

Aus dem
Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Studien zur Prävalenz von Antikörpern gegen das
Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus bei Wildtieren und Hunden
im Freistaat Sachsen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr.med.vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Anneliese Katrin Balling
aus Karlsruhe

Leipzig, 2015

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Manfred Coenen

Betreuer: Prof. Dr. Martin Pfeffer

Gutachter: Prof. Dr. Martin Pfeffer, Institut für Tierhygiene und
Öffentliches Veterinärwesen, Universität Leipzig, Leipzig

Prof. Dr. Matthias Niedrig, Robert Koch Institut, Berlin

Tag der Verteidigung: 7. Juli 2015

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	2
2.1 Klassifikation, Taxonomie und geschichtlicher Hintergrund.....	2
2.2 Aufbau des FSMEV	4
2.3 Epidemiologie.....	5
2.4 Übertragungswege	8
2.4.1 Zeckenstich.....	8
2.4.2 Alimentärer Infektionsweg.....	10
2.5 Rolle verschiedener Spezies als Wirte der FSME.....	11
2.6 Pathogenese	13
2.7 Klinik beim Menschen	14
2.8 Klinik bei Tieren	15
2.8.1 Wild	15
2.8.2 Hund	15
2.8.3 Weitere Tierarten.....	17
Pferd	17
Mufflon.....	17
Affe	17
Ziege	17
2.9 Diagnose	18
2.10 Prävalenzstudien	20
2.10.1 Wild	20
2.10.2 Hund	21
2.10.3 Weitere Tierarten.....	22
Pferd	22
Mäuse	22
Zecken	22
Füchse.....	23
Ziegen	24
Schafe	24
Rinder	24
Vögel.....	25

2.11 Vorbeugung und Kontrolle	26
2.11.1 Impfung beim Menschen	26
2.11.2 Impfung bei Tieren	27
2.12 Sachsen.....	29
3 Veröffentlichung 1.....	30
4 Veröffentlichung 2.....	42
5 Gemeinsame Diskussion und Schlussfolgerung	55
6 Zusammenfassung.....	59
7 Summary.....	61
8 Referenzen	63
Literaturverzeichnis.....	63
Abbildungsverzeichnis.....	71
Tabellenverzeichnis	71
9 Danksagung	72

Abkürzungsverzeichnis

AK= Antikörper

ELISA= Enzyme-linked-immunosorbent Assay

FSME = Frühsommer-Meningoenzephalitis

FSMEV= Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus

HAI= Haemagglutination inhibition test

PCR= polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)

p.i.= post infectionem

PRNT= Plaque-Reduktions-Neutralisationstest

RKI= Robert-Koch-Institut

RT-PCR= Reverse transcription-polymerase chain reaction (Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion)

SNT= Serumneutralisationstest

TBE= Tick-Borne-Encephalitis

TBEV= Tick-Borne-Encephalitis-Virus

VIEU= Vienna units

ZNS= Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSMEV) zählt europaweit zu den bedeutendsten von Zecken übertragenen Erregern und ist verantwortlich für mehrere tausend Tote jedes Jahr. Das Virus zählt zum Genus *Flavivirus* innerhalb der Familie der *Flaviviridae* und kommt in drei Subtypen vor: Der westliche Subtyp (European TBE) tritt vor allem in Zentraleuropa auf und hat eine Mortalitätsrate zwischen 0,5 und 2%. Der sibirische Subtyp (Siberian TBE) findet sich vor allem im Baltikum und dem Gebiet der damaligen UDSSR. Zusätzlich gibt es den fernöstlichen Subtyp (Far Eastern TBE), der vor allem im östlichen Sibirien und Fernost-Asien gefunden wird. Somit erstreckt sich das Gebiet, in dem das FSME-Virus vorkommt von Ost-Frankreich bis hin zu Japan und von Italien bis nach Skandinavien (DOBLER et al. 2012).

Auch in Deutschland gibt es jährlich zwischen 200 und 550 Fälle beim Menschen, wobei im Jahr 2013 83,8% hiervon auf die südlichen Bundesländer Baden-Württemberg und Bayern fielen (RKI 2014). Die Einteilung der Stadt- und Landkreise in Risiko- und Nicht-Risikogebiete erfolgt mithilfe einer Falldefinition des Robert-Koch-Instituts. Dabei wird ein Kreis als Risikogebiet gewertet, wenn in einem Fünf-Jahresintervall die Inzidenz von einem Fall pro 100.000 Einwohnern pro Jahr überschritten wird. Risikogebiete existieren in ganz Baden-Württemberg bis auf den Stadtkreis Heilbronn, in großen Teilen Bayerns, so wie in vereinzelt Kreisen in Südthüringen, Südhessen und seit April 2014 auch in Sachsen mit dem Vogtlandkreis als erstem sächsischen FSME-Risikogebiet (RKI 2014). Im restlichen Sachsen werden nur sporadische Fälle gemeldet, die eine genaue Bestimmung möglicher Endemiegebiete nicht erlauben. Die Einstufung der Kreise in Risikogebiete anhand der humanen Fallzahlen wird von verschiedenen Seiten problematisch gesehen, da zum einen eine Erkrankung oft unbemerkt verläuft und zum anderen der Mensch aufgrund seiner möglichen Impfanamnese als Surrogatmarker ungeeignet erscheint.

In diesem Zusammenhang wird nach neuen Methoden gesucht, anhand welcher eine Klassifizierung der Risikogebiete erfolgen kann. Das Suchen nach Virus-infizierten Zecken hat sich als Suche nach der Nadel im Heuhaufen erwiesen. Die Ermittlung von Seroprävalenzraten von Antikörpern gegen das Virus bei verschiedenen Tierarten wurde schon mehrfach diskutiert. Um genauer zu beleuchten, in wie weit sich das Virus im Freistaat finden und sich der Status als Nicht-Risikogebiet bestätigen lässt, haben wir zwei Studien in Sachsen initiiert, in der Wildtiere und Hunde als mögliche Sentineltiere für das Vorkommen des Virus fungieren. Unsere Studien sollten neue Argumente liefern und eine mögliche Hilfestellung bieten, in Zukunft anhand derartiger Daten den Status quo der Landkreise im Hinblick auf die FSME zu ermitteln und zu beschreiben.

2 Literaturübersicht

2.1 Klassifikation, Taxonomie und geschichtlicher Hintergrund

Die ersten Aufzeichnungen über das Erscheinen der FSME-Erkrankung finden sich aus dem 18. Jahrhundert auf den Åland Inseln in Finnland. Die Erstbeschreibung fand 1931 durch den österreichischen Arzt Schneider statt, weswegen die Krankheit auch „Schneidersche Krankheit“ genannt wird (DUMPIS et al. 1999). Dabei traten in Neunkirchen vermehrt Fälle bei Menschen auf, die ähnlich ausgeprägte neurologische Auffälligkeiten aufgrund einer Entzündung des Gehirns und der Hirnhäute zeigten. 1937 isolierte Zilber erstmals das Virus als Verursacher der Krankheit in der Sowjetunion (DUMPIS et al. 1999). Zwischen den Jahren 1937 und 1939 wurden vom Russischen Gesundheitsministerium drei aufeinanderfolgende Expeditionen in den Fernen Osten durchgeführt, um herauszufinden, was die Ursache für schwere Ausbrüche von Meningoenzephalitiden, der sogenannten „Taiga-Enzephalitis“, ist. Diese grassierte schon seit 1914, wurde aber ab 1933 immer häufiger beobachtet. Die Forschungsreise ergab, dass diese durch ein Virus verursacht wurde und dass die Zecke *Ixodes persulcatus* der Hauptüberträger war (ZILBER 1939, CHUMAKOV und ZEITLENOK 1940). 1939 wurde von Pavlovsky erstmals die Übertragung zwischen Zecke und Säugetier beschrieben (DUMPIS et al. 1999).

Im europäischen Teil von Russland war die Krankheit seit 1898 bekannt, der erste europäische Ausbruch fand 1942 bis 1943 an der Wolchow-Front unter Soldaten statt. Hierbei wurde aus *Ixodes ricinus* der sibirische Subtyp isoliert. Im Jahr 1943 gelang die erste Isolation des westlichen Subtyps aus menschlichem Gewebe und aus *Ixodes ricinus* durch Zilber in Weißrussland. Im Jahre 1957 isolierten Moritsch und Krausler das Virus dort und erkannten damit die FSME als Ursache für die Erkrankungsfälle. Die erste Virusisolation in Zentral- oder Westeuropa gelang jedoch 1948 in der Tschechoslowakei durch Gallia. Dort fanden mehrere Ausbrüche in Böhmen und Mähren (Morawien) statt. Die erstmalige Virusisolation und –charakterisierung in Deutschland wurde 1995 durch Sinnecker erfolgreich durchgeführt (HELLENBRAND und POGGENSEE 2007).

Das FSME-Virus gehört zum Genus *Flavivirus* (lat. flavus = gelb) in der Familie der *Flaviviridae*. Der Tick-Borne-Encephalitis (TBE)-Komplex umfasst hierbei neben dem FSMEV und seinen drei Subtypen auch das Langatvirus, das Louping-ill-Virus, das Negishi-Virus, das Kyasanur Forest-Virus, das Omsk hemorrhagic fever-Virus und das Powassan-Virus (RŮŽEK et al. 2013). Zwischen den Mitgliedern des TBE-Komplexes und anderen Flaviviren wie dem Gelbfieber-, Japanische Enzephalitis- oder Dengue-Virus herrscht eine Kreuzreaktivität, was in verschiedenen serologischen Tests wie dem ELISA (enzyme-linked-immunosorbent-assay) zu falsch positiven Ergebnissen führen kann. Eine Impfung gegen einen der drei FSME-Subtypen schützt gegen alle drei Vertreter gleichermaßen.

Ein Großteil der *Flaviviridae* zählt zu den Arbo-Viren (Arthropod-borne; durch Gliederfüßer übertragene Viren). Die WHO definiert Arboviren folgendermaßen: „Sie vermehren sich und verursachen eine Virämie in Vertebraten, vermehren sich in den Geweben von Arthropoden, und

werden weitergegeben an neue Vertebraten durch den Stich von Arthropoden nach einer Periode extrinsischer Inkubation“ (WHO 1967). Neben der Zecke, die zum Beispiel das FSMEV oder das Louping-ill-Virus überträgt, können auch Moskitos wie im Falle von Gelbfieber, Denguefieber, West-Nil-Fieber und der Japanischen Enzephalitis als Vektoren fungieren.

Der westliche oder europäische Subtyp des FSMEV zeichnet sich durch eine relativ geringe Mortalität von 1-2% aus (ECKER et al. 1999, GRITSUN et al. 2003). Man findet ihn in Zentral- und Osteuropa sowie in West-Russland (KOVALEV und MUKHACHEVA 2014). Hauptüberträger für den europäischen Subtyp ist der gemeine Holzbock, *Ixodes ricinus*.

Der sibirische Subtyp ist wegen seiner Mortalität von 2-3% (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008) bzw. bis 5% (DOBLER et al. 2012) bzw. 6-8% (GRITSUN et al. 2003) als gefährlicher einzustufen. Verbreitet ist dieser Subtyp vor allem in Zentralsibirien, dem Ural, Nord-West-Russland, dem Baltikum (KOVALEV und MUKHACHEVA 2014) sowie West-Finnland (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008) und wird von *Ixodes persulcatus*, der Taiga-Zecke, übertragen.

Am pathogensten ist der fernöstliche Subtyp, der in 20-40% (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008) bzw. 20-60% (GRITSUN et al. 2003) bzw. 30% (ECKER et al. 1999) der Fälle zum Tod führt. Natürlich muss im Vergleich zum europäischen Subtyp auch von einer schlechteren medizinischen Versorgung der Patienten in Russland und demzufolge einer höheren Mortalität ausgegangen werden. Die Verbreitung des Subtyps liegt vor allem in Russland, China, Japan, Lettland und der Ukraine (ECKER et al. 1999). Hauptüberträger ist wie beim sibirischen Subtyp *Ixodes persulcatus*.

2.2 Aufbau des FSMEV

Das Genom des FSMEV besteht aus einem linearen, einzelsträngigen RNA-Molekül, welches durch das Viruskapsid umhüllt wird. Die virale RNA an sich ist bereits infektiös (MANSFIELD et al. 2009). Das FSMEV-Genom kodiert als messenger RNA in einem offenen Leseraster ein Polyprotein, was in die drei Strukturproteine C (K(C)apsidprotein), prM (precursor-Membranprotein) und E (Envelopeprotein) und sieben Nicht-Strukturproteine gespalten wird. Das C-Protein und die RNA bilden das sphärische Nukleokapsid des Virus, welche durch die beiden Oberflächenproteine prM und E bedeckt wird. Nach dem Abspalten von prM durch das zelluläre Enzym Furin erhält das Virus seine finale flache, reife Gestalt und Virionen können aus der infizierten Zelle geschleust werden (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008). Das E-Protein ist wichtig für den Viruseintritt in die Zelle und hierbei vor allem für die Rezeptorbindung und die Membranfusion mit der Wirtszelle. Außerdem induziert das Protein E die Bildung neutralisierender Antikörper und ist somit für die Induktion einer schützenden Immunantwort verantwortlich (ECKER et al. 1999).

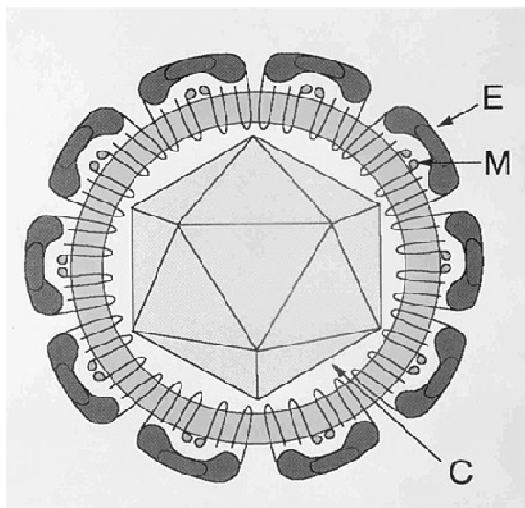


Abbildung 1: Aufbau des FSMEV (Quelle: zecken.de)

2.3 Epidemiologie



Abbildung 2: Verbreitung der FSME weltweit (Quelle: nachhaltigleben.de)

Das Virus ist in vielen Teilen der Welt endemisch (siehe Abbildung 2). Das Verbreitungsgebiet reicht von Südwest- (HERPE et al. 2007) bzw. Ost-Frankreich (HANSMANN et al. 2004) im Westen bis hin nach Japan (TAKASHIMA et al. 1997, YOSHII et al. 2011) im Osten, sowie von den nördlichen Gebieten Italiens (CARPI et al. 2009) bis hin zu den südlichen Gebieten Skandinaviens. Beschrieben wurde dies unter anderem für Finnland (WAHLBERG et al. 2006), Schweden (PETTERSSON et al. 2014), Norwegen (SKARPAAS et al. 2004) und Dänemark (FOMSGAARD et al. 2009, LAURSEN und KNUDSEN 2003). Allein in Europa ist das Virus in 27 Ländern endemisch.

Bisher gab es keine FSME-Fälle in Großbritannien, Irland, Island, Belgien, den Niederlanden, Luxemburg, Spanien, Malta und Portugal (SÜSS 2011, VAN DER POEL et al. 2005).

Zwischen den Jahren 1990 und 2009 wurden insgesamt 169.937 humane Fälle in Europa und Russland gemeldet (ca. 8.500 Fälle/Jahr). Jedes Jahr erkrankten Tausende Menschen neu an der

FSME, wobei mehr als die Hälfte davon allein auf Russland entfällt. Im Jahr 1996 gab es in Europa und Russland zusammen 12.733 Fälle, im Jahr 2007 waren es dagegen nur 5.462 Fälle, 2008 5.352 Fälle (davon 52,6% in Russland alleine) und 2009 7.226 Fälle (davon 51,6% in Russland alleine) (SÜSS 2011).

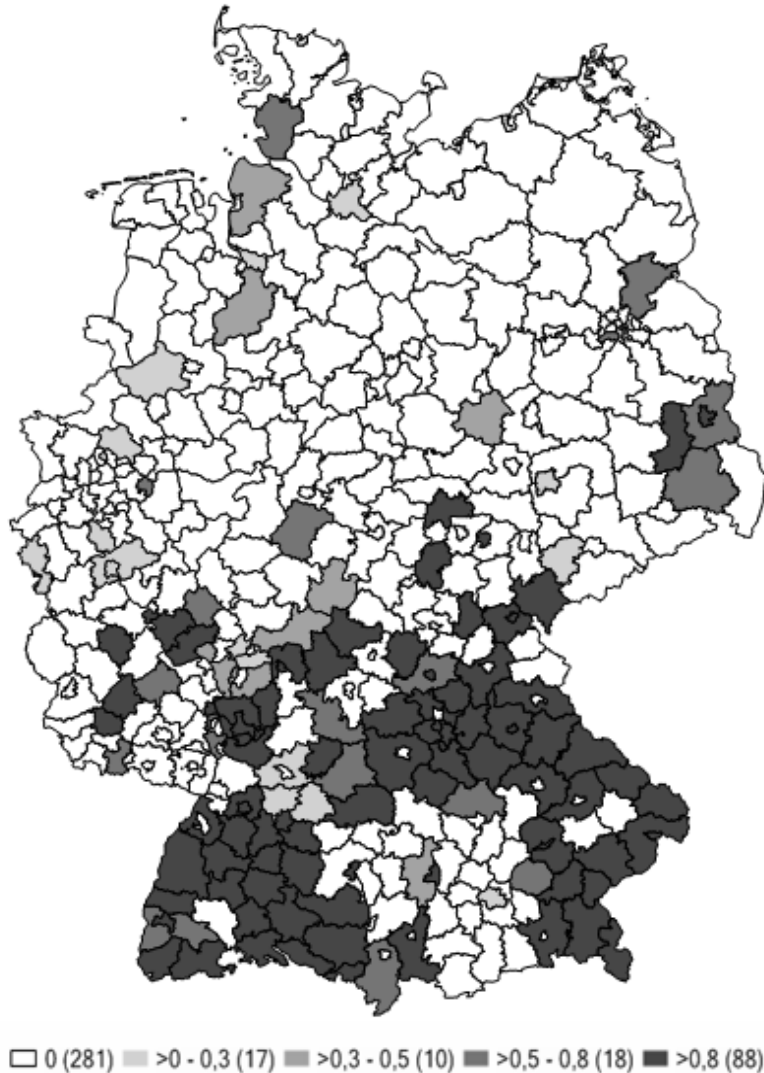


Abbildung 3: Inzidenzen der Landkreise (Quelle: Survstat, RKI, Datenstand: 3.2.15)

Betrachtet man die Verbreitung in Deutschland, so lässt sich eine deutliche Ausbreitungstendenz feststellen (DONOSO MANTKE et al. 2011). Waren 2001 nur 63 Landkreise als Risikogebiet bzw. Hochrisikogebiet eingestuft, waren es 2007 schon 129 und heute (Stand Mai 2014) sogar 142 Landkreise (siehe Abbildung 4).

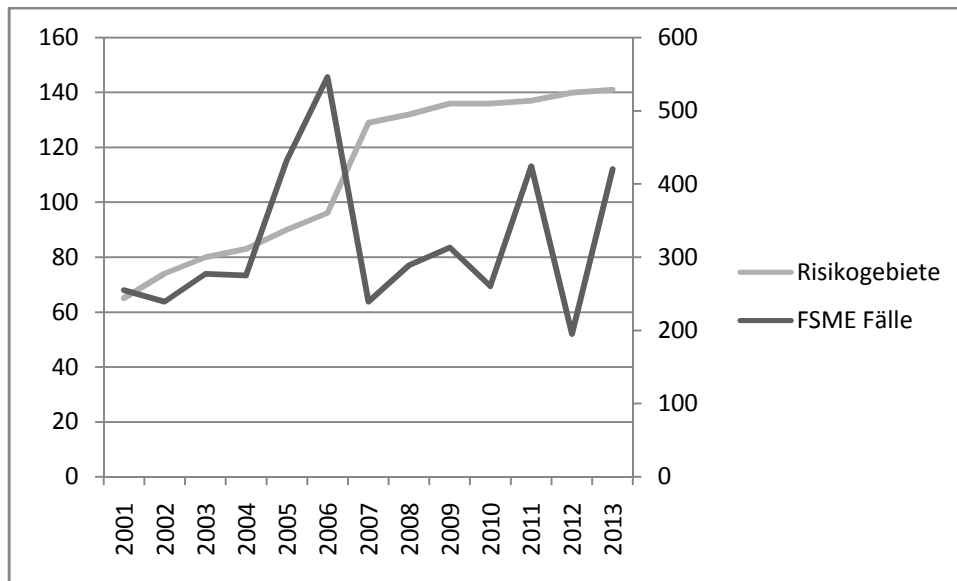


Abbildung 4: Risikogebiete und humane registrierte FSME-Fälle Deutschland (Quelle: RKI, 2014)

Ein Landkreis wird anhand von einer Definition des Robert-Koch-Instituts dann als Risikogebiet definiert, wenn in einem gleitenden Fünf-Jahresintervall die Inzidenz von einem Fall pro 100.000 Einwohner pro Jahr überschritten wird. Die Inzidenzen der einzelnen Stadt- und Landkreise zwischen den Jahren 2010 bis 2014 sind in Abbildung 3 dargestellt, wobei ein starkes Gefälle zwischen Süd- und Norddeutschland ersichtlich ist. Derzeit finden wir Risikogebiete in Bayern, Baden-Württemberg, Südthüringen, Südhessen und seit neuestem im Vogtlandkreis auch in Sachsen (RKI 2014).

Im Osten Deutschlands war das Virus zwischen 1960 und 1970 mit vielen „natürlichen Foci“ endemisch, es gab viele Ausbrüche vorrangig durch Rohmilchverzehr. Ein natürlicher Focus wird dadurch charakterisiert, dass hier humane Fälle auftreten (serologisch und klinisch bestätigt), dass Virus aus Zecken und Kleinsäugetieren isoliert werden kann und dass Antikörper in Blutproben von Kleinsäugetieren und Wildtieren gefunden werden können. In Sachsen gab es diese in Dresden-Liebstadt, Görlitz-Niesky, Leipzig und Zwickau-Aue (SÜSS et al. 1992) bzw. Dresden-Dresdener Heide, Leipzig und Chemnitz-Zwickau (WINDORFER und SCHÖNFELD 2005). Im Jahr 2004 gingen Süß und Kollegen davon aus, dass diese ursprünglich sehr aktiven Foci in Sachsen möglicherweise reaktiviert werden und es wieder vermehrt zu Ausbrüchen kommt. Ähnliches konnte in Thüringen beobachtet werden (SÜSS et al. 2004). Dies bestätigt sich unter anderem in der Ernennung des Vogtlandes zum Risikogebiet (RKI 2014).

2.4 Übertragungswege

Das FSME-Virus kann über verschiedene Wege übertragen werden. Hauptübertragungsweg ist der Zeckenstich, bei uns in Europa vorrangig durch die Zecke *Ixodes ricinus* (Gemeiner Holzbock). Auch durch den Verzehr von Rohmilch und deren Produkten, sowie Laborinfektionen, die Übertragung über Muttermilch oder durch Kontakt mit infizierten Schlachttieren ist eine Infektion möglich.

2.4.1 Zeckenstich

Zecken gehören zu den *Arthropoda*, den Gliederfüßlern und weiter zu der Klasse der *Arachnida* (Spinnentiere) und der Unterklasse der *Acari* (Milben). Durch einen Zeckenbiss können neben dem FSME-Virus auch viele andere Krankheitserreger übertragen werden, hierzu zählen zum Beispiel die Borrelien, Rickettsien, Anaplasmen oder Babesien (HASLE et al. 2013). In Regionen, in denen verschiedene Krankheiten parallel auftreten, kommt es nicht selten vor, dass eine Zecke mehr als einen Erreger in sich trägt (BRÖKER 2012). Weltweit sind ungefähr 900 Zeckenarten bekannt. In Deutschland finden wir hauptsächlich *Ixodes ricinus*, der den westlichen Subtyp des FSME-Virus überträgt, aber auch *Dermacentor reticulatus* (Auwaldzecke), *Dermacentor marginatus* oder *Haemaphysalis concinna* (RUBEL et al. 2014).

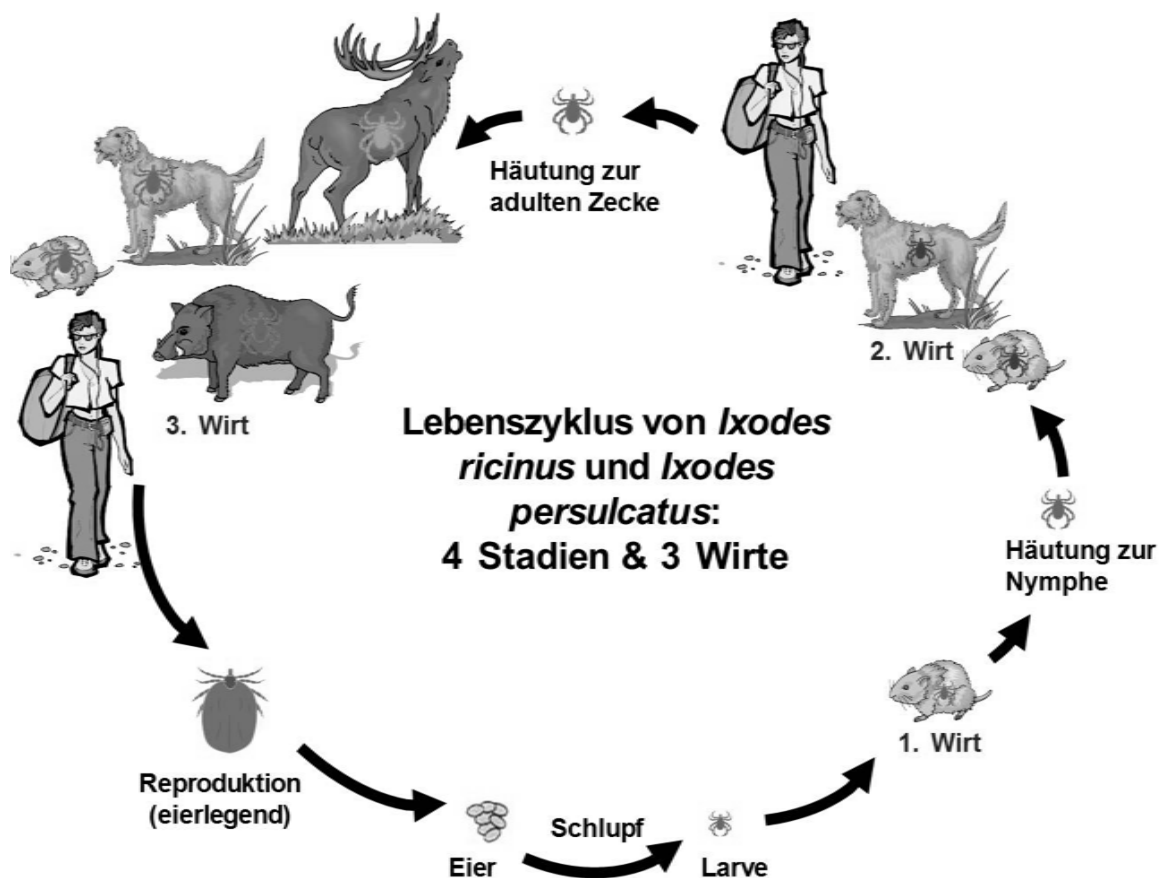


Abbildung 5: Zyklus von *Ixodes ricinus/persulcatus* (Quelle: nach PFEFFER und DOBLER, 2011)

Abbildung 6 zeigt die verschiedenen Stadien der Zecke (Ei-Larve-Nymphe-Adulte). Aufgrund der Zugehörigkeit zu den Spinnentieren weisen die Nymphen und Adulten acht Beine auf, die Larven besitzen allerdings nur sechs Beine.

