

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 Hunden und Katzen
im Freistaat Bayern**

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

eingereicht von
Sandra Agnes Riederer
aus Regensburg

Leipzig, 2021

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thomas Vahlenkamp

Betreuer: Prof. Dr. Martin Pfeffer

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

Dr. Christine Klaus, Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
(IBIZ), Friedrich-Loeffler-Institut, Jena

Tag der Verteidigung: 01. Juni 2021

Inhalt

1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht.....	2
2.1 Geschichtliches, Klassifikation und Taxonomie	2
2.2 Das FSME-Virus.....	4
2.3 Epidemiologie und Übertragungswege.....	5
2.4 Bedeutung verschiedener Tierarten.....	12
2.4.1 Zecken.....	12
2.4.2 Kleine Säugetiere	14
2.4.3 Wildtiere	15
2.4.4 Wiederkäuer	16
2.4.5 Pferd	17
2.4.6 Weitere Tierarten	18
2.4.7 Hund und Katze	19
2.4.8 Mensch.....	23
2.5 Pathogenese.....	25
2.6 Diagnose	26
2.7 Vorbeugung und Kontrolle.....	27
2.8 Verbreitung der FSME in Bayern.....	29
3 Tiere, Material und Methoden	30
3.1 Probenmaterial und Gewinnung	30
3.2 Nachweisverfahren von Antikörpern gegen das FSME-Virus.....	30
3.3 Statistische Auswertung.....	34
4 Ergebnisse.....	34
5 Diskussion	41
6 Zusammenfassung.....	48
7 Summary	50
8 Referenzen	52
Literaturverzeichnis	52
Abbildungsverzeichnis	63
Tabellenverzeichnis.....	63
9 Anhang.....	64
10 Danksagung.....	70

Abkürzungsverzeichnis

AK = Antikörper

BAG = Bundesagentur für Gesundheit

ELISA = Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay

FITC = Fluoresceinisothiocyanat

FSME(V) = Frühsommer-Meningoenzephalitis(-Virus)

HIT = Haemagglutination Inhibition Test (Hämagglutinationshemmungs-Test)

IFA = Immunfluoreszenz Assay

IIFT = Indirekter Immunfluoreszenztest

IgG = Immunglobulin G

IgM = Immunglobulin M

OIE = World Organisation for Animal Health (Weltorganisation für Tiergesundheit)

MKS = Maul- und Klauenseuche

PCR = Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)

PRNT = Plaque-Reduktions-Neutralisationstest

RKI = Robert-Koch-Institut

RNA = Ribonukleinsäure

RT-PCR = Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion)

SNT = Serumneutralisationstest

TBE(V) = Tick-Borne Encephalitis(-Virus)

WHO = World Health Organisation

1 Einleitung

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) (engl. TBE = tick-borne encephalitis) ist die bedeutendste Erkrankung in Europa und Nordasien mit 10.000 bis 15.000 Fällen jährlich, welche durch Arboviren verursacht wird (BORDE et al. 2019).

Das FSME-Virus zählt zum Genus Flavivirus innerhalb der Familie der Flaviviridae und wird in fünf Subtypen unterteilt: der westliche Subtyp (European TBE), der sibirische Subtyp (Siberian TBE), der fernöstliche Subtyp (Far Eastern TBE) (ECKER et al. 1999), der Baikal-Subtyp (KOVALEV und MUKHACHEVA 2017) und der Himalaya-Subtyp (DAI 2018).

Fallzahlen zur FSME in Deutschland sind seit Oktober 1990 für das gesamte Bundesgebiet verfügbar. Digitale Daten des Robert-Koch-Instituts gibt es allerdings erst für die Periode 2001 bis aktuell. Die jährliche Fallzahl schwankt in Deutschland seit 2001 stark zwischen 195 (2012) und 584 (2018) (RKI 2020). Hauptrisikogebiete sind vor allem in Bayern und Baden-Württemberg, in Südhessen, im südöstlichen Thüringen und in Sachsen zu finden. Insgesamt sind aktuell 164 Kreise als FSME-Risikogebiete definiert (RKI 2020). Ein Kreis wird laut RKI als Risikogebiet definiert, wenn innerhalb von fünf Jahren die Inzidenz im Mittel bei mehr als einem Fall pro 100.000 Einwohner liegt.

Die Einstufung der Kreise in Risikogebiete anhand der humanen Fallzahlen ist jedoch problematisch, da zum einen eine mögliche Impfung eine klinische Erkrankung verhindern kann und zum anderen die Erkrankung in 70 bis 95 % asymptomatisch verläuft (RKI 2020). Darüber hinaus wird der Wohnsitz des Patienten gemeldet, der aber meist nicht dem Ort entspricht, an dem sich diese Person angesteckt hat.

Andere Methoden, die dazu dienen könnten Risikogebiete besser darzustellen, wären das Sammeln von Zecken und der nachfolgende Nachweis des Virus in der Zecke oder die Ermittlung von Antikörpern gegen das FSME-Virus bei verschiedenen Tierarten.

Um die Situation in der Oberpfalz besser einschätzen zu können, wurden in dieser Arbeit Hunde- und Katzenserum aus dem Einzugsgebiet einer Tierarztpraxis im Landkreis Regensburg auf das Vorhandensein von FSME-Antikörpern untersucht.

2 Literaturübersicht

2.1 Geschichtliches, Klassifikation und Taxonomie

Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) wurde erstmals 1932 in der fernöstlichen Sowjetunion (jetzt Russland) als schwere neurologische Erkrankung bei Waldarbeitern beschrieben. Im Jahr 1936 veranlasste die Sowjetunion eine Forschungsreise, um den Ursprung und die Ursache dieser Erkrankung zu bestimmen. Als Ergebnis dieser Expedition wurde *Ixodes persulcatus* als Vektor für FSME identifiziert. Ein Jahr später (1937) identifizierten einzelne Gruppen den Erreger von FSME als Virus, welches nachfolgend „Far-Eastern Encephalitis Virus“ genannt wurde. Eine ähnliche, aber weniger schwere Erkrankung wurde in Westrussland und Osteuropa gefunden, welche „Western Encephalitis“ genannt wurde. Western Encephalitis war auch als „biphasisches Milchfieber“ bekannt, in Bezug auf den Konsum von unpasteurisierter Milch von infizierten Tieren. Der Erreger der Western Encephalitis wurde während des Ausbruchs in der Tschechoslowakei als Virus, welches mit dem far-eastern FSME-Virus (TBEV) verwandt ist, identifiziert. Das Western Encephalitis Virus (nachfolgend bekannt als zentraleuropäisches Encephalitis Virus) wird durch die Zecke *Ixodes ricinus* übertragen. Im Laufe der Ausbruchsuntersuchungen, wurde eine dritte Variante von FSMEV identifiziert und als Sibirischer Subtyp von FSMEV benannt. Dieses Virus, übertragen durch *Ixodes persulcatus*, verursachte eine Erkrankung, welche vom Schweregrad zwischen far-eastern FSMEV und dem europäischen Verwandten lag. Genetische Analysen des far-eastern FSMEV, sibirischen und zentraleuropäischen Encephalitis Virus zeigen, dass diese Viren eng miteinander verwandt waren, nicht nur serologisch und in der klinischen Manifestation, sondern auch genetisch. Diese drei Virusvarianten werden jetzt als Subtypen des FSMEV mit TBEV-FE (Far-Eastern), TBEV-Sib (Siberian) und TBEV-Eu (European) bezeichnet (HOLBROOK 2017).

Das FSME-Virus ist ein Flavivirus aus der Familie der Flaviviridae (KAISER 2016). Neben dem FSME-Virus zählen u.a. auch das Gelbfiebervirus, das Denguevirus, das Japanische Enzephalitis Virus und das West-Nil Virus zur Familie der Flaviviridae (RŮŽEK et al. 2013).

Die Familie der Flaviviren wird unterteilt in Flaviviren, die durch Zecken übertragen werden, Flaviviren, die durch Stechmücken übertragen werden und Flaviviren, die nicht durch Arthropoden übertragen werden (DOBLER et al. 2012). Zur Virusgruppe,

welche durch Stechmücken übertragen wird, zählt u.a. das Zika-Virus (HOLBROOK 2017). Bei den von Zecken übertragenen Flaviviren unterscheidet man die Gruppe der von Zecken übertragenen Flaviviren bei Säugetieren und die Gruppe der von Zecken übertragenen Flaviviren bei Seevögeln (DOBLER et al. 2012).

Der Tick-Borne-Encephalitis (TBE)-Komplex umfasst neben dem FSME-Virus u.a. das Omsk Hämorrhagisches Fieber Virus (OHFV), das Kyasanur Forest Fieber Virus (KFDV) und das Powassan Virus (POWV) (MCAULEY et al. 2017).

Nach ECKER et al. (1999) wird das FSME-Virus in drei Subtypen unterteilt: Subtyp 1 (europäischer Subtyp), Subtyp 2 (fernöstlicher Subtyp) und Subtyp 3 (sibirischer Subtyp).

Der europäische Subtyp wird in Europa, im westlichen Ural und Sibirien gefunden (BOGOVIC und STRLE 2015). Hauptüberträger für diesen Subtyp ist *Ixodes ricinus* (LINDQUIST und VAPALATHI 2008). Die Mortalitätsrate dieses Subtyps ist mit 0,5 bis 2 % gering (PULKKINEN et al. 2018). Der fernöstliche Subtyp kommt im fernöstlichen Asien, Japan, Zentralsibirien und östlichen Sibirien vor, während der sibirische Subtyp in Sibirien, im Baltikum und im nördlichen Finnland zu finden ist (BOGOVIC und STRLE 2015). Überträger dieses Subtyps ist, ebenso wie beim sibirischen Subtyp, *Ixodes persulcatus* (LINDQUIST und VAPALATHI 2008). Die Mortalitätsrate ist mit bis zu 40 % am höchsten. Die Mortalitätsrate beim sibirischen Subtyp liegt bei 2 bis 3 % (PULKKINEN et al. 2018).

KOVALEV und MUKHACHEVA (2017) erweiterten die Subtypen um den Baikalsee-Subtyp und DAI (2018) um den Himalaya-Subtyp.

2.2 Das FSME-Virus

Das FSMEV-Genom besteht aus einer einzelsträngigen +RNA von ungefähr 11kb Länge (MANSFIELD et al. 2009).

Dieses Genom kodiert ein Polyprotein, welches co- und posttranslational in drei Strukturproteine (SP) und sieben Nicht-Strukturproteine (nSP) gespalten wird (PULKKINEN et al. 2018).

Das C-Protein (Kapsidprotein) und die RNA bilden das sphärische Nukleokapsid, welches durch eine Lipiddoppelschicht mit den zwei Oberflächenproteinen M (matrix) und E (envelope) bedeckt ist (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008).

Das E-Protein ist das wichtigste Antigen und fungiert als Bindungsprotein zum zellulären Rezeptor. Durch Fusion mit der Zellmembran werden die Virionen in das Zytosol eingeschleust (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008). Gegen dieses Glykoprotein E richtet sich die virusneutralisierende Immunantwort im Falle einer Infektion oder Immunisierung. Der Vergleich der drei Subtypen (westlich, östlich, fernöstlich) ergab für das Glykoprotein E eine Übereinstimmung von ca. 97 %, was im Falle der Impfung mit dem westlichen Subtyp auch einen Schutz bei einer Infektion mit den beiden anderen Subtypen bedeutet (KAISER 2016).

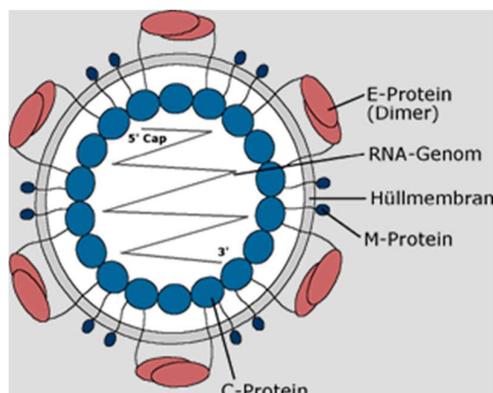


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Flavivirus

2.3 Epidemiologie und Übertragungswege

Das Verbreitungsgebiet reicht östlich von Japan (TAKASHIMA et al. 1997) über China (DAI et al. 2018) und Korea (YOSHII et al. 2017) bis westlich nach Frankreich (HERPE et al. 2007). Nördlich reicht das Verbreitungsgebiet bis zur südlichen Küste von Norwegen (SÜSS 2008), die Küstenregionen von Finnland (JÄÄSKELÄINEN et al. 2006) und Dänemark (FOMSGAARD et al. 2009). Im südlichen Europa erstreckt sich das Verbreitungsgebiet bis nach Italien (CARPI et al. 2009, BELTRAME et al. 2006). 2007 war FSMEV in 19 europäischen Ländern endemisch (Österreich, Kroatien, Tschechien, Dänemark, Estland, Finnland, Frankreich, Deutschland, Ungarn, Italien, Litauen, Lettland, Norwegen, Polen, Russland, Slowakei, Slowenien, Schweden, Schweiz) (SÜSS 2008). Seither sind die Niederlande und England zu dieser Liste hinzugekommen. In den Niederlanden trat 2016 erstmals eine FSME-Infektion bei einem Menschen auf (KUNZE 2018). Zwischen 2012 und 2016 traten in der Europäischen Union in 23 Ländern insgesamt 12.500 Fälle von FSME auf, wobei in Spanien und Irland keine Fälle beschrieben wurden (BEAUTÉ et al. 2018).



Abbildung 2: Verbreitung der FSME weltweit

Eurasischer FSME Focus Regionen klassifiziert nach KORENBERG et al. (1999): (1) Zentraleuropa-Mittelmeerraum; (2) Osteuropa; (3) Westsibirien; (4) Zentralsibirischer Transbaikal; (5) Khangai-Amur; (6) Pazifik; (7) Krim-Krim-Kaukasien; (8) Kasachisch-Zentralasiatisch

Deutschland

Seit knapp 30 Jahren benennt das Robert-Koch-Institut (RKI) jährlich FSME-Risikogebiete in Deutschland. Laut RKI wird ein Landkreis als FSME-Risikogebiet definiert, wenn die Anzahl der labormedizinisch bestätigten FSME-Erkrankungen in mindestens einem der fortlaufenden Fünfjahres-Zeiträume in dem Kreis signifikant höher liegt als die bei einer Inzidenz von einer Erkrankung pro 100.000 Einwohner erwartete Fallzahl. Während im Jahr 2001 insgesamt nur 65 Kreise als Risikogebiet eingestuft wurden, waren es im Jahr 2010 schon 136 und heute (Stand Januar 2020) sogar 164 Landkreise. Derzeit finden wir Risikogebiete in Bayern, Baden-Württemberg, Thüringen, Hessen, Sachsen, Rheinland-Pfalz, Saarland, Niedersachsen (RKI 2020).

Vergleicht man die Inzidenzen der Landkreise ist eine deutliche Ausbreitungstendenz zu erkennen:



Abbildung 3: Inzidenzen der Landkreise im Jahr 2001

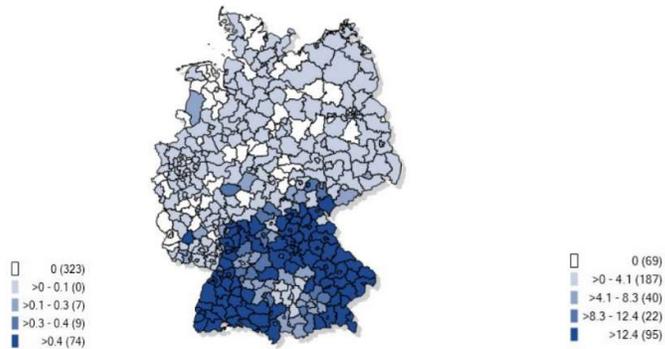


Abbildung 4: Inzidenzen der Landkreise im Jahr 2020

In Deutschland wurden zwischen 2001 und 2019 insgesamt 6.515 FSME-Fälle gemeldet (RKI 2020). Im Jahr 2001 stammten 46,3 % der übermittelten FSME-Fälle aus Baden-Württemberg und 42,3 % aus Bayern, nur 11,4 % wurden aus anderen Bundesländern übermittelt (RKI 2002). Auch 2018 stammten die meisten übermittelten Fälle aus Baden-Württemberg und Bayern (RKI 2019). Aktuelle Daten zeigen, dass das FSME Infektionsrisiko auch nördlich der bisherigen Risikogebiete zunimmt (KREUSCH et al. 2019).

Übertragungswege

Verschiedene Übertragungswege des FSME-Virus sind bekannt: Zeckenstich (Hauptübertragungsweg), Verzehr von Rohmilchprodukten, Laborinfektionen, Übertragung durch Muttermilch, Kontakt mit infizierten Schlachttieren, Kontakt bei Organtransplantation.

Je nach Region sind bis zu 3 % der Zecken mit dem Virus infiziert, in einzelnen Regionen (Litauen, Russland, Schweiz) wurden auch Durchseuchungsraten von 20 bis 30 % gefunden (KAISER 2016).

