tegenstelling tot wat vroeger werd aangenomen, zijn er geen aanduidingen dat het varken meer gevoelig zou zijn voor hoogpathogene aviaire influenzavirussen dan de mens, of dat het varken een noodzakelijke tussengastheer is tussen vogel en mens. Het is zelfs goed mogelijk dat hoogpathogene aviaire influenzavirussen zich bij de mens en bij het varken sterk gelijkaardig gedragen.

Een scenario dat vaak wordt gevreesd, is dat er bij het varken een reassortant zou ontstaan tussen H5N1 en een “gewoon” griepvirus van de mens. Dit zou kunnen leiden tot een nieuw virus met het H5-hemagglutinine én met de eigenschap om zich vlot van mens tot mens te spreiden, wat bij het huidige H5N1-virus duidelijk niet het geval is. Vaak ziet men echter over het hoofd dat er bij elke reassortering 256 mogelijke combinatievirussen kunnen ontstaan met sterk verschillende biologische eigenschappen. Pas recent is men gestart met *in vitro*-onderzoek naar mogelijke reassortanten tussen H5N1 en menselijke griepvirussen. Hieruit moet blijken welke reassortanten on-



schuldig of niet levensvatbaar zijn en welke genetische veranderingen mogelijk problematisch kunnen zijn voor de mens. In theorie kan reassortering ook gebeuren bij de mens of bij andere diersoorten. Om deze reden wordt trouwens aan mensen die beroepshalve te maken hebben met pluimvee of varkens aangeraden om zich te laten vaccineren tegen de seizoengriep. Hoewel de vaccinatie niet beschermt tegen het H5N1-virus, vermindert ze sterk de kans op een gelijktijdige infectie met een menselijk griepvirus en H5N1, en dus ook de mogelijkheid van reassortering. De kans op reassortering is echter veruit het hoogst bij het varken, omdat bij dit dier de prevalentie van infecties met "gewone" griepvirussen het jaar rond bijzonder hoog is. Bij het varken komen soms ook laagpathogene aviaire influenzavirussen voor en meer inzicht in de overlevingskansen, pathogenese en transmissie van dergelijke virussen bij het varken is wenselijk om het risico voor de volksgezondheid beter te kunnen inschatten.

### H5N1 bij tijgers en katten

Reeds in december 2003, bij het begin van de H5N1-epidemie in Azië, stierven 2 tijgers en 2 luipaarden in een zoo in Thailand aan een infectie met H5N1, nadat ze hoge koorts en ademhalingsproblemen hadden vertoond. Het virus werd aangetoond in de longen, in het alveolair en bronchiolair epitheel, en alle dieren hadden erge longconsolidatie en pneumonie. Daarnaast waren er bloedingen in verschillende organen en 2 van de 4 dieren hadden encefalitis.

Ongeveer een jaar later, in oktober 2004, was er een H5N1-uitbraak in de grootste tijgerzoo van Thailand. Hierbij zijn 147 van de 441 tijgers gestorven of geëuthanaseerd. De meest voorkomende symptomen waren koorts, een bemoeilijkte ademhaling, bloederige neusvloeit en sommige tijgers hadden ook zenuwstoornissen. Het virus werd niet alleen teruggevonden in het bronchiolair epitheel, maar ook in hepatocyten en in neuronen in de hersenen. Het (histo)pathologisch onderzoek toonde stuwings- en bloedingen in de longen, longoedeem, meningo-encefalitis en necrotiserende hepatitis.

In beide gevallen was het voederen van rauwe, H5N1-besmette kippenkarkassen hoogstwaarschijnlijk de oorzaak van de infectie bij de tijgers, maar het is niet zeker of het virus zich ook in het maagdarmkanaal heeft vermeerderd. Tijdens de tweede, meer grootschalige uitbraak werd ook nagegaan of het H5N1-virus zich had verspreid naar andere dieren of mensen in nauw contact met de tijgers. Er waren geen aanwijzingen voor infecties met H5N1 bij andere dieren in de zoo of bij 11 wilde vogelsoorten in de omge-

ving. Van de 58 onderzochte mensen vertoonden er slechts 2 een seroconversie tegen H5N1, zonder symptomen.