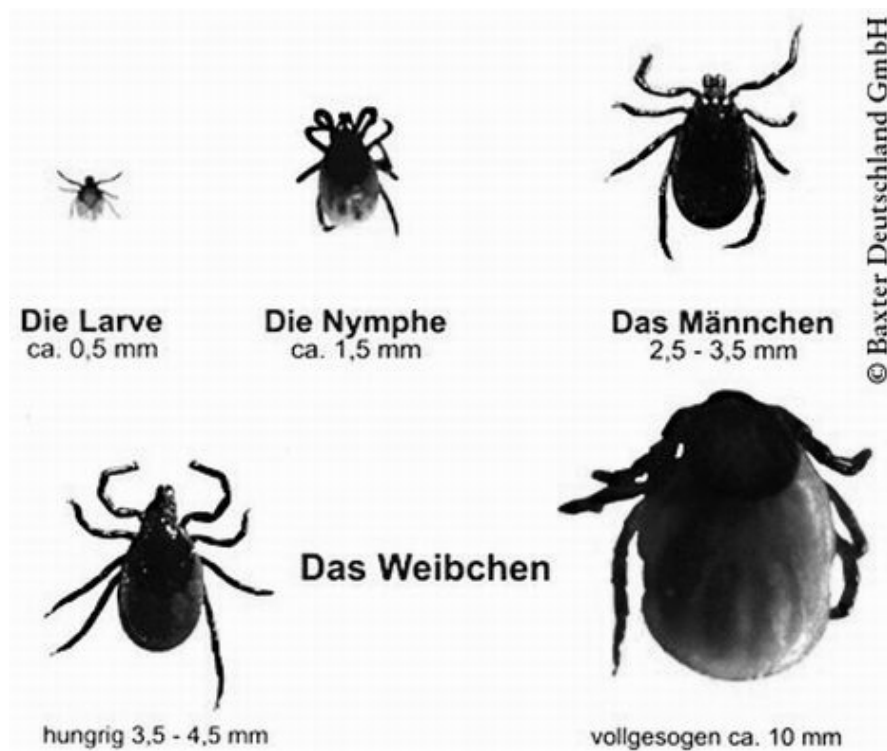


Abbildung 6: Die Stadien von *Ixodes ricinus* (Quelle: Baxter)

Jedes Entwicklungsstadium benötigt eine Blutmahlzeit an einem Wirtstier, um das nächste Stadium zu erreichen. Unterschiedliche Stadien bevorzugen hierbei unterschiedliche Wirte (siehe dazu Abbildung 5). Ein Weibchen kann auf einmal zwischen 500 und 5.000 Eier in einem Gelege platzieren, welches gegen eine drohende Austrocknung mit einer Schutzschicht überzogen wird. Wenn die Larven schlüpfen, sind sie ca. 0,5 mm groß und können sich nicht weit von ihrem Schlupfort wegbewegen, weswegen sie sich dann oft in „Nestern“ aufhalten und auf ihre Wirte warten. Larven bevorzugen Mäuse (Ø 20/Maus, PRETZMANN et al. 1964), Igel, Vögel oder andere Kleinsäuger als Wirte. Nach der Blutmahlzeit auf diesen entwickeln sich die Larven nach einer mehrwöchigen Pause zum nächsten Stadium, der Nymphe. Diese ist ca. 1 mm groß und ebenfalls geschlechtslos. Die Nymphe parasitiert vor allem auf Mäusen, Eichhörnchen, Hasen, Füchsen, Igeln aber auch auf Menschen. Nach der nächsten Blutmahlzeit entwickelt sich die Nymphe weiter zum letzten Entwicklungsstadium, der adulten Zecke. Diese ist im ungesogenen Zustand 2-4 mm groß. Das Geschlecht ist anhand der Ausprägung des Rückenschildes zu erkennen: Bei den Männchen bedeckt dieses den gesamten Rücken, bei den Weibchen nur ca. ein Drittel der Fläche. Adulte saugen vorwiegend auf Rehwild, Wildschweinen, Hunden, Menschen, aber auch auf Rindern, Schafen und Ziegen, die ihnen als „meeting-&-mating-site“ dienen. Das Weibchen benötigt für die Eiablage eine Blutmahlzeit und das Männchen nutzt diese Möglichkeit, ein Weibchen als Kopulationspartner zu finden. Um einen geeigneten Wirt zu finden, klettern sie auf Grashalme oder niedrige Sträucher, um sich von dort von einem Wirtstier abstreifen zu lassen. Larven erklettern hierbei eine Höhe von bis zu 25 cm, Nymphen bis zu 50 cm und erwachsene Zecken bis zu 1,5 m (STANEK 2009).

Das Hallersche Organ, welches sich an den Vorderbeinen der Zecken befindet und mit spezifischen Chemorezeptoren versehen ist, hilft den Zecken, geeignete Wirte zu finden. Mit diesen können die Zecken verschiedenste chemische Verbindungen wie Kohlenstoffdioxid, Ammoniak oder Schwefelwasserstoff aufspüren, welche von möglichen Wirtstieren abgesondert werden.

Die Zecke infiziert sich entweder beim Blutsaugen an einem virämischen Wirt (zum Beispiel einer Maus) oder beim sogenannten „co-feeding“. Hierbei saugt eine infizierte Zecke nah bei einer oder mehreren nicht-infizierten Zecken an einem nicht-virämischen Wirt, der selbst sogar immun sein kann (LABUDA et al. 1993; 1997). Durch eine kurzzeitige lokale Verletzung der Haut gelangen die Viren hierbei in den „feeding pool“, der zuvor durch die Chelizeren erzeugt wurde, und Leukozyten transportieren das Virus von einer infizierten zu einer nicht-infizierten Zecke. Einmal infiziert, bleiben Zecken lebenslang Träger des Virus, da es auch transstadial weitergegeben wird. In der Literatur wird auch die transovarielle (von infizierten Weibchen auf die Eier) oder transsexuelle (CHUNIKHIN et al. 1983) Übertragung beschrieben (RŮŽEK et al. 2013).

Die östlichen FSMEV-Subtypen werden von der Taiga-Zecke (*Ixodes persulcatus*) übertragen. Im Bereich von Finnland, dem angrenzenden Russland und des Baltikums existiert ein Gebiet, in dem beide Zeckenarten nebeneinander vorkommen, sodass mehrere Subtypen in dieser Region zu finden sind. So lässt sich zum Beispiel in Finnland sowohl der Europäische als auch der Sibirische Subtyp nachweisen (UZCATEGUI et al. 2012).

2.4.2 Alimentärer Infektionsweg

Vor allem nach dem Zweiten Weltkrieg waren Ausbrüche, die durch den Genuss von Rohmilch und deren Produkten ausgelöst wurden, verbreitet (DOBLER et al. 2012), wie zum Beispiel in weiten Teilen der ehemaligen DDR. Aber noch heute werden immer wieder Fälle gemeldet, bei denen sich Menschen über die Milch infizierter Tiere angesteckt haben (HOLZMANN et al. 2009, HUDOPIŠK et al. 2013). Vorrangig ist hier vor allem die Ziegenmilch zu nennen, aber auch Fälle mit Schafs- und Kuhmilch sind bekannt. Zu den Ländern, in denen dies bis heute häufig vorkommt, zählen die Slowakei, Polen, Weißrussland, das Baltikum, Rumänien, Serbien und Slowenien. Man geht davon aus, dass 30% aller FSME-Fälle in Russland durch die Übertragung via Milch hervorgerufen werden. In Polen lässt sich eine TBEV-Kontamination in einer von fünf Proben von Ziegen- oder Schafsmilch und in einer von zehn Kuhmilchproben nachweisen (DOBLER et al. 2012).

In Milch und Butter bleibt das Virus bis zu zwei Monate infektiös, in saurer Milch bei 4°C bis zu 24 Stunden (2007). Pasteurisierung der Milch und Impfung des Milch-liefernden Tieres verhindern eine alimentäre Übertragung (BALOGH et al. 2012).

2.5 Rolle verschiedener Spezies als Wirte der FSME

Die Zecke fungiert als Überträger des Virus. In der Zecke selbst vermehrt sich das Virus und befällt nahezu alle Organe (RŮŽEK et al. 2013). Man geht davon aus, dass FSME-infizierte Weibchen pathogener sind als infizierte Nymphen, da sie durch ihre Größe mehr Virionen übertragen können. Einmal infiziert bleibt die Zecke Träger des Virus (JAENSON et al. 2012).

Die Mäuse (Rodentia) sowie Insektivoren, Fledermäuse, Vögel und kleine Karnivoren haben die Rolle des Reserviertiers. Sie zeichnet sich dadurch aus, dass sie für eine gewisse Zeit eine Virämie entwickeln können, ohne dabei klinisch zu erkranken (RŮŽEK et al. 2013). Sie können die Infektion übertragen, sie sind abundant, haben eine hohe Reproduktionsrate, einen schnellen Generationswechsel, sind empfänglich für das Virus und ermöglichen, dass sich das Virus vermehrt. Mäuse können das Virus an Zecken übertragen, wenn eine Virämie mit ausreichendem Virustiter vorhanden ist. Auf den Mäusen saugt ein Großteil der Larven und Nymphen, wodurch zwischen diesen das Virus durch co-feeding oder eine Virämie übertragen werden kann.

Das Wild, unter anderem Rehwild (*Capreolus capreolus*) und Wildschweine (*Sus scrofa*), agiert als „tick maintenance host“, also als wichtiger Reproduktionswirt für die Zecken. Sie sind „meeting-&-mating site“ für Adulte und für Larven und Nymphen ein wichtiger Wirt für eine Blutmahlzeit. Schlussfolgernd ist zu sagen, dass es auch viele Zecken gibt, wo auch viel Wild zu finden ist (JAENSON et al. 2012). Wildtiere zeigen keine Klinik, serokonvertieren aber (RŮŽEK et al. 2013) und zeigen eine starke Antikörperbildung (JAENSON et al. 2012). Da sie nur geringe Virustiter bilden, findet keine virämische Übertragung statt. Auch das co-feeding ist nur hypothetisch möglich und spielt keine nennenswerte Rolle bei der Virusverbreitung (ROELANDT et al. 2010). Wie auch der Hund zählt das Wild zu den Fehlwirten, das Virus wird aufgrund einer zu kurzen und geringen Virämie nicht auf andere Vektoren übertragen. Außerdem fehlen diesen notwendige, zellbasierte Mechanismen um eine nicht-virämische Übertragung zu unterstützen (CHARREL et al. 2004).

Beim Wild ist der sogenannte „**dilution effect**“ beschrieben. Dieser bezeichnet die negative Beziehung zwischen der Wilddichte und dem FSME-Vorkommen auf lokaler Ebene. Diese Ebene ist definiert durch die minimal überlappende Fläche der Wirtsspezies. Der Effekt kann darauf zurück geführt werden, dass Rehwild (inkompetenter Wirt) Zecken von Rodentia (kompetenter Wirt) abzieht und diese dort ihre Blutmahlzeit zu sich nehmen, wobei keine Übertragung des Virus stattfindet (CAGNACCI et al. 2012). Inkompetent meint hierbei, dass keine ausreichend hohen Virustiter erreicht werden, um eine Transmission zu ermöglichen. Neben Wild werden auch Hasen und Moorhühner als Dilutionswirte genannt (HAEMIG et al. 2008). Generell ist zu sagen, dass bei geringem Wildbestand mehr Zecken auf Nagern parasitieren und es somit mehr FSMEV-infizierte Zecken gibt (JAENSON et al. 2012).

Pugliese und Kollegen führten sogenannte „**exclosure**“-Experimente durch: Hierbei wurde Wild aus bestimmten Arealen fern gehalten, wobei kleine und große Gebiete untersucht wurden. Wird Wild ausgegrenzt, gibt es generell weniger Zecken, aber diese saugen dann vermehrt auf Nagern.

Hierdurch ergibt sich eine höhere Rate für co-feeding und virämische Virusübertragung, was sich letztendlich in einer höheren Prävalenz von FSMEV in Nagern widerspiegelt. In der Studie wurden sogar nur dort positive Mäuse gefunden, wo kein Wild zu finden war. Gleichzeitig lässt sich sagen, dass Zecken seltener Mäuse für eine Blutmahlzeit aufsuchten, wenn viel Wild in einem bestimmten Gebiet vorhanden ist. Außerdem wurde herausgefunden, dass die Dichte an infizierten wirtsuchenden Nymphen in kleinen Exklaven höher war, was zu einer Gefahr von potentiellen FSME „hotspots“ führen kann (PUGLIESE und ROSA 2008).

Knap und Kollegen stellten in einer Studie fest, dass die beste Vorhersage über die FSME-Inzidenz zum Zeitpunkt „t“ (in Jahren) über die vorhandene Rotwildmenge zum Zeitpunkt „t-3“ (in Jahren) getroffen werden kann. Gab es drei Jahre zuvor mehr Wild, gibt es zum heutigen Zeitpunkt mehr Zecken und somit auch eine höhere FSME-Inzidenz (KNAP et al. 2013).

Der Mensch und der Hund (*Canis lupus familiaris*) sind Zufalls- und Fehlwirte (RŮŽEK et al. 2013). Sie zeigen eine unterschiedlich stark ausgeprägte Klinik, die bis zum Tod führen kann, aber oft verläuft die Erkrankung auch inapparent (ROELANDT et al. 2010). Beide serokonvertieren sehr gut nach einer Infektion, zeigen jedoch eine kurze Virämie mit niedrigen Virustitern, sodass es nicht möglich ist, das Virus weiter zu verbreiten (RŮŽEK et al. 2013). Beim Hund ist es möglich, einen Zeckenbiss durch Spot-on-Präparate oder Halsbänder zu verhindern. Hunde können infizierte Zecken aus endemischen in nicht-endemische Gebiete verschleppen (ROELANDT et al. 2010). Hunde haben im Schnitt mehr Zecken als der Mensch, da sie sich häufiger im Habitat der Zecken aufhalten. Hunde kommen 50- bis 100-fach wahrscheinlicher mit einer Pathogen-infizierten Zecke in Kontakt als der Mensch (KUNZE 2012). Jedoch erkrankten deutlich mehr Menschen an der FSME als Hunde, wobei die Erklärung hierfür schwierig ist und noch ausbleibt. Es wird vermutet, dass der Hund entweder resistenter gegenüber einer klinischen Manifestation ist (PFEFFER und DOBLER 2011), weniger empfänglich ist oder bessere Abwehrmechanismen besitzt (TIPOLD 2002).

2.6 Pathogenese

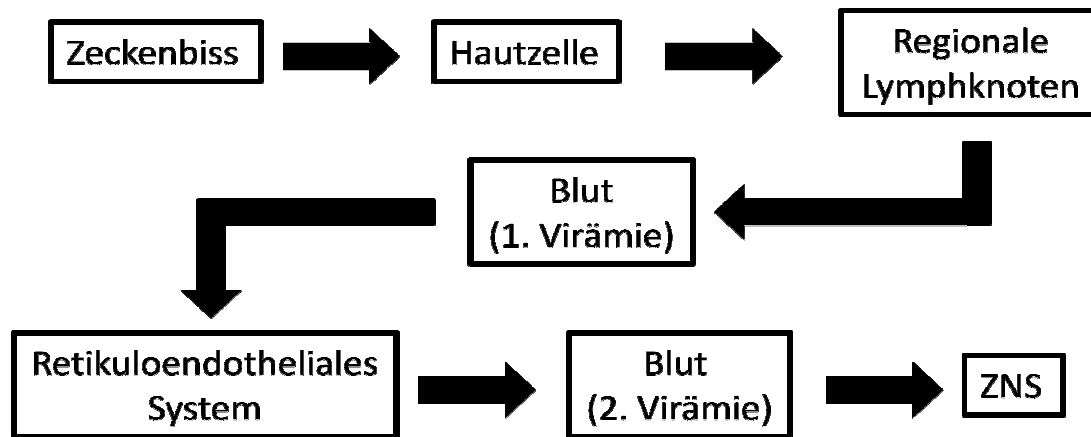


Abbildung 7: Pathogenese

Die Übertragung des FSME-Virus erfolgt direkt beim Zeckenbiss, da sich das Virus in den Speicheldrüsen der Zecke befindet. Somit spielt es bei einer potentiellen Infektion mit FSMEV keine Rolle, wie schnell die festgesogene Zecke entfernt wird.

Abbildung 7 zeigt den Ablauf einer Infektion mit dem FSMEV. Im subkutanen Gewebe repliziert sich das Virus in Hautzellen, vorrangig in Langerhans'schen Zellen oder Neutrophilen Granulozyten. Diese tragen dazu bei, dass das Virus in ihnen über die Lymphkapillaren zu den regionalen Lymphknoten transportiert wird. Die Langerhans'schen Zellen präsentieren hierbei das Antigen den T-Zellen, die sich hierbei zu T-Helferzellen Typ 1 und 2 sowie zytotoxischen T-Zellen differenzieren. Im Lymphknoten selbst kommt es nicht zu einer Gewebezzerstörung, jedoch wird das Virus massiv vor allem in Makrophagen repliziert. Von hier gelangt das Virus in den Blutstrom (1. Virämie), mit welchem es in die Organe des Retikuloendothelialen Systems gebracht wird. Hierzu zählt neben Thymus, Milz und Leber auch das Knochenmark. Auch hier kommt es zu einer starken Virusvermehrung und schließlich zur 2. Virämie, wobei das Virus zum Zentralen Nervensystem (ZNS) gelangt. Für die Infektion des ZNS gibt es vier potentielle Wege. Zum einen können Viruspartikel entlang von peripheren Nervenfasern in das ZNS gelangen, was vor allem beim aerogenen Infektionsweg wichtig ist. Hierbei werden die Aerosolpartikel über das Neuroepithel der nasalen Mukosa aufgenommen und gelangen über die Fila olfactoria direkt ins Gehirn. Eine weitere Möglichkeit der Infektion des Gehirns ist, dass FSME-infizierte Immunzellen ins ZNS einwandern. Außerdem kann das Virus über die Infektion des vaskulären Endothels der Gehirnkapillaren in das Gehirn gelangen. Zu guter Letzt ist es möglich, dass das Virus zwischen dem Kapillarendothel durch eine erhöhte Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke diffundiert.

Im ZNS selbst zerstört das Virus das Nervenparenchym und verursacht Zellnekrosen und Neuronophagie. Es lassen sich perivaskuläre, inflammatorische Reaktionen mit seröser Exsudation finden (RŮŽEK et al. 2013).

2.7 Klinik beim Menschen

Die Inkubationsperiode dauert durchschnittlich zwischen sieben und 14 Tagen. Eine Infektion mit dem Europäischen Subtyp verläuft biphasisch, bei dem Sibirischen und Far Eastern Subtyp eher monophasisch. Das erste Stadium dauert im Durchschnitt zwei bis vier Tage und entspricht der virämischen Phase des Virus. Es zeigt sich eine Grippe-ähnliche Symptomatik mit Fieber, wobei auch weitere Symptome wie Nacken- und Rücken- sowie Gliederschmerzen, katarrhalische Symptome der oberen Atemwege, Anorexie oder Übelkeit beschrieben sind. Bleibt es bei den genannten Beschwerden, verbleibt die Erkrankung oft unbemerkt. Růžek beschreibt, dass 70-95% der Infektionen ohne Symptome verlaufen und gerade bei Fällen mit dem fernöstlichen Subtyp 0,5% chronisch verlaufen (RůŽEK et al. 2013).

Anschließend kommt es zu einem asymptomatischen Intervall, welches ungefähr acht Tage andauert. Hierbei hat der Patient keinerlei Beschwerden.

Zum zweiten Stadium kommt es bei nur etwa 10-30% der Patienten und tritt ca. zwei bis vier Wochen nach der Infektion auf. Hierbei wird das ZNS befallen. Es kommt entweder zu einer Meningitis, Enzephalitis, Meningoenzephalitis oder Meningoenzephalomyelitis, was in allen Fällen mit hohem Fieber einhergeht.

Man geht davon aus, dass zwischen 35% und 85% (RůŽEK et al. 2010) der schwer erkrankten Patienten Dauerschäden in Form von Depressionen und Konzentrationsschwächen davon tragen, was als postenzephalitisches Syndrom bezeichnet wird. Hierbei entstehen hohe Kosten für das Gesundheitssystem und für den Betroffenen Einbußen der Lebensqualität. Weiterhin damit verbunden sind lange Krankenhausaufenthalte, sowie eine mögliche Arbeitsunfähigkeit. Die Patienten leiden an langanhaltenden neurologischen Defiziten und sozialer Bedrängnis, oft sind vor allem die kognitiven Fähigkeiten herabgesetzt.

Eine in Winterthur in der Schweiz durchgeführte Studie ergab, dass 56% von 57 Patienten noch Residualschäden nach einem Jahr nach Entlassung aus einer Klinik trugen. Von diesen 32 beklagten sich 31% noch fünf Jahre nach Entlassung über Beschwerden. Folgeschäden waren vor allem Müdigkeit, Konzentrationsschwäche und Gedächtnisprobleme. Neurologische Symptome waren selten anzutreffen. Im Schnitt waren die Betroffenen 7,5 Wochen nach Krankenhausentlassung arbeitsunfähig und für eine Dauer von 23 Wochen zeigten sie eine eingeschränkte subjektive Leistungsfähigkeit (LÄMMLI et al. 2000).

2.8 Klinik bei Tieren

2.8.1 Wild

Wildtiere wie das Rehwild oder Wildschweine spielen für das FSME-Virus nur eine Nebenrolle bei der Vermehrung des Virus, indem sie den Zeckenzyklus durch die Bereitstellung einer Blutmahlzeit aufrechterhalten und als Treffpunkt und Paarungsort für adulte Zecken dienen. Die Infektion verläuft nur subklinisch, sie serokonvertieren aber sehr gut und bilden somit Antikörper.

Jedoch wurden bei verschiedenen Wildkarnivoren experimentelle Infektionen durchgeführt: Zilber und Solaviev inokulierten sechs Wochen alte Wölfe mit dem Virus, woraufhin diese Paresen der Extremitäten sowie Krämpfe zeigten. Nach dem Tod der Tiere konnte FSMEV aus deren Gehirnen isoliert werden. Infizierte Dachse hingegen zeigten keine Klinik, aber dafür hohe Antikörperspiegel (ZILBER und SOLOVIEV 1946). Libikova inokulierte Füchse, konnte bei diesen aber keine Symptome feststellen (LIBIKOVA 1956). Eine andere Studie experimentell infizierter Fuchswelpen führte bei diesen zu Fieber und Exitabilität. Eine Virämie konnte ein bis vier Tage p.i. sowie hohe Antikörpertiter 10-20 Tage p.i. festgestellt werden (ERNEK und SKODA 1958). Radda infizierte außerdem Füchse, indem er diesen Ixodes ricinus Nymphen aufsetzte, welche daraufhin Zeichen einer Meningoenzephalitis entwickelten (RADDA et al. 1969).

2.8.2 Hund

Erstmals wurde das FSME-Virus 1970 in der Schweiz aus dem Gehirn eines Hundes isoliert. Hierbei handelte es sich um einen Stamm des westlichen Subtyps. Der Landseer zeigte vor seinem Tod akute Symptome einer zentralen Nervenschädigung (WANDELER et al. 1972). In Anlehnung daran infizierte Gresikova daraufhin sechs bis acht Wochen alte Hundewelpen entweder durch das Inokulieren mit infizierten Zecken oder durch subkutane Injektion. Die Welpen zeigten keine Klinik und das Virus konnte nicht aus dem Gehirn isoliert werden. Jedoch serokonvertierten die Tiere und so waren bei den subkutan infizierten Welpen eine Woche p.i. und bei den durch Zecken infizierten Welpen zwei Wochen p.i. Antikörper nachweisbar. Man ging davon aus, dass Hunde auf natürlichem Wege infiziert würden, aber der Verlauf hierbei meist inapparent sei (GRESIKOVA et al. 1972). Zusätzlich konnte Albrecht in einem früheren Experiment über die nasale Route einen Hund infizieren, welcher daraufhin eine Enzephalitis entwickelte (ALBRECHT 1959).

Zwischen den Jahren 1994 und 1996 traten in FSME-endemischen Regionen in Österreich vier Fälle bei Hunden auf. Diese zeigten Fieber, Myoklonus, Krämpfe, Hemiplegien, Tetraparesen, Stupor oder Anisokorie. Alle Hunde verstarben und das Virus konnte im Gehirn nachgewiesen werden (WEISSENBÖCK und HOLZMANN 1996).

Die ersten beiden klinischen Fälle beim Hund in Deutschland wurden in München beschrieben. Diese zeigten zu Beginn starkes Fieber sowie eine Bewusstseinsstrübung, Tetraparese, epileptische Anfälle, Kopfnervendefizite und eine Schwäche der Halsmuskulatur. Die Diagnose konnte durch Antikörper, die sowohl im Serum als auch im Liquor (intrathekale Synthese) nachgewiesen wurden, gestellt werden. Im Verlauf der Rekonvaleszenz zeigten die Tiere abfallende Titer. Im Liquor fielen außerdem

eine Pleozytose mit Lymphozyten und Monozyten sowie eine erhöhte Proteinkonzentration auf. Die Therapie erfolgte symptomatisch. Es wurden Pentobarbital (Epilepsie), kalte Körperduschen (Fieber), Antibiose (Gefahr bakterieller Sekundärinfektionen), Cortison, Infusionen, NSAIDs und Schmerzmittel verabreicht. Einer der Hunde konnte geheilt werden, der zweite behielt eine Parese an den Vordergliedmaßen zurück (REINER und FISCHER 1998). Tipold untersuchte eine Reihe von Fällen, wobei keine Rassen-, Geschlechter- oder Altersdisposition festgestellt werden konnte. Rottweiler erschienen zu diesem Zeitpunkt überrepräsentiert. Es wurde eine genetisch bedingte Neigung vermutet, sodass gewisse prädisponierende Faktoren nötig sind, um ein schweres Krankheitsbild auszulösen. Der Hund selbst gilt als verhältnismäßig resistent gegenüber Flavivirusinfektionen. Bei allen erkrankten Hunden bestand keine Immunsuppression. Eher geht man von einer geringeren Neuroinvasivität als beim Menschen aus, wobei außer dem ZNS keine weiteren Organe befallen werden. Zusätzlich wird das Virus durch ein gut funktionierendes Immunsystem schnell aus dem Organismus beseitigt (TIPOLD 2002). All dies sind mögliche Erklärungsversuche für die bis dato geringe Fallzahl beim Hund, obwohl gerade diese sehr oft und stark von Zecken parasitiert werden.

Leschnik beobachtete eine Reihe von unerwarteten Fällen bei Hunden aus nicht-endemischen Gebieten Österreichs in den Jahren 1996 bis 1998. Diese zeigten unter anderem ein Vestibulärsyndrom, Koma, Opisthotonus, Anisokorie oder Strabismus. Er geht hierbei von einer Persistenz der Antikörper von mehr als neun Monaten nach natürlicher Infektion aus (LESCHNIK et al. 2002).

Auch in den Jahren 2001 bis 2006 konnte Leschnik bei acht Hunden eine FSME-Erkrankung nachweisen. Bei zwei Tieren, die verstarben, gelang der Antigennachweis im Gehirn. Bei den anderen sechs Tieren konnten Antikörper in Serum oder Liquor gefunden werden, zusätzlich zeigten diese Symptome wie Ataxie, Defizite der kranialen Nerven, epileptische Anfälle oder Hyperästhesie (LESCHNIK et al. 2008).

Den ersten Fall eines Hundes mit FSME in Polen beschrieb Anna Bajer im Jahr 2010 (BAJER et al. 2013). Hierbei erkrankte ein Schlittenhund, welcher durch Hyperaktivität, Symptome von Blindheit, visuelle Beeinträchtigungen auf beiden Augen sowie das Laufen gegen Mauern auffiel. Der Hund zeigte ein Jahr später noch Sequelae in Form von der Unfähigkeit, ihm zugeworfene Objekte zu fangen und konnte nicht mehr über Zäune springen. Stadtbäumer beschrieb bei einem Husky eine optische Neuritis mit Blindheit, welche später als FSME-Erkrankung identifiziert wurde (STADTBÄUMER et al. 2004). In Heidelberg wurde ein Hund mit Tetraparese und getrübttem Sensorium vorgestellt. Nach dem Tod des Tieres konnte das FSMEV aus dem Gehirn isoliert werden (SAENGER et al. 2013).

Es wird insgesamt von einem rasch progressiven, nicht biphasischen Verlauf mit meist tödlichem Ausgang ausgegangen, wobei neben akuten neurologischen Symptomen auch eine Reihe unspezifischer Symptome auftreten können. Hierzu zählen Inappetenz, Apathie, Aggressivität oder Wesensveränderungen (REINER und FISCHER 1998). Beim Hund wird von einer Inkubationszeit von vier bis 21 Tagen ausgegangen (BAJER et al. 2013). Die multifokalen Schädigungen des ZNS zeigen sich in der unterschiedlichen Art der Symptome. Hirnnervendefizite, Tetraplegien und -paresen sowie Bewusstseinstörungen deuten auf einen Schaden des Großhirns hin. Ein Defekt des Kleinhirns

stellt sich dagegen in Form von Hypermetrie oder Hyperästhesie dar. Bei dem Befall des Rückenmarks kommt es zu Ataxien, Paresen, Paralysen oder einer Hyporeflexie.

Die stärksten Symptome zeigen sich 48 Stunden nach Ausbruch der Krankheit (LESCHNIK et al. 2002). Die Erkrankung zeichnet sich beim Hund durch eine höhere Mortalität im Vergleich zum Menschen aus. Bei den Tieren, die nicht vorzeitig versterben oder euthanasiert werden, werden Rekonvaleszenzenzeiten von bis zu sechs Monaten angegeben (LESCHNIK et al. 2002).

2.8.3 Weitere Tierarten

Pferd

Den ersten Fall bei einem Pferd beschrieb Waldvogel im Jahr 1981. Es handelte sich hierbei um eine vierjährige Welshponystute aus dem Kanton Zürich, die vom Besitzer in Seitenlage und mit Krämpfen gefunden wurde. Neben Apathie zeigte das Tier starkes Fieber, Ataxie und epileptiforme Anfälle in sechs bis acht Stunden Abstand. Das Tier wurde aufgrund der schlechten Prognose euthanasiert. Aus dem Gehirn konnte Virus isoliert werden (WALDVOGEL et al. 1981).

In Thüringen fiel ein Pferd mit FSME-typischen Symptomen auf. Das Pferd wurde kurz zuvor aus einem Endemiegebiet in Bayern in den Stall verbracht. Daraufhin wurde sowohl die Heimatherde in Bayern und eine Nachbarherde, sowie die neue Herde serologisch auf Antikörper gegen FSME getestet. In der Heimatherde waren zwei von zehn Pferden positiv, in der Nachbarherde sogar fünf von 15. Bei einem der Pferde konnte zusätzlich FSMEV-RNA nachgewiesen werden. Die neue Herde war serologisch negativ (KLAUS et al. 2013).