Zeckenstich

Zecken sind Überträger einer großen Anzahl von pathogenen Mikroorganismen, wie Bakterien, Protozoen und Viren, welche schwere Erkrankungen beim Menschen als auch bei Tieren hervorrufen können (LEJAL et al. 2019). Sie gehören zur Unterklasse der Acari (Milben), in der Klasse der Arachnida (Spinnentiere), welche zu den Arthropoda (Gliederfüßlern) gehören.

Im Jahr 2004 waren 867 Zeckenarten bekannt (JONGEJAN und UILENBERG 2004).

Ixodes ricinus ist die vorherrschende Zeckenart in Europa (LEJAL et al. 2019) und auch in Deutschland. Weitere in Deutschland vorkommende *Ixodes* Spezies sind *I. apronophorus*, *I. frontalis*, *I. hexagonus* und *I. trianguliceps* (RUBEL et al. 2014). *I. ricinus* überträgt den westlichen Subtyp des FSME-Virus (DOBLER et al. 2012). Weiter findet man in Deutschland die Zeckenarten *Dermacentor reticulatus* (Auwaldzecke), *Dermacentor marginatus* (RUBEL et al. 2014) und *Haemaphysalis concinna* (PETNEY et al. 2012). Nicht heimische Zeckenarten wie *Hyalomma marginatum* und *Hyalomma rufipes* (CHITIMIA-DOBLER et al. 2019) oder *Rhipicephalus sanguineus* (RUBEL et al. 2014) sind ebenso in Deutschland zu finden.

Adultes Weibchen (ca. 3 mm)



Abbildung 5: Entwicklungsstadien von *Ixodes ricinus*

Lebenszyklus

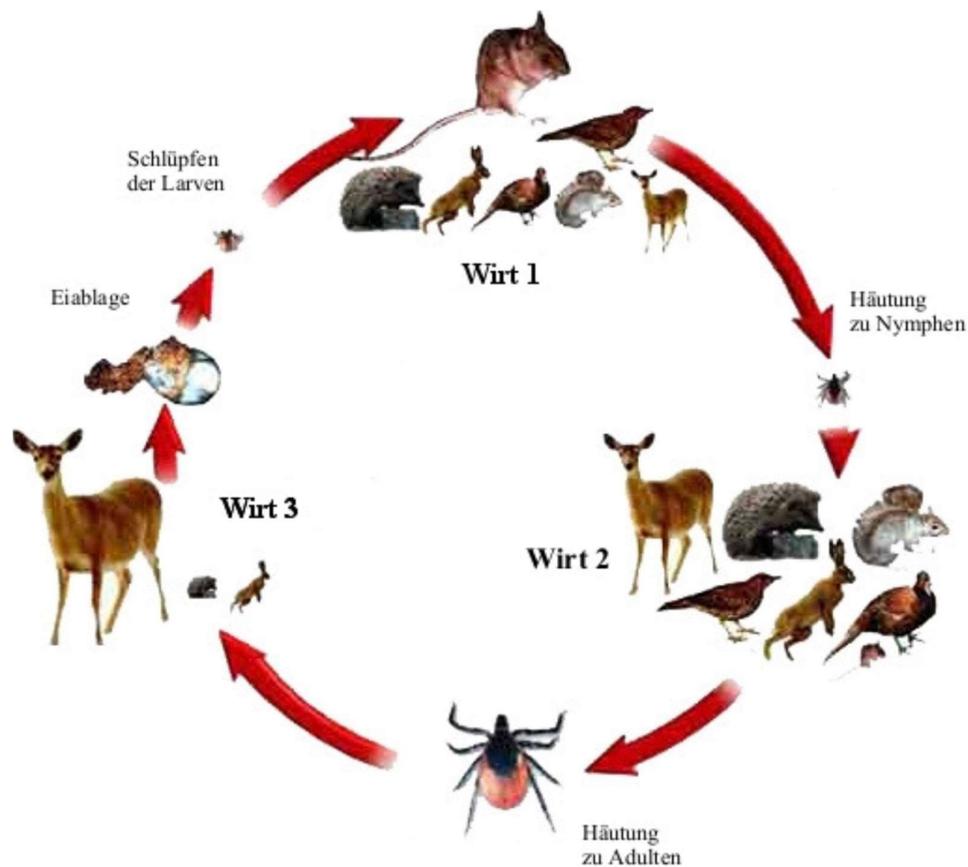


Abbildung 6: Entwicklungszyklus von *Ixodes ricinus*

Der gesamte Entwicklungszyklus dauert drei bis sechs Jahre (KUPČA 2009) und ist abhängig von verschiedenen Umweltfaktoren (Temperatur, Mikroklima, Feuchtigkeit, Verfügbarkeit von Wirten) (GERN 2005).

Der Lebenszyklus von *Ixodes ricinus* läuft in vier aufeinander folgenden Stadien ab: Ei, Larve, Nymphe und adulte Zecke (männlich oder weiblich). Die Larven schlüpfen mit drei Beinpaaren aus den Eiern, entwickeln sich, häuten sich nach der ersten Blutmahlzeit zu achtbeinigen Nymphen und entwickeln sich nach der nächsten Blutmahlzeit zu adulten weiblichen oder männlichen Zecken (STANEK 2009). Alle drei Stadien benötigen Blut für ihre Entwicklung (GERN 2005). *Ixodes ricinus* ist dreiwirtig, das bedeutet, dass sie in jedem Stadium eine Blutmahlzeit an einem neuen Wirt benötigt, die mehrere Tage dauert (STANEK 2009).

Mehr als 300 verschiedene Tierarten dienen dieser Zecke als Wirt, wobei das Spektrum von Reptilien (Echsen) über Säugetiere (Kleinsäuger, Eichhörnchen, Rehe etc.) bis zu Vögeln reicht (RIZZOLI et al. 2014). Die Larven bevorzugen kleine Säugetiere, wie Eichhörnchen oder auch Vögel als Wirte. Nach Beendigung der Blutmahlzeit, die etwa zwei bis drei Tage dauert, lassen sie sich zu Boden fallen und häuten sich nach einigen Wochen zur Nymphe. Die Nymphen sind etwa 1 mm groß und ihre Lebensweise ähnelt derjenigen der Larven. Ihre Blutmahlzeit dauert mit fünf bis sechs Tagen aber wesentlich länger. Larven und Nymphen teilen die gleichen Wirte. Nymphen können ebenfalls an größeren Säugetieren und dem Menschen Blut saugen. Nach der Blutmahlzeit lassen sie vom Wirt ab und fallen auf den Boden, wo sie sich zu adulten männlichen und weiblichen Zecken entwickeln (GERN 2005).

Die erwachsenen weiblichen und männlichen Zecken paaren sich meist, wenn sie einen Wirt parasitieren. Männchen sind etwa 2 mm groß und benötigen in der Regel keine Blutmahlzeiten. Weibliche Zecken hingegen benötigen eine Blutmahlzeit, um Eier bilden und ablegen zu können. Die Blutmahlzeit dauert jeweils 7 bis 10 Tage (GERN 2005). Adulte Zecken saugen überwiegend auf Rehwild, Wildschweinen, Hunden, Menschen, aber auch auf Rindern, Schafen und Ziegen (STANEK 2009). Nach der Blutmahlzeit dauert es einige Wochen, bis die weiblichen Zecken Hunderte bis mehrere tausend Eier auf den Boden legen. Mit der Eiablage bzw. der Begattung haben die adulten Tiere ihre biologische Aufgabe erfüllt und sterben (GERN 2005).

Die Zecke kann sich entweder beim Blutsaugen an einem virämischen Wirt oder beim sogenannten „Co-feeding“ (infizierte Zecke saugt nahe bei einer oder mehreren nicht-infizierten Zecken an einem nicht-virämischen Wirt, der selbst sogar immun sein kann) infizieren (LABUDA et al. 1993; 1997). Einmal infiziert trägt die Zecke ein Leben lang das FSMEV in sich, da es auch transstadial weitergegeben wird. Die Zecke bleibt somit während ihrer gesamten Lebensdauer ansteckend.

Das FSMEV kann vertikal (transovarial) übertragen werden. Die epidemiologische Relevanz dieser Übertragung innerhalb der Zeckenpopulation ist allerdings nicht endgültig geklärt. Das FSMEV wird vom Magen-Darm-Trakt der Zecke während einer Blutmahlzeit aufgenommen. Dort gelangt das Virus in die Hämolymphe und wandert schließlich in die Speicheldrüsen.

Die FSMEV werden mit dem Speichel freigesetzt und gelangen somit beim Saugakt in den nächsten Wirt. Dies bedeutet, dass das Virus vom Beginn der Blutmahlzeit an übertragen werden kann. Diese Form der Ausscheidung ist typisch für Arboviren und unterscheidet sich grundlegend vom Mechanismus, durch den Borrelien durch Zecken übertragen werden (DOBLER et al. 2012).

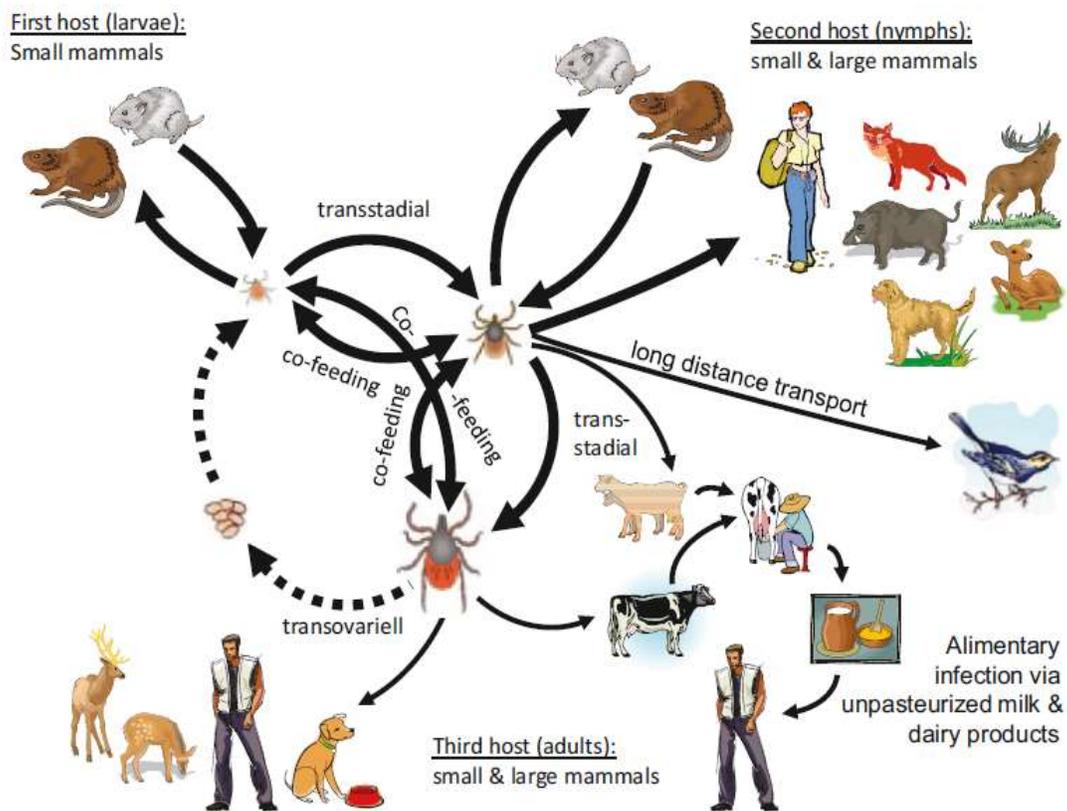


Abbildung 7: Die Übertragungswege des FSMEV

Alimentärer Infektionsweg

Neben dem Hauptübertragungsweg über die infizierte Zecke wird ebenfalls eine alimentäre Übertragung beschrieben. Insbesondere in der Zeit nach dem Zweiten Weltkrieg waren massive FSME-Ausbrüche nach dem Verzehr von Ziegenmilch zu verzeichnen. In Russland wurden bis zu 30 % der FSME-Infektionen durch den Verzehr von Rohmilch verursacht. Auch in verschiedenen europäischen Ländern (Baltikum, Osteuropa, Österreich, Tschechien, Slowakei, Polen) wurden Ausbrüche von FSME durch den Verzehr von Rohmilch beschrieben (DOBLER et al. 2012).

In der Slowakei wurden zwischen 2007 und 2016 insgesamt 26 FSME-Infektionen durch den Verzehr von Ziegenrohmilch und deren Produkten beschrieben (KERLIK et al. 2018). Zwischen 2014 und 2017 wurden insgesamt 112 Milchproben von Weidekühen von verschiedenen Farmen in Norwegen untersucht, davon wurden neun mittels RT-PCR positiv getestet und sechs durch Pyrosequenzierung bestätigt (PAULSEN et al. 2019). In Deutschland wurden ebenfalls FSME-Fälle beschrieben, bei denen die Infektion durch den Verzehr von Rohmilchprodukten erfolgte. BROCKMANN et al. (2017) untersuchten im Jahr 2017 Fälle von zwei Personen einer Wandergruppe, die einige Tage nach Konsum von Ziegenrohmilchprodukten an FSME (laborbestätigt) erkrankten. 26 weitere Personen, die Produkte des Hofes konsumiert hatten, zeigten keine IgM-Antikörper und damit keine akute FSME-Infektion. Fünf der 22 Käseproben (23 %, 5x PCR, 1x Zellkultur) und eine von 412 Zecken (0,24 %) waren FSME positiv. Neun der 45 Ziegen zeigten Antikörper, zwei Tiere mit hohem Titer als Hinweis auf eine kürzliche Infektion.

Das Virus ist in gekühlter Milch für mindestens 72 Stunden stabil, bei Zimmertemperatur für 24 Stunden und nach 48 Stunden ist es nicht mehr nachweisbar (OFFERDAHL et al. 2016). Eine Pasteurisierung der Milch oder die Impfung der milchliefernden Tiere verhindern die alimentäre Übertragung (BALOGH et al. 2012).

2.4 Bedeutung verschiedener Tierarten

2.4.1 Zecken

Zecken fungieren als Überträger des FSMEV (STANEK 2009, RŮŽEK et al. 2013). Einmal infiziert trägt die Zecke ein Leben lang das FSMEV in sich, somit ist die Zecke während ihrer gesamten Lebensdauer ansteckend (DOBLER et al. 2012). Die Hauptvektoren des FSMEV für den Menschen sind die Nymphen von *Ixodes ricinus* bzw. die adulten Weibchen. Adulte Männchen sind nicht relevant für die Übertragung von FSMEV, da sie wenig oder gar kein Blut saugen (JAENSON et al. 2012).

Als wichtigster Vektor bei der Übertragung des FSMEV ist es nicht verwunderlich, dass Zecken gesammelt und auf FSMEV untersucht werden. Allerdings geht aus verschiedenen Studien mit über 50.000 untersuchten Zecken hervor, dass sich die Zecke als Sentinel zur Identifizierung von Risikogebieten nicht eignet und alternative Methoden zur Überwachung der FSME in der Umwelt in Betracht gezogen werden sollten, wie zum Beispiel eine serologische Überwachung von Nagetieren oder anderen Wildtieren (STEFANOFF et al. 2013).

Es existieren verschiedene Prävalenzstudien in Deutschland, bei denen eine Vielzahl von Zecken auf FSMEV untersucht wurde:

KIESSLING (2005) untersuchte in ihrer Dissertation insgesamt 1.552 Zecken (in 212 Pools) aus drei Parkanlagen in München, es handelte sich dabei ausschließlich um *Ixodes ricinus*. In keiner der Zecken konnte mittels RT-PCR das FSMEV nachgewiesen werden.

STEFANOFF et al. (2013) untersuchten über 16.000 Zecken mittels RT-PCR in Deutschland und Polen auf das Vorhandensein von FSMEV. Keine der Proben war positiv, obwohl auch Zecken aus bekannten Risikogebieten gesammelt wurden.

KUPČA et al. (2010) untersuchten zwischen 2005 und 2008 insgesamt 2.150 *Ixodes ricinus* aus einem bekannten Endemiegebiet in Bayern, wobei in fünf Zecken FSMEV-RNA gefunden werden konnte.

KLAUS et al. (2010a) untersuchten im Jahr 2008 294 Zecken aus Salem in Baden-Württemberg, wobei bei keiner Zecke FSMEV-RNA mittels RT-PCR nachgewiesen werden konnte.

KLAUS et al. (2010b) testeten außerdem 177 Zecken, die auf einer Weide im Mai und Juni 2009 in einem FSME-Nicht-Risiko-Gebiet in Thüringen gesammelt wurden, negativ auf FSMEV-RNA.

KLAUS et al. (2012) untersuchten in einer weiteren Studie 1.700 Zecken aus zwei Bezirken in Baden-Württemberg mittels RT-PCR auf FSMEV-RNA. Lediglich eine Zecke wurde positiv getestet.

KLAUS et al. (2013) untersuchten 1.557 Zecken zwischen 2008 und 2011 in Thüringen an vier verschiedenen Standorten. In keiner der Zecken konnte FSMEV-RNA nachgewiesen werden. Weitere 883 Zecken wurden 2011 an zwei Standorten in Bayern gesammelt, u.a. in Regensburg, was als FSME-Risikogebiet eingestuft ist. Hier konnten drei Pools positiv getestet werden.

Zecken spielen somit eine wichtige Rolle bei der Übertragung der FSME und werden regelmäßig in Studien auf den FSMEV untersucht.