Bij gewone huiskatten in Vietnam werd een enkele keer melding gemaakt van mogelijke, maar niet-bevestigde infecties met H5N1. Dit zette Prof. Osterhaus, Nationaal Influenza Centrum in Rotterdam, en zijn medewerkers ertoe aan om experimentele infecties bij katten uit te voeren met een H5N1-isolaat uit Vietnam. Zowel intratracheale inoculatie als het voederen van H5N1 besmette kuikens aan de katten resulteerde in klinische symptomen, virusexcretie in keelwabs en longpathologie. De intratracheaal geïnoculeerde katten bleken ook in staat om op hun beurt gevoelige contactkatten te infecteren. Voorlopige gegevens wijzen erop dat het H5N1-virus bij katten niet alleen vermeerderd in de longen maar een veralgemeende infectie veroorzaakt, wat overeenkomt met de bevindingen bij tijgers.

Het is alleszins merkwaardig dat het H5N1-virus bij katachtigen, die vrijwel niet gevoelig zijn voor "gewone" humane influenzavirussen, een sterke pathogeniteit vertoont en een ander tropisme dan bij mensen of varkens. Er is nog verder onderzoek nodig naar de pathogenese van H5N1 bij de kat en naar het voorkomen van het virus bij katten onder natuurlijke omstandigheden. Voorlopig werd nog niet bewezen dat katten een rol kunnen spelen in de verspreiding van het H5N1-virus, maar deze mogelijkheid is zeker niet uitgesloten.

### BESLUITEN EN BESCHOUWINGEN

H5N1 is en blijft in de eerste plaats een probleem van gevogelte en op dit ogenblik is het virus alleen in Azië sterk verspreid. In de Balkan lijkt de situatie onder controle. West-Europa blijft voorlopig vrij van H5N1 en het valt niet te voorspellen of het virus er in de komende maanden zal opduiken. Het Aziatische H5N1-virus is het eerste hoogpathogene influenzavirus uit de geschiedenis dat van pluimvee opnieuw naar wilde vogels is overgegaan. Hierdoor is er een sterke vrees dat trekvogels uit Centraal-Azië het virus naar onze streken zouden verspreiden. Er is echter evenveel en waarschijnlijk zelfs meer kans dat H5N1 met (verboden) transporten van levend pluimvee zou meekomen en sommige argumenten minimaliseren de mogelijke rol van trekvogels. Zo is het onzeker of geïnfecteerde vogels nog in staat zijn om over lange afstanden te migreren. Volgens ornithologen zouden de belangrijkste trekvogelroutes van vogels uit Azië en Rusland niet boven België lopen. Bovendien zijn



de eerste resultaten van de screening van wilde vogels in België geruststellend. In geen enkel van de meer dan 560 onderzochte fecesstalen werd een H5- of H7-influenzavirus gevonden. Eén eend was positief voor een H3-influenzavirus, dat geen enkel bedreiging vormt voor pluimvee of voor de volksgezondheid. In ons land heeft het FAVV verschillende maatregelen opgelegd om de kans op introductie van H5N1 in de Belgische pluimveestapel minimaal te houden. Indien in België toch haarden van H5N1 zouden voorkomen, valt te verwachten dat deze snel zullen worden opgespoord en ingedijkt.

Onder bepaalde omstandigheden kan het H5N1-virus ook varkens, tijgers en katten infecteren. Voorlopig zijn er geen aanwijzingen dat deze diersoorten een rol hebben gespeeld in de verspreiding van het virus naar de mens of naar andere dieren. Onze kennis over de pathogenese van H5N1 bij huisdieren is echter nog te summier om een goed gefundeerde risicoanalyse te kunnen maken. Er is in dit verband duidelijk nood aan experimenteel onderzoek naar de factoren die bepalend zijn voor de replicatie-efficiëntie van aviaire influenzavirussen bij zoogdieren, de verspreiding tussen zoogdieren en de virulentie bij zoogdieren. Influenzasurveillance in het veld zou moeten gebeuren bij alle gevoelige huisdieren, zodat men hoogte krijgt van de virussubtypen en varianten die circuleren bij verschillende diersoorten in verschillende werelddelen. Bij het varken werd in 2000 voor het eerst gestart met een "Europees Surveillance Netwerk voor influenza bij het varken" met de steun van de Europese Commissie (ESNIP, QLK2-CT-2000-01636). Deze "co-ordination action" wordt nu niet alleen verlengd, maar ook virologen uit de VS en Hong Kong zullen hierbij betrokken worden.