Mufflon

Im Jahre 1994 wurde ein moribundes Mufflon im Burgenlandkreis in Österreich aufgefunden. Virus, das dem Stamm Neudoerfl sehr ähnelte, wurde im Gehirn des Tieres nachgewiesen. Dies beschreibt den ersten bestätigten Fall eines Ruminanten, der an FSME verstirbt (BAGO et al. 2002).

Affe

Auf dem Affenhügel in Salem am Bodensee wurde ein Affe auffällig, der dem Menschen ähnliche klinische Symptome einer schweren FSME zeigte. Das Virus wurde aus dem Gehirn isoliert (SÜSS et al. 2008). Alle auf dem Hügel lebenden Affen wurden auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht. Hierbei wurden im ELISA 2,6% der 283 Affen serologisch positiv getestet (KLAUS et al. 2010a).

Ziege

Im Unteren Prättigau zeigte ein anderthalb Jahre alter Ziegenbock klinische Symptome einer FSME. Das Tier der Toggenburger Rasse stürzte zu Boden, schnappte nach Luft und hatte krampfhaft ausgestreckte Gliedmaßen. Zuvor war das Tier mit einem ataktischen Gang aufgefallen. Außerdem hatte der Bock starkes Fieber, war auf Lärm und Berührung übererregbar, drängte gegen die Wand, zitterte am Kopf, zeigte Bruxismus und wiederholtes Niederstürzen. Das Tier wurde symptomatisch mit Antibiose, Glucocorticoiden und Vitaminen behandelt und erholte sich rasch wieder. Die

Diagnose FSME wurde aufgrund einer geringen Antikörpertiterabnahme im Verlauf von fünf Monaten im HAI (haemagglutination inhibition test) gestellt (ZINDEL und WYLER 1983).

2.9 Diagnose

Die Diagnose einer FSME wird in Deutschland anhand der derzeit gültigen Falldefinition des European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) gestellt:

FSME-Falldefinition nach ECDC, 2012:

Klinische Kriterien:

Klinisches Bild einer akuten FSME, definiert durch das Auftreten von mindestens einem der folgenden Kriterien:

- Grippe-ähnliche Symptome
- ZNS-Symptome (Meningitis, Enzephalitis, Myelitis)

Zusätzliche Informationen:

- Ein biphasischer klinischer Verlauf ist typisch, mit anfänglich Grippe-ähnlichen Symptomen gefolgt von ZNS-Symptomen nach einem symptomfreien Intervall von vier bis zehn Tagen. Jedoch können beide Phasen auch ohne die andere ablaufen.
- Für Krankheiten, die sich durch eine Impfung verhindern lassen, sollte die Impfhistorie (Anzahl der vorangegangenen Impfungen, Art und Datum der letzten Dosis) bedacht (zum Beispiel indem der Impfpass kontrolliert wird) und notiert werden

Laborspezifische Kriterien:

Eine positive Diagnose wird anhand von mindestens einer der folgenden Methoden gestellt: (Der direkte Nachweis des Pathogens nur im Blut, Liquor, hämorrhagischen Hautinfiltrationen oder klinischen Proben von einer normalerweise sterilen Stelle):

- Nachweis von Nukleinsäuren (zum Beispiel mithilfe einer PCR) nur im Blut oder Liquor, post mortem auch in anderen Organen

Außerdem:

- Nachweis von FSME-spezifischen IgM- UND IgG-Antikörpern (einmalig erhöhte Werte, zum Beispiel im ELISA, Neutralisationstest) nur in Blut oder Liquor
- 4-fach Anstieg von FSME-spezifischen Antikörpern (zum Beispiel im ELISA oder Neutralisationstest)
- Nachweis von intrathekal gebildeten FSME-spezifischen Antikörpern (erhöhter Liquor/Serum-Index)
- Interpretation des Antikörpernachweises muss eine dem Test vorangegangene mögliche FSME-Impfung in Betracht ziehen

Fall Klassifikation:

- Erfüllen von klinischen UND laborspezifischen Kriterien (Referenz Falldefinition)
- Erfüllen von laborspezifischen aber nicht klinischen Kriterien (oder klinische Kriterien unbekannt)

2.10 Prävalenzstudien

2.10.1 Wild

Es wurden verschiedene Seroprävalenzstudien beim Wild durchgeführt. Die ersten Studien in Deutschland stammen aus den 1980er Jahren. Süss und Kollegen beprobten von 1986 bis 1989 Wild auf Usedom und fanden 1% (fünf von 500) von diesen als positiv im HAI. Auffällig war, dass sie im Jahr 1986 keines der Wildschweine als positiv bewerteten, aber im Jahr 1989 sogar 2% der untersuchten Tiere (SÜSS et al. 1992). Kahl analysierte im Jahr 1988 in West-Berlin Proben von geschossenem Rehwild und kam bei fünf von 15 auf ein positives Ergebnis im HAI. Hierbei fand er Titer zwischen 1:10 und 1:40 (KAHL und RADDA 1988). In Tübingen wurden 1995 50 von 192 Proben von Rehwild im ELISA als positiv bewertet, 43 davon wurden im HAI oder SNT bestätigt (GERTH et al. 1995). In Südhessen testeten Kiffner und Kollegen 105 Rehwildproben, von denen 22,9% (24) ein positives Ergebnis aufwiesen (KIFFNER et al. 2012).

Auch außerhalb Deutschlands wurden Untersuchungen zum Vorkommen von Antikörpern bei Wildtieren gemacht. In Tschechien untersuchte Hubalek im Jahr 1993 Wildtierproben mittels HAI und kam bei sieben von 33 Rehwild-, bei zwei von 22 Rotwild- und bei zwei von 34 Wildschweinproben zu einem positiven Resultat (HUBALEK et al. 1993). Labuda und Kollegen analysierten in einer FMSE-endemischen Region in der West-Slowakei Proben von Wildschweinen und Rehen sowohl in der Zeitspanne von 1964 bis 1991 als auch zwischen 1997 und 2000 mithilfe eines HAI. Hierbei kamen sie beim ersten Zeitintervall auf 14 neutralisierende Antikörper-positive Wildschweinproben von 38 untersuchten (36,8%) und auf 67 positive von 190 (35,3%) untersuchten Rehproben. Im zweiten Zeitabschnitt fanden sie ebenfalls 14 positive von 38 Wildschweinproben, außerdem fünf positive von 18 (27,8%) Rehproben und drei positive von 79 (3,8%) Proben von Mufflons (LABUDA et al. 2002). Van der Poel analysierte 666 Wildschweinproben aus den Niederlanden, von denen im ELISA 49 positiv waren, jedoch keines der Ergebnisse im SNT oder HAI bestätigt werden konnte. Außerdem wurden 13 Seren von Rehwild im Rahmen der Studie untersucht, von denen keines ein positives Ergebnis im ELISA aufwies (VAN DER POEL et al. 2005). In Dänemark wurden 20 (8,7%) von 229 Rehwildproben im ELISA als positiv befundet, 14 davon wurden im SNT bestätigt (SKARPHÉDINSSON et al. 2005). Jemersic fand zwei positive Milzproben von 182 (1,1%) untersuchten Rotwildproben in Kroatien (JEMERŠIĆ et al. 2014). Außerdem analysierte Ytrehus in Norwegen Rot- und Rehwild in verschiedenen Regionen und konnte bis zu acht von 25 Rotwild-, 14 von 25 Elch- und vier von 34 Rehwildproben als positiv identifizieren (YTREHUS et al. 2013). Auch mit belgischen Hirschen wurden derartige Untersuchungen durchgeführt: Linden fand 12,4% (62/498) positive Tiere im ELISA (LINDEN et al. 2012).

In Südkorea untersuchten Kim und Kollegen 16 Wildschweine, die serologisch alle negativ waren. Jedoch wurden zwei Pools von Zecken, die von diesen abgesammelt wurden, als FSME-Virus-positiv befundet (KIM et al. 2008).

2.10.2 Hund

Beim Hund wurden europaweit verschiedene Seroprävalenzstudien durchgeführt. Von vielen Autoren wird der Hund als optimales Sentineltier für das Anzeigen eines FSME-Endemiegebietes genannt (unter anderem TAKASHIMA et al. 1997)

Die bisher wenigen deutschen Studien mit Hunden stammen vorrangig aus Süddeutschland. Die erste wurde in den Jahren 1993 bis 1996 durchgeführt. Hierbei wurden 518 Hunde auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht, wobei 23% ein positives Ergebnis aufwiesen (MÜLLER 1997). Eine zweite Studie wurde initiiert, bei der ca. 100 Hunde aus verschiedenen Bundesländern ohne ZNS-Symptomatik untersucht wurden. In den nördlichen Bundesländern Niedersachsen, Bremen und Mecklenburg-Vorpommern wurden 0-2% positive Tiere gefunden, in bestimmten Regionen Baden-Württembergs bis zu 30% (MÜLLER 2000).

Janitza-Futterer untersuchte im Jahr 2000 243 Hunde in Baden-Württemberg aus dem Gebiet zwischen Ravensburg und Waldshut. Hierbei waren 29,2% der Hunde im ELISA positiv, ein bestätigender SNT wurde nicht durchgeführt. Es waren vor allem helle, weiblich-kastrierte Hunde zwischen zehn und zwölf Jahren, die Antikörper aufwiesen (JANITZA-FUTTERER 2003).

In der Schweiz wurden 657 Hunde serologisch getestet, wobei 3,6% Antikörper aufwiesen (MATILE et al. 1981). Auch in Österreich gab es eine Studie mit 545 Hunden, von denen 24% ein seropositives Ergebnis hervorbrachten (KIRTZ 1999).

In Tschechien wurden 151 Hundeseren auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht. Fünf der Tiere (3,3%) hatten Titer von 1:4, 1:320 (dreimal) und einmal sogar 1:1280. Drei Hunde zeigten zudem neurologische Symptome, von diesen hatten zwei abfallende Titer nach einer weiteren Blutabnahme nach anderthalb Jahren und der dritte Hund einen starken Anstieg innerhalb weniger Tage (KLIMES et al. 2001). In Norwegen wurde bei 16,4% von 317 Hunden Antikörper gefunden (CSÁNGÓ et al. 2004) und in Dänemark wurden sogar 30% von 125 Hunden im ELISA positiv getestet (LINDHE et al. 2009). In Griechenland wurden in sowohl 0,97% von 206 sowie zu einem späteren Zeitpunkt in 8,6% von 429 Hundeseren Antikörper nachgewiesen (CHAMBOURIS et al. 1989). Bajer untersuchte 25 Hunde in Polen auf Antikörper und fand hierbei drei positive Tiere (BAJER et al. 2014).

Eine Studie außerhalb Europas stammt aus Japan: Aufgrund eines humanen Falles auf einer Farm in Kamiiso wurde das Infektionsrisiko des Gebietes genauer charakterisiert. Dazu wurden auf einer benachbarten Farm zehn Hunde ausgesetzt, bei denen im Laufe weniger Tage Antikörper nachgewiesen werden konnten (TAKASHIMA et al. 1997).

2.10.3 Weitere Tierarten

Pferd

In Deutschland wurden zwei Studien im Rahmen von Dissertationen durchgeführt, die die Seroprävalenz in Pferden feststellen sollten. Die erste stammte von Janitza-Futterer, die 23,4% (von 205 untersuchten) Seren aus der zuvor genannten Region um den Bodensee als positiv identifizieren konnte (JANITZA-FUTTERER 2003). Die zweite Untersuchung wurde in der Region Marburg-Biedenkopf durchgeführt, wobei sieben Proben von insgesamt 240 Seren im SNT als positiv getestet wurden (MÜLLER et al. 2006). Auch in Österreich wurden Pferdepopulationen untersucht: Luckschander analysierte 496 Proben und konnte sogar 60 seropositive Tiere identifizieren (LUCKSCHANDER et al. 1999). Eine noch höhere Prävalenz wurde mit 26,1% von 257 Tieren aus verschiedenen Regionen des Alpenstaates ermittelt (RUSHTON et al. 2013). In Ungarn wurden neben anderen Seren auch 40 Pferdeseren mithilfe eines ELISAs und eines PRNTs untersucht, wobei keines positiv war (ŠIKUTOVÁ et al. 2009).

Mäuse

Auch Rodentia wurden an verschiedenen Orten weltweit gefangen und auf das Vorhandensein von Antikörpern oder Antigen untersucht.

In Deutschland wurden über mehrere Jahre insgesamt 441 Mäuse in verschiedenen Bundesländern gefangen, seziert und analysiert. Dabei wurden in den Milzen oder Gehirnen von 24 von 304 (8%) Mäusen aus Nicht-Risikogebieten und von 21 von 137 (15%) Mäusen aus Risikogebieten FSMEV mittels RT-PCR gefunden (ACHAZI et al. 2011). Kießling untersuchte im Rahmen ihrer Dissertation Mäuse aus Parkanlagen im Münchner Raum und konnte bei keiner der 300 Milzen oder 59 Gehirne mittels nested RT-PCR FSMEV finden (KIEßLING 2005).

Van der Poel analysierte 90 Seren von Wildmäusen aus den Niederlanden, von denen im ELISA keine ein positives Ergebnis zeigte (VAN DER POEL et al. 2005).

In Südkorea wurden fünf von 24 (20,8%) gefangenen Mäusen FSMEV-positiv getestet (KIM et al. 2008). Yoshii und Kollegen fingen zwischen 1997 und 2008 in ganz Japan 931 Mäuse. Hierbei erzielten zwei von 58 Mäusen aus Shimane und 17 von 224 Mäusen aus Hokkaido ein Antigen-positives Ergebnis (YOSHII et al. 2011).

Im Rahmen eines laufenden Projektes in Leipzig werden monatlich Mäuse am Cospudener See gefangen. 103 dieser Mäuse wurden auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht, wobei eine Maus (0,97%) positiv im ELISA reagierte (PFEFFER et al., unveröffentlichte Daten).

Zecken

Da die Zecke der wichtigste Vektor bei der Übertragung der FSME ist, liegt es nahe, als erstes in dieser nach dem Virus zu suchen. Leider erweist sich dies häufig als Suche nach der Nadel im

Heuhaufen, selbst wenn viele Zecken in ausgewiesenen Risikogebieten untersucht werden. Weltweit wurden viele Studien hierzu durchgeführt, hier erfolgt die Konzentration auf ausgewählte Beispiele aus Deutschland.

Im Rahmen einer Dissertation wurden 1.552 Zecken aus Parkanlagen in und um München untersucht. Keine der Zecken war positiv (KIEßLING 2005). Klaus und Kollegen untersuchten Zecken in ganz Deutschland: Von 294 Zecken aus Salem in Baden-Württemberg, 651 Zecken aus Mecklenburg-Vorpommern, 2.202 Zecken aus Sachsen-Anhalt und 2.809 Zecken aus Thüringen war keine FSMEV-positiv. Von 1.700 Zecken aus Emmendingen und dem Ortenaukreis (beides Risikogebiete) wurde nur ein FSMEV-RNA-positives Weibchen identifiziert. Von 883 geflaggt und von 239 gesogenen Zecken aus Bayern konnten drei positive Pools und drei positive Exemplare gefunden werden (KLAUS et al. 2010a; 2010b; 2012; 2013). In einem erst seit 2002 bekannten FSME-Gebiet in Bayern wurden zwischen den Jahren 2005 und 2008 2.150 Zecken untersucht, von denen in fünf FSMEV-RNA gefunden werden konnte (KUPCA et al. 2010).

Stefanoff und Kollegen untersuchten Tausende von Zecken aus Deutschland und Polen. Sowohl bei den 8.897 Zecken aus zwei Risikogebieten in Deutschland wie auch von 7.436 Zecken aus Gebieten mit sporadischen Fällen in Polen konnte keine Zecke als FSMEV-RNA positiv identifiziert werden (STEFANOFF et al. 2013). Dies unterstreicht die Tatsache, dass sich die Zecke als Sentinel zur Identifizierung von Risikogebieten nicht eignet. Allein sinnvoll erscheint, dass man gezielt in klein umschriebenen Arealen, in denen sich Menschen mit einer hohen Wahrscheinlichkeit mit FSME infiziert haben, Zecken flaggt und diese untersucht, um Virus nachzuweisen.

Füchse

Zwischen den Jahren 1995 und 1996 wurden 786 Füchse in Nordrhein-Westfalen geschossen und auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSME-Virus untersucht. Hierbei waren 27 Tiere positiv im ELISA, davon wiederum neun positiv im Western-Blot und letztendlich nur ein Tier (0,13%) im bestätigenden PRNT (Plaque-Reduktions-Neutralisationstest) positiv (WURM et al. 2000).

In Kroatien wurden 371 Zecken von 40 adulten Füchsen abgesammelt und auf das Vorhandensein von FSMEV untersucht. Bei sechs Pools kam man zu einem positiven Ergebnis (JEMERŠIĆ et al. 2014).

Van der Poel analysierte 399 Seren von Füchsen aus den Niederlanden, von denen im ELISA zwei positiv waren, jedoch keines der Ergebnisse im SNT oder HAI bestätigt werden konnte (VAN DER POEL et al. 2005).

Es gab auch Untersuchungen, die zeigten, dass die Anzahl von Füchsen positiv mit der Anzahl an humanen FSME-Fällen korreliert. Gab es mehr Füchse, so stieg auch die Zahl der Fälle beim Menschen. Als Erklärungsversuche wurden folgende Möglichkeiten angegeben: Zum einen könne der Fuchs ein Reservoir für die FSME sein. Zum anderen trägt er viele Zecken und sorgt somit für deren Vermehrung durch eine auf ihm stattfindende Blutmahlzeit. Außerdem unterdrückt er als Raubtier die Anwesenheit von „dilution hosts“ wie Hasen und Moorhühnern, sodass die Krankheit weiter

übertragen werden kann. Auch jagt er kleinere Karnivoren wie Nerze und Hermeline, die die Mäusepopulation minimieren. (HAEMIG et al. 2008).

Ziegen

Auch mit Ziegen wurden in ganz Europa Seroprävalenzstudien durchgeführt. Klaus und Kollegen untersuchten zum einen eine 7-köpfige Ziegenherde in einem Nicht-Endemiegebiet in Thüringen und fanden ein positives Tier (KLAUS et al. 2010b). Außerdem untersuchten sie 163 Ziegen aus Baden-Württemberg, wobei 17,2% im SNT positiv waren (KLAUS et al. 2011). In einer groß angelegten Studie wurden über 3.700 Seren aus verschiedenen deutschen Bundesländern (Baden-Württemberg, Bayern, Thüringen, Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern) untersucht. Hierbei wurden bis zu 43% positive Tiere in Risikogebieten und bis zu 25% positive in Nicht-Risikogebieten gefunden (KLAUS et al. 2012).

In Polen wurden 358 Ziegen serologisch getestet, wobei bei 4,7% der Tiere Antikörper gefunden werden konnten. Dabei waren 14 von 151 aus endemischen und drei von 207 aus nicht-endemischen Regionen positiv (STEFANOFF et al. 2008). Außerdem wurden 4.114 Ziegenserum aus dem Kanton Valais in der Schweiz getestet, wobei 175 (4,3%) im ELISA positiv waren, wovon 47 (1,14%) im Absorptionstest und 70 (1,70%) im SNT bestätigt werden konnten (RIEILLE et al. 2013). In Italien wurden in der Provinz Trento 459 Seren untersucht. Hierbei waren je nach Region 0 bis 41,9% der Tiere positiv (RIZZOLI et al. 2007).

Schafe

Bei einer deutschlandweiten Studie wurden über 3.500 Seren von Schafen aus verschiedenen Bundesländern (Baden-Württemberg, Bayern, Thüringen, Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern) untersucht. Hierbei fand man bis zu 43% positive Tiere in Risikogebieten und bis zu 36% positive Tiere in Nicht-Risikogebieten (KLAUS et al. 2012). Klaus und Kollegen untersuchten außerdem im Zusammenhang mit der Infektion eines Affen eine benachbarte Schafherde in Salem am Bodensee. Hierbei kamen sie bei 100 Proben in 24 Fällen im ELISA und in neun Fällen im bestätigenden SNT zu einem positiven Ergebnis (KLAUS et al. 2010a).

In Ungarn wurden neben anderen Seren auch 100 Schafserum serologisch untersucht, wobei 7% positiv waren (ŠIKUTOVÁ et al. 2009).

Rinder

Bei einer ungarischen Studie wurden unter anderem 260 Rinderseren auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV untersucht, hierbei kam es bei 26,5% der Tiere zu einem positiven Ergebnis (ŠIKUTOVÁ et al. 2009). In Litauen wurden in einer Studie 423 Kühe untersucht, wobei zehn Tiere (2,4%) Antikörper aufwiesen (JUCEVICIENE et al. 2005).

Van der Poel analysierte 180 Rinderseren aus den Niederlanden, von denen im ELISA sechs positiv waren, jedoch keines der Ergebnisse im SNT oder HAI bestätigt werden konnte (VAN DER POEL et al. 2005).

Vögel

Vögel spielen vor allem aufgrund ihres Zugverhaltens eine mögliche Rolle bei der Weiterverbreitung der FSME, indem sie infizierte Zecken über weite Strecken transportieren. Es wird davon ausgegangen, dass jedes Jahr Millionen von Zecken hierdurch transportiert und neue endemische Foci gegründet werden. Außerdem wird postuliert, dass bei ihnen auch eine Übertragung von Zecke zu Zecke über das co-feeding möglich sein könnte (HASLE 2013).

In Tomsk, in West-Sibirien, wurden zwischen 2006 und 2011 779 Vögel gefangen und nach Zecken abgesucht. 14,1% der *I. persulcatus* waren FSMEV-positiv, aber auch andere Zeckenarten wie *I. pavlovsky* oder *I. plumbeus* konnten positiv getestet werden. Es wurden bis zu 13 Zecken pro Vogel (Baumpieper) bei den FSMEV-Zeckenpositiven Vogelspezies gefunden. 489 der Vögel wurden sezziert und auch deren innere Organe auf TBEV-RNA und Antigen untersucht. Interessanterweise waren 106 dieser Vögel selbst positiv, trugen aber keine infizierte Zecke an sich (MIKRYUKOVA et al. 2014).

Bei einer schwedischen Studie wurden insgesamt 13.260 Zugvögel auf Zecken untersucht. Insgesamt wurden 1.155 Zecken, vorrangig der Art *Ixodes ricinus*, von 447 Vögeln (3,4%) gesammelt. Sechs Zecken von vier Vögeln (Passeriformes), die aus West-Russland und Finnland kamen, trugen FSMEV in sich. Die Infestationsrate der Vögel betrug im Schnitt 2,6 Zecken pro befallenem Vogel (WALDENSTRÖM et al. 2007).

In der baltischen Region Russlands wurde das TBEV in einer *I. ricinus*, die von einem Zugvogel stammte, gefunden. Insgesamt waren 18,5% der 577 untersuchten Vögel von Zecken befallen (MOVILA et al. 2013).

In Norwegen wurden knapp 10.000 Vögel untersucht. Hierbei wurden drei TBEV-positive Zecken (1 Nymphe und zwei Larven) auf einem Rotkehlchen gefunden. Hierbei ist unklar, ob der Vogel virämisch war oder die Übertragung durch co-feeding geschah (HASLE 2013).

In der Slowakei wurden sowohl Antikörper als auch Antigen in Blut, Gehirnproben und Lebern gefangener Vögel gefunden (ERNEK et al. 1977).

2.11 Vorbeugung und Kontrolle

FSME lässt sich als virale Erkrankung nicht kausal therapieren. Es ist nur möglich, symptomatisch zum Beispiel in Form von Infusionen, Schmerzmitteln oder Antibiotika zu behandeln. Deshalb ist eine Prophylaxe gegen die Erkrankung umso wichtiger. Hierbei ist besonders eine Impfung und das gründliche Absuchen des Körpers nach jedem Spaziergang im Wald hervorzuheben. Prädisponierte Körperstellen sind hierbei bei Erwachsenen die Achseln, Kniekehlen, der Bauchnabel und der Genitalbereich und bei Kindern zusätzlich der Kopf. Die Zecken bevorzugen Stellen, die warm und gut durchblutet sind und eine dünne Hautschicht aufweisen. Beim Hund ist es außerdem möglich, Spot-On-Präparate oder Halsbänder anzuwenden, um Zecken vom Tier fern zu halten. Amitraz-, Fipronil- und Permethrinpräparate haben sich bewährt.

Es gibt Studien, die zeigen, dass selbst das Verabreichen von Akariziden keinen absoluten Schutz gegen Zecken bietet (LESCHNIK et al. 2013). Hierbei kann es unter anderem zu einem fehlerhaften Auftragen (zu selten oder an falscher Körperstelle) durch den Besitzer kommen. Deshalb sollte auch der Hund nach jedem Waldspaziergang nach Zecken abgesucht werden.

2.11.1 Impfung beim Menschen

Derzeit sind in Deutschland zwei inaktivierte Vakzinen auf dem Markt, die eine stammt von der Firma Novartis und die zweite von der Firma Baxter. Novartis benutzt für die Impfstoffherstellung den Virusstamm K23 und Baxter den Stamm Neudoerfl (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008).

Es werden drei Impfungen zur Grundimmunisierung, sowie eine vierte Impfdosis als Booster verabreicht. Danach sollte man sich alle fünf Jahre zur Auffrischung impfen lassen, über 50-Jährige alle drei Jahre. Es sind verschiedene Impfschemata für den Menschen zugelassen.

Laut WHO sind bisher keine ernstzunehmenden Impfkomplicationen und Nebenwirkungen bekannt. Eine Impfung wird bei Aufenthalt in einem Risikogebiet oder bei dauernder Arbeit im Wald empfohlen. Eine Impfung gegen einen der drei Subtypen, in beiden Fällen der European Subtyp, schützt gegen alle drei Subtypen (WHO 1967, ORLINGER et al. 2011).

Jährlich werden die Impfquoten bei den Schuleingangsuntersuchungen in Deutschland erhoben. Unter anderem wird hierbei auch die Impfung gegen FSME erfasst. Die aktuellsten Daten zeigen, dass immer weniger Kinder gegen die FSME geimpft werden. Vor dem Hintergrund, dass sich die FSME in Deutschland weiter ausbreitet (immer mehr Risikogebiete, RKI 2014) und die Krankheit nicht therapierbar ist, birgt dies die Gefahr für mehr FSME-Fälle in Deutschland in naher Zukunft.

Die Wirksamkeit und Erfolgsquote einer Impfung kann man am Beispiel von Österreich sehr gut nachvollziehen (siehe dazu Abbildung 8).

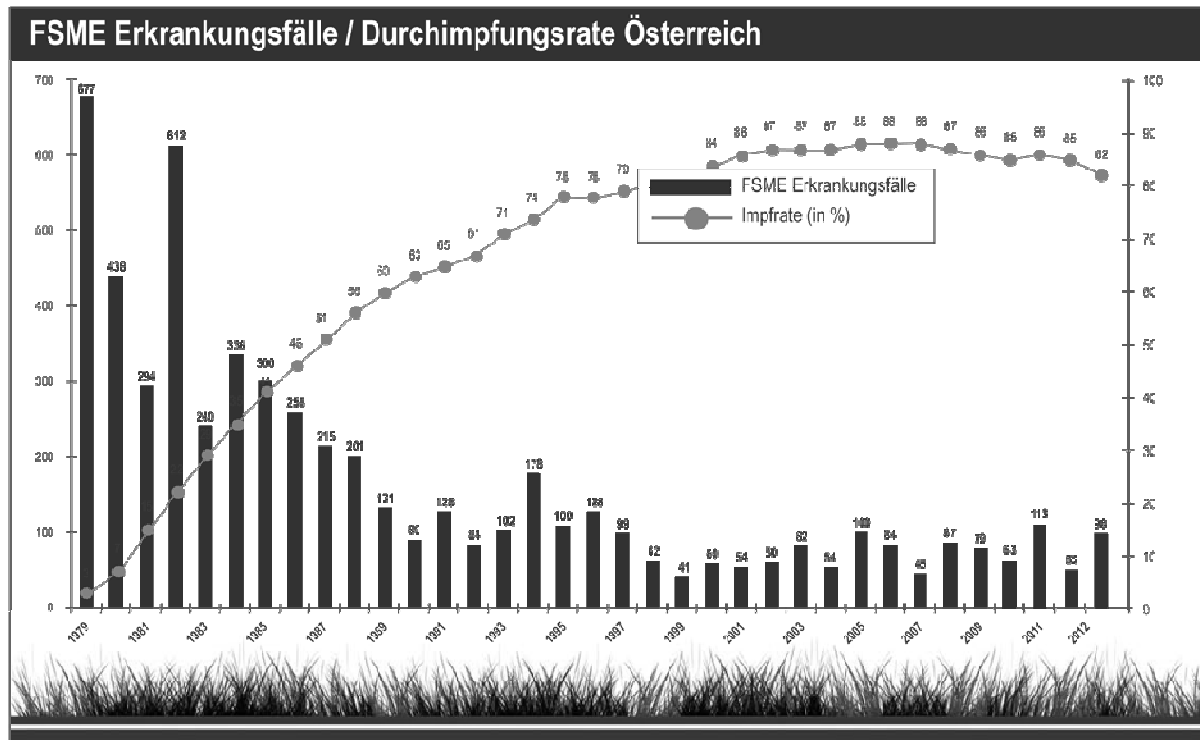


Abbildung 8: FSME Erkrankungsfälle/Durchimpfungsrate Österreich (Quelle zecken.at)

Bevor die jährliche FSME-Impfung in Österreich im Jahre 1981 eingeführt wurde, hatte das Land in Europa die höchsten Morbiditätsraten mit jährlich bis zu 700 hospitalisierten Patienten. Seitdem gibt es einen steten Rückgang der Erkrankungszahlen. Im Jahr 2008 hatte 88% der österreichischen Bevölkerung mindestens eine FSME-Impfung erhalten. In einem Fünf-Jahresintervall zwischen 2004 und 2008 wurden jährlich im Durchschnitt 74 Fälle registriert (KUNZE 2012). Dieser Trend setzte sich auch in den folgenden Jahren fort und zeigt, wie wichtig eine Impfung ist, um die FSME-Inzidenz niedrig zu halten. Vergessen sollte man aber nicht, dass Österreich trotz geringer Erkrankungszahlen ein Endemiegebiet ist. Die meisten importierten FSME-Fälle in Deutschland stammen deshalb aus Österreich. Tschechien und Slowenien gelten ebenfalls als Endemiegebiete in Europa, hier sind die Impfraten mit 16% und 12% eher gering und die Inzidenzen mit Werten von sieben und 13 pro 100.000 Einwohnern entsprechend höher (HEINZ et al. 2013).