2.4.2 Kleine Säugetiere

Die wichtigsten natürlichen Wirte des FSMEV sind kleine Säugetiere, insbesondere Nagetiere (DOBLER et al. 2012). Sie spielen für die in der Entwicklung der Zecken unabdingbaren Blutmahlzeiten eine ganz entscheidende Rolle. Vor allem Mäuse sind in ihrem Vorkommen und mit ihrem Entwicklungszyklus sowohl für die Zeckenpopulation als auch für die Erhaltung und Stabilität der FSMEV-Naturherde von wesentlicher Bedeutung. Die Gelbhalsmaus (*Apodemus flavicollis*) und die Rötelmaus (*Myodes glareolus*) entwickeln ausreichende Virämien, um blutsaugende Zecken während der Blutmahlzeit zu infizieren. Auch andere Muridae (echte Mäuse) und Microtinae (Wühlmäuse) fungieren als natürliche Wirte (SCHÖNBÄCHLER et al. 2019). Das sog. Co-feeding-Phänomen spielt bei Nagern eine Rolle. Dabei kommt es während des Saugakts mehrerer dicht nebeneinander befindlicher Zecken an einem Wirtstier zur Übertragung von FSMEV von infizierten auf bis dato nicht infizierte Zecken, ohne dass dazu eine Virämie des Wirtstieres erforderlich wäre. Dieses Co-feeding Phänomen stellt einen eher ungewöhnlichen, aber äußerst effektiven Weg der Verbreitung der Viren innerhalb einer Zeckenpopulation dar (KLAUS et al. 2016).

KIESSLING (2005) untersuchte im Rahmen ihrer Dissertation 300 Milzen von Mäusen, die im Münchner Raum gefangen wurden. Alle Milzen waren in der RT-PCR negativ. Ebenso wurden alle 59 untersuchten Mäusegehirne mittels nested RT-PCR negativ getestet. Aus verschiedenen Regionen in den Niederlanden wurden 90 Seren von wilden Spitzmäusen (*Sorex araneus*) und Feldmäusen (*Microtus arvalis*) gesammelt. Alle Seren wurden im ELISA negativ getestet, sowie im SNT (HIT) als negativ bestätigt (VAN DER POEL et al. 2005). KIM et al. (2008) konnten in fünf von 24 Brandmäusen (*Apodemus agrarius*) in Südkorea mittels RT-PCR FSMEV nachweisen. TONTERI et al. (2011) untersuchten zwischen 2008 und 2009 insgesamt 202 Mäuse aus endemischen Gebieten in Finnland. Insgesamt 23 Wühlmäuse (*Microtus agrestis*) und eine Spitzmaus (*Sorex araneus*) waren positiv in der RT-PCR auf FSMEV. ACHAZI et al. (2011) untersuchten zwischen 2002 und 2008 insgesamt 441 Mäusemilzen und -gehirne auf FSMEV. Dabei wurden 8 % der Mäuse (24 von 304) aus Nicht-Risikogebieten und 15 % (21 von 137) aus Risikogebieten in der RT-PCR positiv getestet.

Kleine Säugetiere gelten als wichtigste natürliche Wirte des FSMEV (DOBLER et al. 2012).

2.4.3 Wildtiere

Größere Wildtiere wie Füchse, Wildschweine und Rehwild scheinen nicht in der Lage zu sein ausreichende Virustiter zu entwickeln, um das FSMEV auf Zecken übertragen zu können (DOBLER et al. 2012). Wildtiere spielen aber als Wirte für Zecken eine entscheidende Rolle. Klinische Erkrankungen werden so gut wie nie beobachtet, lediglich der Fall eines Mufflons wird beschrieben (KLAUS et al. 2016).

Das Verwenden serologischer Daten von Wild- oder Weidetieren als Sentinels im Gegensatz zu Zecken ist deutlich einfacher machbar und kann im Ergebnis auch zur gezielten Zeckensuche in einer bestimmten Region herangezogen werden (KLAUS et al. 2016).

In Deutschland untersuchten GERTH et al. (1995) in den Jahren 1987 bis 1992 im südwestdeutschen Raum (Tübingen) 192 Rehe (*Capreolus capreolus*) auf FSMEV. Insgesamt 50 (26 %) Seren wurden im ELISA positiv getestet, 43 davon wurden im HIT oder SNT als positiv bestätigt.

BALLING et al. (2014) untersuchten zwischen 2011 und 2013 1.851 Seren von Wildschweinen und 35 Seren von Rehen aus Sachsen auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen FSMEV. Die Seroprävalenz für Sachsen betrug 10,5 %.

WURM et al. (2000) untersuchten zwischen Januar 1995 und August 1996 Serumproben von 786 geschossenen Füchsen im südlichen Nordrhein-Westfalen. Insgesamt 27 Proben waren grenzwertig oder positiv. Neun dieser Proben wurden mittels Western-Blot als positiv bestätigt, wobei aber dann nur ein Tier (0,13 %) im PRNT (Plaque-Reduktions-Neutralisationstest) als positiv bestätigt wurde.

In den Niederlanden untersuchten VAN DER POEL et al. (2005) 399 Seren von Füchsen, hauptsächlich entlang der deutschen Grenze. Zwei der 399 Seren wurden positiv auf FSMEV mittels ELISA getestet. Im SNT oder HIT konnte allerdings keine dieser zwei Proben als positiv bestätigt werden.

Wildtiere spielen als Wirte für Zecken eine entscheidende Rolle (KLAUS et al. 2016).

2.4.4 Wiederkäuer

Rinder, Schafe und Ziegen sind für FSME-Viren empfänglich, klinische Symptome werden jedoch normalerweise nicht beobachtet. Die Haltung in größeren Herden in Verbindung mit der doch recht unspezifischen Symptomatik erschweren die Diagnostik. Daher stammen die wenigen Berichte zu Fällen mit klinischer Symptomatik aus kleinen Herden oder Einzeltierhaltungen (KLAUS et al. 2016).

Ein sterbendes Mufflon wurde 1994 im österreichischen Burgenland aufgefunden und nach dem Erlösen pathologisch untersucht. Das FSME-Virus konnte aus dem Gehirn mittels RT-PCR nachgewiesen werden und es wird somit als der erste Fall eines an FSME verstorbenen Wiederkäuers beschrieben (BAGÓ et al. 2002). Für Wiederkäuer ist eine klinische FSME extrem selten. Dennoch sollten sie Beachtung erfahren, da der Konsum von unpasteurisierter Milch und deren Produkten eine alimentäre FSME auslösen kann (KLAUS et al. 2016).

Rinder eignen sich als Weidetiere hervorragend als Sentinels, genauso wie Schafe, Ziegen und Pferde (KLAUS et al. 2016). Es existieren diverse Prävalenzstudien: In Deutschland wurden 100 Schafseren in der Nähe des Bodensees untersucht, nachdem dort ein Affe an FSME erkrankte (siehe 2.4.6). Hierbei wurden 24 im ELISA positiv auf FSMEV getestet, aber nur neun Seren im SNT als positiv bestätigt (KLAUS et al. 2010a). Außerdem untersuchten KLAUS et al. (2012) in den Jahren 2003 und 2006 bis 2009 insgesamt 3.590 Schafseren und 3.793 Ziegenserren in verschiedenen Regionen in Deutschland mittels ELISA und SNT. Beträchtliche Unterschiede (0 bis 43 %) in der Seroprävalenz wurden zwischen einzelnen Herden in Bezirken in Baden-Württemberg, Bayern und Thüringen festgestellt. KLAUS et al. (2019) untersuchten weiter zwischen 2013 und 2015 insgesamt 735 Ziegenserren von 50 verschiedenen Herden in Deutschland. In Mecklenburg-Vorpommern war von 205 Proben aus neun Herden nur eine Ziege positiv mit einem sehr niedrigen Titer. Ebenfalls einen sehr niedrigen Titer wies eine Ziege aus Niedersachsen auf, wo insgesamt 126 Tiere aus neun Herden untersucht wurden. Außerdem war eine Ziege in Bayern positiv, hier wurden 230 Tiere aus 21 Herden getestet. In Baden-Württemberg wurden 2013 drei Ziegen von 69 Tieren aus drei Herden positiv getestet, im Jahr 2015 wurden hier 105 Proben aus acht Herden getestet, wobei hier vier Ziegen positiv waren.

Wiederkäuer sind Wirte für Zecken und stellen außerdem als Überträger von FSMEV über Milchprodukte ein Risiko für den Menschen dar.

2.4.5 Pferd

Es existieren wenige Fallberichte zur klinisch manifesten FSME-Infektion bei Pferden in der Literatur: Ein Fallbericht stammt von Waldvogel et al. (1981), der über einen besonders dramatischen Verlauf mit anschließender Euthanasie und Nachweis von FSME-Viren aus dem Gehirn einer Stute in der Schweiz berichtete. Klinisch standen bei diesem Tier ein ataktischer Gang sowie regelmäßig wiederkehrende epileptiforme Anfälle bei leicht erhöhter Körpertemperatur im Vordergrund (KLAUS et al. 2016). Während einer Routineuntersuchung von 130 Pferdeseren in Thüringen wurde ein Antikörper positives Serum gefunden. Dieses Serum stammte von einem Pferd, das ursprünglich aus Bayern kam und neurologische Symptome zeigte (KLAUS et al. 2013). Neben schlechtem Allgemeinbefinden und Inappetenz standen hier klinisch besonders Gangunsicherheit, Schreckhaftigkeit und gestörte Reaktion auf alltägliche Umweltreize im Vordergrund, wobei sich das Pferd nach einigen Wochen wieder vollständig erholte (KLAUS et al. 2016).

JANITZA-FUTTERER (2003) untersuchte in den Jahren 1999 und 2000 in ihrer Dissertation 205 Pferde aus der Bodenseeregion mittels ELISA auf FSMEV, hierbei wurden 23,4 % (n=48) positiv getestet. MÜLLER et al. (2006) untersuchten 240 Serumproben von Pferden aus einem Endemiegebiet (Marburg-Biedenkopf) auf FSMEV. Sieben (2,9 %) wurden im SNT positiv getestet. SIKUTOVÁ et al. (2009) untersuchten 2005 in Ungarn 40 Pferdeseren, wobei alle im ELISA negativ auf FSMEV getestet wurden. RUSHTON et al. (2013) untersuchten 257 Pferdeserumproben in drei unterschiedlichen Bundesländern in Österreich mittels ELISA und anschließendem SNT. Die Serumprävalenz lag bei 26,2 %. LUCKSCHANDER et al. (1999) untersuchten 469 Pferdeseren, wovon 13 % FSMEV-Antikörper aufwiesen.

Pferde spielen als Wirte für Zecken eine Rolle und können, wenn auch selten, selbst an FSME erkranken.

2.4.6 Weitere Tierarten

Zwischen 1998 und 2007 wurden 283 Affenseren auf dem Affenberg Salem am Bodensee gesammelt. Mittels ELISA wurden diese auf das Vorhandensein von Antikörper gegen FSME untersucht. Sechs der 283 Affen wurden positiv getestet, wobei sich nur drei Seren im Serumneutralisationstest als positiv bestätigten (KLAUS et al. 2010a). Ein siebenjähriger weiblicher Makake wurde nach schweren neurologischen Symptomen (ähnlich FSME beim Menschen) euthanasiert und das FSME-Virus wurde aus dem Gehirn isoliert (SÜSS et al. 2008).

Bei Schweinen wurden bisher keine klinischen Erkrankungen berichtet. Sie bilden nach Kontakt mit FSME-Viren Antikörpertiter (KLAUS et al. 2016).

Vögel scheinen für FSME-Viren wenig empfänglich zu sein. Experimentelle Infektionen führten weder zu einer Virämie, noch zu klinischen Symptomen. Lediglich einige Tiere bildeten Antikörpertiter aus (KLAUS et al. 2016). Allerdings können Zecken an Vögeln parasitieren und Krankheitserreger, wie zum Beispiel FSMEV übertragen. Die Prävalenz von Zecken bei Vögeln variiert je nach Jahr, Jahreszeit, Lokalität und verschiedenen Vogelarten. Die Verbreitung von Zecken bei den verschiedenen Arten hängt hauptsächlich davon ab, wo die Vögel ihre Nahrung suchen. So haben Vögel, die sich zur Nahrungssuche am Boden aufhalten häufiger Zecken. In Europa ist insbesondere die Amsel (*Turdus merula*) zu nennen. Vögel können Barrieren wie Zäune, Berge, Gletscher, Wüsten und Ozeane überqueren und somit die Krankheitserreger leichter verbreiten. Sie fungieren möglicherweise als Wirte für den Transfer von Krankheitserregern durch Co-Feeding von Zecke zu Zecke (HASLE 2013). MOVILA et al. (2013) untersuchten Zecken auf 577 Vögeln, die 2009 im Frühling in Kaliningrad Oblast (baltische Region Russlands) gefangen wurden. Insgesamt 107 Vögel (18,5 %) waren von insgesamt 212 Zecken befallen. Bei 94,8 % handelte es sich um *Ixodes ricinus*. Nur bei einer wurde das FSMEV gefunden.

Auch andere Tierarten (z. B. Affen und Schweine) sind empfänglich für FSMEV, wobei Vögel bei der Verbreitung der Zecken eine besondere Rolle spielen.

2.4.7 Hund und Katze

Der Hund (*Canis lupus familiaris*) ist ein Zufalls- oder Fehlwirt (RŮŽEK et al. 2013). Bei infizierten Tieren kommt es meist zu einer Virämie und Serokonversion ohne klinische Anzeichen. Trotzdem kann es bei Hunden zu klinischen Symptomen kommen. Hunde zeigen nur eine kurze Virämie, so dass es nicht möglich ist, das Virus weiter zu verbreiten (RŮŽEK et al. 2013). Aber Haustiere können infizierte Zecken von endemischen zu nicht-endemischen Gebieten in unmittelbarer Nähe des Menschen tragen (ROELANDT et al. 2017). Hunde können durch verschiedene Präparate vor der Übertragung von verschiedenen Zeckenerkrankungen geschützt werden (LESCHNIK et al. 2013). Hunde sind 50- bis 100-mal stärker von Zecken betroffen als Menschen. Dabei spielt die unmittelbare Nähe zum Boden und ihr Erkundungsverhalten eine Rolle (PFEFFER und DOBLER 2011).

Klinik beim Hund

Beim Hund wird eine Inkubationszeit von vier bis 21 Tage angenommen (BAJER et al. 2013). Vier verschiedene Verläufe von FSME-Infektionen bei Hunden werden beschrieben:

- die Hälfte der seropositiven Hunde entwickeln keine klinischen Symptome
- perakuter Verlauf: Tod innerhalb von drei bis sieben Tagen
- akuter Verlauf: klinische Symptome verbessern sich nach ein bis drei Wochen und verschwinden oft ohne Folgen
- chronischer Verlauf: betroffene Hunde erholen sich von ihren neurologischen Defiziten innerhalb von ein bis sechs Monaten (LESCHNIK et al. 2002).

Wenn betroffene Hunde die erste Woche überlebten, wurde die Prognose deutlich besser. Oft besserten sich die klinischen Symptome nach ein bis drei Wochen und verschwanden dann ohne Folgen (LESCHNIK et al. 2002).

Die ersten Fallbeschreibungen bei Hunden stammen u.a. von Gresikova et al. (1972a) und Wandeler et al. (1972) (KLAUS et al. 2016).

Neuere Untersuchungen beschreiben ebenfalls die klinischen Symptome von FSME beim Hund:

TIPOLD et al. (1993) beschreiben 1993 fünf Hunde aus dem Kanton Bern, die aufgrund akuter neurologischer Symptome vorgestellt wurden. Bei drei der fünf Hunde konnten

immunzytochemisch Antikörper gegen FSMEV nachgewiesen werden. Bei einem Hund war das Ergebnis fraglich positiv und ein Hund wurde negativ getestet. Vier dieser Hunde wiesen eine erhöhte Körpertemperatur auf (39,8 °C bis 40,2 °C). Die klinischen Symptome waren meist multifokal, mit einem Vorherrschen der Hirnstammsymptomatik (Apathie, Tetraparese bis Tetraplegie, Kopfnervenausfälle). Die Übererregbarkeit und die Krampfanfälle sind den Veränderungen im Großhirn zuzuschreiben. Es wurden Gangstörungen mit Reflexausfällen beobachtet, außerdem eine Hyperalgesie im Halsbereich. Alle fünf Hunde wurden euthanasiert.

Zwischen 1994 und 1997 konnte bei fünf Hunden aus verschiedenen endemischen Regionen in Österreich das FSMEV im Gehirn nachgewiesen werden. Die Hunde zeigten Fieber und neurologische Symptome, wie Myoklonus, Krämpfe, Hemiplegien, Tetraparesen, Stupor, Anisokorie (WEISSENBÖCK et al. 1998).

REINER und FISCHER (1998) beschrieben 1998 zwei Fälle von FSME in Süddeutschland beim Hund. Anfangs zeigten die Hunde eine erhöhte Körpertemperatur und eine akute neurologische Erkrankung mit depressiver Verstimmung, Tetraparese, Krampfanfällen, vestibulärem Strabismus und sensorischen Defiziten im Gesicht, die auf eine Erkrankung der Halswirbelsäule, des Hirnstamms und des Vorderhirns hinwiesen. Eine untere Motoneuronenschwäche und eine Schwäche der Halsmuskulatur waren bei beiden Hunden vorhanden. Bei einem Hund verschwanden die Symptome wieder vollständig, der zweite Hund zeigte eine anfängliche Besserung, aber eine schwere Parese der unteren Motoneuronen der Vordergliedmaßen.