Tenslotte kan niet genoeg worden benadrukt dat de kans op een H5N1-pandemie bij de mens bijzonder klein blijft. Het H5N1-virus verspreidt zich uiterst moeizaam van het pluimvee naar de mens en waarschijnlijk in het geheel niet tussen mensen. Gedurende de 8 jaren dat het virus circuleert in Zuidoost-Azië, heeft het nog geen humane of andere genen verworven die het zouden kunnen toelaten om zich beter te verspreiden in de menselijke populatie. De angst voor een H5N1-pandemie die momenteel onder de bevolking leeft, werd gecreëerd en is in stand gehouden door de media, wetenschappers en volksgezondheidsinstellingen. Natuurlijk kan niemand de evolutie van een influenzavirus voorspellen en het is begrijpelijk dat beleidsmakers en politici niet gewoon willen afwachten

maar voorbereid willen zijn op het ergste. Het is echter twijfelachtig of de gigantische uitgaven die in 2005 in alle Europese landen werden gedaan in het kader van nationale pandemiebestrijdingsplannen nodig zullen zijn en mogelijk zal dit uiteindelijk tot cynisme en apathie leiden bij een deel van de bevolking. Het staat wel vast dat de bestrijding van H5N1 bij pluimvee de allerbeste strategie is om een mogelijke pandemie af te wenden. In die zin kan men zich afvragen of de 7.1 biljoen dollar die door de Amerikaanse regering worden vrijgemaakt voor "pandemic preparedness" niet beter gedeeltelijk zouden worden besteed op het terrein in landen zoals Thailand, Vietnam, Cambodja en Indonesië.

Indien het H5N1-virus toch de capaciteit zou verwerven om zich vlot tussen mensen te verspreiden, bevinden we ons in de 21<sup>ste</sup> eeuw alleszins in een betere positie dan tijdens de voorgaande influenzapandemieën. De "Spaanse griep" pandemie van 1918 heeft inderdaad tussen de 20 en 40 miljoen doden geëist, maar in die tijd was de virologie nog onontgonnen terrein en men had geen kennis van de eigenschappen van de ziekteverwekker, laat staan van de mogelijkheden om deze te bestrijden. Op dit moment bestaan er antivirale geneesmiddelen, de neuraminidase-inhibitoren, met een brede werking tegenover verschillende influenzavirussen en deze zullen allicht de verspreiding van een pandemisch influenzavirus bij een deel van de wereldbevolking kunnen tegengaan. De beste bescherming blijft uiteraard een vaccin en hoewel de huidige influenzavaccins niet zullen beschermen tegenover een nieuw pandemisch virus, beschikken we over de technologie om snel een vaccin tegenover een nieuw virus te maken. In tegenstelling tot in 1918 is de bevolking nu niet verzwakt door een jarenlange oorlog. In grote delen van de wereld zijn er een goede basisgezondheidszorg en hygiëne en er bestaan antibiotica om secundair bacteriële infecties te bestrijden. Alleen al om deze redenen gaat de vergelijking tussen 1918 en toekomstige influenza pandemieën niet op.

#### NUTTIGE WEBSITES

- www.influenza.be: Site van het Interministerieel Commissariaat Influenza met informatie over de gewone wintergriep, de vogelgriep en een eventuele pandemie
- www.favv.be : Site van het voedselagentschap met dossier aviaire influenza
- www.health.fgov.be: Site van de FOD volksgezondheid, veiligheid van de voedselketen en leefmilieu