2.11.2 Impfung bei Tieren

Für Tiere sind bisher keine Impfstoffe zugelassen. In Süddeutschland und Österreich wird darüber berichtet, dass die Möglichkeit genutzt wird, die humanen Impfstoffe umzuwidmen und mit der Erlaubnis und auf Eigenverantwortung des Besitzers auch Tiere damit vakziniert werden (MÜLLER et al. 2006).

Hierzu wurden Studien von Klaus und Kollegen durchgeführt, bei denen verschiedene Tierarten (Hunde, Rinder, Ziegen, Schafe, Hasen, Pferd, Schweine und Mäuse) mit einem der kommerziell erhältlichen Impfstoffe viermal geimpft wurden. Es wurde am Tag 0, nach einer, drei und elf Wochen geimpft. Zwei Wochen nach der vierten Impfdosis entwickelten alle Tiere TBEV-spezifische

Antikörpertiter. Alle Tiere serokonvertierten, was zeigt, dass die Impfung auch bei Tieren eine Antikörperbildung induziert (KLAUS et al. 2011).

Um die Ergebnisse von Klaus und Kollegen zu wiederholen und Positivkontrollen für die Hundestudie zu gewinnen (siehe Veröffentlichung 2), impften wir zwei Hunde mit dem gleichen Impfschema (KLAUS et al. 2011). Es handelte sich hierbei um eine siebenjährige, weiblich-kastrierte Mischlingshündin (Lilo) und einen achtjährigen, männlich-kastrierten Golden Retriever (Ben). Es wurden regelmäßige Blutentnahmen vorgenommen und anschließende AK-Untersuchungen mithilfe des Immunozytm FSME All Species Kits von Progen durchgeführt. Verdeutlicht werden die Antikörperspiegel in Abbildung 9 und Abbildung 10. Beide Hunde serokonvertierten und hielten ihre Antikörperspiegel über einen Zeitraum von über 30 bzw. 60 Wochen.

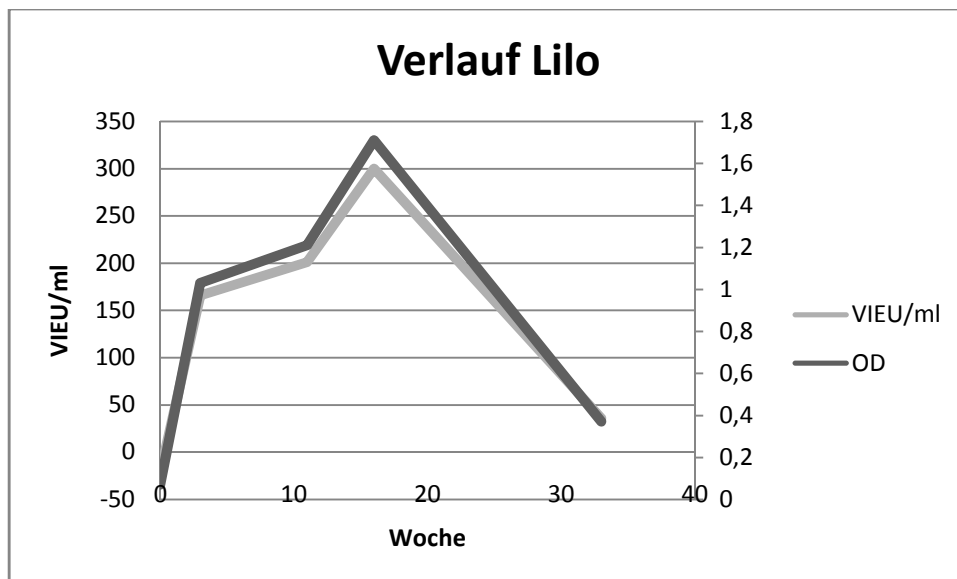


Abbildung 9: Antikörperverlauf bei Hund Lilo

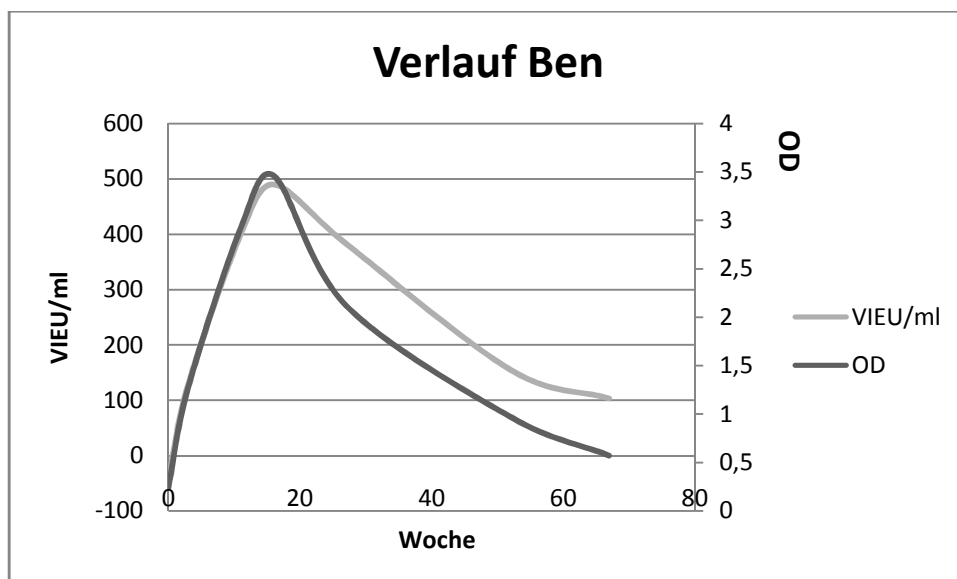


Abbildung 10: Antikörperverlauf bei Hund Ben

2.12 Sachsen

Das Untersuchungsgebiet unserer beiden Studien beschränkte sich auf Sachsen (ca. vier Millionen Einwohner auf einer Fläche von ca. 18.400 km²).

Sachsen unterteilt sich in zehn Landkreise, sowie die drei kreisfreien Städte Dresden, Chemnitz und Leipzig, die auch die drei Verwaltungsbezirke bilden. Seit der Einführung des Infektionsschutzgesetzes im Jahr 2001 wurden dem Robert-Koch-Institut 70 humane Fälle in Sachsen gemeldet (siehe Tabelle 1), wobei 34 davon autochthon waren, was bedeutet, dass die Erkrankung auch in Sachsen erworben wurde. Eine genaue Ermittlung des Infektionsortes gestaltet sich jedoch schwierig (siehe Abbildung 11).

Kreis	Anzahl Fälle
SK Chemnitz	3
LK Erzgebirgskreis	5
LK Mittelsachsen	2
LK Vogtlandkreis	21
LK Zwickau	3
LK Bautzen	7
SK Dresden	13
LK Görlitz	4
LK Meißen	7
LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge	1
SK Leipzig	4
LK Leipzig	
LK Nordsachsen	

Tabelle 1: Registrierte humane FSME-Fälle in Sachsen seit 2001 (Quelle: Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>, Abfragedatum: 01.02.2015)

Bundesland (Anzahl Fälle)	Kreis des Infektionsortes (Anzahl Fälle)	Jahr der Erkrankung (Anzahl wenn > 1)	Weiterer möglicher Infektionsort
Sachsen (n=34)	SK Chemnitz (2)	2002, 2012 [*]	1 Fall 2013: Frankreich (Elsaß)
	LK Mittelsachsen (1)	2002 [*]	
	LK Vogtlandkreis ^{**} (10)	2003, 2010, 2011 (2), 2012, 2013 ^{**} (5)	
	SK Dresden (5)	2003, 2004, 2011, 2012, 2013	
	LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge (5)	2004 [*] , 2005, 2006, 2009 (2)	
	LK Bautzen (4)	2005, 2011 ^{**} (2), 2013	
	LK Görlitz (2)	2006, 2013	
	LK Meißen (2)	2002, 2006	
	LK Leipzig (1)	2009	
	LK Zwickau (2)	2010, 2013	
			LK Nordsachsen

Tab. 1: Seit 2002 nach IfSG übermittelte FSME-Erkrankungen mit Infektionsorten in Bundesländern, in denen bis 2013 keine Risikogebiete ausgewiesen waren (n=68); ^{*}Labornachweis mittels FSME-Antikörpertiteranstieg, [#]bei 1 Fall, ^{*}Positive Impfanamnese (Diagnostik fraglich), ^{**}Neues Risikogebiet 2014

Abbildung 11: Autochthone humane Fälle in Sachsen (Quelle RKI 2014)

3 Veröffentlichung 1

Prevalence of antibodies against Tick-borne encephalitis virus in wild game from Saxony, Germany

Anneliese Balling¹, Uta Plessow^{1,2}, Martin Beer³, Martin Pfeffer¹

¹ Institute of Animal Hygiene & Veterinary Public Health, Centre of Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany;

e-mail: anneliese.balling@vetmed.uni-leipzig.de; pfeffer@vetmed.uni-leipzig.de

² Administrative District Office Nordsachsen, Food Control and Veterinary Office, Richard-Wagner Straße 7a, 04509 Delitzsch; e-mail: uta.plessow@vetmed.uni-leipzig.de

³ Institute of Diagnostic Virology, Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Institute for Animal Health, Südufer 10, 17493 Greifswald - Insel Riems, Germany; e-mail: martin.beer@fli.bund.de

Veröffentlicht in: Ticks and Tick Borne Diseases, 2014 Oct;5(6):805-9

Corresponding author:

Martin Pfeffer

Institute of Animal Hygiene & Veterinary Public Health

Centre of Veterinary Public Health

University of Leipzig

An den Tierkliniken 1

04103 Leipzig

Phone: +49/ (0)341 97 38 150

Fax: +49/ (0)341 97 38 198

e-mail: pfeffer@vetmed.uni-leipzig.de

Keywords

Tick-borne encephalitis (TBE), serology, wildlife, surrogate marker, endemic region, risk area

Abstract

Tick-borne encephalitis (TBE) is the most important tick-transmitted viral disease in Europe and is caused by the flavivirus TBE-virus (TBEV). In Germany TBE is unevenly distributed with the vast majority of cases occurring in the south in so-called risk areas defined as regions with an incidence of at least 1 case in 100,000 inhabitants. However, in low endemic areas with lesser TBE cases the respective risk assessment is hard to achieve. We therefore intend to use the prevalence of antibodies against TBEV in wildlife to trace TBEV endemic areas as a surrogate marker for the notification of human cases. This study was conducted in Saxony, Germany, where 34 autochthonous cases were reported since 2001, thereby not allowing a geographic allocation within the state. A total of 1851 sera from wild boar and 35 sera from roe deer from all Saxon districts shot between April 2011 and March 2013 were screened for the presence of antibodies against TBEV. The overall seropositivity for Saxony was 10.5%. Among the wild boar sera, most positive samples could be found in the districts Meißen (23 %) and Vogtlandkreis (20 %) followed by Dresden (18%), Erzgebirgskreis and Görlitz (both 10%). We conclude that seroprevalence studies in game animals represent a promising surrogate marker and should be considered for future determination of risk areas. Although we are currently unable to explain the discrepancy of the few human cases and the high seroprevalence in some districts, vaccination against TBE should be considered for people planning outdoor activities in Dresden, Meißen or Vogtlandkreis.

Introduction

Tick-borne encephalitis (TBE) is the most important tick-transmitted viral disease in Europe (Süss, 2011). TBE is caused by TBE-virus (TBEV), a member of the family *Flaviviridae*, which consists of at least three subtypes, the European, the Siberian and the Far-Eastern subtype (Dobler et al, 2012). Until today, in Central Europe only the European subtype can be found with mortality rates of 0.5-2% (ECDC, 2012).

TBEV is mainly transmitted by the tick bite of *Ixodes ricinus*, the most common tick in Central Europe, but also cases of transmission by raw-milk consumption and its products are described (Holzmann et al, 2009; Hudopisk et al, 2013). The tick feeds on different hosts during its life span of 2-6 years depending on its current life stage (Růžek et al, 2013). The larvae mainly feed on rodents, while the nymphs prefer medium-sized animals such as squirrels, hedgehogs, hares and birds (Růžek et al, 2013). The adult ticks especially feed on large animals such as wild boars or deer serving as the meeting and mating site. Therefore, they play an important role as maintenance hosts for the tick population (Jaenson et al, 2012). In the transmission cycle of TBEV in nature, most animals do not develop sufficient virus titers in the blood to allow its transmission to other ticks via viremic blood (Dobler et al, 2012), because of a low-titred and short-lived viremia (Růžek et al, 2013). However, rodents seem to have a long-lasting viremia permitting efficient virus transmission to ticks (Achazi et al, 2011). Besides this the TBEV transfer to and between ticks is either possible through co-feeding (= contemporaneous feeding in close contact on a non-viremic host), or by horizontal (= feeding on a viremic host), transstadial or to a far lesser extent transovarial transmission (Růžek et al, 2013). Regardless of the mode of TBEV-transmission and the dynamics of TBEV-viremia, the respective animals react with an antibody response upon TBEV-infection (Jaenson et al, 2012), and these animals consequently may serve as indicator hosts for

TBEV circulation in nature when tested for TBEV-specific antibodies as shown before for domestic small ruminants (Klaus et al., 2010; 2012).

In Germany, 4,169 human TBE cases were reported since 2001, of which 420 were notified in 2013 alone. Cases are reported according to the actual case definition of the Robert-Koch-Institute to the Local Health Authorities. If in average more than 1 case per 100,000 inhabitants in a 5-year-period is notified in a certain district, it's called a risk-area. Districts with an incidence of less than 1 per 100,000 are termed non-risk areas for TBE. Currently approximately 95% of the annual cases were reported from the South of Germany (Baden-Württemberg, Bavaria and South-Hesse). But also in the Free State of Saxony in the past 13 years 54 cases were reported, of which 34 were considered autochthonously acquired. Also in the bordering states Saxony-Anhalt and Brandenburg eleven and twenty so-called sporadic cases were observed in the same time period, respectively (RKI, 2014). 200-300 cases are annually reported in neighboring Poland and 450-750 cases in the Czech Republic, both TBEV-endemic countries meeting the German criteria of a risk area. Hence, Saxony is a non-risk TBE area in the triangle between high endemic areas like Bavaria and the Czech Republic in the South and non-endemic areas such as Brandenburg and Saxony-Anhalt in the North. Based on the latest TBE risk evaluation by the RKI, Vogtlandkreis for the first time and as the only district of Saxony meets the criteria of a risk area since 2014 (RKI, 2014).

Next to human cases, there are descriptions of clinical cases in animals, such as dogs (Bajer et al, 2013; Reiner et al, 1998; Leschnik et al, 2003; Stadtbäumer et al, 2004; Weissenbock et al, 1996; Saenger et al, 2013), horses (Waldvogel et al, 1981; Klaus et al, 2013), a moufflon (Bago et al, 2002), monkeys (Klaus et al, 2010) and a goat (Zindel et al, 1983). Seroprevalence studies in various animal species were conducted in Germany estimating the prevalence rates of antibodies against TBEV in different regions. Müller et al (2003) found 23% of 517 dogs seropositive from an area in southern Germany. In other studies, 7 of 240 blood samples from horses from Marburg-Biedenkopf district in Hesse (Müller et al, 2006) were positive in the serum-neutralization test (SNT) and Janitza-Futterer found 23,4% of 205 horse sera containing antibodies against TBEV in the area of Lake Constance (Janitza-Futterer, 2003). Also from risk-areas in Baden-Württemberg, 163 field collected goat sera were tested, of which 17.2% turned out to be positive by SNT (Klaus et al, 2011). Moreover, Klaus and colleagues screened more than 3,500 sheep sera and more than 3,700 goat sera from districts all over Germany for the presence of antibodies against TBEV. In risk areas, they found seroprevalences of up to 33% and in non-risk areas of up to 13.9% (Klaus et al, 2012).

Furthermore, wildlife animals were used as sentinels in different investigations, showing that 8 % of 304 trapped rodents from non-risk areas and 15% of 137 trapped rodents from a risk-area in Hesse were TBEV-positive (Achazi et al, 2011). Different authors found that game animals serve as good sentinels for antibody detection in epidemiological studies (Charrel et al, 2004; Gerth et al, 1995; Kiffner et al, 2012; Roelandt et al, 2010; van der Poel et al, 2005; Ytrehus et al, 2013). Surveys based on wild animal species were used in order to define TBEV-endemic and possible risk areas in Croatia (Jemersic et al, 2014), Belgium (Linden et al, 2012), Denmark (Skarphedinsson et al, 2005), The Netherlands (Van der Poel et al, 2005) or Norway (Ytrehus et al, 2013). In a current study in the Czech Republic, sera from zoo animals were screened for antibodies against *Borrelia burgdorferi* s.l. and TBE. A markhor and a reindeer from the same zoo located in a TBEV-endemic area showed a positive result (Sirmarova et al, 2014).

In Germany, the first seroprevalence-study on game animals was conducted on the Island Usedom by Süss between 1986 and 1989 showing 5 of 500 samples of deer and wild boar reactive (Süss et al, 1992). Gerth and colleagues found 50 antibody-positive sera out of 192 examined samples in ELISA in the area of Tübingen (Gerth et al, 1995) and Kahl et al. found TBEV-specific titers of 1:10 to 1:40 in a hemagglutination inhibition assay (HAI) in 5 out of 15 shot deer in West-Berlin (Kahl et al, 1988). In South-Hesse, 22.9% of 105 analyzed sera of roe deer had TBEV-neutralizing antibodies (Kiffner et al, 2012) and 1 out of 786 red foxes from North-Rhine-Westphalia (a non-risk area) was seropositive (Wurm et al, 2000). Investigations in small terrestrial mammals (rodents and shrews) in the TBE risk area of the southern Bavarian forest revealed 14% of 266 animals with neutralizing antibodies against TBEV (Kocianova et al., 1993).

In the 1960s to 1980s, TBEV was known to be endemic in the eastern parts of Germany (Süss et al, 1992), but since then the disease seemed to decline without an apparent increase in vaccine coverage. In our study, we used the seroprevalence in wild game, especially wild boar, to evaluate the current situation in Saxony in terms of TBEV-endemicity thus providing evidence for the autochthonous occurrence of the reported sporadic TBE cases.

Material and Methods

Wildlife sera

A total of 1851 sera from wild boar and 35 sera from roe deer were investigated. The animals from the eastern districts (Bautzen, Görlitz, Meißen, Dresden and Sächsische Schweiz-Osterzgebirge (=SSO), figure) were shot between April and October 2011 and the wild boar from the districts Chemnitz, Erzgebirgskreis, Leipzig, Leipziger Land, Mittelsachsen, Nordsachsen, Vogtlandkreis and Zwickau (see figure) were shot between June 2012 and March 2013. Hunters were asked to take blood from the thoracic cavity or by heart puncture and send it to the State Laboratories of Human and Veterinary Affairs. The blood samples were centrifuged and the serum was kept frozen until examination in our laboratory. The origin of the different sera is shown in the table.

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

The Immunozytm FSME IgG All Species ELISA kit (Progen, Heidelberg, Germany) was used according to the manufacturer's instructions. A total of 1824 samples were tested by ELISA, 1789 sera from wild boars and 35 sera from roe deer in a 1:50 dilution. Results were expressed as Vienna units per ml (VIEU/ml) with <63 VIEU/ml considered negative, between 63 and 126 VIEU/ml as borderline and over 126 VIEU/ml as positive according to the manufacturer's recommendations. For 28 serum samples the ELISA could unfortunately not be performed due to the limited sample amount.

Immunofluorescence test (IFT)

391 randomly chosen wild boar sera from the eastern districts (Bautzen, Dresden, Görlitz, Meißen, and SSO) were tested in an indirect immunofluorescence test. For the IFT analysis the Euroimmun Anti-TBEV-IIFT (Euroimmun, Lübeck, Germany) was used. All samples were analyzed following the manufacturer's instructions. A goat-anti-swine-IgG-FITC-antibody (Dianova, Hamburg, Germany) was used as conjugate and a hyperimmune serum of a

TBEV-vaccinated (FSME-Immun, Baxter, Vienna) domestic pig was used as positive control. The serum of an untreated house pig served as negative control.

Titres of 10 and above were considered positive, between 5 and 10 as borderline. 363 sera from wild boars were tested by both ELISA and IFT.

Serum neutralization test (SNT)

In order to verify the positive or borderline ELISA or IFT results as TBEV- specific antibodies, 332 sera were tested by SNT. The assay was performed using Langat virus as described previously (Klaus et al, 2011; Klaus et al, 2012).

Results

A) ELISA

The overall seropositivity in the ELISA, counting all positive and borderline results, was 13.98% of 1824 tests. The seroprevalence reached from 0% in Chemnitz and Leipzig up to 37.5% positive or borderline results in Meißen. Notifiable were the 6 ELISA-positive samples from the town of Triebel out of 10 analyzed sera and the 3 positive samples out of 4 analyzed sera from the town Dröda (both in Vogtlandkreis). Also in the district Leipziger Land we had this kind of “hot-spot” with 4 out of 6 positive samples from the town Naunhof. Among the roe deer samples, we found 40% reactive (positive and borderline) sera in the ELISA. The highest values were detected in samples from Vogtlandkreis with 1080 VIEU/ml and from Meißen with 989 VIEU/ml. On average we found 76.5 VIEU/ml in all samples tested in ELISA and 471.6 VIEU/ml within all positive samples.

B) IFT

In summary, we found 33.07% of the 390 analyzed sera reactive, but only 19.73% sera were interpreted as positive and the remaining 13.34% of the reactive sera were considered borderline. Most IFT-positive samples were obtained from Meißen (32 of 75) and fewest from Görlitz (17 of 155) and Dresden (1 of 10). Of the 28 samples, which were only analysed in IFT, 46% were positive. The highest titre measured was 400, which we could find in all districts with positive samples.

C) Results of samples tested by ELISA and IFT

Randomly, samples were chosen and tested both in ELISA and IFT. Of the 363 sera, which were tested by both ELISA and IFT, 55 samples were considered reactive (= borderline and positive results, 15.15%) and 252 (69.42%) were considered negative in both assays. All other 56 samples (15.42 %) had divergent results in each of the two tests. 10 samples were considered reactive in ELISA, but negative in IFT and 46 sera were considered negative in ELISA, but reactive in IFT.

D) SNT

Out of 332 sera investigated by SNT, a total of 21 sera, positive in either IFT, ELISA or both could not be verified because of contamination (11 sera, 3.31%) or toxic effects to the cell culture (10 sera, 3.01%). 198 sera had a positive result (59.64%). The highest rate of positive SNT-results was achieved with samples from Vogtlandkreis: hereby 45 of the tested 51 sera

could be verified as positive (88.24% accordance). Aside from that we found a very good agreement with the samples from Erzgebirgskreis (81.82%) and from Mittelsachsen (58.82%).

The overall seropositivity (positive in SNT) for Saxony was 10.5% of all tested sera. The most positive sera came from Meißen with 42 positive out of 181 samples tested (23.2%) and from Vogtlandkreis with 45 positive out of 220 tested samples (20.45%). In the wild boar sera from Dresden, 6 out of 34 samples showed a positive result (17.65%). Among the 35 sera of roe deer, 8 (22.86%) were positive in the SNT. The highest titer was measured in one serum from Sächsische-Schweiz-Osterzgebirge with 240, which was also highly positive in the ELISA (643 VIEU/ml). Of the 46 samples, which were reactive in IFT, but negative in ELISA, 18 were considered positive in the SNT.

Discussion

Tick-borne encephalitis is endemic in Germany, but Saxony is declared as a non-risk-area because of not fulfilling the criteria of an incidence equal or above 1 in 100,000 inhabitants in any of its districts until 2014. With our study we wanted to examine the seroprevalence of wild animals in order to see whether or not testing antibodies against TBEV, mainly in wild boar, may be used as a surrogate marker for identifying TBE-endemic or risk areas. We analyzed 1851 sera of wild boar and 35 sera of roe deer by either ELISA, IFT or SNT and found districts such as Meißen (23%), Dresden (20%), Vogtlandkreis (20%), Görlitz and Erzgebirgskreis (both 10%) with high seroprevalences. These data confirm the autochthonous appearance of TBE in Saxony. The lack of seropositive animals in the districts of Leipzig and Chemnitz may be accounted for the small number of sera available for testing (7 and 4) or to the urban environment.

Vogtlandkreis is a district neighbouring the endemic areas Bavaria and the Czech Republic. Two towns (Triebel and Dröda) showed high individual prevalences (40% and 75%) and are situated next to the Bavarian border. In addition to that, in the Vogtlandkreis district 10 of the to-date 34 autochthonous human cases in Saxony are reported. In comparison to that, in Meißen only two autochthonous human cases were notified. This discrepancy is hard to explain and may have its reasons in the reporting system rather than the TBEV-endemic situation itself. Firstly, there are difficulties with the case definition and the reporting of a notified case, because often the symptoms are subclinical or imitate the symptoms of a flu-like illness. Secondly, lots of general physicians do not have TBE in mind in certain areas facing the non-specific flu-like and in many cases mild symptoms. Awareness is always positively correlated with the frequency of cases and thus cases may go unnoticed more often in the “non risk” areas. Awareness of this disease should be promoted also in non-risk or low-endemic areas. Thirdly and in addition to that, it is not easy in most cases to define the exact location of infection. Finally, different human behavior has been described as a crucial risk factor for contracting TBE and to explain different incidences (Sumilo et al., 2006; 2008).

We found clusters of positive samples both in Moritzburg-Friedewald in the district Meißen (with 5 out of 11 samples considered positive in SNT) and in Dresdner Heide (with 8 positive roe deer and 5 positive wild boar sera out of 59 tested). These two places are approximately 12-15 km apart and close to the city of Dresden, where already 5 autochthonous cases were reported but not enough to justify declaration as TBE-risk area. Because of the closeness to

the city and the many possibilities of leisure activities, people lingering there should however be aware of the risk for catching the disease. So it is desirable to evaluate other options for defining TBEV-endemic and risk areas. Dobler et al. postulated, that not only human autochthonous cases need to be considered, but also the detection of TBEV in ticks and the data on seroprevalence of antibodies in wild and domestic animals (Dobler et al, 2012). Also Klaus and colleagues could demonstrate the usefulness of domestic small ruminants to gain information about presence of TBEV in a region (Klaus et al, 2011; Klaus et al, 2012). In contrast, searching for TBEV-positive ticks equals looking for a needle in a haystack (Stefanoff et al., 2013) and should be focused on areas where serology of sentinel animals (livestock or wild life) argues for a higher incidence. Therefore, identifying suitable sentinel animals is of great importance.

Gerth and colleagues made the statement, that an ideal sentinel should have a limited home range, is available in large numbers, is dispersed throughout the surveillance area and should show a long-lasting antibody response after infection (Gerth et al, 1995). For wild animals like wild boars with a home range of about 5-70 km and roe deer with 5 km and the well-known good seroconversion rate (Ruzek et al, 2013), this fits very well.

Our data confirm that seroprevalence studies on animals do help detecting new TBEV-endemic areas. In addition, hunted wild boar are routinely screened for contagious swine diseases such as hog cholera and Aujeszky's disease and logistics for sampling the sera are already in place.

Of the samples that could not be evaluated by SNT due to contamination, emptiness or toxic effects, 17 samples showed positive results both in IFT and ELISA (see black dots in Figure). Until the beginning of 2013, sera were considered positive when showing a SNT-titre of 1:5 and above. If we also included samples with titers from 1:5 through <1:10, we would have 73 additional positive samples leading to an overall seroprevalence of 14.37% (271 of 1886 samples tested) in Saxony.

For the districts of Vogtlandkreis, Meißen, Dresden, Görlitz and Erzgebirgskreis, especially for people travelling to Dresdner Heide or the area around Moritzburg, we recommend humans to get vaccinated against TBE. This is the most efficient way to avoid a TBE infection. According to the current Epidemiological Bulletin of the Robert-Koch-Institute, Vogtlandkreis now is considered a risk-area (RKI, 2014). This nicely matches our findings with more than 20% positive wild boar sera and provides further evidence for the usefulness in considering surrogate markers when declaring certain areas as risk-areas in addition to solely counting the human cases.