In den Jahren 1997 und 1998 wurden in Tschechien Blutproben von 151 Hunden gesammelt und auf Antikörper gegen FSMEV untersucht, wobei fünf Hunde positiv getestet wurden. Folgende Symptome konnten bei diesen Hunden festgestellt werden:

- Hund 1: Desorientierung, Aggression, Nackensteifigkeit, generalisierte Ataxie, Tetraparese, Schmerz bei Manipulation, spinale Reflexe normal oder leicht gesteigert. Der Hund erholte sich vollständig.
- Hund 2: Akute Gastroenteritis, die nach symptomatischer Therapie verschwand, es konnten keine neurologischen Symptome beobachtet werden.
- Hund 3: Nervosität, Lethargie, Inappetenz, Ataxie, Erbrechen, Bewegungsunlust, Aggression, Myoklonus (Kopf, Nacken und

Vordergliedmaßen), Stupor, Speicheln, Kopftiefhaltung, Schmerzen der Halswirbelsäule, Dysphagie, vermehrte Sensibilität im Gesicht. Der Hund erholte sich und war nach zwei Wochen klinisch unauffällig.

- Hund 4: septische Peritonitis aufgrund einer Pyometra.
- Hund 5: Inappetenz, Erbrechen, Ängstlichkeit, Ataxie, rechtsseitiges Umfallen, Hyperästhesie und generalisierte tonische Krämpfe, Stupor, Miosis, Tremor, klonische Spasmen der Vordergliedmaßen und des gesamten Körpers, Opisthotonus, Erregung durch akustische Stimulation, Myoklonus im Gesicht, spinale Hyperreflexie. Nach 12 Tagen wurde er aus der Klinik entlassen, nach sechs Monaten bestand die generalisierte Ataxie weiterhin (KLIMES et al. 2001).

STADTBÄUMER et al. (2004) beschrieben einen Fall eines 3-jährigen Huskys mit akuter Blindheit. Die Untersuchung ergab eine bilaterale Optikusneuritis und eine lymphatische Meningoenzephalitis. Nach Interpretation aller klinischen Befunde wurde angenommen, dass die Optikusneuritis durch FSMEV verursacht wurde.

In Polen erkrankte im Jahr 2010 ein Schlittenhund an FSME. Er zeigte Hyperaktivität, Visusverlust und es fiel auf, dass er gegen Mauern lief. Auch ein Jahr später konnte der Hund keine Gegenstände, die ihm zugeworfen wurden fangen und er konnte nicht mehr über Zäune springen (BAJER et al. 2013).

Prävalenzstudien Hunde

TAKASHIMA et al. (1997) untersuchten zehn Hunde, die im Dezember 1994 auf einer Farm in Japan geboren wurden, nachdem ein Fall von FMSE bei einem Menschen in dieser Region auftrat. Die Hunde streiften dabei frei durch das Gebiet in der Nähe der Farm. Einmal wöchentlich von April bis Juli 1995 wurden Blutproben entnommen. Im Laufe der Zeit konnte bei fünf Hunden im SNT ein positiver Titer nachgewiesen werden.

KIRTZ et al. (2003) untersuchten zwischen 1996 und 1998 545 Hundeseren in Österreich auf Antikörper gegen FSMEV. Positiv getestet wurden 131 Hundeseren, was einer Gesamtprävalenz von 24 % entspricht.

JANITZA-FUTTERER (2003) untersuchte im Jahr 2003 in ihrer Dissertation 243 Hunde aus der Bodenseeregion mittels ELISA auf FSMEV. Hierbei wurden 29,2 % (n=71) positiv getestet. Sie stellte fest, dass es sich v.a. um helle, weiblich-kastrierte Hunde handelte, die einen positiven Antikörpernachweis hatten. ROELANDT et al. (2011) untersuchten in Belgien 880 Hundeseren, davon wurde ein Hund positiv auf FMSEV getestet. LINDHE et al. (2009) untersuchten in den Jahren 2005 und 2006 125 Hundeseren in Dänemark mittels ELISA auf FSMEV-Antikörper, wovon 30 % positiv waren. Insgesamt 4,8 % der positiven Proben wurden mittels SNT als positiv bestätigt. BAJER et al. (2013) untersuchten in den Jahren 2009 und 2010 insgesamt 25 Hundeseren von Schlittenhunden aus endemischen Gebieten in Polen. Drei Tiere wurden positiv getestet.

BALLING et al. (2015) untersuchten zwischen 2012 und 2014 insgesamt 331 Hundeseren aus Sachsen. Die Untersuchung mittels ELISA ergab eine Seroprävalenz von 3,0 %.

Hunde und Katzen spielen als Wirte für Zecken eine Rolle. Außerdem können Hunde, wenn auch selten, an FSME erkranken.

Zu Katzen konnten in der Literatur weder Prävalenzstudien, noch klinische Fallberichte gefunden werden.

2.4.8 Mensch

Der Mensch ist ebenfalls ein Zufalls- oder Fehlwirt, ebenso wie beim Hund kommt es zu einer kurzen Virämie und zu einer Serokonversion (RŮŽEK et al. 2013). Epidemiologische Studien zeigen, dass über 90 % der Infektionen während der Freizeit erworben werden. Dennoch haben beruflich exponierte Personen (z.B. in der Land- und Forstwirtschaft) ein höheres Risiko an einer FSME zu erkranken als Städter, da erstere sich zeitlich häufiger gegenüber Zecken exponieren. Menschen, die Hunde halten, haben ebenfalls ein höheres Risiko an FSME zu erkranken, da sie sich häufig im Freien aufhalten und somit Zecken ausgesetzt sind (PFEFFER und DOBLER 2011).

Verschiedene Faktoren haben Einfluss auf das Erkrankungsrisiko bzw. die Schwere des Verlaufs beim Menschen: Die Exposition mit FSME-Viren ist Voraussetzung. Das Erkrankungsrisiko steigt durch den Aufenthalt in Gebieten, in denen Zecken mit FSME-Viren vorkommen. Ebenso besteht ein erhöhtes Risiko zwischen April und November (CHRDLE et al. 2016). LENHARD et al. (2016) beschreiben in einer prospektiven Studie, dass Erwachsene ein höheres Risiko für einen schweren Verlauf haben als Kinder und Männer etwa doppelt so häufig an FSME erkranken als Frauen. Auch KAISER (2016) beschreibt, dass Männer doppelt so häufig an FSME erkranken als Frauen. Ebenfalls ein höheres Risiko für einen schweren Verlauf haben immunsupprimierte Patienten (CHRDLE et al. 2016). Eine genetische Disposition für die Schwere des klinischen Verlaufs beschreiben u.a. MICKIENĚ et al. (2014).

Die große Mehrheit der FSME-Infektionen verläuft asymptomatisch (70 bis 98 %). Allerdings ist der Anteil der asymptomatischen Fälle schwer festzustellen, da Patienten mit milden klinischen Symptomen i. d. R. nicht diagnostiziert werden. Die Inkubationszeit von FSME dauert zwischen zwei und 28 Tagen, beträgt aber für gewöhnlich sieben bis 14 Tage (BOGOVIC et al. 2015). Nach der Exposition mit dem FSMEV durch Milch ist die Inkubationszeit mit drei bis vier Tagen kürzer. Das Virus des westlichen Subtyps verursacht für gewöhnlich eine biphasische fieberhafte Erkrankung, während die Erkrankung, die durch den östlichen Subtyp verursacht wird, durch einen monophasischen Verlauf charakterisiert ist (DUMPIS 1999).

In der ersten Phase treten für einige Tage unspezifische Symptome wie Fieber, Müdigkeit und Gliederschmerzen auf. Nach einem symptomfreien Intervall von einer Woche entwickeln ungefähr ein Drittel der infizierten Personen neurologische

Symptome, welche von milder bis hin zu schwerer Enzephalitis reichen. Ein höheres Alter ist ein bekanntes Risiko für einen schweren Verlauf (BEAUTÉ et al. 2018).

In einer Studie mit 656 Patienten in Süddeutschland entwickelten von 230 Patienten, die nachuntersucht wurden, 38 % vorübergehende milde Spätschäden wie Gedächtnisstörungen, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Gehörschäden, geringe psychologische Störungen oder Gangstörungen. Länger dauernde Spätschäden (> drei Monate) entwickelten noch 27 % der Patienten (KAISER 1999).

2.5 Pathogenese



Abbildung 8: Pathogenese der FSME

Das FSMEV wird durch Zeckenspeichel während der ersten Minuten der Blutmahlzeit übertragen. Nach Inokulation des Virus in die Haut findet die Erstinfektion und Replikation des Virus in subkutanem Gewebe statt. Dendritische Zellen (Langerhans-Zellen) sind die ersten Zellen, in denen das Virus repliziert und über das lymphatische System zu den nächsten Lymphknoten transportiert wird.

Nach der Replikation in den Lymphorganen breitet sich das Virus über efferente Lymphbahnen und den Ductus thoracicus aus, um eine Virämie (1. Virämie) zu erzeugen. In den ersten Tagen nach dem Zeckenstich kann das Virus aus Leukozyten isoliert werden. Während der virämischen Phase werden viele extraneurale Gewebe infiziert (insbesondere Milz, Leber und Knochenmark). Die Freisetzung des Virus aus diesen Geweben ermöglicht eine Virämie über mehrere Tage (2. Virämie). Während dieser Virämie gelangt das Virus über das Blut ins Gehirn.

Für die Infektion des zentralen Nervensystems gibt es vier mögliche Wege:

- neurologische Route nach Infektion von peripheren Nerven
- Infektion von hochanfälligen olfaktorischen Neuronen
- Viruseintritt in vaskuläre Endothelzellen von Gehirnkapillaren, Transzytose und Freisetzung von Viren in das Parenchym des Gehirns
- Diffusion des Virus zwischen Kapillarendothelzellen bei Personen, die eine offene Blut-Hirn-Schranke aufweisen (RÚŽEK et al. 2010)

2.6 Diagnose

Da bei einer FSME-Erkrankung oft typische Symptome fehlen, ist die Anamnese ein wichtiger Bestandteil der Diagnose. Der Aufenthalt in einem FSME-Endemiegebiet oder ein Zeckenstich können erste Hinweise auf die Erkrankung geben.

Direkter Virusnachweis

Die RT-PCR ist eine effiziente Methode bei einer akuten Infektion das Virus noch vor Antikörperbildung, während der virämischen Phase in Blut- und Serumproben nachzuweisen (SAKSIDA et al. 2005, HOLZMANN 2003). Allerdings wird dieses kurze Zeitfenster so gut wie nie genutzt, weil die Patienten zu spät vorstellig werden.

Indirekter Virusnachweis

Die Methode der Wahl ist der Nachweis von FSME-spezifischen IgM und IgG-Antikörpern im Serum durch einen ELISA. Der Test ist sehr sensitiv, aber es gibt Kreuzreaktionen zwischen den verschiedenen Flaviviren (HOLZMANN 2003).

Beim indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) werden Antigen-Antikörper-Reaktionen mittels eines Fluorescein-markierten Zweitantikörpers im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht. Beim IIFT kommt es bei vorliegenden Antikörpern gegen andere Flaviviren zu Kreuzreaktionen (OEHME 2019).

Der Serumneutralisationstest (SNT) dient zur semiquantitativen Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern gegen das FMSEV im Serum. Neutralisierende Antikörper haben nur eine geringe Kreuzreaktivität zwischen den verschiedenen Flaviviren. Daher wird der SNT zur Bestätigung der positiven Ergebnisse eines ELISA oder IIFT verwendet (OEHME 2019).

Die FSME-Falldefinition nach RKI, Ausgabe 2019 ist im Anhang zu finden.

2.7 Vorbeugung und Kontrolle

Im Erkrankungsfall ist lediglich eine symptomatische Therapie möglich. Allerdings können vorbeugend verschiedene Maßnahmen ergriffen werden, damit es gar nicht erst zu einer Infektion oder Erkrankung kommt: Da FSME hauptsächlich durch Zecken übertragen wird, kann hier angesetzt werden. Beim Spaziergang in Expositionsgebieten sollte auf adäquate Kleidung geachtet werden und Menschen sollten sich nach jedem Spaziergang, v.a. in Risikogebieten auf Zecken untersuchen und diese gegebenenfalls sofort sachgemäß entfernen. Des Weiteren können Repellentien verwendet werden. Außerdem sollte ausschließlich pasteurisierte Milch und deren Produkte verzehrt werden.

Beim Hund können verschiedene Spot-on Präparate verwendet werden. Dabei ist darauf zu achten, dass diese als Repellentien wirken. Zusätzlich sollten Hundebesitzer ihre Hunde nach jedem Spaziergang auf Zecken untersuchen und diese gegebenenfalls sofort entfernen.

Impfung beim Menschen

Die erste prophylaktische FSME-Impfung (FSME-IMMUN[®] Inject) wurde in den 1970ern in Österreich eingeführt. Diese Impfung wurde kontinuierlich hinsichtlich ihrer Sicherheit und Immunogenität verbessert und die endgültig modifizierte Formulierung wurde 2001 als FSME-IMMUN[®] (Baxter AG, Vienna, Austria) eingeführt (LOEW-BASELLI et al. 2011). Seit 2015 ist Pfizer in Deutschland offiziell Zulassungsinhaber der Impfstoffe, die das Unternehmen 2014 von Baxter übernommen hat, u.a. des Impfstoffs FSME IMMUN[®]. Im Jahr 2003 wurde FSME-IMMUN Junior[®] eingeführt, welcher die Hälfte der Dosis für Erwachsene enthält (LOEW-BASELLI et al. 2011). Der zweite Impfstoff ENCEPUR[®] wurde 1991 unter der Firma Novartis eingeführt (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008) und dann von der Firma GlaxoSmithKline übernommen und vertrieben. Mittlerweile hat die Firma Bavarian Nordic den Impfstoff gekauft. Beide Impfungen beruhen auf dem europäischen Subtyp des FSME-Virus. Pfizer nutzt für seinen Impfstoff den Virusstamm Neudörfl und GlaxoSmithKline den Stamm K23 (LINDQUIST und VAPALATHI 2008). Eine Impfung gegen den europäischen Subtyp schützt gegen alle drei Subtypen (ORLINGER et al. 2011).

Eine passive Immunisierung mit IgG wurde häufig in anderen Ländern als Postexpositionsprophylaxe genutzt. Mangels dokumentierter Wirksamkeit und Angst

vor einer Verschlechterung des klinischen Verlaufs kann diese Immunisierung nicht mehr empfohlen werden (LINDQUIST und VAPALAHTI 2008).

Die häufigsten Nebenwirkungen der Impfungen sind mildes bis moderates Fieber (< 40 °C), lokale Reaktionen und Schmerzen an der Einstichstelle. Bisher sind keine ernstzunehmenden Impfkomplicationen und Nebenwirkungen bekannt (WHO 2011).

Impfung bei Tieren

Impfstoffe für Tiere gegen FSME sind derzeit nicht auf dem Markt verfügbar. Allerdings konnten beide Impfstoffe, die in Europa für den Menschen zugelassen sind, erfolgreich auch bei Tieren (z.B. Schafe, Ziegen, Wild, Hunde) verwendet werden, ohne nachteilige Auswirkungen. Das Bestimmen von Antikörpertiter, entweder mittels IFA oder ELISA, lässt in allen Fällen eine schützende Immunantwort durch die Humanimpfstoffe vermuten (PFEFFER und DOBLER 2011). KLAUS et al. (2011) vergleichen in einer Studie zwei FSME-ELISA Kits zur Bestimmung von Antikörpern gegen das FSMEV bei Tieren. Um definierte polyklonale Seren als Referenzmaterial zu erhalten wurden je zwei Hunde, Rinder, Ziegen, Schafe, Kaninchen, Schweine, ein Pferd und 90 Mäuse mit einem kommerziell erhältlichen Impfstoff immunisiert. Die Impfungen waren sehr gut verträglich und es konnten keine Nebenwirkungen beobachtet werden. Mittels ELISA konnte man feststellen, dass die meisten Tiere FSMEV-spezifische Antikörper in unterschiedlichen Höhen bildeten. Zwei Wochen nach der vierten Immunisierung konnten bei allen Tieren im SNT Antikörper nachgewiesen werden.

2.8 Verbreitung der FSME in Bayern

In Deutschland besteht ein Risiko für eine FSME-Infektion vor allem in Bayern und Baden-Württemberg, in Südhessen, im Saarland, in Rheinland-Pfalz und in Niedersachsen. Insgesamt wurden seit 2001 in Deutschland 6.799 Fälle von FSME-Infektionen gemeldet (RKI, Stand Januar 2020).

Der Freistaat Bayern hat eine Fläche von mehr als 70.500 km² und ca. 13 Millionen Einwohner. Bayern unterteilt sich in sieben Regierungsbezirke (Oberbayern, Niederbayern, Oberpfalz, Oberfranken, Mittelfranken, Unterfranken und Schwaben). Die Oberpfalz ist ein Bezirk im Nordosten Bayerns mit Verwaltungssitz in Regensburg. Aktuell sind 91 Kreise in Bayern als FSME-Risikogebiete ausgewiesen (RKI 2020).