We only investigated 35 serum samples of roe deer, but because of the high seroprevalence with 22.86% we suggest further investigations with a larger number of samples from all districts to be performed to see whether or not results correlate with the wild boar data presented here. Maybe other animals such as dogs, which are living much closer to humans, could be considered likewise for a serological survey. Seroconversion upon TBEV-infection is well documented for dogs, but in contrast to the wild animals investigated here, they may develop TBE resembling the clinical picture in men (Pfeffer and Dobler, 2011).

We conclude that the detection of antibodies against TBEV in wild game represents a promising surrogate marker system to determine new risk-areas, particularly in low-endemic areas such as Saxony. Wild animals seroconvert upon infection and because of existing monitoring systems for game animals, it is easy to obtain serum samples for examination.

Together with samples from domestic small ruminants and selected companion animals a complete sentinel network for TBEV risk analysis can be built.

Acknowledgments

The authors thank all the involved hunters all over Saxony for taking and sending the blood samples to us. We are deeply grateful for the samples provided by Dr. Renate Lohse, Saxon State Laboratory of Health and Veterinary Affairs, Dresden, and Dr. Jörg Walraph, Saxon State Laboratory of Health and Veterinary Affairs, Chemnitz. We are thankful for the excellent technical assistance of Dana Rüster and Doreen Reichelt. The financial support by Novartis vaccines is gratefully acknowledged. The authors declare that they have no conflict of interests.

References

1. Achazi, K., Růžek, D., Donoso Mantke, O., Schlegel, M., Ali, H.S., Wenk, M., Schmidt-Chanasit, J., Ohlmeyer, L., Rühle, F., Vor, T., Kiffner, C., Kallies, R., Ulrich, R.G., Niedrig, M., 2011. Rodents as Sentinels for the Prevalence of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11, 641–647.
2. Bago, Z., Bauder, B., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Weissenböck, H., 2002. Tickborne encephalitis in a mouflon (*Ovis ammon musimon*). *Vet Rec.* 150, 218–220.
3. Bajer, A., Rodo, A., Bednarska, M., Mierzejewska, E., Welc-Falęciak, R., 2013. *Babesia canis* and tick-borne encephalitis virus (TBEV) co-infection in a sled dog. *Ann Agric Environ Med.* 20, 426–430.
4. Charrel, R.N., Attoui, H., Butenko, A.M., Clegg, J.C., Deubel, V., Frolova, T.V., Gould, E.A., Gritsun, T.S., Heinz, F.X., Labuda, M., Lashkevich, V.A., Loktev, V., Lundkvist, A., Lvov, D.V., Mandl, C.W., Niedrig, M., Papa, A., Petrov, V.S., Plyusnin, A., Randolph, S., Suss, J., Zlobin, V.I., Lamballerie, X. de, 2004. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 10, 1040–1055.
5. Dobler, G., Gniel, D., Petermann, R., Pfeffer, M., 2012. Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr.* 162, 230–238.
6. European Centre for Disease Prevention and Control, 2012. Epidemiological situation of tick - borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries. Stockholm: ECDC, <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TBE-in-EU-EFTA.pdf>. Accessed 2 April 2014.
7. Gerth, H.-J., Grimshandl, D., Stage, B., Döller, G., Kunz, C., 1995. Roe deer as sentinels for endemicity of tick-borne encephalitis virus. *Epidemiol Infect.* 115, 355–365.
8. Holzmann, H., Kundi, M., Stiasny, K., Clement, J., McKenna, P., Kunz, C., Heinz, F.X., 1996. Correlation Between ELISA, Hemagglutination Inhibition, and Neutralization Tests After Vaccination Against Tick-Borne Encephalitis. *J Med Virol.* 48, 102–107.
9. Holzmann, H., Aberle, S.W., Stiasny, K., Werner, P., Mischak, A., Zainer, B., Netzer, M., Koppi, S., Bechter, E., Heinz, F.X., 2009. Tick-borne Encephalitis from Eating Goat Cheese in a Mountain Region of Austria. *Emerg Infect Dis.* 15, 1671–1673.

10. Hudopisk, N., Korva, M., Janet, E., Simetinger, M., Grgič-Vitek, M., Gubenšek, J., Natek, V., Kraigher, A., Strle, F., Avšič-Županc, T., 2013. Tick-borne Encephalitis Associated with Consumption of Raw Goat Milk, Slovenia, 2012. *Emerg Infect Dis.* 19., 806-808
11. Jaenson, T.G.T., Hjertqvist, M., Bergström, T., Lundkvist, Å., 2012. Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasit Vectors.* 5, 184.
12. Janitza-Futterer, D., 2003. Serologische Untersuchungen zur endemischen Situation der Infektion mit dem FSME-Virus in einer südbadischen Pferde- und Hundepopulation. Dissertation, München.
13. Jemeršič, L., Deždek, D., Brnić, D., Prpić, J., Janicki, Z., Keros, T., Roić, B., Slavica, A., Terzić, S., Konjević, D., Beck, R., 2014. Detection and genetic characterization of tick-borne encephalitis virus (TBEV) derived from ticks removed from red foxes (*Vulpes vulpes*) and isolated from spleen samples of red deer (*Cervus elaphus*) in Croatia. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 7-13.
14. Kahl, O., Radda, A.C., 1988. Occurrence of tick-borne encephalitis (TBE) virus in Berlin (West). *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A.* 268, 482–486.
15. Kiffner, C., Vor, T., Hagedorn, P., Niedrig, M., Rühle, F., 2011. Factors affecting patterns of tick parasitism on forest rodents in tick-borne encephalitis risk areas, Germany. *Parasitol Res.* 108, 323–335.
16. Klaus, C., Hoffmann, B., Beer, M., Müller, W., Stark, B., Bader, W., Stiasny, K., Heinz, F.X., Süss, J., 2010. Seroprevalence of tick-borne encephalitis (TBE) in naturally exposed monkeys (*Macaca sylvanus*) and sheep and prevalence of TBE virus in ticks in a TBE endemic area in Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 1, 141–144.
17. Klaus, C., Beer, M., Saier, R., Schubert, H., Bischoff, S., Süss, J., 2011. Evaluation of serological tests for detecting tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animals. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 124, 443–449.
18. Klaus, C., Beer, M., Saier, R., Schau, U., Moog, U., Hoffmann, B., Diller, R., Süss, J., 2012. Goats and sheep as sentinels for tick-borne encephalitis (TBE) virus – Epidemiological studies in areas endemic and non-endemic for TBE virus in Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 3, 27–37.
19. Klaus, C., Hörügel, U., Hoffmann, B., Beer, M., 2013. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection in horses: Clinical and laboratory findings and epidemiological investigations. *Vet Microbiol.* 163, 368–372.
20. Kocianova, E., Kozuck, O., Bakoss, P., Rehacek, J., Kovacova, e., 1993. The prevalence of small terrestrial mammals infected with tick-borne encephalitis virus and leptospirae in the foothills of the southern Bavarian forest, Germany. *Appl. Parasitol.* 34, 283-290.
21. Leschnik, M.W., Kirtz, G.C., Thalhammer, J.G., 2002. Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. *Int J Med Microbiol.* 291, 66–69.
22. Linden, A., Wirtgen, M., Nahayo, A., Heyman, P., Niedrig, M., Schulze, Y., 2012. Tickborne encephalitis virus antibodies in wild cervids in Belgium. *Vet Rec.* 170, 108.
23. Müller, K., König, M., Thiel, H.-J., 2006. Die tick-borne Enzephalitis (TBE) unter besonderer Berücksichtigung der Infektion beim Pferd. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 113, 147–151.

24. Müller, W., 1997. TBE in the dog– seroepidemiological studies. In: Süss, J., Kahl, O. (Eds), Tick-borne Encephalitis and Lyme Borreliosis, 4th International Potsdam Symposium on Tick-borne Diseases, Pabst Science Publishers.
25. Pfeffer, M., Dobler, G., 2011. Tick-borne encephalitis in dogs – is this an issue? *Parasites Vectors* 4, 59.
26. Reiner, B., Fischer, A., 1998. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte. *Kleintierpraxis* 43, 255–268.
27. RKI, 2014. FSME: Risikogebiete in Deutschland (Stand: April 2014). *Epidemiologisches Bulletin* 15/2014, 121-133.
28. Roelandt, S., Heyman, P., Tavernier, P., Roels, S., 2010. Tick-borne encephalitis in Europe: Review of an emerging zoonosis. *Vlaams Diergen Tijds.* 79, 23–31.
29. Růžek, D., Bilski, B., Günther, G., 2013. Tick-Borne Encephalitis. In: Sunit K. Singh and Daniel Růžek (Ed.): *Neuroviral Infections. RNA Viruses and Retroviruses*. CRC Press, Taylor and Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, pp. 211–237.
30. Saenger, K., Danner, K.-J., Maurer, M., Bago, Z., 2013. FSME bei einem Hund. *Prakt Tierarzt.* 94, 392–396.
31. Sirmarova, J., Ticha, L., Golovchenko, M., Salat, J., Grubhoffer, L., Rudenko, N., Nowotny, N., Ruzek, D., 2014. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and tick-borne encephalitis virus in zoo animal species in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis.*; Available online 13 May 2014
32. Skarphéðinsson, S., Jensen, P.M., Kristiansen, K., 2005. Survey of Tick-borne Infections in Denmark. *Emerg Infect Dis.* 11, 1055–1061.
33. Sumilo, D., Bormane, A., Asokliene, L., Lucenko, I., Vasilenko, V., Randolph. S., 2006. Tick-borne encephalitis in the Baltic States: identifying risk factors in space and time. *Int J Med Microbiol*, 296 (suppl):76-79.
34. Sumilo, D., Asokliene, L., Bormane, A., Vasilenko, V., Golovljova, I., Avsic-Zupanc, T., Hubalek, Z., Randolph, S.E., 2008. Socio-economic factors in the differential upsurge of tick-borne encephalitis in Central and Eastern Europe. *Rev Med Virol*, 18(2):81-95.
35. Stadtbäumer, K., Leschnik, M.W., Nell, B., 2004. Tick-borne encephalitis virus as a possible cause of optic neuritis in a dog. *Vet Ophthalmol.* 7, 271–277.
36. Stefanoff, P., Zielicka-Hardy, A., Hlebowicz, M., Konior, R., Lipowski, D., Szenborn, L., Siennicka, J., Orlikova, H., Working Group, TE, 2013. New endemic foci of tick-borne encephalitis (TBE) identified in districts where testing for TBE was not available before 2009 in Poland. *Parasit Vectors.* 6, 180.
37. Süss, J., Sinnecker, H., Sinnecker, R., Berndt, D., Zilske, E., Dedek, G., Apitzsch, L., 1992. Epidemiology and Ecology of Tick-borne Encephalitis in the Eastern Part of Germany Between 1960 and 1990 and Studies on the Dynamics of a Natural Focus of Tick-borne Encephalitis. *Zentralbl Bakteriol.* 277, 224–235.
38. Süss, J., 2011. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia—An overview. *Ticks Tick Borne Dis.* 2, 2–15.
39. van der Poel, W., van der Heide, R., Bakker, D., Loeff, M. de, Jong, J. de, van Manen, N., Gaasenbeek, C., Borgsteede, F., 2005. Attempt to Detect Evidence for Tick-Borne Encephalitis Virus in Ticks and Mammalian Wildlife in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 5, 58–64.

40. Waldvogel, A., Matile, H., Wegmann, C., Wyler, R., Kunz, C., 1981. Zeckenenzephalitis beim Pferd. Schweiz Arch Tierheilkd. 123, 227–233.
41. Weissenböck, H., Holzmann, H., 1996. Tick-borne encephalitis in Austrian dogs. Vet Rec. 139, 575–576.
42. Wurm, R., Dobler, G., Peters, M., Kiessig, S., 2000. Serological Investigations of Red Foxes (*Vulpes vulpes* L.) for Determination of the Spread of Tick-borne Encephalitis in Nordrhine-Westphalia. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 47, 503–509.
43. Ytrehus, B., Vainio, K., Dudman, S.G., Gilray, J., Willoughby, K., 2013. Tick-Borne Encephalitis Virus and Louping-III Virus May Co-Circulate in Southern Norway. Vector Borne Zoonotic Dis. 13, 762–768.
44. Zindel, W., Wyler, R., 1983. Zeckenenzephalitis bei einer Ziege im untern Prättigau. Schweiz Arch Tierheilkd. 125, 383–386.

Table: Serum samples of wild boar and roe deer according to the district within Saxony where they were hunted.

Species	District	Number of samples	Positive* n (%)
Wild boar	Bautzen	176	15 (8,52%)
Wild boar	Chemnitz	4	0 (0%)
Roe deer	Dresden	35	8 (22,86%)
Wild boar	Dresden	34	6 (17,65%)
Wild boar	Erzgebirge	86	9 (10,47%)
Wild boar	Görlitz	344	36 (10,47%)
Wild boar	Leipziger Land	143	8 (5,59%)
Wild boar	Leipzig	7	0 (0%)
Wild boar	Meißen	181	42 (23,2%)
Wild boar	Mittelsachsen	194	10 (5,15%)
Wild boar	Nordsachsen	191	3 (1,57%)
Wild boar	Sächsische Schweiz – Osterzgebirge (SSO)	153	13 (8,5%)
Wild boar	Vogtland	220	45 (20,45%)
Wild boar	Zwickau	118	3 (2,54%)
Wild boar	All districts of Saxony	1851	190 (10.26%)
Wild boar & roe deer	All districts of Saxony	1886	198 (10.5%)

*samples were considered positive if SNT-Titer was ≥ 10

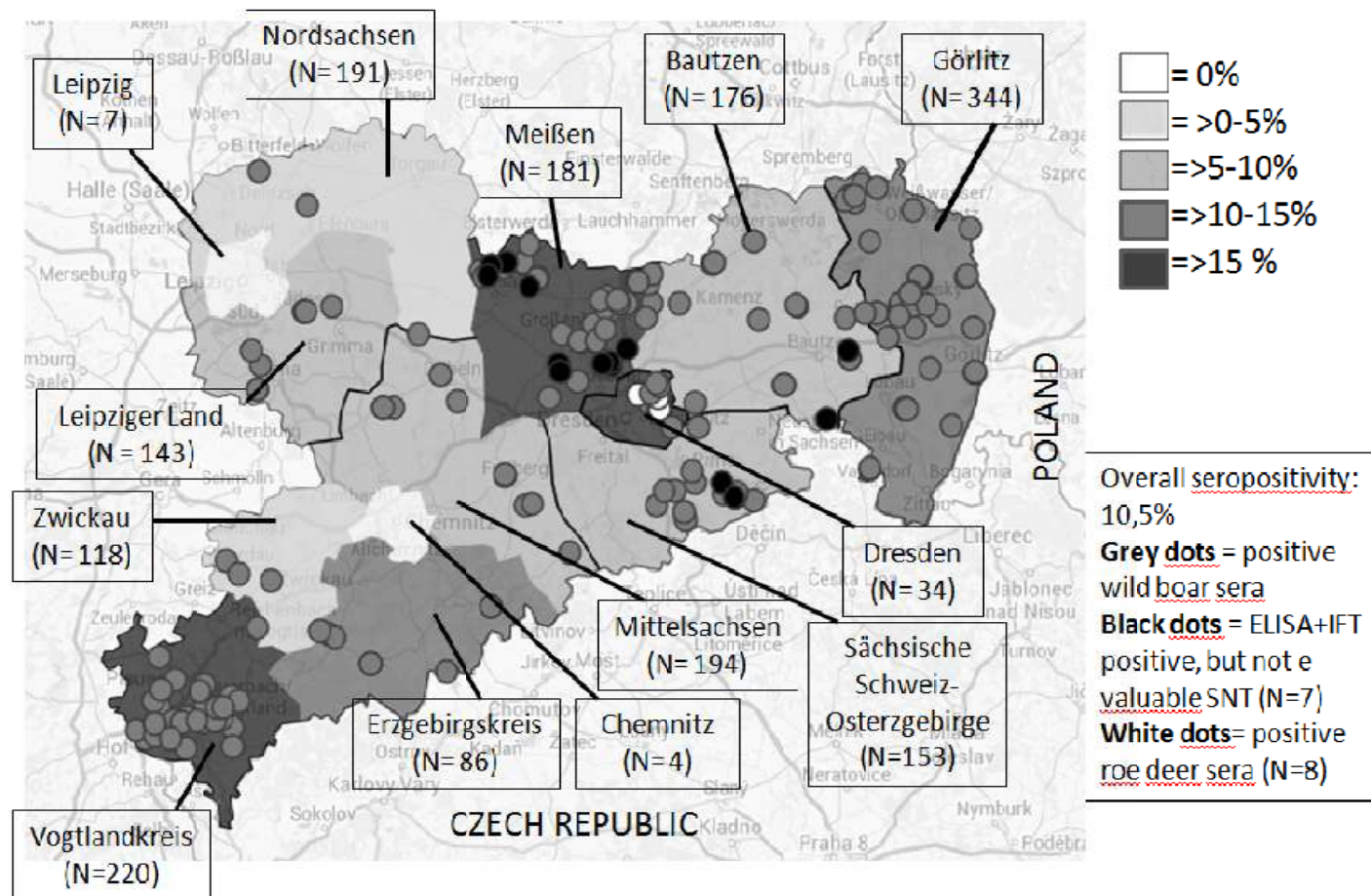


Fig. 1. Map showing the districts within Saxony in different shades of grey according to the level of seroprevalence found and as indicated on the scale box on the right. Squareboxes provide the names of districts and the total number of wild game sera tested. Dots indicate the origin of positive wild game sera with: grey colour = ELISA-positivewild boar sera, confirmed by SNT; white dots = ELISA-positive roe deer sera, confirmed by SNT (only in the Dresden district); black dots = ELISA- and IFT-positive wild boarsera, not tested by SNT.

4 Veröffentlichung 2

Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig¹

Institut für Virusdiagnostik, Friedrich-Loeffler-Institut, Insel Riems²

Novartis Vaccines, Marburg³

Zum Vorkommen von Antikörpern gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus bei Hunden im Freistaat Sachsen, Deutschland

Prevalence of antibodies against Tick-Borne Encephalitis virus in dogs from Saxony, Germany

Anneliese Balling¹, Martin Beer², Dieter Gniel³, Martin Pfeffer¹

Veröffentlicht in: Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 128, Heft 7/8 (2015), Seiten 297-303

Zusammenfassung

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) zählt zu den wichtigsten durch Zecken übertragenen viralen Erkrankungen in Europa und wird durch das FSME-Virus der Familie *Flaviviridae* ausgelöst. In Deutschland tritt die Mehrzahl der Fälle in so genannten Risikogebieten im Süden auf. In Gebieten, in denen nur sporadische Fälle auftreten, ist die Risikoabschätzung entsprechend schwierig. Wir wollten daher die Prävalenz von Antikörpern gegen das FSME-Virus bei Hunden als Indikator für die Erkennung humaner Fälle nutzen. Im Zeitraum von August 2012 bis März 2014 wurden 331 Blutproben von Hunden aus ganz Sachsen, die den Freistaat in den letzten 5 Jahren nicht verlassen hatten, gesammelt. Die Untersuchung auf Antikörper gegen das FSME-Virus erfolgte mit einem kommerziellen ELISA. Die im ELISA positiv- bzw. grenzwertig bewerteten Proben wurden im Serumneutralisationstest (SNT) auf das Vorhandensein FSME-Virus-spezifischer Antikörper nachuntersucht. Alle sieben ELISA-positiven Proben wurden im SNT mit Titern zwischen 1:15 und mehr als 1:40 verifiziert. Dies ergibt eine Seroprävalenz von 2.1 %. Die Ergebnisse belegen, dass Hunde als Sentineltier geeignet sind, um ein Vorkommen von FSME-Virus und damit die Exposition des Menschen nachzuweisen. Eine größere Anzahl von Proben wäre allerdings wünschenswert.

Schlüsselwörter: Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME), Serologie, Indikator, Sentinel, FSME-Risikogebiet

Summary

Tick-borne encephalitis (TBE) is the most important tick-transmitted viral disease in Europe and is caused by the TBE virus (TBEV), a member of the *Flaviviridae* family. In Germany, the vast majority of human TBE cases occurs in the south in so-called risk areas. However, in areas with only sporadic TBE cases, the respective risk assessment is hard to achieve. We

therefore intend to use the prevalence of antibodies against TBEV in dogs as an indicator to trace such TBE endemic areas. Between August 2012 and March 2014, a total of 331 blood sera were collected from dogs all over Saxony, which hadn't left the state for the past 5 years. For the detection of antibodies against TBE-virus a commercial ELISA was used. Ten sera with positive or borderline ELISA results were retested by serum neutralization test. All seven ELISA-positive serum samples could be verified to contain TBE-virus-specific antibodies with SNT titres between 1:15 and more than 1:40. We therefore found 2.1% seroprevalence in our samples. We conclude, that dogs can very well be used as sentinels, especially in areas with only sporadic TBE cases, although larger sample sizes are desired.

Keywords: Tick-borne encephalitis (TBE), serology, indicator, low endemic region, risk area

Einleitung

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) ist die wichtigste durch Zecken übertragene virale Erkrankung in Europa (Süss, 2011). Die FSME wird durch das FSME-Virus, das zur Familie der *Flaviviridae* gehört, hervorgerufen, von welchem es mindestens drei Subtypen gibt: den Europäischen (European), den Sibirischen (Siberian) und den Fernöstlichen (Far Eastern) Subtyp (Dobler et al., 2012; Pierson und Diamond, 2013). Bisher wurde in Zentraleuropa nur der Europäische Subtyp mit einer Mortalitätsrate von 0,5-2% gefunden (ECDC, 2012). Das FSME-Virus wird vor allem durch den Stich einer Zecke übertragen. Dabei handelt es sich in West- und Mitteleuropa um *Ixodes ricinus* und in Osteuropa um *Ixodes persulcatus*. Eine alimentäre Übertragung über den Verzehr von Rohmilch und deren Produkte ist nachgewiesen, tritt jedoch sehr selten auf (Holzmann et al., 2009; Hudopisk et al., 2013). Die Zecke nimmt während ihrer Lebensdauer von 2 bis 6 Jahren je nach Entwicklungsstadium auf verschiedenen Wirten Blutmahlzeiten ein (Růžek et al., 2013). Im natürlichen Übertragungszyklus des FSME-Virus entwickeln die meisten Tierarten mit Ausnahme der Nager keine ausreichend hohen und langandauernden Virustiter im Blut, um eine Übertragung auf andere Zecken über eine Virämie zu ermöglichen (Achazi et al., 2011, Dobler et al., 2012; Růžek et al., 2013). Die Übertragung zwischen Zecken und Nagern spielt sich hierbei in relativ eng umschriebenen Arealen, sogenannten Naturherden (Kupča et al., 2010), ab, die oftmals nicht größer als ein Fußballfeld sind (Dobler et al., 2010). Unabhängig davon, wie die Übertragung stattfindet, serokonvertieren die entsprechenden Tiere und bilden Antikörper gegen das FSME-Virus (Jaenson et al., 2012) und somit können diese Tiere bei entsprechender Testung als Indikatorwirt für eine Zirkulation von FSME-Virus in der Natur dienen.

In Deutschland wurden seit 2001 4276 humane FSME-Fälle registriert, 420 davon alleine im Jahr 2013. Derzeit entfallen 89,1 % der menschlichen Fälle auf die südlichen Bundesländer Bayern, Baden-Württemberg oder Südhessen (Stand 2013). Die registrierten Fälle werden an die zuständigen Gesundheitsämter übermittelt und anhand dieser Daten wird jährlich eine aktuelle Karte Deutschlands mit eingezeichneten Risikogebieten erstellt. Die Einteilung der Stadt- und Landkreise in Risiko- und Nicht-Risikogebiete erfolgt mit Hilfe einer Falldefinition, die vom Robert Koch-Institut ausgegeben wurde. Die Inzidenz der humanen autochthonen Fälle wird hierbei als Ermittlungsgrundlage herangezogen. Die Landkreise in denen nur sporadische Fälle gemeldet werden, sind epidemiologisch schwer zu beurteilen, da sie offensichtlich ein Infektionsrisiko bergen, aber die kleinräumige Struktur der Naturherde, in

denen das FSME-Virus zirkulierte, auf dieser Ebene nicht adäquat dargestellt werden kann. Bekannt ist außerdem, dass FSMEV-Naturherde über Jahre stabil bestehen, sich neu etablieren, aber mit der Zeit auch wieder erlöschen können. Beispielsweise war das Virus in den 60er Jahren in Ostdeutschland endemisch, heutzutage gibt es dort jedoch nur vereinzelte Fälle (Süss et al, 1992).

In Sachsen wurden in den letzten 13 Jahren 60 humane Fälle gemeldet, von denen über 34 als autochthon betrachtet werden können. In den benachbarten Bundesländern Brandenburg und Sachsen-Anhalt wurden im gleichen Zeitraum 21 bzw. 11 sogenannte sporadische Fälle registriert. In den angrenzenden Ländern Polen und in der Tschechischen Republik treten jährlich 200-300 bzw. 450-750 humane Fälle auf. Daher kann man sagen, dass Sachsen mit dem sporadischem Vorkommen von einzelnen Fällen, in einem Dreieck zwischen Gebieten ohne ausgewiesenes FSME-Risiko aber mit autochthonen Einzelfällen wie Brandenburg und Sachsen-Anhalt im Norden, und Risikogebieten wie Bayern, Polen und Tschechien im Süden und Osten liegt. Basierend auf der neusten Risikobewertung durch das Robert Koch-Institut, wird seit April diesen Jahres der Vogtlandkreis als erster sächsischer Landkreis (LK) als Risikogebiet gewertet (RKI, 2014).

Neben Fällen beim Menschen gibt es auch Fallbeschreibungen bei Hunden (Weissenböck und Holzmann, 1996; Reiner und Fischer, 1998; Leschnik et al., 2002; Stadtbäumer et al., 2004; Saenger et al., 2013; Bajer et al., 2014), Pferden (Waldvogel et al., 1981; Klaus et al., 2013), Affen (Süss et al., 2008), einem Mufflon (Bago et al., 2002) und einer Ziege (Zindel und Wyler, 1983). Die erkrankten Hunde hatten häufig einen rasch progressiven, nicht biphasischen Verlauf mit meist tödlichem Ausgang, wobei neben akuten neurologischen Symptomen auch eine Reihe unspezifischer Symptome auftraten. Hierzu zählten Inappetenz, Apathie, Aggressivität oder Wesensveränderungen (Reiner und Fischer, 1998). Die Erkrankung zeichnet sich beim Hund durch eine höhere Mortalität als beim Menschen aus. Bei den Tieren, die nicht vorzeitig versterben oder euthanasiert werden, sind Rekonvaleszenzenzeiten von bis zu sechs Monaten beschrieben (Leschnik et al., 2002). Mögliche Differenzialdiagnosen zu einer Erkrankung an FSME sind zum Beispiel Staupe, Tollwut, Toxoplasmose, Borreliose oder auch die Aujeszky-Krankheit (Leschnik et al., 2002). In Deutschland wurden schon verschiedene Seroprävalenzstudien an Tieren durchgeführt, wobei die Prävalenz von Antikörpern gegen das FSME-Virus in verschiedenen Regionen untersucht wurde. Beispiele hierfür sind Studien an Nagetieren (Achazi et al., 2011), kleinen Wiederkäuern (Klaus et al., 2010; 2012), Rindern (Leutloff et al., 2006), Pferden (Janitza-Futterer, 2003; Müller et al., 2006) oder Wildtieren (Gerth et al., 1995; Rieger et al., 1999; Wurm et al., 2000; Balling et al., 2014). Die bisher wenigen Studien mit Hunden stammen vorrangig aus Süddeutschland. Die erste wurde in den Jahren 1993 bis 1996 an 518 Hunden durchgeführt und zeigte bei 23 % ein positives Ergebnis (Müller, 1997). Außerdem untersuchte Janitza-Futterer im Jahr 2000 243 Hunde aus dem Gebiet zwischen Ravensburg und Waldshut serologisch. Hierbei waren 29,2 % der Hunde im ELISA positiv, ein bestätigender SNT wurde allerdings nicht durchgeführt. Es waren vor allem helle, weibliche, kastrierte Hunde zwischen zehn und zwölf Jahren, die Antikörper aufwiesen (Janitza-Futterer, 2003). Bei entsprechenden Untersuchungen in der Schweiz waren 3,6 % von 657 Hunden seropositiv (Matile et al., 1979). Auch in Österreich gab es eine Studie mit 545 Hunden, von denen 24 % ein positives Ergebnis aufwiesen (Kirtz, 1999). In Tschechien wurden 151 Hundeseren auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht. Bei 5 (3,3 %)

wurden FSME-Virus-spezifische Antikörper gefunden: einmal mit einem Titer von 1 : 4, dreimal 1 : 320 und einmal sogar 1 : 1280. Drei Hunde zeigten zudem neurologische Symptome, von diesen hatten zwei abfallende Titer nach einer weiteren Blutabnahme nach 1,5 Jahren und der dritte Hund einen starken Anstieg innerhalb weniger Tage (Klimes et al., 2001). In Norwegen wurden bei 52 von 317 (16,4 %) Hunden Antikörper gefunden (Csángó et al., 2004) und in Dänemark wurden 30 % von 125 Hunden im ELISA positiv getestet (Lindhe et al., 2009). In Griechenland wurden in sowohl zwei von 206 (0,97 %) sowie zu einem späteren Zeitpunkt in 37 von 429 (8,6 %) Hundenseren Antikörper nachgewiesen (Chambouris et al., 1989). Bajer und Kollegen untersuchten 25 Hunde in Polen auf Antikörper und fanden hierbei drei positive Tiere (12%; Bajer et al., 2014).