Das Untersuchungsgebiet dieser Prävalenzstudie beschränkte sich auf das Einzugsgebiet einer Tierarztpraxis in der Oberpfalz, etwa neun Kilometer nordöstlich von Regensburg.

Seit der Einführung des Infektionsschutzgesetzes im Jahr 2001 wurden dem Robert-Koch-Institut 2.886 humane Fälle in Bayern gemeldet (RKI, Stand Januar 2020) (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Registrierte humane FSME-Fälle in Bayern seit 2001

Regierungsbezirk	Anzahl der Fälle
Mittelfranken	537
Niederbayern	477
Oberbayern	523
Oberfranken	324
Oberpfalz	618
Regensburg Stadt	25
Regensburg LK	74
Schwaben	152
Unterfranken	255

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Probenmaterial und Gewinnung

Zwischen April 2018 und April 2019 wurden Katzen- und Hundeseren aus dem Einzugsgebiet einer Tierarztpraxis in der Oberpfalz auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSME-Virus untersucht. Dazu wurde den Tieren im Rahmen einer notwendigen Blutuntersuchung aus der Vena saphena lateralis mit einer 20-G-Kanüle (Henry Schein, USA) zusätzliches Blut für die Studie entnommen. Des Weiteren wurden die Tierbesitzer gebeten einen Fragebogen auszufüllen (siehe Anhang). Hierbei wurden allgemeine Informationen über das Alter, die Rasse, das Geschlecht und die Fellbeschaffenheit (Farbe, Länge, Struktur) erhoben. Außerdem wurden der Impfstatus, regelmäßige Entwurmungen, verwendeter Zeckenschutz und Vorerkrankungen abgefragt. Ebenso wurde nach dem Zeckenbefall des Tieres, etwaigen Reisen mit dem Tier und der Postleitzahl (bei Katzen Wohngebiet, bei Hunden bevorzugte Spazierstrecke) gefragt.

Das anzeigepflichtige Versuchsvorhaben nach § 8 a Abs. 1 Tierschutzgesetz (TierSchG) und der Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV) wurde durch die Regierung von Unterfranken (97064 Würzburg, 21.08.2018, Aktenzeichen: AZ 2-673) bestätigt.

3.2 Nachweisverfahren von Antikörpern gegen das FSME-Virus

Indirekter Immunfluoreszenztest (IIFT)

Der indirekte Immunfluoreszenztest wird verwendet, um Antikörper gegen bestimmte Antigene zu identifizieren.

Dabei binden sich im ersten Inkubationsschritt bei positiven Proben die nachzuweisenden Antikörper aus dem Patientenserum an die Festphasengebundenen Antigene. Im zweiten Inkubationsschritt binden sich Fluoresceinmarkierte Antikörper an diesen Antikörper-Antigen-Komplex. Anschließend wird die Fluoreszenz im Fluoreszenzmikroskop beurteilt.

Für die Untersuchung der Katzen- und Hundeseren wurde der Anti-FSME-Viren-IIFT von Euroimmun® (Bestellnummer: FI 2661-1010) verwendet. Dieser Test ist für den

Nachweis humaner Antikörper gegen FSMEV zugelassen. Um Hunde- und Katzenserum auf Antikörper gegen FSMEV zu testen, wurden als Konjugate statt FITC-markierte Anti-Human-IgG FITC-markierte Anti-Hund-IgG bzw. FITC-markierte Anti-Katze-IgG (beide Firma Abcam) verwendet. Ebenso wurde der Test nicht nach Vorschrift von Euroimmun®, sondern wie nachfolgend beschrieben durchgeführt:

Zunächst wurden die Patientenserum im Verhältnis 1:10 mit Probenpuffer (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung, PBS) verdünnt und anschließend für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert.

Pro Feld des FSME-BIOCHIPs wurden nun je 20 µl der verdünnten Proben aufgetropft. Die linke Hälfte des Feldes ist jeweils mit FSME-Virus-infizierten Zellen und die rechte jeweils mit nicht-infizierten Zellen beschichtet. Anschließend wurde der Reagenzträger mit dem aufgesetzten Objektträger bei 37 °C für 30 Minuten in einer feuchten Kammer inkubiert.

Danach wurde der Objektträger in einer Färbeküvette mit PBS gespült und dann fünf Minuten mit frischem PBS auf einem Rotationsschüttler (IKA Wippschüttler Rocker 2D digital, bei 60 Schüttelbewegungen/Minute) geschüttelt.

Nach Trocknung der Zwischenstege mit einem Wattestäbchen wurde auf jedes Feld 20 µl markiertes Antiserum aufgetropft (Hund: FITC-markiertes anti-Hund-IgG, Fa. Abcam, Cambridge, England in einer Endverdünnung 1:40 in PBS, versetzt mit Evans Blue 1:100; Katze: FITC-markiertes anti-Katze-IgG, Fa. Abcam, Cambridge, England in einer Endverdünnung von 1:200 in PBS, versetzt mit Evans Blue 1:100). Es erfolgte eine erneute Inkubation bei 37 °C in einer feuchten Kammer für weitere 30 Minuten. Nach zweimaliger Waschung in PBS (wie beschrieben) wurden die Objektträger getrocknet, mit Eindeckmittel (90 % PBS und 10 % Glycerin, 10 µl pro Feld) versetzt und ein Deckglas auf den Objektträger aufgelegt.

Zur Auswertung wurde die Fluoreszenz mit dem Mikroskop (Leica DM 6000, Anregungsfilter 490 nm) beurteilt.

Serumneutralisationstest (SNT)

Um die positiven Ergebnisse bei den Hundeseren 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 IIFT festgestellten Antikörpern um spezifische, das FSME-Virus neutralisierende Antikörper handelt und inwieweit der IIFT oder Neutralisationstest sensitiver ist im Nachweis von FSME-Antikörpern.

Der SNT dient zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern gegen das FMSEV im Serum.

Hierzu wird eine Serumverdünnungsreihe hergestellt und mit einer definierten Virusdosis inkubiert. Bei vorhandenen Antikörpern im Patientenserum wird das Virus an diese gebunden und seine Aufnahme in die Zelle verhindert, so dass es zu keiner Vermehrung in den Zellen kommen kann. Nach Zugabe eines Indikators werden die intakten Zellen (Antikörper vorhanden, das Virus wurde neutralisiert) gefärbt und die Titerhöhe kann ermittelt werden.

In dieser Arbeit wurde ein Mikro-Neutralisationstest nach den Vorgaben der OIE für MKS durchgeführt.

Für die Gewebekultur wurde das Virus (FSMEV Neudörfel, Impfstamm des Impfstoffs FSME-Immun[®]) auf Mikrotiterplatten mit A549-Zellen gezüchtet.

Vor Beginn des Tests wurden die Seren für 30 Minuten bei 56 °C inaktiviert.

Begonnen wurde mit einer Verdünnung der Seren von 1:10 mit Minimal Essential Medium (MEM, Zellkulturmedium), welche in 2er Log-Stufen im Doppelansatz bis 1:640 zu je 50 µl pipettiert werden.

Nun wurden zu den verdünnten Patientenseren je 50 µl der vorher titrierten Viruslösung hinzugefügt. Wobei jede 50 µl Volumeneinheit ungefähr 100 TCID₅₀ (Tissue Culture Infectious Doses, die 100fache Menge an Virus, die bei 50 % von infizierten Zellkulturen einen zytopathischen Effekt auslöst) enthält.

Die Kontrollen enthalten ein Standard-Antiserum mit bekanntem Titer, Kontrollzellen, und eine Virus-Rücktitration, um die Validität des Tests zu garantieren.

Inkubiert wurde dann für eine Stunde bei 37 °C.

Für das Zellwachstum wurden dann anschließend je 50 µl einer Zellsuspension (A549-Zellen mit 10⁶ Zellen/ml), welche 15 % fetales Kälberserum enthält, zugegeben.

Die Mikrotiterplatten wurden bei 37 °C für 5 Tage inkubiert.

Anschließend wurden die Platten in 13 % Formalin + 0,1 % Kristallviolett (oben als Indikator bezeichnet) für 30 Minuten fixiert und gefärbt. Nach dem Spülen mit Wasser wurde das restliche Wasser aus den Platten geklopft und diese dann an der Luft getrocknet.

Auswertung: Antikörper-positive Vertiefungen werden als homogen blaugefärbter Zellrasen sichtbar (hier wurde das Virus neutralisiert und die Zellen sind intakt geblieben). Antikörper-negative Vertiefungen weisen keine oder nur geringe inhomogene Färbung auf (das Virus konnte nicht neutralisiert werden und die Zellen wurden zerstört und von der Mikrotiterplatte abgelöst). Ein Titer von weniger als 1:10 wurde als negativ angesehen, d.h. alle Seren, die bei 1:10 eine Reaktion zeigten, wurden als positiv bewertet.

Die Laboruntersuchungen (IIFT und SNT) wurden am Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr in München unter Anleitung von Prof. Dr. Gerhard Dobler und Dr. Philipp Girtl selbständig durchgeführt.

3.3 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten und die Erstellung der Grafiken, Tabellen und Karten erfolgte mittels Microsoft Excel 2010®, u.a. mittels Pivot-Tabellen.

Ein Chi-Quadrat-Test zur Ermittlung möglicher Assoziationen von Seropositivität und im Fragebogen erhobener Merkmale des Tieres wurde durchgeführt. Chi-Quadrat (χ^2) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (p) werden entsprechend angegeben. Es wurde ein Signifikanzintervall von $p < 0,05$ vorgegeben.

4 Ergebnisse

Katzen

Ein Katzenserum konnte aufgrund zu geringer Probenmenge nicht ausgewertet werden, sodass sich die folgenden Aussagen auf 221 Katzen beziehen.

Bei der Altersverteilung der Katzen waren Katzen im Alter von 11 bis 15 Jahren mit 29,9 % am häufigsten vertreten, gefolgt von der Altersgruppe 6 bis 10 mit 24,4 %, der Altersgruppe 0 bis 1 mit 22,6 %, der Altersgruppe 2 bis 5 mit 15,4 % und schließlich mit 7,7 % die Altersgruppe 16 bis 20. Keine der Katzen war älter als 20 Jahre.

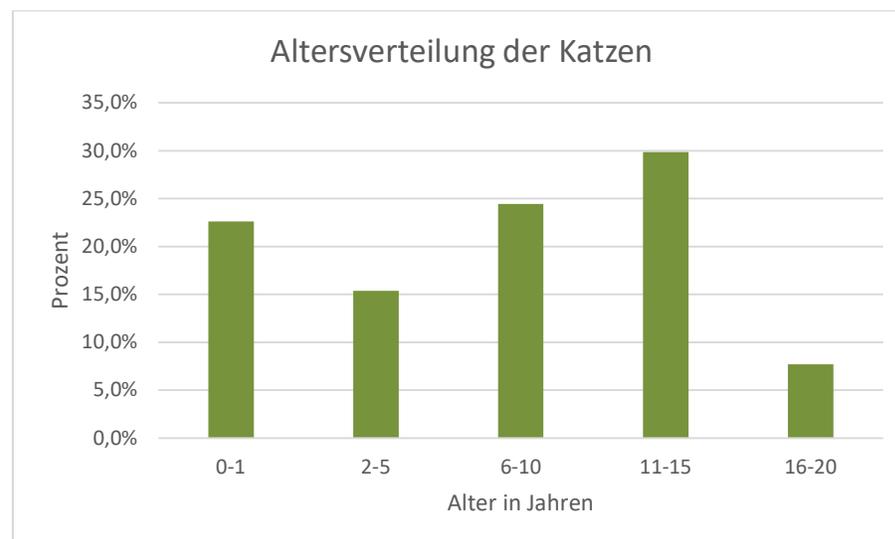


Abbildung 9: Altersverteilung der Katzen

Die Studie beinhaltete drei Katzen (1,4 %) und einen Kater (0,5 %), 94 kastrierte Katzen (42,5 %) und 123 kastrierte Kater (55,7 %).

Alle der 221 beprobten Katzen wiesen glattes Fell auf (100 %). Zweihundert der Katzen hatten kurzes Fell (90,5 %), acht Katzen mittellanges (3,6 %) und 13 langes Fell (5,9 %). Helles Fell wiesen 44 der Tiere (19,9 %) auf, 57 dunkles Fell (25,8 %) und hell und dunkel gemischtes Fell wiesen 120 (54,3 %) der Katzen auf.

126 (57,0 %) der Besitzer gaben an, dass ihre Katzen sowohl geimpft, als auch entwurmt werden. Geimpft und nicht entwurmt waren sechs (2,7 %) der Katzen, sodass insgesamt 132 (59,7 %) Katzen als geimpft angegeben wurden. Insgesamt 89 (40,3 %) der Katzen wurden als nicht geimpft angegeben, davon 42 (19,0 %) aber entwurmt und 47 (21,3 %) weder geimpft noch entwurmt. Insgesamt wurden 168 (76,0 %) der Katzen als entwurmt angegeben.

204 (92,3 %) der Katzenbesitzer gaben an, dass ihre Katzen keine Vorerkrankungen aufweisen. 17 (7,7 %) der Katzen wiesen verschiedene Vorerkrankungen (wie chronischen Katzenschnupfen, chronische Niereninsuffizienz, Tumorerkrankungen, Anämie, Arthrose, FIV, Hyperthyreose, chronische Gingivitis) auf.

Es wurden 71 (32,1 %) der Katzen mit Zeckenschutzmittel behandelt. Insgesamt behandelten 36 (16,3 %) der Katzenbesitzer mit Frontline®, 31 (14,0 %) mit Bravecto®, zwei (0,9 %) mit Broadline® und zwei (0,9 %) verwendeten Zeckenschutz ohne weitere Angaben. Insgesamt 67,9 % (n=150) der Katzenbesitzer gaben an keinen Zeckenschutz zu verwenden.

Insgesamt gaben 165 (74,7 %) der Katzenbesitzer an, dass ihre Katzen von Zecken befallen wurden. Insgesamt gaben 28 (12,7 %) an, 1 bis 5 Zecken seltener als jeden Monat auf der Katze zu finden. Acht (3,6 %) Katzenbesitzer gaben an jeden Monat 1 bis 5 Zecken zu finden, ein (0,5 %) Katzenbesitzer fand jeden Monat 6 bis 10 Zecken auf seiner Katze. Des Weiteren fanden 25 (11,3 %) der Katzenbesitzer wöchentlich 1 bis 5 Zecken und drei (1,4 %) Katzenbesitzer 6 bis 10 Zecken auf der Katze. Die meisten (n=100, 45,2 %) gaben an täglich Zecken auf ihrer Katze zu finden. Insgesamt fanden 77 (34,8 %) täglich 1 bis 5 Zecken, 22 (10,0 %) 6 bis 10 Zecken und einer (0,5 %) 11 bis 20.

Gar keine Zecken auf der Katze zu finden gaben 56 (25,3 %) Katzenbesitzer an. Die meisten Katzen wurden in der Praxis wegen diversen gesundheitlichen Problemen (n=103, 46,6 %) vorgestellt, gefolgt von Kastration (n=49, 22,2 %), allgemeinem Gesundheitscheck (n=40, 18,1 %) und Zahnproblemen (n=29, 13,1 %).

Es wurden Katzen aus 41 verschiedenen Postleitzahlengebieten erfasst. Aus dem Postleitzahlengebiet 93173 waren mit 17,2 % (n=38) die meisten Katzen vertreten. Gefolgt von den Postleitzahlengebieten 93128 (n=36, 16,3 %), 93170 (n=22, 10,0 %), 93192 (n=13, 5,9 %), 93057 (n=11, 5 %), 93177 (n=11, 5 %) und 93197 (n=10, 4,5 %) (siehe Karte im Anhang).

Seroprävalenz – Katzen

Alle Katzenseren wurden im IIFT negativ getestet. Die Gesamtseroprävalenz beträgt somit 0 %.

Hunde

Sechs Hundeseren konnten aufgrund zu geringer Probenmenge nicht ausgewertet werden, sodass sich die folgenden Aussagen auf 208 Hunde beziehen.

Von den beprobten Hunden waren 60,1 % (n=125) Rassehunde und 39,9 % (n=83) Mischlinge. Der Labrador Retriever war mit 8,2 % (n=17) der häufigste Rassehund, gefolgt vom Golden Retriever (n=8, 3,8 %) und dem deutschen Schäferhund (n=7, 3,4 %).

Insgesamt 68 (32,7 %) Hunde waren weiblich-kastriert, 64 (30,8 %) männlich-kastriert, und je 38 Hunde (18,3 %) beider Geschlechter nicht kastriert.

Bei der Altersverteilung der Hunde waren Hunde im Alter von 6 bis 10 Jahren mit 38,0 % (n=79) am stärksten vertreten, gefolgt von der Altersgruppe 2 bis 5 mit 31,3 % (n=65), der Altersgruppe 11 bis 15 mit 21,2 % (n=44), der Altersgruppe 0 bis 1 mit 8,7 % (n=18) und schließlich mit 1,0 % (n=2) die Altersgruppe 16 bis 20. Keiner der Hunde war älter als 20 Jahre.

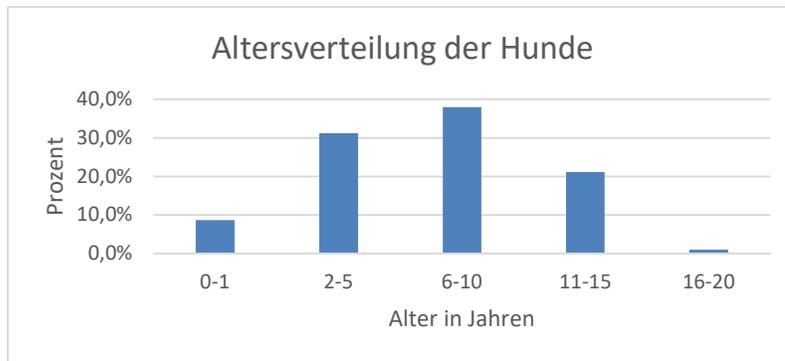


Abbildung 10: Altersverteilung der Hunde

Insgesamt 44,7 % (n=93) der Hunde hatten kurzes Fell, 37 % (n=77) mittellanges Fell und 18,3 % (n=38) hatten langes Fell. 13,5 % (n=28) der Hunde hatten lockiges Fell, 77,9 % (n=162) glattes Fell und 8,7 % (n=18) waren rauhaarig. 36,5 % (n=76) wiesen dunkles Fell auf, 29,8 % (n=62) helles Fell und gleichzeitig hell und dunkles Fell hatten 33,7 % (n=70) der Hunde.

Tabelle 2: Kombination der Felleigenschaften der Hunde

Fellstruktur	Anzahl	Prozent
kurz - glatt - dunkel	36	17,3%
mittellang - glatt - hell und dunkel	23	11,1%
kurz - glatt - hell	22	10,6%
kurz - glatt - hell und dunkel	23	11,1%
mittellang - glatt - dunkel	14	6,7%
mittellang - glatt - hell	14	6,7%
lang - glatt - hell	11	5,3%
lang - glatt - hell und dunkel	9	4,3%
lang - glatt - dunkel	10	4,8%
mittellang - lockig - dunkel	8	3,8%
mittellang - lockig - hell und dunkel	5	2,4%
mittellang - lockig - hell	5	2,4%
kurz - rauhaarig - hell	4	1,9%
lang - lockig - hell und dunkel	4	1,9%
kurz - rauhaarig - hell und dunkel	4	1,9%
mittellang - rauhaarig - dunkel	3	1,4%
kurz - rauhaarig - dunkel	2	1,0%
mittellang - rauhaarig - hell	3	1,4%
mittellang - rauhaarig - hell und dunkel	2	1,0%
lang - lockig - hell	2	1,0%
lang - lockig - dunkel	2	1,0%
kurz - lockig - hell	1	0,5%
kurz - lockig - dunkel	1	0,5%

164 (78,8 %) der Hundebesitzer gaben an, dass ihre Hunde keine Vorerkrankungen aufweisen. 38 (18,3 %) der Hunde wiesen verschiedene Vorerkrankungen (wie Hypothyreose, Arthrose, Allergien, Epilepsie, Leberinsuffizienz, Niereninsuffizienz, o.Ä.) auf. Sechs der beprobten Hunde (2,9 %) waren bereits an vektorübertragenen Krankheiten erkrankt: ein Hund ist an Leishmaniose erkrankt, vier Hunde an Anaplasmosen und ein Hund an Borreliose.

Insgesamt 74 (35,6 %) Hunde erhielten laut Hundebesitzer keinen Zeckenschutz. 109 (52,4 %) der Hundebesitzer verwenden chemischen Zeckenschutz (wie z.B. Bravecto®, Frontline®, Simparica®, o.Ä.), 25 (12,0 %) der Hundebesitzer gaben an ausschließlich natürlichen Zeckenschutz, wie Schwarzkümmelöl, Kokosöl, o.Ä. zu verwenden.

146 (70,2 %) der Besitzer gaben an, dass ihre Hunde sowohl geimpft, als auch entwurmt werden. Geimpft und nicht entwurmt waren 18 (8,7 %) der Hunde, sodass insgesamt 164 (78,8 %) Hunde als geimpft angegeben wurden. Insgesamt 44 (21,2 %) der Hunde wurden als nicht geimpft angegeben, davon 18 aber entwurmt und 26 weder geimpft noch entwurmt. Insgesamt wurden 164 (78,8 %) der Hunde als entwurmt angegeben.

171 (82,2 %) der Hundebesitzer gaben an, dass ihre Hunde von Zecken befallen wurden. Insgesamt gaben 48 (23,1 %) an, 1 bis 5 Zecken seltener als jeden Monat auf dem Hund zu finden. 19 (9,1 %) Hundebesitzer gaben an jeden Monat 1 bis 5 Zecken zu finden, drei (1,4 %) Hundebesitzer fanden jeden Monat 6 bis 10 Zecken auf ihrem Hund. Des Weiteren fanden 44 (21,2 %) der Hundebesitzer wöchentlich 1 bis 5 Zecken und vier (1,9 %) Hundebesitzer wöchentlich 6 bis 10 Zecken auf dem Hund. 53 (25,5 %) gaben an täglich Zecken auf ihrem Hund zu finden. 40 (19,2 %) Hundebesitzer fanden täglich 1 bis 5 Zecken, sechs (2,9 %) 6 bis 10 Zecken, sechs (2,9 %) 11 bis 20 und ein Hundebesitzer (0,5 %) gab an täglich mehr als zwanzig Zecken auf seinem Hund zu finden.

Gar keine Zecken auf dem Hund zu finden gaben 37 (17,8 %) Hundebesitzer an.

Insgesamt 116 Hundebesitzer (55,8 %) gaben an, nicht mit dem Hund zu verreisen. 38 (18,3 %) gaben an mit dem Hund in Deutschland Urlaub zu machen, 16 (7,7 %) in Österreich und 38 (18,3 %) verreisen mit ihrem Hund ins europäische Ausland.

Es wurden Hunde aus 48 verschiedenen Postleitzahlengebieten erfasst. Wenn Hundebesitzer mehrere Postleitzahlen angegeben hatten, wurde die Postleitzahl des Wohnorts in die Auswertung aufgenommen. Die meisten Hunde stammten aus den Postleitzahlengebieten 93173 (n=25, 12,0 %) und 93128 (n=24, 11,5 %), gefolgt von 93170 (n=20, 9,6 %), 93057 (n=15, 7,2 %), 93142 (n=10, 4,8 %) und 93059 (n=10, 4,8 %) (siehe Karte im Anhang).

Seroprävalenz – Hunde

Im indirekten Immunfluoreszenztests (IIFT) wurden 38 (18,3 %) der Hunde positiv auf FSMEV-Antikörper und 170 (81,7 %) negativ getestet. Die Gesamtseroprävalenz beträgt somit 18,3 % (n=38). 37 Hundeseren wurden im Serumneutralisationstest als positiv bestätigt. Ein im IIFT positives Hundeserum erwies sich im SNT als negativ.

Gegen Ende dieser Arbeit wurden auch die negativen Hundeseren aus dem IIFT ebenfalls noch im SNT getestet. Es stellte sich heraus, dass dabei einige (n=8) der im IIFT negativ getesteten Seren positiv im SNT waren.

Die Fellfarbe der positiven Hunde verteilte sich in etwa gleich auf in hell (36,8 %, n=14), dunkel (36,8 %, n=14) und hell und dunkel (26,3 %, n=10). Die meisten Hunde (73,7 %, n=28) hatten glattes Fell, sieben Hunde (18,4 %) lockiges Fell und drei Hunde (7,9 %) waren rauhaarig. 28,9 % (n=11) der Hunde hatten langes Fell, 36,8 % (n=14) mittellanges und 34,2 % (n=13) kurzes Fell.

Die meisten Hunde waren Rassehunde (68,4 %, n=26) und im Altersbereich zwischen 6 und 10 Jahren (42,1 %, n=16) zu finden. Chemischen Zeckenschutz erhielten 60,5 % (n=23) der positiven Hunde.

Keiner der reaktiven Hunde zeigte neurologische Auffälligkeiten oder sonstige FSME-spezifische Symptome in der Vergangenheit.

Die Merkmale Farbe, Felllänge, Fellstruktur, Alter, Geschlecht und Postleitzahl wurden mittels Chi-Quadrat-Test überprüft und wiesen keine Signifikanz auf (Fellfarbe p=0,47, Fellstruktur p=0,61, Felllänge p=0,13, Alter p=0,28, Geschlecht p=0,45, Postleitzahl p=0,96).

Tabelle 3: Postleitzahlen der positiv getesteten Hunde

Postleitzahl	Anzahl positiver Seren	Gesamtzahl Seren
93173	8	26
93170	6	21
93128	3	25
93142	2	11
93133	2	4
93149	2	6
92439	1	1
93197	1	7
93189	1	1
92442	1	1
93426	1	3
93138	1	6
93180	1	1
93055	1	4
93192	1	4
92436	1	3
93199	1	2
93158	1	2
93453	1	1
93059	1	10
93093	1	4

5 Diskussion

Sentineltiere

Bis heute wurden bereits viele verschiedene Serumprävalenzstudien mit Tieren durchgeführt. Das Ziel dabei ist, mögliche Risikogebiete zu definieren und das Infektionsrisiko für FSME in einem bestimmten Gebiet genauer zu bestimmen.

Risikogebiete allein aufgrund humaner FSME-Fallzahlen zu definieren ist nur bedingt zielführend, da es eine Reihe von Einflussfaktoren gibt, die das erschweren: Zum einen können FSME-Infektionen unerkannt bleiben, da in vielen Fällen nur die erste Phase mit grippeähnlichen Symptomen auftritt und die zweite Phase fehlt. Zum anderen könnte eine Impfung eine FSME-Erkrankung verhindern und die Infektion somit nicht mit in die Fallzahlen aufgenommen werden. Eine Diagnosestellung könnte durch unbemerkte Zeckenstiche erschwert werden. Ebenso ist der Infektionsort oft schwer zu ermitteln, gerade wenn der Zeckenstich unbemerkt blieb. Daher wird nach anderen Möglichkeiten gesucht, um Risikogebiete besser zu definieren.

Die Zecke als Sentinel zu verwenden, wäre naheliegend, da die Zecke der Hauptvektor von FSMEV ist. Allerdings hat sich dies als nicht effektiv erwiesen, da in verschiedenen Studien mit je über 1.000 Zecken lediglich Prävalenzen von $< 1\%$ nachgewiesen werden konnten, selbst in bekannten Risikogebieten (KIESSLING 2005, KLAUS et al. 2009, KLAUS et al. 2010a, KLAUS et al. 2010b, KUPČA et al. 2010, KLAUS et al. 2013, STEFANOFF et al. 2013).

In dieser Studie wurden Hunde und Katzen als Sentineltiere gewählt. Der Vorteil bei Katzen ist, dass diese sich meist in einem engeren Radius um ihr Zuhause aufhalten und somit der mögliche Infektionsort leichter bestimmt werden kann. Hunde dagegen werden öfter mit auf Reisen genommen oder die Besitzer wählen verschiedene Orte zum Spaziergang. Daher ist es bei Hunden schwieriger ein bestimmtes Gebiet für die FSMEV-Infektion zu benennen. Beiden ist gemein, dass sie aufgrund der Bodennähe und des häufigen Aufenthalts im Freien vermehrt Zecken exponiert sind. Außerdem sind sie in ausreichender Anzahl in Deutschland vertreten (14,8 Millionen Katzen und 9,4 Millionen Hunde im Jahr 2018, nach Angaben des Zentralverbands Zoologischer Fachbetriebe Deutschland e.V. (SCHREIBER 2020). Allerdings werden auch viele Hunde und Katzen mit Repellentien oder Akariziden behandelt, was bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden sollte. In den o.g.

Prävalenzstudien der zitierten Autoren wurden Hunde bereits erfolgreich als Sentinels verwendet.

Prävalenzen

Die Seroprävalenzen bei Hunden in unterschiedlichen Studien wurden in Deutschland mit 29,2 % (71 von 243) (JANITZA-FUTTERER 2003) und 3 % (10 von 331) (BALLING et al. 2015) angegeben. In Belgien wurde eine Seroprävalenz von 0,1 % (1 von 880) (ROELANDT et al. 2011), in Dänemark mit 4,8 % (6 von 125) (LINDHE et al. 2009), in Österreich mit 24 % (131 von 545) (KIRTZ et al. 2003), in Polen mit 12 % (3 von 25) (BAJER et al. 2013), in Japan mit 50 % (5 von 10) (TAKASHIMA et al. 1997) angegeben. In Tschechien ermittelten KLIMES et al. (2001) eine Seroprävalenz von 3,3 % (5 von 151). In dieser Studie lag die Gesamtseroprävalenz der Hunde bei 18,3 % (38 von 208). Die Seroprävalenzen sind offensichtlich abhängig davon, ob die untersuchten Tiere aus Risikogebieten kommen oder nicht. In Belgien tritt das FSME-Virus eher vereinzelt auf, die bisherigen an FSME Erkrankten haben sich alle im Ausland angesteckt, dennoch wurden bei Blutuntersuchungen von Tieren, darunter auch Hunde, FSME-Erreger nachgewiesen (SUIN et al. 2018). Belgien hat also keine Risikogebiete zu verzeichnen, von daher ist eine geringe Seroprävalenz bei Hunden von 0,1 % (ROELANDT et al. 2011) nicht verwunderlich. In Deutschland untersuchte JANITZA-FUTTERER (2003) die Seroprävalenz von 243 Hunden in einem Risikogebiet, wobei hier eine Prävalenz von 29,2 % festgestellt werden konnte. Auch in dieser Studie wurden Hunde aus Risikogebieten untersucht und es zeigte sich ebenfalls eine recht hohe Seroprävalenz von 18,3 %. Man sollte bedenken, dass die tatsächlichen Prävalenzen höher sein könnten, da einige Hundebesitzer ihre Hunde mit Akariziden behandeln und diese Hunde somit eine geringere Chance haben sollten, sich mit dem FSMEV zu infizieren. Trotzdem waren bei den positiv getesteten Hunden, Hunde mit chemischen Zeckenschutz vertreten (60,5 %, n=23). Eine Rolle spielt dabei, ob das verwendete Akarizid einen repellierenden Effekt aufweist und somit die Zecke erst gar nicht am Hund saugt. Insgesamt 26,3 % (n=10) der positiv getesteten Hunde, bekamen ein Akarizid mit repellierenden Effekt. Möglicherweise ist das Medikament nicht sachgemäß vom Besitzer angewendet worden und könnte somit ein Versagen des Zeckenschutzes erklären.

Katzen

Bei Katzen lag die Gesamtseroprävalenz bei 0 %. Es ist davon auszugehen, dass Katzen refraktär gegenüber FSMEV-Infektionen sind. Die Katzenseren wurden aus dem gleichen Einzugsgebiet gewonnen, wie die Hundeseren, welche eine Prävalenz von 18,3 % aufwiesen. Außerdem gaben insgesamt 67,9 % der Katzenbesitzer an keinen Zeckenschutz zu verwenden. Bei den Hundebesitzern waren dies nur 35,6 %. Somit wäre eigentlich zu erwarten gewesen, dass Katzen eine höhere Prävalenz als Hunde aufweisen, da diese dann aufgrund des fehlenden Zeckenschutzes möglicherweise mehr mit Zecken befallen werden. Es gaben 74,7 % der Katzenbesitzer an, dass ihre Katze von Zecken befallen wurde, bei den Hundebesitzern gaben 82,2 % Zeckenbefall an. In einer Studie aus Großbritannien wurde bei 32,4 % (601 aus 1.855) der Katzen Zeckenbefall beschrieben (DAVIES et al. 2017). Allerdings sollte man berücksichtigen, dass Katzen mehr Zeit alleine draußen und nicht so viel Zeit mit dem Besitzer verbringen als Hunde und somit Zecken bei Katzen möglicherweise häufiger unentdeckt bleiben. Es wäre also eigentlich zu erwarten gewesen, dass Katzen eine höhere Gesamtseroprävalenz als Hunde aufweisen.

Klinik

Obwohl insgesamt 38 Hundeseren im IIFT positiv auf FSMEV-Antikörper getestet wurden, zeigte kein einziger Hund klinische Symptome einer FSME. Keiner der positiven Hunde wurde wegen akuter Krankheit oder neurologischen Symptomen in der Vergangenheit vorgestellt. Es ist somit davon auszugehen, dass Hunde zwar Antikörper gegen FSMEV bilden, eine Erkrankung allerdings ausbleibt. Auch LESCHNIK et al. (2013) beschreiben, dass klinische Erkrankungen bei Hunden, die durch Zecken übertragenen Krankheitserregern ausgesetzt sind selten sind, obwohl eine humorale Immunantwort eine Infektion widerspiegelt. Auch TIPOLD et al. (1993) bestätigen, dass Hunde im Allgemeinen verhältnismäßig resistent gegenüber dieser Flavivirusinfektion sind, allerdings zeigen die beschriebenen Fälle, dass keine natürliche Resistenz gegenüber FSMEV beim Hund vorliegt.