Hunde sind in engem Kontakt mit Menschen, ihr Aufenthaltsort ist meist bekannt, sie tragen viele Zecken und sind nicht gegen FSME geimpft. In der vorliegenden Studie sollte daher untersucht werden, ob sich der Hund als Sentineltier zur Aufdeckung von FSME-Naturherden eignet. Gemeinsam mit den humanen Meldedaten und den kürzlich erhobenen Befunden beim Wildtier könnte so das Bild vom Vorkommen des FSME-Virus in Sachsen ergänzt sowie das Bewusstsein für das Vorhandensein des FSME-Virus in Sachsen geschärft werden.

Material und Methoden

Probenmaterial und Gewinnung

Zwischen August 2012 und März 2014 wurden insgesamt 331 Hundeseren aus ganz Sachsen auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSME-Virus untersucht. Hunde, die Sachsen in den letzten fünf Jahren verlassen hatten und ein Risikogebiet besucht hatten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Alter, Rasse, Geschlecht und Vorerkrankung des Tieres spielten keine Rolle für dessen Auswahl. Den Tieren wurde entweder an der *Vena cephalica* oder der *Vena saphena lateralis* mithilfe einer 20-G-Kanüle (Henry Schein, USA) Blut abgenommen. Neben der Blutentnahme wurden die Hundebesitzer gebeten, einen Fragebogen auszufüllen. Hierbei wurden Informationen über die Herkunft, das Alter, das Gewicht, die Rasse, das Geschlecht, die Fellfarbe und -länge, die Art der Haltung (Zwinger, Kette, Wohnung), die Häufigkeit von Spaziergängen im Wald, die Ektoparasitenbehandlung oder auch die Zeckeninfestation des Tieres gewonnen. Die Einteilung der Hunde erfolgte nach den Wohnorten ihrer Besitzer (siehe Abbildung 1). Dabei verteilten sich die Hundeseren wie folgt auf die Landkreise (LK) und Städte Sachsens: Ein Probe stammte aus dem LK Bautzen, acht aus Chemnitz, zwölf aus Dresden, 15 aus dem LK Erzgebirgskreis, 14 aus dem LK Görlitz, 31 aus dem LK Leipziger Land, 104 aus Leipzig, fünf aus dem LK Meißen, 35 aus dem LK Mittelsachsen, 14 aus dem LK Nordsachsen, 30 aus dem LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge, 19 aus dem LK Vogtlandkreis und 43 aus dem LK Zwickau.

Enzyme-linked-immunosorbent Assay (ELISA)

Für die Untersuchung der 331 Seren wurde das Immunozyt® FSME (TBE) IgG All Species ELISA Kit (Progen Biotechnik GmbH, Heidelberg, Germany) verwendet. Die Proben wurden im Doppelansatz nach den Herstellerangaben in einer 1:50er Verdünnung getestet. Die Ergebnisse wurden als Vienna Units per ml (VIEU/ml) wiedergegeben. Werte von unter 63 VIEU/ml wurden als negativ, Werte zwischen 63 und 126 VIEU/ml als grenzwertig und über 126 VIEU/ml als positiv bewertet.

Serumneutralisationstest (SNT)

Um die positiven und grenzwertigen Ergebnisse zu verifizieren, wurden diese Proben in einem zweiten Test, dem Serumneutralisationstest, untersucht. Hierbei sollte eine Aussage darüber getroffen werden, ob es sich bei den im ELISA festgestellten Antikörpern um spezifische das FSME-Virus neutralisierende Antikörper handelt. Der Test wurde mit Langatvirus nach einem bereits beschriebenen Protokoll durchgeführt (Klaus et al., 2011, Klaus et al., 2012). Seren mit einem Titer von 1:10 und höher wurden als positiv bewertet.

Ergebnisse

Auswertung der Fragebögen

Für einen Hund wurde der Fragebogen lückenhaft ausgefüllt, sodass sich die folgenden Aussagen auf 330 Tiere beziehen. Das durchschnittliche Alter der Hunde betrug 5,7 Jahre, wobei der jüngste Hund vier Monate und der älteste 16,5 Jahre alt war. Die Studie beinhaltete 139 Rüden (41,99 %), 118 Hündinnen (35,65 %), 31 kastrierte Rüden (9,37 %) und 42 kastrierte Hündinnen (12,69 %). Das durchschnittliche Gewicht betrug 23,27 kg, wobei der leichteste Hund 2,2 kg und der schwerste 80 kg wog. Die häufigste beprobte Hunderasse war der Deutsche Schäferhund und seine Mischlinge mit 66 Individuen. Außerdem waren Jagdhunde (inklusive Beagles, Bracken und Dackeln) mit 70 Tieren in großer Anzahl vertreten sowie kleine Hunderassen wie Yorkshire Terrier, West-Highland-White Terrier oder Bologneser mit 46 Individuen. Die häufigste Fellfarbe war braunschwarz/gelbschwarz (91 Individuen, 27,49 %), gefolgt von braunen (61 Tiere, 18,4 %), hellen oder weißen (40 Tiere, 12,08 %) und trikolor-gezeichneten Hunden (39 Tiere, 11,78 %). Außerdem nahmen 34 schwarze, 25 weiß/braune, 20 graue sowie 20 weiß/schwarze Tiere an der Studie teil. 144 der untersuchten Hunde hatten mittellanges Fell, 133 kurzes und 53 langes Fell. Die Mehrzahl der Hunde (239 Tiere) wies laut Besitzerangaben nur einen geringen Zeckenbefall mit unter fünf Zecken pro Monat auf. Nur 15 Hundebesitzer gaben an, dass ihre Hunde mehr als 20 Zecken pro Monat trugen. Außer 71 Hunden (21,45 %) wurden alle mit Akariziden wie Spot-ons oder Halsbändern zumindest einmalig pro Saison behandelt.

Seroprävalenz

Die Untersuchung mithilfe des ELISAs ergab eine Gesamtseroprävalenz von 3,0 %, wenn alle positiven und grenzwertigen Proben gezählt wurden. Sieben Seren ergaben ein positives und drei Seren ein grenzwertiges Ergebnis. Drei der positiven Proben wurden von Hunden aus dem LK Sächsische Schweiz- Osterzgebirge, zwei aus dem Leipziger Land, eine aus Mittelsachsen und eine aus dem Erzgebirgskreis gewonnen. Zwei der Seren, die als zweifelhaft gewertet wurden, stammten aus Leipzig und die dritte aus dem LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge. Außer einem Golden Retriever hatten alle reaktiven Hunde eine dunkle Fellfarbe (siehe hierzu Tabelle 1). Das durchschnittliche Alter dieser Hunde betrug 6,7 Jahre und das Durchschnittsgewicht 19,5 kg. Fünf der zehn Hunde waren Försterhunde. Keiner der reaktiven Hunde zeigte neurologische Auffälligkeiten oder sonstige FSME-spezifische Symptome. Im SNT wurden diese 10 Seren erneut getestet. Die ELISA-positiven Proben wurden hierbei mit Titern von 15 und höher bestätigt. Die ELISA-grenzwertigen Proben wurden im SNT mit Titern unter 5 als negativ bewertet. Die resultierende

Gesamtprävalenz FSME-Virus-spezifischer Antikörper beträgt somit 2,1 %. Die Herkunft der seropositiven Tiere ist durch Sterne in Abbildung 1 dargestellt.

Diskussion

Die FSME ist in Deutschland endemisch, jedoch geographisch nicht gleichmäßig verteilt. Bisher wurde keiner der Stadt- und Landkreise des Freistaats Sachsen als Risikogebiet ausgewiesen, da sie das Kriterium einer Inzidenz von größer oder gleich 1 pro 100.000 Einwohnern im 5-Jahresmittel bis ins Jahr 2014 nicht erfüllten. Seit 2014, d.h. nach dem Beginn unserer Studie, ist das Vogtland als erster und bislang einziger LK vom RKI als Risikogebiet eingestuft (RKI, 2014). In der vorliegenden Studie sollte geprüft werden, ob das Untersuchen von Hundeseren auf Antikörper gegen das FSME-Virus als Indikator dienen kann, um FSME-endemische Regionen oder Risikogebiete zu verifizieren. Insgesamt wurden 331 Hundeseren mithilfe eines ELISA und eines Standard-SNT untersucht und dabei positive Tiere im Leipziger Land, im LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge, dem Erzgebirgskreis und Mittelsachsen identifiziert. Diese Daten bestätigen das autochthone Auftreten der FSME in Sachsen.

In Endemie- bzw. Risikogebieten wurden bei Hunden Seroprävalenzen von 3,3 % in Tschechien (Klimeš et al., 2001), 4,8 % auf Bornholm in Dänemark (Lindhe et al., 2009), 16,4 % in Norwegen (Csángó et al., 2004) und 24 % in Österreich (Kirtz, 1999) ermittelt. In den süddeutschen Risikogebieten wurden 23% seropositive Tiere in Baden-Württemberg (Müller, 1997) sowie 29 % seropositive Tiere in Südbaden (Janitza-Futterer, 2003) identifiziert. In Nicht-Endemiegebieten gibt es bislang nur zwei Studien. So wurden in Griechenland Werte von 0,97 % bzw. 8,6 % erzielt (Chambouris et al., 1989), jedoch ohne weitere Angaben zu den beiden Hundegruppen (206 und 429 Tiere) und der Spezifität des verwendeten Tests. Eine Untersuchung von 880 belgischen Hunden ergab ein positives Tier, welches jedoch aus dem Ergebnis exkludiert werden musste, da es einen Aufenthalt in einem deutschen Risikogebiet hatte (Roelandt et al., 2011). Die ermittelte Gesamtprävalenz von Sachsen liegt mit 2,1 % zwischen den Werten eines Nicht-Endemiegebietes (0%) und denen eines Risikogebietes. Auffällig war, dass kein positives Tier in dem neuen Risikogebiet Vogtlandkreis gefunden wurde, was aber vermutlich auf die geringe Probenzahl von 19 Seren zurückzuführen ist. Ein Teil der reaktiven Tiere stammte aus Gebieten mit keinen oder wenigen humanen Fällen, wie dem Erzgebirgskreis, wo eine positive Probe gefunden wurde. Im LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge wurden zum einen drei seropositive Hunde ermittelt als auch fünf autochthone humane Fälle. Diese wurden in den Jahren 2004, 2005, 2006 und zwei im Jahr 2009 gemeldet. In der Stadt Naunhof im LK Leipziger Land wurden sowohl ein seropositiver Hund identifiziert als auch drei seropositive Wildschweine (Balling et al, 2014). Dies ist eine klare Bestätigung dafür, dass das FSME-Virus in diesem Landkreis zirkuliert, auch wenn bisher dort nur ein autochthoner humaner Fall im Jahr 2009 registriert wurde (W. Hellenbrand, RKI, pers. Mitteilung). Sowohl beim LK Leipziger Land als auch beim LK Sächsische Schweiz-Osterzgebirge handelt es sich um Naherholungsgebiete. Die Aussagekraft sowohl was das Leipziger Land als auch die Sächsische Schweiz-Osterzgebirge betrifft, ist naturgemäß limitiert, da eine geographische Zuordnung unserer Hunde ja über den Wohnort erfolgte, der nicht zwangsläufig mit dem hauptsächlichen Aufenthaltsort des Tieres übereinstimmen muss. Daher ist es schwierig auf Basis dieser Daten für die betroffenen Landkreise eine Impfempfehlung auszusprechen.

Allerdings sollte bei regelmäßigem Aufenthalt mit Zeckenkontakt in diesem Gebiet eine Impfung gegen FSME erwogen werden.

Reiner und Fischer beschreiben, dass bei aufgetretenen klinischen Fällen vor allem große Hunderassen betroffen sind (Reiner und Fischer, 1998), Leschnik et al. dagegen können keine Alters-, Geschlechts- oder Rassedisposition feststellen (Leschnik et al., 2002). Bezüglich der Seroprävalenz fanden Csángó und Kollegen, dass vorrangig Antikörper bei große Hunderassen zu finden waren (Csángó et al., 2004), während Kirtz weder eine Alters-, Geschlechts- noch Rassedisposition feststellen konnte (Kirtz, 1999). Auch in unserer Studie gibt es keinen Hinweis auf eine Prädisposition, da bei unseren seropositiven Tieren das Alter oder die Größe sich nicht signifikant von den seronegativen Tieren unterschieden. Im Gegensatz zu der Studie von Janitz-Futterer (2003) mit Hunden aus Süddeutschland, konnten wir keine erhöhte Rate seropositiver kastrierter Tiere nachweisen, da keines der sieben Tiere mit Antikörpern kastriert war. Auffällig war jedoch, dass vier der sieben seropositiven Tiere Hunde von Förstern waren, die täglich mehrere Stunden im Wald unterwegs sind und somit sehr stark Zecken exponiert sind.

Die Definition von Gerth et al. (1995) für ein ideales Sentineltier trifft für den Hund voll und ganz zu: Er sollte einen adäquat limitierten Bewegungsradius haben, sollte in großer Zahl vorhanden sein, im Überwachungsgebiet gut verteilt sein und eine langlebige Antikörperpräsenz nach natürlicher Infektion aufweisen (Gerth et al., 1995). Jedoch ist es sehr schwer geeignete Proben zu bekommen, obwohl der Hund als Haustier in Sachsen sehr beliebt ist. Als Hauptlimitation für die Aufnahme in unsere Studie erwies sich das Kriterium, dass die Tiere Sachsen in den letzten fünf Jahren nicht verlassen haben durften. Gewöhnlich begleiten Hunde ihre Besitzer bei Ausflügen, wie auch einer Urlaubsreise, und wenn man wie in Sachsen von drei Seiten von FSME-Risikogebieten (Polen, Tschechische Republik, Bayern) eingerahmt wird, fallen viele Hunde als potentielle Sentinels durch das Auswahlraster. Besonders gut würden sich hier Hunde von Bauernhöfen eignen, da sie sehr ortstreu sind, vorausgesetzt sie haben die Möglichkeit mit Zecken in Kontakt zu kommen. Ein weiteres Problem stellt die Tatsache dar, dass eine Blutentnahme für eine Untersuchung auf Antikörper gegen das FSME-Virus keine Standardprozedur ist. Die Hundebesitzer müssen zunächst aufgeklärt werden und dem Eingriff zustimmen. Viele der Besitzer haben Bedenken und befürchten eine Wundinfektion oder Leiden des Tieres, was die Bedeutung des Hundes als Haustier unterstreicht. Es ist somit insgesamt schwer, eine genügend große Probenzahl zu erhalten, um in allen Teilen Sachsens nach Antikörpern zu suchen. Leider gibt es kein Monitoringprogramm bei Heimtieren vergleichbar denjenigen bei Rindern oder Wildtieren, wodurch es möglich wäre, schnell viele repräsentative Blutproben zu erhalten. Trotz dieser Einschränkungen wurde der Hund auch in anderen Untersuchungen als geeignetes Sentineltier für den Menschen beschrieben. So befürworteten unter anderem Pfeffer und Dobler den Einsatz des Hundes aufgrund dessen Nähe zum Boden, seinem Fell und dem Such- und Erkundungsverhalten (Pfeffer und Dobler, 2011). Auch Lindhe et al. (2009) meinen, dass der Einsatz von derartigen Sentineltieren lohnend sei. Takashima et al. (1997) halten den Hund sogar für einen ausgezeichneten Indikator.

Nach Windorfer und Schönfeld gilt die Definition von Risikogebieten anhand von humanen Meldedaten und dem Surrogatmarker/Indikator „Erkrankungsfall“ als überholt (Windorfer und Schönfeld, 2005). Sie halten eine vorausschauende Risikoeinschätzung mittels Seroprävalenzstudien für besser, so wie zum Beispiel bei Schafen und Ziegen (Klaus et al.,

2010; 2012) oder die von uns durchgeführte Wildtierstudie (Balling et al., 2014). Die auf den Meldedaten des Menschen basierenden Verbreitungskarten sind ein nützliches Werkzeug, aber sicherlich nur bedingt hilfreich, um einzelne Naturherde zu definieren. Aufgrund der grippeähnlichen Symptome bei einer humanen Erkrankung stellen Ärzte oft nicht die Verdachtsdiagnose FSME. Speziell in Regionen, wo die FSME selten und nur sporadisch vorkommt, bleiben somit vermutlich etliche Fälle unerkannt. In Zukunft wird es von besonderer Wichtigkeit sein, gezielt Tiere für Seroprävalenzstudien zu nutzen, um das Risiko für eine bestimmte Erkrankung wie der FSME in einem bestimmten Gebiet besser abschätzen zu können. Die von Tieren erhobenen Daten haben auch dann Bestand, wenn durch eventuell steigende Impfquoten die alleinige Aussagekraft über humane Daten deutlich reduziert wird.

Die hier dargestellte Hundestudie zeigt, dass sich wie bei der Wildtierstudie (Balling et al., 2014) Antikörper auch in Gebieten Sachsens finden lassen, in denen bislang noch keine humanen Fälle gemeldet wurden. Da Antikörper nur als Reaktion auf eine Infektion mit dem FSME-Virus gebildet werden, müssen auch FSMEV-Naturherde in der Region vorkommen, wie sowohl einzelne humane autochthone Fälle als auch FSMEV-seropositive Proben von Hunden und Wildtieren unterstreichen. Auch wenn diese Gebiete gemäß der Vorgaben des RKI bisher nicht als Risikogebiet ausgewiesen wurden, so besteht dennoch ein gewisses, jedoch derzeit nicht näher einzustufendes, Infektionsrisiko. Da Mensch und Hund eine enge Bindung haben und der Hund sich in fast allen Lebenssituationen in der Nähe seines Besitzers aufhält, ist seine Aussagekraft als Sentineltier bzw. Risikoindikator für den Menschen der Aussagekraft anderer Haus- oder Wildtiere mit großer Wahrscheinlichkeit überlegen. Personen, die oft im Wald unterwegs sind, wie zum Beispiel Jäger, Förster oder Hundebesitzer, sollten auch außerhalb des Vogtlandkreises eine Impfung erwägen und ärztlichen Rat einholen, ob eine Vakzination sinnvoll erscheint. Die Impfung ist die einzige Möglichkeit gezielt der Erkrankung vorzubeugen..

Danksagung

Die Autoren danken Tessa Foerster, Dana Rüster und Doreen Reichelt für ihre exzellente Hilfe bei der Blutentnahme und der Arbeit im Labor, den Firmen Baxter und Novartis Vaccines für die finanzielle Unterstützung sowie allen teilnehmenden Tierärzten und Hundebesitzern. Die Arbeiten von MP zu Vektor-übertragenen Pathogenen finden im Rahmen der EurNegVec COST Action TD 1303 statt.

Conflict of interest: Es bestehen keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen an einem Produkt, Service und/oder einer Firma, welche die in diesem Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Literatur

- Achazi K, Růžek D, Donoso Mantke O, Schlegel M, Ali HS, Wenk M, Schmidt-Chanasit J, Ohlmeyer L, Rühle F, Vor T, Kiffner C, Kallies R, Ulrich RG, Niedrig M (2011):** Rodents as Sentinels for the Prevalence of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11: 641–647.
- Bago Z, Bauder B, Kolodziejek J, Nowotny N, Weissenböck H (2002):** Tickborne encephalitis in a mouflon (*Ovis ammon musimon*). *Vet Rec* 150: 218–220.

- Bajer A, Mierzejewska EJ, Rodo A, Bednarska M, Kowalec M, Welc-Falęciak R (2014):** The risk of vector-borne infections in sled dogs associated with existing and new endemic areas in Poland. Part 1: A population study on sled dogs during the racing season. *Vet Parasitol* 202: 276–286.
- Balling A, Plessow U, Beer M, Pfeffer M (2014):** Prevalence of antibodies against Tick-borne encephalitis virus in wild game from Saxony, Germany. *Ticks Tick Borne Dis*, epub ahead of print on Aug 8.
- Chambouris R, Sixl W, Stunzner D, Kock M (1989):** Antibodies in dogs to the virus of tick-borne encephalitis (early summer encephalomyelitis/tick-borne encephalitis) in Greece. *Geogr Med Suppl* 3: 11–14.
- Csángó P, Blakstad E, Kirtz G, Pedersen J, Czettel B (2004):** Tick-borne Encephalitis in Southern Norway. *Emerg Infect Dis* 10: 533–534.
- Dobler G, Hufert FT, Pfeffer M, Essbauer S (2010):** Tick-borne encephalitis: From microfocus to human disease. In: *Progress in Parasitology*. Mehlhorn, H. (ed.); Düsseldorf University Press, Düsseldorf, Kapitel 18, 29–38.
- Dobler G, Gniel D, Petermann R, Pfeffer M (2012):** Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr* 162: 230–238.
- ECDC (2012):** Epidemiological situation of tick - borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries.
- Gerth H, Grimshandl D, Stage B, Döller G, Kunz C (1995):** Roe deer as sentinels for endemicity of tick-borne encephalitis virus. *Epidemiol Infect* 115: 355–365.
- Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K, Werner P, Mischak A, Zainer B, Netzer M, Koppi S, Bechter E, Heinz FX (2009):** Tick-borne Encephalitis from Eating Goat Cheese in a Mountain Region of Austria. *Emerg Infect Dis* 15: 1671–1673.
- Hudopisk N, Korva M, Janet E, Simetinger M, Grgič-Vitek M, Gubenšek J, Natek V, Kraigher A, Strle F, Avšič-Županc T (2013):** Tick-borne Encephalitis Associated with Consumption of Raw Goat Milk, Slovenia, 2012. *Emerg Infect Dis* 19: 806–808.
- Jaenson TGT, Hjertqvist M, Bergström T, Lundkvist Å (2012):** Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasit Vectors* 5: 184.
- Janitza-Futterer D (2003):** Serologische Untersuchungen zur endemischen Situation der Infektion mit dem FSME-Virus in einer südbadischen Pferde- und Hundepopulation. München, LMU, veterinärmed. Fak., Diss.
- Kirtz G (1999):** Frühsommer-Meningo-Enzephalitis (FSME) in einer österreichischen Hundepopulation. Wien, VetMedUni, Diss.
- Klaus C, Hoffmann B, Moog U, Schau U, Beer M, Süss J (2010):** Can goats be used as sentinels for Tick-borne encephalitis (TBE) in nonendemic areas? Experimental studies and epizootiological observations. Sind Ziegen als Sentinels für Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) in einem FSME-Nicht-Risiko-Gebiet geeignet? Experimentelle Untersuchungen und epizootiologische Beobachtungen. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 123: 441–445.
- Klaus C, Beer M, Saier R, Schubert H, Bischoff S, Süss J (2011):** Evaluation of serological tests for detecting tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animals. Vergleich serologischer Tests zur Bestimmung von Antikörpern gegen das Frühsommer-

- Meningoenzephalitis- Virus (FSMEV) bei Tieren. Berl Münch Tierarztl Wochenschr 124: 443–449.
- Klaus C, Beer M, Saier R, Schau U, Moog U, Hoffmann B, Diller R, Süß J (2012):** Goats and sheep as sentinels for tick-borne encephalitis (TBE) virus – Epidemiological studies in areas endemic and non-endemic for TBE virus in Germany. Ticks Tick Borne Dis 3: 27–37.
- Klaus C, Hörügel U, Hoffmann B, Beer M (2013):** Tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection in horses: Clinical and laboratory findings and epidemiological investigations. Vet Microbiol 163: 368–372.
- Klimeš J, Literák I, Schánilek P, Juřicová Z, Trachta e Silva E (2001):** Prevalence of antibodies to tickborne encephalitis and West Nile flaviviruses and the clinical signs of tickborne encephalitis in dogs in the Czech Republic. Vet Rec 148: 17–20.
- Kupča AM, Essbauer S, Zöller G, de Mendonça PG, Brey R, Rinder M, Pfister K, Spiegel M, Doerrbecker B, Pfeffer M, Dobler G (2010):** Isolation and molecular characterization of a tick-borne encephalitis virus strain from a new tick-borne encephalitis focus with severe cases in Bavaria, Germany. Ticks Tickborne Dis 1: 44–51.
- Leschnik MW, Kirtz GC, Thalhammer JG (2002):** Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. Int J Med Microbiol 291: 66–69.
- Leutloff R, Nübling M, Neumann-Haefelin D, Rieger MA (2006):** Cows as indicators for tick-borne encephalitis (TBE) endemic regions: Suitability of testing for antibodies in serum and milk. Internat J Med Microbiol 296S1: 87-88.
- Lindhe KE, Meldgaard DS, Jensen PM, Houser GA, Berendt M (2009):** Prevalence of tick-borne encephalitis virus antibodies in dogs from Denmark. Acta Vet Scand 51: 56.
- Matile H, Aeschlimann A, Wyler R (1979):** Seroepidemiologic investigation on the incidence of TBE in man and dog in Switzerland. In: Kunz C (Hrsg.), Tick-borne encephalitis. Facultas, Wien, 227–234.
- Müller K, König M, Thiel H (2006):** Die tick-borne Enzephalitis (TBE) unter besonderer Berücksichtigung der Infektion beim Pferd. Dtsch Tierarztl Wochenschr 113: 147–151.
- Müller W (1997):** TBE in the dog - seroepidemiological studies. In: Süß J, Kahl O (Hrsg.), Proceedings of the Fourth International Potsdam Symposium on Tick-Borne Diseases, Potsdam. Pabst Science Publishers, Lengerich, 204–218.
- Pierson TC, Diamond MS, (2013):** Flaviviruses. In: Knipe EM, Howley PM, Cohen JI, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Racaniello VR, Roizman B (Hrsg.), Fields Virology, Sixth Edition, Vol. 1, Chapter 26, 747–794.
- Pfeffer M, Dobler G (2011):** Tick-borne encephalitis virus in dogs - is this an issue? Parasit Vectors 4: 59.
- Reiner B, Fischer A (1998):** Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte. Kleintierprax 43: 255–268.
- Rieger MA, Nübling M, Müller W, Hasselhorn H-M, Hofmann F, the TBE in foxes study group (1999):** Foxes as indicator for TBE endemicity – a comparative serological investigation. Zentralbl Bakteriologie 289: 610–618.
- RKI (2014):** FSME: Risikogebiete in Deutschland. Epidemiol Bull 15: 121–133.
- Roelandt S, Heyman P, De Filette, Vene S, Van der Stede Y, Caij AB, Tavernier P, De Bosschere h, Vyt P, Meersschaert C, Roels S (2011):** Tick-borne encephalitis virus

positive dog detected in Belgium: Screening of the canine population as sentinels for public health. *Vector Borne Zoonot Dis* 11: 1371–1376.

Růžek D, Bilski B, Günther G (2013): Tick-Borne Encephalitis. In: Sunit K. Singh and Daniel Růžek (Hrsg.), *Neuroviral Infections. RNA Viruses and Retroviruses*. CRC Press, Taylor and Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, 211–237.

Saenger K, Danner K, Maurer M, Bago Z (2013): FSME bei einem Hund. *Prakt Tierarzt* 94: 392–396.

Stadtbäumer K, Leschnik MW, Nell B (2004): Tick-borne encephalitis virus as a possible cause of optic neuritis in a dog. *Vet Ophthalmol* 7: 271–277.

Süss J, Sinnecker H, Sinnecker R, Berndt D, Zilske E, Dedek G, Apitzsch L (1992): Epidemiology and ecology of tick-borne encephalitis in the eastern part of Germany between 1960 and 1990 and studies on the dynamics of a natural focus of tick-borne encephalitis. *Zentralbl Bakteriol* 277: 224–235.

Süss J, Dobler G, Zöller G, Essbauer S, Pfeffer M, Klaus C, Liebler-Tenorio EM, Gelpi E, Stark B, Hotzel H (2008): Genetic characterisation of a tick-borne encephalitis virus isolated from the brain of a naturally exposed monkey (*Macaca sylvanus*). *Int J Med Microbiol* 298: S1/S44, 295–300.

Süss J (2011): Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia—An overview. *Ticks Tick Borne Dis* 2: 2–15.

Takashima I, Morita K, Chiba M, Hayasaka D, Sato T, Takezawa C, Igarashi A, Kariwa H, Yoshimatsu K, Arikawa J, Hashimoto N (1997): A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. *J Clin Microbiol* 35: 1943–1947.

Waldvogel A, Matile H, Wegmann C, Wyler R, Kunz C (1981): Zeckenenzephalitis beim Pferd. *Schweiz Arch Tierheilkd* 123: 227–233.

Weissenböck H, Holzmann H (1996): Tick-borne encephalitis in Austrian dogs. *Vet Rec* 139: 575–576.

Windorfer A, Schönfeld C (2005): FSME-Gebiete in Deutschland mit noch geringem Infektionsrisiko. *ImpfDialog* 4/2005: 191–195.

Wurm R, Dobler G, Peters M, Kiessig ST (2000): Serological investigations of red foxes (*Vulpes vulpes* L.) for determination of the spread of Tick-borne encephalitis in Northrhine-Westphalia. *J Vet Med B* 47: 503–509.

Zindel W, Wyler R (1983): Zeckenenzephalitis bei einer Ziege im untern Prättigau. *Schweiz Arch Tierheilkd* 125: 383–386.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Martin Pfeffer

Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen

Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

An den Tierkliniken 1

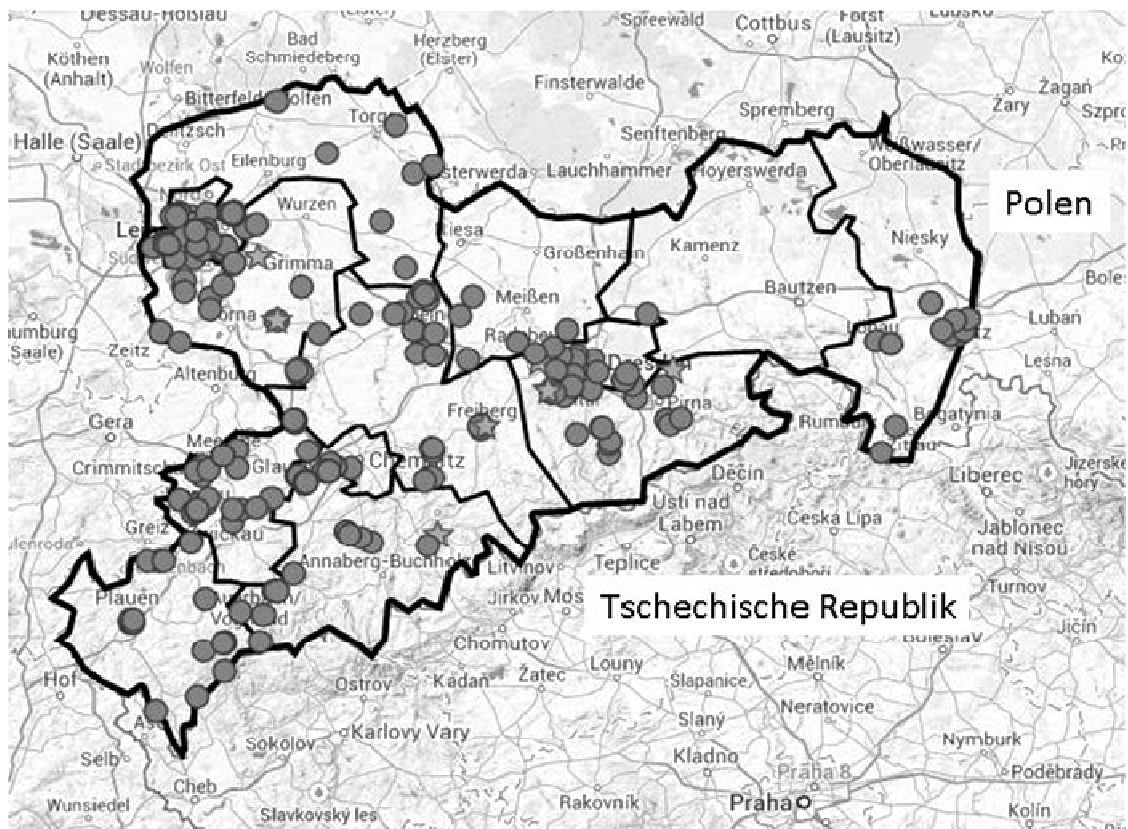
04103 Leipzig

Tel: 0341-9738152

Fax: 0341-9738198

pfeffer@vetmed.uni-leipzig.de

Abbildung 1: Darstellung der Herkunft der untersuchten Hundeseren in Sachsen nach dem Wohnort des Hundes. Kreise = negatives Hundeserum; Sterne= positives Hundeserum. Details zu den positiven Hunden sind in der Tabelle dargestellt.



Nr.	Datum der Blutentnahme	ELISA (VIEU/ml)	Titer SNT	Alter (in Jahren)	Gewicht (in kg)	Rasse	Geschlecht	Farbe	Akarizid-einsatz?	Hund eines Försters?	Zecken pro Monat?	Landkreis	Heimortort
Positiv (ELISA + SNT)													
37	29.10.12	415,99	1:15	6	31	Dalmatiner	m	braun/weiß	ja, häufig	nein	< 5	MS	09599 Freilberg
41	29.10.12	766,66	1:40	3	16	Bracke	w	schwarz-braun	ja, häufig	ja	< 5	SSO	01768 Hirschbach
42	29.10.12	743,30	>1:40	14	15	Bracke	w	schwarz-braun	ja, häufig	ja	< 5	SSO	01768 Hirschbach
71	25.11.12	716,42	>1:40	2	11	Dackel	m	saufarben	ja, selten	ja	>20	LE	04683 Naunhof
134	9.3.13	290,99	>1:40	7,5	35	Golden Retriever	m	golden	ja, häufig	nein	5-20	SSO	01833 Dürrröhrsdorf
240	11.5.13	544,66	>1:40	8	24,5	Spaniel	w	dunkelbraun	ja, häufig	ja	5-20	EGK	09496 Niederlauterstein
309	6.8.13	794,92	>1:40	8,5	33	Deutscher Schäferhund	w	schwarz-braun	ja, selten	nein	< 5	LE	04651 Bad Lausick
Ø				7	23,64								
Zweifelhaft (ELISA)+ negativ im SNT													
292	21.9.13	111,80	< 1:5	0,3	10,3	Labrador Retriever	w	schwarz	ja, selten	nein	< 5	SSO	01723 Wilsdruff
314	11.12.13	64,32	<1:5	12	7,8	Yorkshire Terrier	m	grau-braun	ja, selten	nein	< 5	LS	04103 Leipzig
330	22.2.14	95,66	<1:5	5,5	11	Dackel	m	saufarben	ja, häufig	ja	< 5	LS	04103 Leipzig

Tabelle 1: Details zu den seroreaktiven Hunden

Positiv: ELISA: >126 VIEU/ml und SNT: Titer ≥10; **Zweifelhaft** ELISA : 63-126 VIEU/ml; w= weiblich, m= männlich, EGK= Einzugskreise, MS= Mittelsachsen, SSO= Sächsische Schweiz-Osterzgebirge, LE= Leipziger Land, LS= Leipzig

5 Gemeinsame Diskussion und Schlussfolgerung

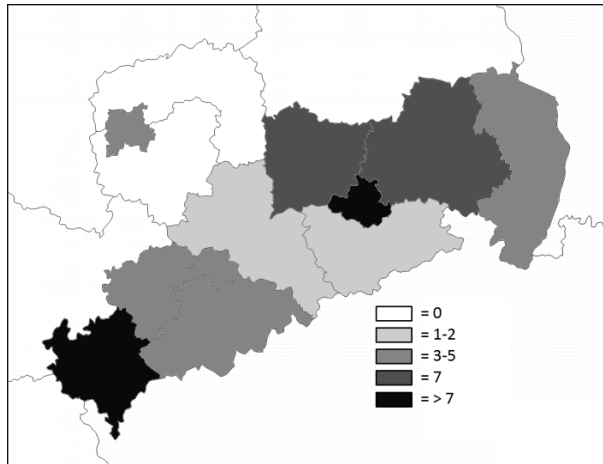


Abbildung 12: Registrierte humane FSME-Fälle in Sachsen seit 2001 (Quelle: nach Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>, Abfragedatum: 01.02.2015)

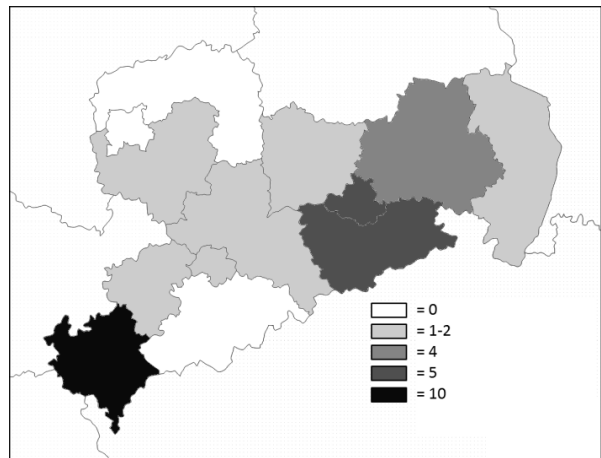


Abbildung 13: Autochthone humane Fälle in Sachsen seit 2001 (Quelle: RKI 2014)

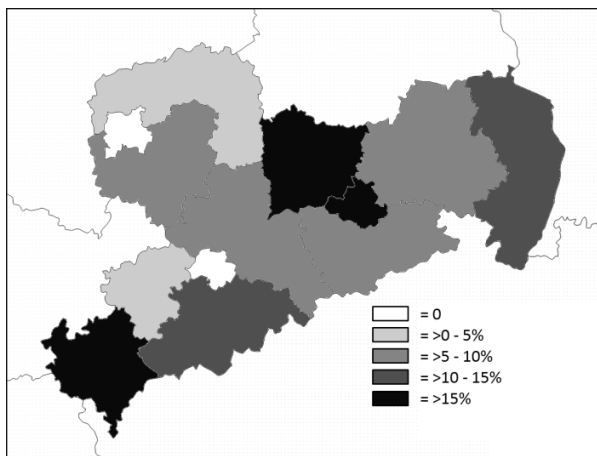


Abbildung 14: Seropositives Wild laut Veröffentlichung 1

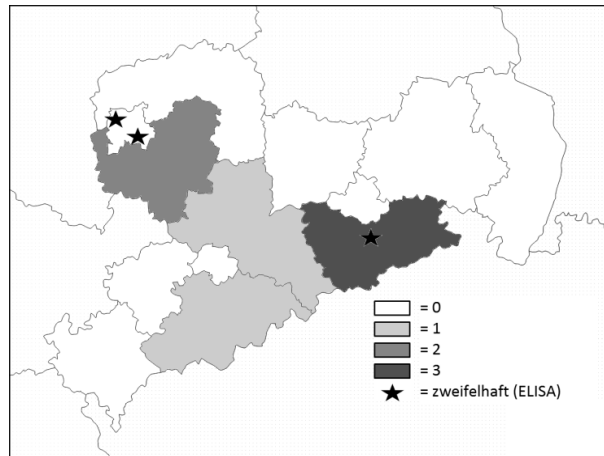


Abbildung 15: Seropositive Hunde laut Veröffentlichung 2

Im Laufe der letzten Jahre wurde eine Reihe von Seroprävalenzstudien mit Tieren durchgeführt, mit dem Ziel, das Risiko für eine Infektion mit der FSME in einem bestimmten Gebiet genauer zu bestimmen und Risikogebiete zu definieren. Bekannt war, dass das Stützen auf humane Meldedaten mit dem Surrogatmarker „Erkrankungsfall“ alleine nicht zielführend ist (WINDORFER und SCHÖNFELD 2005) und zusätzliche Kriterien in die Überlegungen mit einbezogen werden müssen. Der Infektionsort selbst ist schwer zu ermitteln, unter anderem weil Infektionen aufgrund der Grippe-symptomatik leicht unerkannt bleiben. Auch muss der Internist eine Infektion mit der FSME auf der Liste möglicher Differenzialdiagnosen aufführen. Tiere sind im Allgemeinen stärker Zecken-exponiert als der Mensch und auf der Suche nach einem geeigneten Sentinel sind ausreichend große Tierzahlen erforderlich. Es wurde schon mehrfach in Zecken nach FSMEV und FSMEV-RNA gesucht und selbst in Risikogebieten wurden bei Tausenden geflaggtten Zecken im Schnitt <1% positive Tiere identifiziert (KUPCA et al. 2010, DOBLER et al. 2011, WÓJCIK-FATLA et al. 2011, STEFANOFF et al. 2013). Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Vor- und Nachteile der einzelnen Tierspezies bei der Verwendung für Seroprävalenzstudien. Auch die Methodik des Nachweises ist entscheidend: Ein

Antigennachweis kann meist nur am toten Tier erfolgen, da die Virämie nicht lange genug andauert. Bei einem Antikörpernachweis sind jedoch bestätigende Tests wie ein SNT notwendig, um Kreuzreaktionen auszuschließen.

Wir haben uns bei unseren Studien für eine serologische Untersuchung von Wildtieren und Hunden entschieden, da sie den zitierten Studien nach als Sentinels gut geeignet sind. Beim Vergleich der Ergebnisse aus beiden Veröffentlichungen mit den humanen Meldedaten fällt auf, dass die Wildtierdaten die aussagekräftigste Karte hervorruft. Hierbei liegt mit Abstand die größte Probenzahl zugrunde, da bestehende Monitoringprogramme genutzt werden konnten und überall in Sachsen (außer in den Stadtkreisen Leipzig und Chemnitz) Antikörper gefunden werden konnten. Zusätzliche Klarheit würde bei der Durchführung einer Studie mit vorrangig Rehwildseren gewonnen werden können, da diese laut Literaturangaben weit mehr Zecken tragen als Wildschweine und deshalb die Prävalenz für Zecken-übertragene Pathogene höher ist (RUIZ-FONS et al. 2006, ADAMSKA et al. 2008). Die wenigen Rehe, die in der Wildtierstudie untersucht werden konnten, unterstützen diese Vermutung. Bei den Daten, die mit der Hundestudie akquiriert werden konnten, ist die Probenanzahl insgesamt sehr niedrig. In Sachsen (einem Niedrig-Endemiegebiet bzw. bis auf den Vogtlandkreis Nicht-Risikogebiet) haben wir sieben von 331 serologisch untersuchten Hunden als seropositiv ermittelt (2,11%). Wenn wir diese Daten mit denen anderer Studien in Europa vergleichen, so liegt unser Ergebnis zwischen denen der Endemie- und Nicht-Endemiegebiete und der Status eines Niedrig-Endemiegebietes bestätigt sich: In Endemiegebieten lagen die Werte bei 16,4% (von 317) in Norwegen (CSÁNGÓ et al. 2004), bei 4,8% (von 125) auf Bornholm in Dänemark (LINDHE et al. 2009), in Österreich bei 24% (von 345) (KIRTZ 1999), in Tschechien bei 3,3% (von 151) (KLIMES et al. 2001), in der Schweiz bei 3,6% (von 657) (MATILE et al. 1981) und in Süddeutschland bei 23% (von 518) (MÜLLER 1997) bzw. 29% in Südbaden (JANITZA-FUTTERER 2003). In einem Niedrigendemiegebiet wie Griechenland wurden Ergebnisse von 0,97% (von 206) bzw. 8,6% (von 429) ermittelt (CHAMBOURIS et al. 1989). In einem Nicht-Endemiegebiet wie den Niederlanden oder Belgien wurden keine seropositiven Tiere gefunden (ROELANDT et al. 2010; VAN DER POEL et al. 2005). Unsere niedrige Prävalenz von 2,11% ist möglicherweise dadurch erklärbar, dass kaum Proben aus dem Risikogebiet Vogtland untersucht wurden und von diesen keine positiv war. Der Hauptteil unserer Seren stammte aus Gebieten in Sachsen, in denen es kaum oder keine humanen Fälle gab (siehe hierzu die Abbildungen Abbildung 12 Abbildung 13).

Csango und Reiner beschreiben, dass vor allem große Hunderassen betroffen waren (CSÁNGÓ et al. 2004, REINER und FISCHER 1998). Leschnik und Kirtz können keine Alters-, Geschlechts- oder Rassedisposition bei den von ihnen ausgewerteten Proben feststellen (KIRTZ 1999, LESCHNIK et al. 2002). Auch in der von uns durchgeführten Studie gab es keine signifikante Prädisposition, wobei 40% der untersuchten Tiere große Hunde mit einer Schulterhöhe über 60 cm waren. Bei den positiven Hunden gab es keine Signifikanz für Alter oder Größe, das einzig Auffällige war, dass vier von sieben Hunden Försterhunde waren.

Gerth definiert ein ideales Sentinel für eine FSME-Überwachung folgendermaßen (GERTH et al. 1995): Es sollte:

- einen adäquat limitierten Bewegungsradius haben

- o in großer Zahl vorhanden sein
- o im Überwachungsgebiet gut verteilt sein
- o eine langlebige Antikörperpräsenz nach natürlicher Infektion aufweisen

Der Hund eignet sich gut als Sentinel, jedoch ist es schwer an Serum-Proben zu kommen. Auch sind Hunde oft auf Reisen mit dabei, somit erscheint es schwierig, das Risiko für ein bestimmtes Gebiet alleine zu ermitteln. In Deutschland gibt es über fünf Millionen Hunde laut Schätzungen des VDH, sie sind ein beliebtes Haus- und Liebhabertier. Für Seroprävalenzstudien würden sich vor allem Hofhunde sehr gut eignen, da deren Bewegungsradii meist limitiert ist und es auch in abgelegenen Gebieten, fern von Städten, viele Bauernhöfe gibt. Leider sind diese aufgrund ihrer Bestimmung als Wachhunde oft sehr aggressiv, wodurch ein Herankommen an diese erschwert ist und sie es außerdem nicht gewohnt sind, fixiert zu werden. Bei der Akquise der Proben ist man auf die Mitarbeit durch Großtierärzte angewiesen, die dort oftmals die Arbeit des Kleintierpraktikers mit übernehmen. Ein weiteres Problem bei der Nutzung von Hunden für Seroprävalenzstudien ist die Tatsache, dass eine Blutentnahme für die Untersuchung auf Anti-FSME-AK keine Standardprozedur ist und Hundebesitzer zunächst aufgeklärt werden müssen. Viele Besitzer haben Bedenken und fürchten eine Wundinfektion oder Stress für das Tier. Nichtsdestotrotz halten auch andere Autoren den Hund für ein gutes Sentinel zur Bestimmung von FSME-Risikogebieten (MÜLLER 1997, TAKASHIMA et al. 1997, KIRTZ et al. 2003, CHARREL et al. 2004, LINDHE et al. 2009, KLAUS et al. 2010b, ROELANDT et al. 2010, PFEFFER und DOBLER 2011).

Das Wild eignet sich sehr gut als Sentinel, vor allem, da auf Grund von vorhandenen Monitoringprogrammen eine ausreichende Probenanzahl verfügbar ist. Es werden regelmäßige Stichprobenuntersuchungen auf die Aujeszky'sche Krankheit und die klassische Schweinepest durchgeführt. Jedes Jahr werden viele Tiere geschossen, die sich sehr ortstreu verhalten und deren Erlegungsort genau bestimmbar ist. Ein Wildschwein hat einen durchschnittlichen Bewegungsradius von 5 bis 70 km und das Rehwild von ungefähr 5 km (GERTH et al. 1995). Wildtiere sind Träger vieler Zecken, wobei das Rehwild stärker Zecken-exponiert ist als das Wildschwein. Ein Problem bei der Nutzung des Wildes als Sentinels ist die fehlende Sterilität der erhaltenen Blutproben, da diese durch im sterilen Umgang wenig erfahrene Jäger entnommen werden. Hierdurch ergeben sich toxische oder nicht auswertbare Seren. Dies beschreiben unter anderem Gerth und Kollegen, die berichten, dass die Mehrzahl der Seren hämolytisch war und 10-20% dieser aufgrund massiver Kontamination verworfen werden mussten (GERTH et al. 1995). Auch bei dem in Veröffentlichung 1 beschriebenen Serumneutralisationstest konnten 10 Proben wegen toxischer Effekte auf die Zellkulturen nicht ausgewertet werden. Jedoch halten auch andere Autoren das Wild für ein gutes Sentinel (REINER und FISCHER 1998, CHARREL et al. 2004, VAN DER POEL et al. 2005, KLAUS et al. 2010b, ROELANDT et al. 2010, KIFFNER et al. 2012, JEMERŠIĆ et al. 2014).

Weiterhin ungeklärt bleibt die Diskrepanz zwischen der hohen Seroprävalenz bei den Wildtieren in Veröffentlichung 1 und den insgesamt bisher wenigen gemeldeten humanen Fällen in Sachsen. Die Hundestudie sollte hierzu Daten zur weitergehenden Abklärung liefern, doch konnte vermutlich aufgrund der zu geringen Probenzahl diesbezüglich kein Informationsgewinn erzielt werden.

	Vorteile	Nachteile
Hund	Verteilung auf Bundesgebiet, hohe Anzahl, kontrollierter Freilauf, enge Beziehung zum Besitzer/Mensch, lange Persistenz der Antikörper	Geht mit auf Reisen, kein routinemäßiges Screeningprogramm, hohe Probenanzahl schwer zu erhalten, Besitzercompliance (Liebhabertier)
Maus	Hohe Anzahl, weite Verbreitung, sowohl Antikörper als auch Antigen bestimmbar, stark begrenzter Bewegungsradius	Probenakquise- und aufbereitung sehr aufwändig, immer mit Tod des Tieres verbunden (Blut und Gewebeproben)
Pferd	Lange Persistenz der Antikörper	Besitzercompliance (Liebhabertier)
Schaf/Ziege/Rind	Lange Persistenz der Antikörper in Blut und Milch, Ortstreue	Über das Bundesgebiet nicht gleichmäßig verteilt, nur in bestimmten Gebieten mit großen Herden von Nutzen, Rind: selten Weidehaltung; kl. Wdk: oft nur geringe Herdengrößen
Wild	Hohe Anzahl, Verteilung im gesamten Bundesgebiet, routinemäßige Screeningprogramme	Oft hämolytische Seren, von Jägern unsteril entnommen
Zecke	Weite Verbreitung, hohe Anzahl	Saisonales Auftreten, Probenakquise und –aufbereitung sehr aufwändig, oftmals <1% positive Tiere

Tabelle 2: Vergleich der verschiedenen Tierspezies für die Eignung als Sentinel für die FSME-Surveillance

Beide Studien zeigen, dass das Virus in ganz Sachsen zu finden ist. Vor allem Menschen, die wie Jäger, Förster oder Hundehalter viel im Wald unterwegs sind, sollten eine Vakzination in Erwägung ziehen. Der Vogtlandkreis ist mittlerweile ein vom RKI ausgewiesenes Risikogebiet. Hier wird empfohlen, dass sich Menschen auf jeden Fall impfen lassen, genau wie in der Region rund um Moritzburg und der Dresdner Heide. Die Impfung ist derzeit die einzige Möglichkeit, um sich wirksam vor der FSME zu schützen.

6 Zusammenfassung

Verfasser: Anneliese Balling

Titel: Studien zur Prävalenz von Antikörpern gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus bei Wildtieren und Hunden im Freistaat Sachsen

Institut: Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im Februar 2015

62 Seiten, 15 Abbildungen, 2 Tabellen, 123 Literaturangaben

Schlüsselwörter: FSME, Hunde, Wildschweine, Niedrig-Endemiegebiet, ELISA, SNT;

Einleitung

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) zählt europaweit zu den bedeutendsten Zeckenübertragenen Krankheiten und ist verantwortlich für mehrere tausend Tote jedes Jahr. Hauptüberträger in Zentraleuropa ist *Ixodes ricinus*, der Gemeine Holzbock. In Deutschland konzentrieren sich die humanen Fälle vorrangig auf Süddeutschland mit anteilig 83,8% der Fälle, wobei anhand einer Falldefinition, die sich auf humane Meldedaten stützt, Risikogebiete definiert werden. Dabei wird ein Landkreis dann als Risikogebiet gewertet, wenn in einem Fünf-Jahresintervall die Inzidenz von einem Fall pro 100.000 Einwohnern pro Jahr überschritten wird. In Sachsen erscheint diese Risikoabschätzung erschwert, da hier nur wenige sporadische Fälle gemeldet werden. Jedoch wurde im April 2014 der Vogtlandkreis als erstes sächsisches Risikogebiet ernannt.

Ziele der Untersuchungen

Eine Risikobewertung, die sich alleine auf humane gemeldete Erkrankungsfälle stützt, erscheint überholt, weshalb schon in der Vergangenheit nach einem optimalen Sentineltier für Seroprävalenzstudien gesucht wurde. Im Rahmen dieser Dissertation wurden zwei Veröffentlichungen angefertigt, in denen mithilfe von Seroprävalenzstudien bei Wildtieren und bei Hunden das Risiko für eine Infektion mit der FSME in Sachsen bewertet werden sollte.

Materialien und Methoden

In der ersten Veröffentlichung wurden 1.886 Wildtierseren, vorrangig von Wildschweinen, auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV untersucht. Die zweite Veröffentlichung befasste sich mit 331 Seren von Hunden, die Sachsen in den letzten fünf Jahren nicht verlassen hatten. Für die Untersuchung wurde zunächst ein ELISA (Enzyme-linked-immunosorbent Assay) und zur Bestätigung der positiven Proben ein SNT (Serumneutralisationstest) durchgeführt.

Ergebnisse

Bei den Wildtierseren wurde eine Gesamtprävalenz von 10,5% ermittelt. Im aktuell ernannten Risikogebiet Vogtlandkreis wurden 20% seropositive Tiere gefunden, im Kreis Meißen sogar 23%

flächendeckend nachgewiesen. Sieben der untersuchten Hundeseren waren positiv, wobei vier Tiere hiervon Hunde von Förstern waren. Die positiven Proben kamen aus den Landkreisen Mittelsachsen (1), Erzgebirgskreis(1), Leipziger Land (2) und Sächsische-Schweiz-Osterzgebirge (3).

Schlussfolgerungen

In ganz Sachsen konnten Antikörper gegen das FSMEV gefunden werden was auf ein flächendeckendes Vorkommen des Virus in Sachsen hinweist. Die Eignung von Wildtieren und Hunden als Sentinels wurde bestätigt. Die jeweiligen Vor- und Nachteile werden dargestellt. Eine stichprobenhafte Untersuchung auf FSME im Rahmen von Screeningprogrammen könnte auch zukünftig zur besseren Lokalisation von FSMEV-Naturherden in Sachsen beitragen. Weiterhin ungeklärt bleibt die Diskrepanz zwischen der hohen ermittelten Seroprävalenz bei den Wildtieren und den wenigen humanen gemeldeten Fällen. Auch die Hundestudie konnte hierzu keine weiteren Informationen liefern. Eine Impfung ist vor allem für Menschen sinnvoll, die sich im Vogtlandkreis aufhalten.

7 Summary

Author: Anneliese Balling

Title: Studies on the prevalence of antibodies against the Tick-borne Encephalitis virus in wild game and dogs from Saxony, Germany

Institute: Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in February 2015

62 pages, 15 figures, 2 tables, 123 references

Keywords: TBE, dogs, game, low-endemic area, ELISA, SNT

Introduction

Tick-Borne-Encephalitis (TBE) is one of the most important tick-borne diseases in Europe and is responsible for the death of thousands of people every year. The main vector in Central-Europe is *Ixodes ricinus*, the castor bean tick. In Germany, most of the cases are registered in Southern Germany with 83.8% of all cases. Risk areas are defined as regions with an incidence of at least 1 case in 100,000 inhabitants in a five-year-period. However, in low endemic areas with lesser TBE cases like the State of Saxony the respective risk assessment is hard to achieve, because there are only few notified cases so far. Since April 2014, the district Vogtlandkreis is the first announced risk area in Saxony.

Aim of the study

Risk assessment solely based on notified human cases seems obsolete. Therefore, in the past attempts were made to find an optimal sentinel for seroprevalence studies. In the context of this dissertation, two papers were publicized, in which seroprevalence studies were conducted with game animals and dogs to define the risk of infection with TBE in Saxony.

Material and Methods

In the first paper, 1,886 sera from game animals, prior from wild boar, were tested for the presence of antibodies against TBEV. In the second paper, we collected 331 samples of dogs, which have not left Saxony in the past five years. For our tests, we first used an ELISA (Enzyme-linked-immunosorbent Assay) and for verification of the positive results a SNT (Serum neutralization test).

Results

Within the game sera, we found an overall seropositivity for Saxony of 10.5%. In the newly announced risk area Vogtlandkreis we detected 20% seropositive samples and in the district Meißen even 23%. Seven of the investigated dog sera were tested positive and four of them were ranger's dogs. The positive sera were obtained from the districts Mittelsachsen (1), Erzgebirgskreis(1), Leipziger Land (2) and Sächsische-Schweiz-Osterzgebirge (3).

Conclusions

All over Saxony, antibodies against the TBEV were found, which leads to the occurrence of the virus all over the county. Game animals and dogs are considered good sentinels. The pros and cons are discussed. Continuous testing of sera for TBE in the context of monitoring programmes could be a good method for locating natural foci of TBE in Saxony. The discrepancy between the seroprevalence in wild game and the few notified human cases stays still unclear. Even the therefore initiated study with dogs did not bring further information. Vaccination against TBE should be considered for people traveling to the district Vogtlandkreis.