Zeckenschutz

Chemischen Zeckenschutz (wie zum Beispiel Bravecto[®], Simparica[®], o. Ä.) verwenden 52,4 % der Hundebesitzer, weitere 12 % gaben an natürlichen Zeckenschutz zu verwenden. Trotzdem gaben insgesamt 82,2 % der Hundebesitzer an, dass ihre Hunde von Zecken befallen wurden. Bei den FSMEV-Antikörper positiven Hunden gaben sogar 60,5 % an, chemischen Zeckenschutz zu verwenden. Es stellt sich die Frage, ob diverse Zeckenschutzmittel effektiv genug sind, um Hunde vor Zeckenerkrankungen zu schützen. FSMEV werden mit dem Speichel der Zecken freigesetzt und gelangen somit beim Saugakt zu Beginn der Blutmahlzeit in den Hund (DOBLER et al. 2012). Die Latenzphase zwischen Zeckenstich und Infektion ist somit sehr kurz (KAISER 2016). Somit könnten Mittel, die Zecken beim Saugakt abtöten, keinen ausreichenden Schutz gegen FSMEV darstellen. Ebenso kann eine falsche Anwendung der Akarizide durch den Besitzer oder Managementprobleme (wie Erbrechen unmittelbar nach Einnahme oder Schwimmen lassen des Hundes bei topischen Akariziden) einen mangelhaften Zeckenschutz zur Folge haben. LESCHNIK et al. (2013) kritisierten in einer Studie die unregelmäßige Akarizidanwendung durch den Tierbesitzer.

Risikogebiete und die Nutzung Hundedaten

Das Einzugsgebiet der Tierarztpraxis, in der die Serumproben gesammelt wurden, liegt in der Oberpfalz nahe Regensburg. Bis auf SK Augsburg, LK Dillingen a. d. Donau, LK Fürstenfeldbruck, SK München, SK Schweinfurt sind alle Kreise in Bayern als FSME-Risikogebiete ausgewiesen (RKI 2020). Somit auch der Landkreis Regensburg, in dem sich die Tierarztpraxis befindet. Allerdings könnte man anhand der Hundedaten einzelne FSME-Hotspots benennen. So dass nicht ganze Kreise als Risikogebiete definiert werden, sondern einzelne Gemeinden oder Orte. Dies könnte zur Folge haben, dass zum Beispiel bestimmte Berufsgruppen (wie Waldarbeiter, Landwirte, etc.) oder auch Spaziergänger besser auf die Gefahr einer FSME-Infektion in einem speziell ausgewiesenen Gebiet hingewiesen werden könnten. Dazu wären genaue Angaben zur Gassistrecke nötig, um dann gegebenenfalls dort Zecken zu sammeln, um diese auf FSMEV zu untersuchen. Das gestaltete sich allerdings als schwierig, da die Hundebesitzer auch auf Nachfrage, nur wage Angaben machen konnten und teilweise viele verschiedene Gassistrecken haben. Andere

Hundebesitzer wollten anonym bleiben und konnten somit nachträglich nicht kontaktiert werden.

Dispositionen

Es wurden die Merkmale Felllänge, Fellstruktur, Fellfarbe, Alter und Geschlecht der Hunde untersucht.

Es besteht keine Disposition bezüglich der Felllänge ($p=0,13$): 34,2 % ($n=13$) der Hunde, die positiv getestet wurden hatten kurzes Fell und 36,8 % ($n=14$) mittellanges Fell. Langes Fell wiesen nur 11 (28,9 %) der Hunde auf. JANITZA-FUTTERER (2003) stellte fest, dass Hunde mit langem Fell häufiger seropositiv waren, als Hunde mit kurzem Fell.

Die Fellstruktur war bei 28 (73,7 %) Hunden glatt, bei sieben (18,4 %) Hunden lockig und bei drei Hunden (7,9 %) rauhaarig. Auch dieses Merkmal ist nicht signifikant ($p=0,61$).

Bei der Fellfarbe war die Verteilung der positiven Hunde in etwa gleich (dunkel 14, hell 14, hell und dunkel 10 Hunde) ($p=0,47$) und somit auch nicht signifikant. Das steht im Gegensatz zur Beobachtung bei JANITZA-FUTTERER (2003), die feststellte, dass Hunde mit hellem Fell doppelt so häufig seropositiv waren als Hunde mit dunklem Fell oder Hunde, die mit ihrer Farbabstufung dazwischen lagen. Wenn man die Physiologie der Zecke betrachtet, orientieren sie sich mit dem Haller'schen Organ über weite Distanzen am Geruch und Atem (Kohlendioxid) ihrer Wirte (GUERIN et al. 2000). So scheint es unwahrscheinlich, dass die Fellfarbe eine Rolle spielt. Zudem mangelt es Zecken des Genus Ixodes an Augen und anderen lichtempfindlichen Organen (NICHOLSON et al. 2019).

Eine Geschlechtsdisposition konnte nicht festgestellt werden ($p=0,45$). JANITZA-FUTTERER (2003) konnte ebenfalls keine Geschlechtsdisposition feststellen.

Auch KIRTZ et al. (2003) konnten keine Geschlechtsdisposition feststellen. Es wurden in dieser Studie zwar jeweils knapp doppelt so viele kastrierte Hunde positiv getestet, allerdings waren im gesamten Pool auch knapp doppelt so viele kastrierte Hunde wie unkastrierte vorhanden.

Eine Altersdisposition konnte nicht festgestellt werden ($p=0,28$). Insgesamt 73,7 % ($n=28$) der positiv getesteten Hunde waren sechs Jahre und älter. Es könnte sein, dass sich die Antikörper gegen FSMEV lange halten und somit je älter der Hund, desto größer die Wahrscheinlichkeit, dass er mit FSMEV infiziert ist, da er häufiger Kontakt zu Zecken hatte. Allerdings konnten in jeder Altersklasse Antikörper nachgewiesen werden. Beim Menschen konnten Antikörper noch fünf Jahre nach Grundimmunisierung gegen FSME festgestellt werden (PLENTZ et al. 2009). Auch BERAN et al. (2014) konnten feststellen, dass Antikörper nach einer Boosterimpfung noch lange (> 5 Jahre) vorhanden sind. Menschen, die eine natürliche Infektion durchlaufen haben, weisen einen höheren Antikörpertiter auf, als nach einer Impfung (BALDOVIN et al. 2012). Die Antikörper gegen FSMEV bleiben lange erhalten, betrachtet man die Lebensdauer eines Hundes und die Langlebigkeit der Antikörper beim Menschen, kann man davon ausgehen, dass Hunde – wenn einmal infiziert – ein Leben lang FSME-Antikörper aufweisen. In der Schweiz werden Impfungen nach Grundimmunisierung sogar nur alle 10 Jahre aufgefrischt (BAG 2006), was die Langlebigkeit der Antikörper nochmals verdeutlicht.

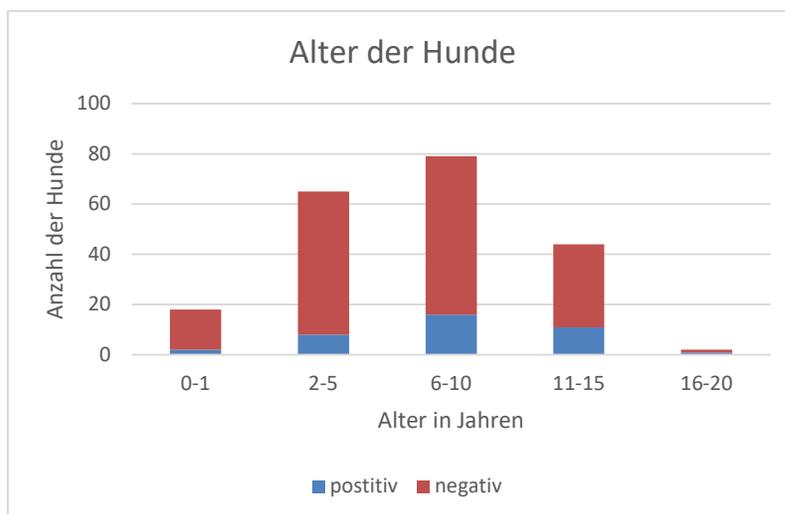


Abbildung 11: Alter der positiv und negativ getesteten Hunde

Es wurden häufiger die mittelgroßen und großen Hunde (Cocker Spaniel und größere Hunderassen) ($n=23$) positiv auf FSMEV-Antikörper getestet worden. Kleine Hunde (eine Französische Bulldogge, ein Zwergschnauzer, ein Westhighland White Terrier) wurden nur wenige positiv ($n=3$) getestet. Es wurden 12 Mischlinge positiv getestet, bei denen die Größe nicht bekannt ist. Zum gleichen Ergebnis kamen JANITZA-

FUTTERER (2003) und KIRTZ et. al. (2003). Auch REINER und FISCHER (1998) konnten dies schon 1998 beobachten. Diese Tatsache dürfte mit der Lebensweise der Zecken zusammenhängen. Größere Hunde streifen Zecken beim Durchstreifen durchs Gebüsch häufiger ab als kleinere Hunde. Man sollte aus diesem Grund eher von einer möglichen Größen- als von einer Rassendisposition sprechen (KIRTZ et al. 2003).

Sensitivität der verwendeten Tests

Wie oben beschrieben wurden die Hunde- und Katzenserum im IIFT auf Antikörper gegen FSMEV getestet. Die positiven Seren wurden anschließend im SNT verifiziert. Von den 38 positiv getesteten Seren konnten 37 bestätigt werden. Diese Vorgehensweise – ein Screeningtest und anschließende Verifizierung der positiven Ergebnisse – wurde bereits von anderen Autoren beschrieben: Einige, der in dieser Arbeit genannten Autoren, testeten ihre Hundeseren zuerst mittels ELISA und anschließend wurden die positiven Proben mittels SNT verifiziert (TAKASHIMA et al. 1997, JANITZA-FUTTERER 2003, KIRTZ et al. 2003, LINDHE et al. 2009, ROELANDT et al. 2011, BALLING et al. 2015). SIKUTOVÁ et al. (2009) testeten die Hundeseren zuerst mittels ELISA und anschließend im PRNT.

Wie in den Ergebnissen beschrieben, wurden gegen Ende dieser Arbeit auch die negativen Hundeseren aus dem IIFT ebenfalls noch im SNT nachgetestet. Es stellte sich heraus, dass dabei einige (n=8) der im IIFT negativ getesteten Seren positiv im SNT waren. Für den SNT wäre damit eine Seroprävalenz von 22,1 % (n=46) zu verzeichnen. Der SNT weist also scheinbar eine höhere Sensitivität auf, als der IIFT. Nähere Untersuchungen zu Sensitivität und Spezifität des IIFT in Bezug auf FSMEV beim Hund sind dazu nötig.

Laut Euroimmun® wird beim IIFT (für den Nachweis humaner Antikörper gegen FSMEV) eine Spezifität von 94 % und eine Sensitivität von 95 % angegeben. Bei der Nachtestung der Seren konnte allerdings beim IIFT nur eine Sensitivität von 75,5 % ermittelt werden. Die Spezifität des IIFT betrug 99,4 %. Anschließend wurden auch noch alle Seren im ELISA getestet. Beim ELISA konnte eine Sensitivität von 81,6 % und eine Spezifität von 100 % ermittelt werden. Das heißt für künftige Studien wäre es ratsam, wenn nicht der IIFT als Screening-Test verwendet wird, um positive Proben zu identifizieren, sondern der ELISA oder gleich der SNT.

6 Zusammenfassung

Verfasser: Sandra Agnes Riederer

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

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

Eingereicht im Januar 2021

51 Seiten, 11 Abbildungen, 3 Tabellen, 108 Literaturangaben

Schlüsselwörter: FSME; Hunde, Katzen, Endemiegebiet, Bayern, IIFT, SNT

Einleitung

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) zählt zu den bedeutendsten Krankheiten, die durch Zecken übertragen werden. Jährlich erkranken in Deutschland mehrere hundert Menschen. In Deutschland konzentrieren sich diese Fälle vorrangig auf Süddeutschland. In Bayern zählen alle Kreise bis auf SK Augsburg, LK Dillingen a. d. Donau, LK Fürstentfeldbruck, SK München, SK Schweinfurt als Risikogebiete. Dabei wird ein Landkreis dann als Risikogebiet gewertet, wenn in einem Fünf-Jahresintervall die Inzidenz von einem Fall pro 100.000 Einwohner pro Jahr überschritten wird.

Ziele der Untersuchungen

Eine Risikobewertung, die sich alleine auf humane gemeldete FSME-Erkrankungsfälle stützt, scheint nicht zielführend zu sein. Deswegen wurde schon früh nach einem optimalen Sentineltier für Seroprävalenzstudien gesucht. Im Rahmen dieser Dissertation wurden Hunde und Katzen im Landkreis Regensburg untersucht, um ihre Eignung als mögliches Sentineltier für eine FSME Infektion zu bewerten.

Tiere, Materialien und Methoden

Es wurden 208 Hundeseren und 221 Katzensereren auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSME-Virus (FSMEV) untersucht. Für die Untersuchung wurde zunächst ein indirekter Immunfluoreszenztest (IIFT) und zur Bestätigung der positiven Proben ein Serumneutralisationstest (SNT) durchgeführt. Zudem wurde für jedes Tier ein begleitender Fragebogen ausgefüllt, um eine mögliche Assoziation von Merkmalen, wie Felllänge, -farbe, -struktur, Zeckenbefall, Verwendung von Akariziden, Alter oder Geschlecht mittels χ^2 -Test zu ermitteln. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ festgesetzt.

Ergebnisse

Bei den Hunden wurde eine Gesamtprävalenz von 18,3 % ermittelt. Von 208 Hunden wurden 38 Hunde mittels IIFT positiv auf FSMEV-Antikörper getestet. Im SNT konnten davon 37 als positiv bestätigt werden. Weder Alter ($p=0,28$) noch Felllänge ($p=0,13$) wurden im χ^2 -Test als signifikant ermittelt. Bei den Katzen konnten in keiner Serumprobe im IIFT Antikörper nachgewiesen werden. Die Gesamtseroprävalenz bei den Katzen liegt daher bei 0 %.

Schlussfolgerungen

In dem Einzugsgebiet der Tierarztpraxis im Landkreis Regensburg konnten Antikörper gegen das FSMEV gefunden werden. Die Eignung von Hunden als Sentinels wurde bestätigt. Katzen müssen als refraktär angesehen werden und sind daher nicht als Sentineltiere für FSMEV geeignet. Hunde zeigen ein Infektionsrisiko für die Hundehalter an, so dass eine Impfeempfehlung für die Menschen im Landkreis ausgesprochen werden sollte, zumindest für die Menschen, die möglicherweise Zeckenstichen exponiert sind.

7 Summary

Author: Sandra Agnes Riederer

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

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

Submitted in January 2021

51 Pages, 11 figures, 3 tables, 108 references

Keywords: TBE, dogs, endemic area, Bavaria, IIFT

Introduction

Tick-borne encephalitis (TBE) is one of the most significant diseases transmitted by ticks. Every year there are hundreds of human infections in Germany. In Germany, human cases are concentrated mostly in the south of Germany. In Bavaria, all districts are regions at risk with the exception of the city borough of Augsburg, the county of Dillingen an der Donau, the county of Fürstentfeldbruck, the city borough of Munich and the city borough of Schweinfurt. A county is considered a region at risk, when in a five-year-interval the incidence of one case per 100.000 citizens is exceeded.

Aim of the study

A risk assessment which is solely based on registered human TBE-cases, seems not to be expedient. Therefore, seroprevalence studies in animals have previously been performed in order to see whether they may serve as sentinels for human risk exposure. Here, antibodies against TBE virus (TBEV) in dogs and cats were investigated to assess their potential to serve as sentinel animals to assess the risk for a TBEV infection in the county of Regensburg.

Animals, Material and Methods

208 dog and 221 cat serums were examined for the occurrence of antibodies against the TBEV. Initial screening was done using an indirect immunofluorescence test (IIFT) and positive sera were confirmed using a serum neutralization test (SNT). A questionnaire was completed for each animal to address possible associations with fur length, -colour, -structure, age, sex, tick burden or the use of acaricides using chi-square test, P-values < 0.05 were considered significant.

Results

The overall prevalence for dogs was ascertained to be 18.3 %. From 208 dogs 38 were tested positive for TBEV antibodies through IIFT. 37 could be confirmed as positive by SNT. No antibodies could be detected in any of the cats serum samples by IIFT. The overall seroprevalence of the cats is 0 %.

Conclusions

In the catchment area of this veterinary practice in the county of Regensburg, antibodies against the TBEV have been found. The aptitude of dogs as sentinel animals was confirmed. Cats are considered to be refractory to a TBEV infection and are not suitable as sentinel animals for the TBEV. A vaccination is especially reasonable for humans located in the county of Regensburg and potentially exposed to tick bites.

8 Referenzen

Literaturverzeichnis

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. Rodents as sentinels for the prevalence of tick-borne encephalitis virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(6):641-7.

Bagó Z, Bauder B, Kolodziejek J, Nowotny N, Weissenböck H. Tickborne encephalitis in a mouflon (*Ovis ammon musimon*). *Vet Rec.* 2002;150(7):218-20.

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(3):426-30.