8 Referenzen

Literaturverzeichnis

- Achazi K, Růžek D, Donoso Mantke O, Schlegel M, Ali HS, Wenk M, Schmidt-Chanasit J, Ohlmeyer L, Růhe F, Vor T, Kiffner C, Kallies R, Ulrich RG, Niedrig M. Rodents as Sentinels for the Prevalence of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11:641–7.
- Adamska M. Infestation of game animals from north-western Poland by common tick (*Ixodes ricinus*). *Wiadomosci parazytologiczne.* 2008;54, 31–6.
- Albrecht P. Comparative morphology and experimental pathogenesis of infections caused by tick-borne encephalitis and Eastern equine encephalomyelitis (EEE) viruses [Thesis]. Bratislava, Slowakei 1959.
- Bago Z, Bauder B, Kolodziejek J, Nowotny N, Weissenböck H. Tickborne encephalitis in a mouflon (*Ovis ammon musimon*). *Vet Rec.* 2002;150:218–20.
- Bajer A, Mierzejewska EJ, Rodo A, Bednarska M, Kowalec M, Welc-Falęciak R. The risk of vector-borne infections in sled dogs associated with existing and new endemic areas in Poland. *Vet Parasitol.* 2014;202:276–86
- Bajer A, Rodo A, Bednarska M, Mierzejewska E, Welc-Falęciak R. *Babesia canis* and tick-borne encephalitis virus (TBEV) co-infection in a sled dog. *Ann Agric Environ Med.* 2013;20:426–30.
- Balogh Z, Egyed L, Ferenczi E, Bán E, Szomor KN, Takács M, Berencsi G. Experimental Infection of Goats with Tick-Borne Encephalitis Virus and the Possibilities to Prevent Virus Transmission by Raw Goat Milk. *Intervirology.* 2012;55:194–200.
- Bröker M. Following a Tick Bite: Double Infections by Tick-Borne Encephalitis Virus and the Spirochete *Borrelia* and Other Potential Multiple Infections. *Zoonoses Public Health.* 2012;59:176–80.
- Cagnacci F, Bolzoni L, Rosà R, Carpi G, Hauffe H, Valent M, Tagliapietra V, Kazimirova M, Koci J, Stanko M, Lukan M, Henttonen H, Rizzoli A. Effects of deer density on tick infestation of rodents and the hazard of tick-borne encephalitis. I: Empirical assessment. *Int J Parasitol.* 2012;42:365–72.
- Carpi G, Bertolotti L, Rosati S, Rizzoli A. Prevalence and genetic variability of tick-borne encephalitis virus in host-seeking *Ixodes ricinus* in northern Italy. *J Gen Virol.* 2009;90:2877–83.
- Chambouris R, Sixl W, Stunzner D, Kock M. Antibodies in dogs to the virus of tick-borne encephalitis (early summer encephalomyelitis/tick-borne encephalitis) in Greece. *Geogr Med Suppl.* 1989;3:11–4.
- Charrel RN, Attoui H, Butenko AM, Clegg JC, Deubel V, Frolova TV, Gould EA, Gritsun TS, Heinz FX, Labuda M, Lashkevich VA, Loktev V, Lundkvist A, Lvov DV, Mandl CW, Niedrig M, Papa A, Petrov VS, Plyusnin A, Randolph S, Suss J, Zlobin VI, Lamballerie X de. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:1040–55.
- Chumakov MP, Zeitlenok NA. Tick-borne spring-summer encephalitis in the Ural region: In: *Neuroinfections in the Ural.* Sverdlovsk. 1940:23–30.

Chunikhin SP, Stefuktina LF, Korolev MB, Reshetnikov IA, Khozinskaia GA. Sexual transmission of the tick-borne encephalitis virus in ixodid ticks (Ixodidae). *Parazitologiya* 1983;17:214–7.

Csángó P, Blakstad E, Kirtz G, Pedersen J, Czettel B. Tick-borne Encephalitis in Southern Norway. *Emerg Infect Dis.* 2004;10:533–4.

Dobler G, Gniel D, Petermann R, Pfeffer M. Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr.* 2012;162:230–8.

Dobler G, Hufert F, Pfeffer M, Essbauer S. Tick-borne Encephalitis: From Microfocus to Human Disease. *Prog Parasitol.* 2011;2: 323–331

Donoso Mantke O, Niedrig M, Pfeffer M, on the behalf of the Working group for Tick-borne encephalitis in Europe. Tick-borne encephalitis in Europe, 2007 to 2009. *EuroSurveillance* 2011;16 .

Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-Borne Encephalitis. *Clin Infect Dis.* 1999;28:882–90.

Ecker M, Allison SL, Meixner T, Heinz FX. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J Gen Virol.* 1999;80:179–85.

Ernek E, Kozuch O, Nosek J, Teplan J, Folk C. Arboviruses in birds captured in Slovakia. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1977;21:353–9.

Ernek E, Skoda R. Experimental pathogenicity of tick-borne encephalitis virus for golden hamsters (*Mesocricetus auratus* Waterhouse 1839) and foxes (*Vulpes vulpes* Linné 1758). *Vet Cas.* 1958;4:334.

European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological situation of tick - borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries: ECDC 2012

Fomsgaard A, Christiansen C, Bodker R. First identification of tick-borne encephalitis in Denmark outside of Bornholm, August 2009. *Euro Surveill.* 2009;14.

Gerth H, Grimshandl D, Stage B, Döller G, Kunz C. Roe deer as sentinels for endemicity of tick-borne encephalitis virus. *Epidemiol Infect.* 1995;115:355–65.

Gresikova M, Weidnerova KNJ, Rajcani J. Experimental pathogenicity of tick-borne encephalitis virus for dogs. *Acta Virol.* 1972;16:336–40.

Gritsun T, Lashkevich V, Gould E. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57:129–46.

Haemig P, Lithner S, Sjöstedt Luna S de, Lundkvist A, Waldenström J, Hansson L, Arneborn M, Olsen B. Red fox and tick-borne encephalitis (TBE) in humans: Can predators influence public health? *Scand J Infect Dis.* 2008;40:527–32.

Hansmann Y, Gut J, Remy V, Martinot M, Christmann D. Infection à virus TBE: Données cliniques et épidémiologiques. *Med Mal Infect.* 2004;34:28–30.

Hasle G. Transport of ixodid ticks and tick-borne pathogens by migratory birds. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:48.

Heinz FX, Stiasny K, Holzmann H, Grgic-Vitek M, Kriz B, Essl A, Kundi M. Vaccination and Tick-borne Encephalitis, Central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2013;19:69–76.

Hellenbrand W, Poggensee G. Zecken auf dem Vormarsch: Borreliose und FSME im Gepäck. *Berliner Ärzte*. 2007;5:15–21.

Herpe B, Schuffenecker I, Pillot J, Malvy D, Clouzeau B, Bui N, Vargas F, Gruson D, Zeller H, Lafon ME, Fleury H, Hilbert G. Tickborne encephalitis, southwestern France. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1114–6.

Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K, Werner P, Mischak A, Zainer B, Netzer M, Koppi S, Bechter E, Heinz FX. Tick-borne Encephalitis from Eating Goat Cheese in a Mountain Region of Austria. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:1671–3.

Hubalek Z, Juhcova Z, Svobodova S, Halouzka J. A Serologic Survey for Some Bacterial and Viral Zoonoses in Game Animals in the Czech Republic. *J Wildl Dis*. 1993;29:604–7.

Hudopisk N, Korva M, Janet E, Simetinger M, Grgič-Vitek M, Gubenšek J, Natek V, Kraigher A, Strle F, Avšič-Županc T. Tick-borne Encephalitis Associated with Consumption of Raw Goat Milk, Slovenia, 2012. *Emerg Infect Dis*. 2013;19: 806-8.

Jaenson TGT, Hjertqvist M, Bergström T, Lundkvist Å. Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasit Vectors*. 2012;5:184.

Janitza-Futterer D. Serologische Untersuchungen zur endemischen Situation der Infektion mit dem FSME-Virus in einer südbadischen Pferde- und Hundepopulation [Dissertation med. vet.]. München: LMU München; 2003.

Jemeršić L, Deždek D, Brnić D, Prpić J, Janicki Z, Keros T, Roić B, Slavica A, Terzić S, Konjević D, Beck R. Detection and genetic characterization of tick-borne encephalitis virus (TBEV) derived from ticks removed from red foxes (*Vulpes vulpes*) and isolated from spleen samples of red deer (*Cervus elaphus*) in Croatia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014;5: 7-13

Juceviciene A, Zygutene M, Leinikki P, Brummer-Korvenkontio H, Salminen M, Han X, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis virus infections in Lithuanian domestic animals and ticks. *Scand J Infect Dis*. 2005;37:742–6.

Kahl O, Radda AC. Occurrence of tick-borne encephalitis (TBE) virus in Berlin (West). *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitol*. 1988;268:482–6.

Kießling J. Untersuchung zum Vorkommen des Frühsommer-Meningo-Enzephalitis-Virus und *Borrelia burgdorferi* in ausgewählten Wildmaus- und Zeckenpopulationen Bayerns [Dissertation med. vet.]. München: LMU München; 2005.

Kiffner C, Vor T, Hagedorn P, Niedrig M, Rühle F. Determinants of tick-borne encephalitis virus antibody presence in roe deer (*Capreolus capreolus*) sera. *Med Vet Entomol*. 2012;26:18–25.

Kim S, Yun S, Han MG, Lee IY, Lee NY, Jeong YE, Lee BC, Ju YR. Isolation of Tick-Borne Encephalitis Viruses from Wild Rodents, South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2008;8:7–14.

Kirtz G. Frühsommer-Meningo-Enzephalitis (FSME) in einer österreichischen Hundepopulation [Dissertation med. vet.]. Wien: Vet. med. Universität Wien; 1999.

- Kirtz G, Kölbl S, Czettel B, Thalhammer JG. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME, Zentraleuropäische Zeckenenzephalitis) beim Hund in Österreich: eine Seroprävalenz-Studie. *Kleintierpraxis*. 2003;48:125–84.
- Klaus C, Beer M, Saier R, Schau U, Moog U, Hoffmann B, Diller R, Süss J. Goats and sheep as sentinels for tick-borne encephalitis (TBE) virus – Epidemiological studies in areas endemic and non-endemic for TBE virus in Germany. *Ticks Tick Borne Dis*. 2012;3:27–37.
- Klaus C, Beer M, Saier R, Schubert H, Bischoff S, Süss J. Evaluation of serological tests for detecting tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animals: Vergleich serologischer Tests zur Bestimmung von Antikörpern gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis- Virus (FSMEV) bei Tieren. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2011;124:443–9.
- Klaus C, Hoffmann B, Beer M, Müller W, Stark B, Bader W, Stiasny K, Heinz F, Süss J, Klaus C, Hoffmann B, Beer M, Müller W, Stark B, Bader W, Stiasny K, Heinz FX, Süss J. Seroprevalence of tick-borne encephalitis (TBE) in naturally exposed monkeys (*Macaca sylvanus*) and sheep and prevalence of TBE virus in ticks in a TBE endemic area in Germany. *Ticks Tick Borne Dis*. 2010a;1:141–4.
- Klaus C, Hoffmann B, Moog U, Schau U, Beer M, Süss J. Can goats be used as sentinels for Tick-borne encephalitis (TBE) in nonendemic areas? Experimental studies and epizootiological observations: Sind Ziegen als Sentinels für Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) in einem FSME-Nicht-Risiko-Gebiet geeignet? Experimentelle Untersuchungen und epizootiologische Beobachtungen. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2010b;123:441–5.
- Klaus C, Hörügel U, Hoffmann B, Beer M. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection in horses: Clinical and laboratory findings and epidemiological investigations. *Vet Microbiol*. 2013;163:368–72.
- Klimes J, Literak I, Schanilec P, Juricova Z, Trachta e Silva E. Prevalence of antibodies to tickborne encephalitis and West Nile flaviviruses and the clinical signs of tickborne encephalitis in dogs in the Czech Republic. *Vet Rec*. 2001;148:17–20.
- Knap N, Avšič-Županc T, Yu X. Correlation of TBE Incidence with Red Deer and Roe Deer Abundance in Slovenia. *PLoS ONE* 2013; 8:e66380.
- Kovalev SY, Mukhacheva TA. Clusterons as a tool for monitoring populations of tick-borne encephalitis virus. *J Med Virol*. 2014;86:283–9.
- Kunze U. Tick-borne encephalitis (TB): An underestimated risk...still: Report of the 14th Annual Meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis; 2012.
- Kupca AM, Essbauer S, Zoeller G, Mendonca PG de, Brey R, Rinder M, Pfister K, Spiegel M, Doerrbecker B, Pfeffer M, Dobler G. Isolation and molecular characterization of a tick-borne encephalitis virus strain from a new tick-borne encephalitis focus with severe cases in Bavaria, Germany. *Ticks Tick Borne Dis*. 2010;1:44–51.
- Labuda M, Eleckova E, Lickova M, Sabo A. Tick-borne encephalitis virus foci in Slovakia. *Int J Med Microbiol*. 2002;291:43–7.

- Labuda M, Kozuch O, Zuffova E, Eleckova E, Hails RS, Nuttall PA. Tick-borne encephalitis virus transmission between ticks cofeeding on specific immune natural rodent hosts. *Viol.* 1997;235:138–43.
- Labuda M, Nuttall PA, Kozuch O, Eleckova E, Williams T, Zuffova E, Sabo A. Non-viraemic transmission of tick-borne encephalitis virus: a mechanism for arbovirus survival in nature. *Experientia.* 1993;49:802–5.
- Lämmli B, Muller A, Ballmer PE. Late sequelae of early summer meningoencephalitis. *Schweiz Med Wochenschr.* 2000;130:909–15.
- Laursen K, Knudsen JD. Tick-borne encephalitis: a retrospective study of clinical cases in Bornholm, Denmark. *Scand J Infect Dis.* 2003;35:354–7.
- Leschnik M, Feiler A, Duscher GG, Joachim A. Effect of owner-controlled acaricidal treatment on tick infestation and immune response to tick-borne pathogens in naturally infested dogs from Eastern Austria. *Parasit Vectors.* 2013;6:62.
- Leschnik MW, Benetka V, Url A, Pakozdy A, Thaller D, Bilek A, Skerlak R, Möstl K. Virale Enzephalitiden beim Hund in Österreich: diagnostische und epidemiologische Aspekte. *Wiener Tierarztl Monatsschr.* 2008;95:190–9.
- Leschnik MW, Kirtz GC, Thalhammer JG. Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. *Int J Med Microbiol.* 2002;291:66–9.
- Libikova H. Natural focus encephalitides in Czechoslovakia [Thesis]. Bratislava, Slowakei 1956.
- Linden A, Wirtgen M, Nahayo A, Heyman P, Niedrig M, Schulze Y. Tickborne encephalitis virus antibodies in wild cervids in Belgium. *Vet Rec.* 2012;170:108.
- Lindhe KE, Meldgaard DS, Jensen PM, Houser GA, Berendt M. Prevalence of tick-borne encephalitis virus antibodies in dogs from Denmark. *Acta Vet Scand.* 2009;51:56.
- Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet.* 2008;371:1861–71.
- Luckschander N, Kölbl S, Enzesberger O, Zipko HT, Thalhammer JG. Frühsommermeningoenzephalitis-(FSME-) Infektion in einer österreichischen Pferdepopulation. *Tierarztl Prax.* 1999;27:235–8.
- Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, Stephenson JR, Fooks AR, Solomon T. Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol.* 2009;90:1781–94.
- Matile H, Aeschlimann A, Wyler R. Seroepidemiologic investigation on the incidence of TBE in man and dog in Switzerland. In: Kunz C, editor. *Tick-borne encephalitis.* Wien: Facultas; 1981. 227–34 .
- Mikryukova TP, Moskvitina NS, Kononova YV, Korobitsyn IG, Kartashov MY, Tyuten Kov OY, Protopopova EV, Romanenko VN, Chausov EV, Gashkov SI, Konovalova SN, Moskvitin SS, Tupota NL, Sementsova AO, Ternovoi VA, Loktev VB. Surveillance of tick-borne encephalitis virus in wild birds and ticks in Tomsk city and its suburbs (Western Siberia). *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;5:145–51.
- Movila A, Alekseev AN, Dubinina HV, Toderas I. Detection of tick-borne pathogens in ticks from migratory birds in the Baltic region of Russia. *Med Vet Entomol.* 2013;27:113–7.

- Müller K, König M, Thiel H. Die tick-borne Enzephalitis (TBE) unter besonderer Berücksichtigung der Infektion beim Pferd. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2006;113:147–51.
- Müller W. TBE in the dog - seroepidemiological studies. In: Proceedings of the Fourth International Potsdam Symposium on Tick-Borne Diseases. Lengerich: Pabst Science Publishers; 1997.
- Müller W. FSME-Seroprävalenz beim Hund in Deutschland [ALOMED Analytisches Labor]. München 6.-8- 2000. (9. InnLab-Jahrestagung).
- Orlinger KK, Hofmeister Y, Fritz R, Holzer GW, Falkner FG, Unger B, Loew-Baselli A, Poellabauer E, Ehrlich HJ, Barrett PN, Kreil TR. A Tick-borne Encephalitis Virus Vaccine Based on the European Prototype Strain Induces Broadly Reactive Cross-neutralizing Antibodies in Humans. J Infect Dis. 2011;203:1556–64.
- Pettersson JH, Golovljova I, Vene S, Jaenson TGT. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in Ixodes ricinus ticks in northern Europe with particular reference to Southern Sweden. Parasit Vectors. 2014;7:102.
- Pfeffer M, Dobler G. Tick-borne encephalitis virus in dogs - is this an issue? Parasit Vectors. 2011;4:59.
- Pretzmann G, Radda A, Lowe J. Studien zur Ökologie von Ixodes ricinus L. in einem Endemiegebiet der Frühsommermeningoenzephalitis (FSME) im Bezirk Neunkirchen (Niederösterreich). Z Morph Ökol Tiere. 1964;54:393–413.
- Pugliese A, Rosa R. Effect of host populations on the intensity of ticks and the prevalence of tick-borne pathogens: how to interpret the results of deer enclosure experiments. Parasitol. 2008;135:1531–44.
- Radda A, Hofmann H, Kunz C. Viremia of various native carnivora after infection with early summer meningoencephalitis (ESME) virus by ticks. Zentralbl Bakteriol Orig. 1969;209:464–9.
- Reiner B, Fischer A. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte. Kleintierpraxis. 1998;43:255–68.
- Rieille N, Beer M, Klaus C, Ambord C, Dupuis G, Voordouw M, Péter O. Use of goats as indirect indicators for detection of TBEV in a new risk area in Switzerland. Berlin 2013.
- Rizzoli A, Neteler M, Rosa R, Versini W, Cristofolini A, Bregoli M, Buckley A, Gould EA. Early detection of tick-borne encephalitis virus spatial distribution and activity in the province of Trento, northern Italy. Geospat Health. 2007;1:169–76.
- RKI. Epidemiologisches Bulletin: FSME: Risikogebiete in Deutschland (Stand: April 2014) 2014; 15/2014: 1-16
- Roelandt S, Heyman P, Tavernier P, Roels S. Tick-borne encephalitis in Europe: Review of an emerging zoonosis. Vlaams Diergen Tijdschr. 2010;79:23–31.
- Rolle M, Mayr A, editors. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 8th ed. Stuttgart: Enke 2007.

- Rubel F, Brugger K, Monazahian M, Habedank B, Dautel H, Leverenz S, Kahl O. The first German map of georeferenced ixodid tick locations. *Parasit Vectors*. 2014 Oct 10;7:477.
- Ruiz- Fons F, Fernández-de-Mera IG, Acevedo P, Höfle U, Vicente J, La Fuente JD, Gortazár C. Ixodid ticks parasitizing Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) and European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: Geographical and temporal distribution. *Vet Parasitol*. 2006;140: 133–142.
- Rushton JO, Lecollinet S, Hubálek Z, Svobodová P, Lussy H, Nowotny N. Tick-borne Encephalitis Virus in Horses, Austria, 2011. *Emerg Infect Dis*. 2013;19:635–7.
- Růžek D, Bilski B, Günther G. Tick-Borne Encephalitis. In: Sunit K. Singh and Daniel Růžek, editor. *Neuroviral Infections: RNA Viruses and Retroviruses*. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2013. 211–37.
- Růžek D, Dobler G, Donoso Mantke O. Tick-borne encephalitis: Pathogenesis and clinical implications. *Travel Med Infect Dis*. 2010;8:223–32.
- Saenger K, Danner K, Maurer M, Bago Z. FSME bei einem Hund. *Prakt Tierarzt*. 2013; 94:392–6.
- Šikutová S, Hornok S, Hubálek Z, Doležálková I, Juřicová Z, Rudolf I. Serological survey of domestic animals for tick-borne encephalitis and Bhanja viruses in northeastern Hungary. *Vet Microbiol*. 2009;135:267–71.
- Skarpaas T, Ljostad U, Sundoy A. First human cases of tickborne encephalitis, Norway. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:2241–3.
- Skarphéðinsson S, Jensen PM, Kristiansen K. Survey of Tickborne Infections in Denmark. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1055–61.
- Stadtbäumer K, Leschnik MW, Nell B. Tick-borne encephalitis virus as a possible cause of optic neuritis in a dog. *Vet Ophthalmol*. 2004;7:271–7.
- Stanek G. Büchse der Pandora: Krankheitserreger in Ixodes ricinus-Zecken in Mitteleuropa. *Wien Klin Wochenschr*. 2009;121:673–83.
- Stefanoff P, Siennicka J, Kaba J, Nowicki M, Ferenczi E, Gut W. Identification of new endemic tick-borne encephalitis foci in Poland – a pilot seroprevalence study in selected regions. *Int J Med Microbiol*. 2008;298:102–7.
- Stefanoff P, Pfeffer M, Hellenbrand W, Rogalska J, Rühle F, Makówka A, Michalik J, Wodecka B, Rymaszewska A, Kiewra D, Baumann-Popczyk A, Dobler G. Virus detection in questing ticks is not a sensitive indicator for risk assessment of tick-borne encephalitis in humans. *Zoonoses Pub Health*. 2013;60:215–26.
- Süss J. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia—An overview. *Ticks Tick Borne Dis*. 2011;2:2–15.
- Süss J, Dobler G, Zöller G, Essbauer S, Pfeffer M, Klaus C, Liebler-Tenorio EM, Gelpi E, Stark B, Hotzel H. Genetic characterisation of a tick-borne encephalitis virus isolated from the brain of a naturally exposed monkey (*Macaca sylvanus*). *Int J Med Microbiol*. 2008;298: 295–300

- Süss J, Schrader C, Falk U, Wohanka N. Tick-borne encephalitis (TBE) in Germany — Epidemiological data, development of risk areas and virus prevalence in field-collected ticks and in ticks removed from humans. *Int J Med Microbiol. Supplements* 2004;293:69–79.
- Süss J, Sinnecker H, Sinnecker R, Berndt D, Zilske E, Dedek G, Apitzsch L. Epidemiology and Ecology of Tick-borne Encephalitis in the Eastern Part of Germany Between 1960 and 1990 and Studies on the Dynamics of a Natural Focus of Tick-borne Encephalitis. *Zentralbl Bakteriol.* 1992;277:224–35.
- Takashima I, Morita K, Chiba M, Hayasaka D, Sato T, Takezawa C, Igarashi A, Kariwa H, Yoshimatsu K, Arikawa J, Hashimoto N. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the the virus. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1943–7.
- Tipold A. Zentraleuropäische Zeckenzephalitis - eine Übersicht. *Tierarztl Praxis* 2002;30 K:36–40.
- Uzcategui NY, Sironen T, Golovljova I, Jaaskelainen AE, Valimaa H, Lundkvist A, Plyusnin A, Vaheri A, Vapalahti O. Rate of evolution and molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus in Europe, including two isolations from the same focus 44 years apart. *J Gen Virol.* 2012;93:786–96.
- van der Poel W, van der Heide R, Bakker D, Loeff M de, Jong J de, van Manen N, Gaasenbeek C, Borgsteede F. Attempt to Detect Evidence for Tick-Borne Encephalitis Virus in Ticks and Mammalian Wildlife in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2005;5:58–64.
- Wahlberg P, Carlsson S, Granlund H, Jansson C, Linden M, Nyberg C, Nyman D. TBE in Åland Islands 1959-2005: Kumlinge disease. *Scand J Infect Dis.* 2006;38:1057–62.
- Waldenström J, Lundkvist Å, Falk KI, Garpmo U, Bergstrom S, Lindegren G, Sjöstedt A, Mejlon H, Fransson T, Haemig PD, Olsen B. Migrating birds and tickborne encephalitis virus. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1215–8.
- Waldvogel A, Matile H, Wegmann C, Wyler R, Kunz C. Zeckenzephalitis beim Pferd. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 1981;123:227–33.
- Wandeler A, Steck F, Fankhauser R, Kammermann B, Gresikova M, Blascovic D. Isolation of the virus of Central European tick-borne encephalitis in Switzerland. *Pathol Microbiol. (Basel)* 1972;38:258–70.
- Weissenböck H, Holzmann H. Tick-borne encephalitis in Austrian dogs. *Vet Rec.* 1996;139:575–6.
- WHO. Arboviruses and human disease: Report of a WHO Scientific Group. Technical Report Series 1967;369.
- Windorfer A, Schönfeld C. FSME-Gebiete in Deutschland mit noch geringem Infektionsrisiko. *ImpfDialog.* 2005;4:191–5.
- Wójcik-Fatla A, Cisak E, Zajac V, Zwoliński J, Dutkiewicz J. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected from the Lublin region (eastern Poland). *Ticks Tick Borne Dis.* 2011;2:16–9.
- Wurm R, Dobler G, Peters M, Kiessig S. Serological Investigations of Red Foxes (*Vulpes vulpes* L.) for Determination of the Spread of Tick-borne Encephalitis in Nordrhein-Westphalia. *J Vet Med.* 2000;47:503–9.

Yoshii K, Mottate K, Omori-Urabe Y, Chiba Y, Seto T, Sanada T, Maeda J, Obara M, Ando S, Ito N, Sugiyama M, Sato H, Fukushima H, Kariwa H, Takashima I. Epizootiological study of tick-borne encephalitis virus infection in Japan. J Vet Med Sci 2011; 73:409–12.

Ytrehus B, Vainio K, Dudman SG, Gilray J, Willoughby K. Tick-Borne Encephalitis Virus and Louping-III Virus May Co-Circulate in Southern Norway. Vector Borne Zoonotic Dis. 2013; 13:762–8.

Zilber LA. Spring- and spring-summer-endemic tick-borne encephalitis. Arch Boil Nauk. 1939; 56:9–37.

Zilber LA, Soloviev VD. Far Eastern tick-borne spring-summer (spring) encephalitis. Am Rev Soviet Med. special suppl. 1946; 5:19

Zindel W, Wyler R. Zeckenenzephalitis bei einer Ziege im untern Prättigau. Schweiz Arch Tierheilkd 1983; 125:383–6.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau des FSMEV (Quelle: zecken.de)	4
Abbildung 2: Verbreitung der FSME weltweit (Quelle: nachhaltigleben.de)	5
Abbildung 3: Inzidenzen der Landkreise (Quelle: Survstat, RKI, Datenstand: 3.2.15)	6
Abbildung 4: Risikogebiete und humane registrierte FSME-Fälle Deutschland (Quelle: RKI, 2014).....	7
Abbildung 5: Zyklus von <i>Ixodes ricinus/persulcatus</i> (Quelle: nach PFEFFER und DOBLER, 2011).....	8
Abbildung 6: Die Stadien von <i>Ixodes ricinus</i> (Quelle: Baxter)	9
Abbildung 7: Pathogenese.....	13
Abbildung 8: FSME Erkrankungsfälle/Durchimpfungsrate Österreich (Quelle zecken.at).....	27
Abbildung 9: Antikörperverlauf bei Hund Lilo.....	28
Abbildung 10: Antikörperverlauf bei Hund Ben	28
Abbildung 11: Autochthone humane Fälle in Sachsen (Quelle RKI 2014).....	29
Abbildung 12: Registrierte humane FSME-Fälle in Sachsen seit 2001 (Quelle: nach Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, https://survstat.rki.de , Abfragedatum: 01.02.2015).....	55
Abbildung 13: Autochthone humane Fälle in Sachsen seit 2001 (Quelle: RKI 2014).....	55
Abbildung 14: Seropositive Hunde laut Veröffentlichung 2.....	55
Abbildung 15: Seropositives Wild laut Veröffentlichung 1	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Registrierte humane FSME-Fälle in Sachsen seit 2001 (Quelle: Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, https://survstat.rki.de , Abfragedatum: 01.02.2015)	29
Tabelle 2: Vergleich der verschiedenen Tierspezies für die Eignung als Sentinel für Seroprävalenzstudien	58

9 Danksagung

meiner Familie - für die seelisch/moralische und finanzielle Unterstützung

„Papi“ Martin Pfeffer - für Antworten auf Fragen in allen Lebenslagen, die beste Betreuung der Doktorarbeit, die man sich wünschen kann und das Selbstbewusstsein, das Du mir mit auf den Weg gegeben hast

dem Team „Tierhygiene“, besonders Dana, meinen Zimmerkollegen Uta, Tessa und Constantin - für das Motivieren am Arbeitsplatz und schöne Kaffeepausen

den Mitdoktoranden der Fakultät, namentlich Anja, Hofi, Sandra, Richard, Franzi, Juliane, Luise, Constantin, Anna, Dietlinde, Tessa und Rayan sowie Hansi - für fleißiges Hundebluten und lustige Begebenheiten

Martin Beer und Doreen Reichelt - für die Mithilfe bei den Veröffentlichungen und der Laborarbeit

allen Hundebesitzern und deren Vierbeinern, die bei der Studie mitgemacht haben

allen Jägern, die bei der Studie mitgemacht haben

Renate Lohse und Jörg Walraph - für das Bereitstellen der Wildtierseren

den Firmen Baxter und Novartis - für die Finanzierung

Iris und Danny - für das Korrekturlesen

Moritz – für das Korrekturlesen, immer wieder Motivieren, Aufbauen und das Füttern von Schokoladeneis