Balling A, Beer M, Gniel D, Pfeffer M. Zum Vorkommen von Antikörpern gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus bei Hunden im Freistaat Sachsen. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2015;128(7-8):297-303.

Balling A, Plessow U, Beer M, Pfeffer M. Prevalence of antibodies against tick-borne encephalitis virus in wild game from Saxony, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;5(6):805-9.

Balogh Z, Egyed L, Ferenczi E, Bán E, Szomor KN, Takás 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(3):194-200.

Baldovin T, Mel R, Bertoncello C, Carpenè G, Soppelsa F, Giliberti A, Baldo V. Persistence of immunity to tick-borne encephalitis after vaccination and natural infection. *J Med Virol* 2012; 84(8):1274-8.

Beauté J, Spiteri G, Warns-Petit E, Zeller H. Tick-borne encephalitis in Europe, 2012 to 2016. *Euro Surveill.* 2018;23(45).

Beltrame A, Ruscio M, Cruciatti B, Londero A, Di Piazza V, Copetti R, Moretti V, Rossi P, Gigli GL, Scudeller L, Viale P. Tickborne encephalitis virus, northeastern Italy. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(10):1617-9.

- Beran J, Xie F, Zent O. Five year follow-up after a first booster vaccination against tick-borne encephalitis following different primary vaccination schedules demonstrates long-term antibody persistence and safety. *Vaccine* 2014; 32(34):4275-80.
- Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases*. 2015;3(5):430-41.
- Borde JP, Kaier K, Hehn P, Böhmer MM, Kreusch TM, Dobler G. Tick-borne encephalitis virus infections in Germany. Seasonality and in-year patterns. A retrospective analysis from 2001-2018. *PLoS One*. 2019;14(10):e0224044.
- Brockmann S, Dobler G, Buckenmaier T, Beer M, Jeffery-Smith A, Spannenkres M, Haag-Milz S, Wagner-Wiening C, Schlegl C, Bestehorn M, Lindau A, Mackenstedt U, Oehme R. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) nach dem Konsum von Rohmilchprodukten in Deutschland: Konsequenzen für den Verbraucherschutz? *Gesundheitswesen*. 2017;79(04):299-374.
- Bundesamt für Gesundheit (BAG). Zeckenzephalitis: Empfehlungen zur Impfung gegen Zeckenzephalitis. *Bull BAG* 2006; Nr.13:225-31.
- 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(Pt12):2877-83.
- Chitimia-Dobler L, Schaper S, Rieß R, Bitterwolf K, Frangoulidis D, Bestehorn M, Springer A, Oehme R, Drehmann M, Lindau A, Mackenstedt U, Strube C, Dobler G. Imported Hyalomma ticks in Germany in 2018. *Parasit Vectors*. 2019;12(1):134.
- Chrdle A, Chmelík V, Růžek D. Tick-borne encephalitis: What travelers should know when visiting an endemic country. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(10):2694-9.
- Dai X, Shang G, Lu S, Yang J, Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg Microbes Infect*. 2018;7(1):74.
- Davies S, Abdullah S, Helps C, Tasker S, Newbury H, Wall R. Prevalence of ticks and tick-borne pathogens: Babesia and Borrelia species in ticks infesting cats of Great Britain. *Vet Parasitol*. 2017;244:129-35.

- Dobler G, Gniel D, Petermann R, Pfeffer M. Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr.* 2012;162(11-12):230-8.
- Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-Borne Encephalitis. *Clin Infect Dis.* 1999;28(4):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(Pt1):179-85.
- Fomsgaard A, Christiansen C, Bodker R. First identification of tick-borne encephalitis in Denmark outside of Bornholm, August 2009. *Euro Surveill.* 2009;14(36):19325.
- Gern L. Die Biologie der *Ixodes ricinus* Zecke. *Ther Umsch.* 2005;62(11):707-12.
- Gerth HJ, Grimshandl D, Stage B, Döller G, Kunz C. Roe deer as sentinels for endemicity of tick-borne encephalitis virus. *Epidemiol Infect.* 1995;115(2):355-65.
- Guerin PM, Kröber T, McMahon C, Guerenstein P, Grenacher S, Vlimant M, Diehl P-A, Steullet P, Syed Z. Chemosensory and Behavioural Adaptations of Ectoparasitic Arthropods. *Nova Acta Leopold.* 2000;83:213-29.
- Hasle G. Transport of ixodid ticks and tick-borne pathogens by migratory birds. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:48.
- 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(7):1114-6.
- Holbrook MR. Historical Perspectives on Flavivirus Research. *Viruses.* 2017;9(5):97.
- Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine.* 2003;21 Suppl 1:S36-40.
- Jääskeläinen AE, Tikkakoski T, Uzcátegui NY, Alekseev AN, Vaheri A, Vapalahti O. Siberian subtype tickborne encephalitis virus, Finland. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(10):1568-71.
- Jaenson TG, Hjertqvist M, Bergström T, Lundkvist A. 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.

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

Jongejan F, Uilenberg G. The global importance of ticks. *Parasitology*. 2004;129 Suppl:S3-14.

Kaiser R. Frühsommermeningoenzephalitis. *Nervenarzt*. 2016;87(6):667-80.

Kaiser R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994-98: a prospective study of 656 patients. *Brain*. 1999;122(Pt 11):2067-78.

Kerlik J, Avdičová M, Štefkovičová M, Tarkovská V, Pántiková Valachová M, Molčányi T, Mezencev R. Slovakia reports highest occurrence of alimentary tick-borne encephalitis in Europe: Analysis of tick-borne encephalitis outbreaks in Slovakia during 2007-2016. *Travel Med Infect Dis*. 2018;26:37-42.

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

Kim SY, Yun SM, 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(1):7-13.

Kirtz G, Kölbl S, Czettel B, Thalhammer JG. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME, Zentraleuropäische Zeckenzephalitis) beim Hund in Österreich: eine Seroprävalenz-Studie. *Kleintierpraxis*. 2003;48:133-40.

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(1):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. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2011;124(11-12):443-9.

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 and Tick-borne Diseases*. 2010a;1(3):141-4.

Klaus C, Hoffman 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. *Berl Munch Tierärztl Wochenschr*. 2010b;123(11-12):441-5.

Klaus C, Hoffmann D, Hoffmann B, Beer M. Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus-Infektionen bei Tieren – Klinik, Diagnostik und epidemiologische Bedeutung. *Berl Munch Tierärztl Wochenschr*. 2016;130:102-12.

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(3-4):368-72.

Klaus C, Ziegler U, Hoffmann D, Press F, Fast C, Beer M. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animal sera - occurrence in goat flocks in Germany, longevity and ability to recall immunological information after more than six years. *BMC Vet Res*. 2019;15(1):399.

Klimes J, Juricová Z, Literák I, Schánilec P, 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(1):17-20.

Kovalev S, Mukhacheva TA. Reconsidering the classification of tick-borne encephalitis virus within the Siberian subtype gives new insights into its evolutionary history. *Infect Genet Evol*. 2017;55:159-65.

Kreusch T, Vygen-Bonnet S, Koch J, Wichmann O. Frühsommer-Meningoenzephalitis: Risikogebiete weiten sich aus. *Deutsches Ärzteblatt* 2019; Jg. 116 Heft 39, A 1722-34.

Kunze U; ISW-TBE. Report of the 19th Annual Meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE) - TBE in a changing world. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018;9(2):146-50.

Kupča AM, Essbauer S, Zoeller G, de Mendonça PG, 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(1):44-51.

Kupča AM. *Ixodes ricinus* (Ixodidae): Saisonale Aktivität und natürliche Infektionen mit dem FSME-Virus an ausgewählten Standorten in Bayern [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2009.

Labuda M, Kozuch O, Zuffová E, Elecková E, Hails RS, Nuttall PA. Tick-borne encephalitis virus transmission between ticks co-feeding on specific immune natural rodent hosts. *Virology.* 1997;235(1):138-43.

Labuda M, Nuttall PA, Kozuch O, Elecková E, Williams T, Zuffová E, Sabó A. Non-viraemic transmission of tick-borne encephalitis virus: a mechanism for arbovirus survival in nature. *Experientia.* 1993;49(9):802-5.

Lejal E, Moutailler S, Šimo L, Vayssier-Taussat M, Pollet T. Tick-borne pathogen detection in midgut and salivary glands of adult *Ixodes ricinus*. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):152.

Lenhard T, Ott D, Jakob NJ, Pham M, Bäumer P, Martinez-Torres F, Meyding-Lamadé U. Predictors, Neuroimaging Characteristics and Long-Term Outcome of Severe European Tick-Borne Encephalitis: A Prospective Cohort Study. *PLoS One.* 2016;11(4):e0154143.

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, Kirtz GC, Thalhammer JG. Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. *Int J Med Microbiol.* 2002;291 Suppl 33:S66-9.

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(1):56.

Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet.* 2008;371(9627):1861-71.

Loew-Baselli A, Poellabauer EM, Pavlova BG, Fritsch S, Firth C, Petermann R, Barrett PN, Ehrlich HJ. Prevention of tick-borne encephalitis by FSME-IMMUN vaccines: review of a clinical development programme. *Vaccine*. 2011;29(43):7307-19.

Luckschander N, Kolbl S, Enzesberger O, Zipko HAT, Thalhammer JG. Tick borne encephalitis (TBE) in an Austrian horse population. *Tieraeztl Prax Ausg Gros Nutz*. 1999;27(4):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(Pt 8):1781-94.

McAuley AJ, Sawatsky B, Ksiazek T, Torres M, Korva M, Lotrič-Furlan S, Avšič-Županc T, von Messling V, Holbrook MR, Freiberg AN, Beasley DWC, Bente DA. Cross-neutralisation of viruses of the tick-borne encephalitis complex following tick-borne encephalitis vaccination and/or infection. *NPJ Vaccines*. 2017;2:5.

Mickienė A, Pakalnienė J, Nordgren J, Carlsson B, Hagbom M, Svensson L, Lindquist L. Polymorphisms in chemokine receptor 5 and Toll-like receptor 3 genes are risk factors for clinical tick-borne encephalitis in the Lithuanian population. *PLoS One*. 2014;9(9):e106798.

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(1):113-7.

Müller K, König M, Thiel HJ. Die tick-borne Enzephalitis (TBE) unter besonderer Berücksichtigung der Infektion beim Pferd. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2006;113(4):147-5.

Nicholson WL, Sonenshine DE, Noden BH, Brown RN. Ticks (Ixodida). In: Mullen GR, Durden LA, Hrsg. *Medical and Veterinary Entomology*. 3. Aufl. London, San Diego, Cambridge, Oxford: Elsevier; 2019. p. 603-72.

Oehme R. Diagnostische Methoden. In: Rubel F, Schiffner-Rohe J, Hrsg. *FSME in Deutschland, Stand der Wissenschaft*. 1. Aufl. Baden-Baden: Deutscher Wissenschafts-Verlag (DWV); 2019. p. 107-13.

Offerdahl DK, Clancy NG, Bloom ME. Stability of a Tick-Borne Flavivirus in Milk. *Front Bioeng Biotechnol.* 2016;4:40.

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(11):1556-64.

Paulsen KM, Stuen S, das Neves CG, Suhel F, Gurung D, Soleng A, Stiasny K, Vikse R, Andreassen ÅK, Granquist EG. Tick-borne encephalitis virus in cows and unpasteurized cow milk from Norway. *Zoonoses Public Health.* 2019;66(2):216-22.

Petney TN, Pfäffle MP, Skuballa JD. An annotated checklist of the ticks (Acari: Ixodida) of Germany. *Systematic & Applied Acarology.* 17(2):115-70.

Pfeffer M, Dobler G. Tick-borne encephalitis virus in dogs - - is this an issue? *Parasit Vectors.* 2011;4:59.

Plentz A, Jilg W, Schwarz TF, Kuhr HB, Zent O. Long-term persistence of tick-borne encephalitis antibodies in adults 5 years after booster vaccination with Encepur Adults. *Vaccine* 2008; 27(6):853-6.

Pulkkinen L, Butcher SJ, Anastasina M. Tick-Borne Encephalitis Virus: A Structural View. *Viruses.* 2018;10(7):350.

Reiner B, Fischer A. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte. *Kleintierpraxis.* 1998;43(4):255-68.

Rizzoli A, Silaghi C, Obiegala A, Rudolf I, Hubálek Z, Földvári G, Plantard O, Vayssier-Taussat M, Bonnet S, Spitalská E, Kazimírová M. *Ixodes ricinus* and Its Transmitted Pathogens in Urban and Peri-Urban Areas in Europe: New Hazards and Relevance for Public Health. *Front Public Health.* 2014;2:251.

Robert Koch Institut (RKI). *Epidemiologisches Bulletin* 2020, FSME: Risikogebiete in Deutschland. Berlin: RKI; 2020.

Robert Koch Institut (RKI). *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2001.* Berlin: RKI; 2002.

Robert Koch Institut (RKI). Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018. Berlin: RKI; 2019.

Robert Koch Institut (RKI). SurvStat@RKI 2.0. Berlin: RKI. [Accessed: 1 Jan 2020]. <https://survstat.rki.de/>

Roelandt S, Heyman P, De Filette M, Vene S, Van der Stede Y, Caij AB, Tavernier P, Dobby A, De Bosschere H, Vyt P, Meersschaert C, Roels S. Tick-borne encephalitis virus seropositive dog detected in Belgium: screening of the canine population as sentinels for public health. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(10):1371-6.

Roelandt S, Suin V, Van Gucht S, Van der Stede Y, Roels S. Comparative Tick-Borne Encephalitis (Virus) Surveillance in Belgium 2009-2015: Experiences with Diagnostic Tests, Sentinel Species and Surveillance Designs. *Journal of Zoonotic Diseases and Public Health.* 2017;1(1)4.

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;7:477.

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(4):635-7.

Růžek D, Bilski B, Gunther 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. p. 211-37.

Růžek D, Dobler G, Donoso Mantke O. Tick-borne encephalitis: Pathogenesis and clinical implications. *Travel Med Infect Dis.* 2010;8(4):223-32.

Saksida A, Duh D, Lotric-Furlan S, Strle F, Petrovec M, Avsic-Zupanc T. The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol.* 2005;33(4):331-5.

Schönbächler K, Hatt J, Silaghi C, Merz N, Fraefel C, Bachofen C. Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus Nachweis beim Europäischen Igel (*Erinaceus europaeus*). *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2019;161(1):23-31.

Schreiber A. Zahl der Heimtiere bleibt auch 2018 stabil. Online unter URL: <https://www.zzf.de/presse/meldungen/meldungen/article/zahl-der-heimtiere-bleibt-auch-2018-stabil-1.html#presse-downloads> (Stand: 04.05.2020)

Sikutová S, Hornok S, Hubálek Z, Doležálková I, Juricová Z, Rudolf I. Serological survey of domestic animals for tick-borne encephalitis and Bhanja viruses in northeastern Hungary. *Vet Microbiol.* 2009;135(3-4):267-71.

Stadtbäumer K, Leschnik MW, Nell B. Tick-borne encephalitis virus as a possible cause of optic neuritis in a dog. *Vet Ophthalmol.* 2004;7(4):271-7.

Stanek G. Büchse der Pandora: Krankheitserreger in *Ixodes ricinus*-Zecken in Mitteleuropa. *Wien Klin Wochenschr.* 2009;121(21-22):673-83.

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 Public Health.* 2013;60(3):215-26.

Suin V, Brochier B, Van Gucht S, Roelandt S. TBE in Belgium. In: Dobler G, Erber W, Schmitt HJ: *Tick-Borne Encephalitis (TBE)*. Global Health Press, Singapore 2018; p. 134-5.

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. Tick-borne encephalitis in Europe and beyond--the epidemiological situation as of 2007. *Euro Surveill.* 2008;13(26):18916.

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 virus. *J Clin Microbiol.* 1997;35(8):1943-7.

Tipold A, Fatzer R, Holzmann H. Zentraleuropäische Zeckenzephalitis beim Hund. *Kleintierpraxis.* 1993;38:619-28.

Tonteri E, Jääskeläinen AE, Tikkakoski T, Voutilainen L, Niemimaa J, Henttonen H, Vaheri A, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis virus in wild rodents in winter, Finland, 2008-2009. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(1):72-5.

van der Poel WH, Van der Heide R, Bakker D, De Loeff M, De Jong J, Van Manen N, Gaasenbeek CP, Borgsteede FH. Attempt to detect evidence for tick-borne encephalitis virus in ticks and mammalian wildlife in The Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2005;5(1):58-64.

Weissenböck H, Suchy A, Holzmann H. Tick-borne encephalitis in dogs: neuropathological findings and distribution of antigen. *Acta Neuropathol.* 1998;95(4):361-6.

World Health Organisation (WHO). Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec.* 2011;86(24):241-56.

Wurm R, Dobler G, Peters M, Kiessig ST. Serological investigations of red foxes (*Vulpes vulpes L.*) for determination of the spread of tick-borne encephalitis in Northrhine-Westphalia. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2000;47(7):503-9.

Yoshii K, Song JY, Park SB, Yang J, Schmitt HJ. Tick-borne encephalitis in Japan, Republic of Korea and China. *Emerg Microbes Infect.* 2017;6(9):e82.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Flavivirus.....	4
<small>(Quelle: http://www.infektionsbiologie.ch/parasitologie/seiten/modellparasiten/mp06ixod.html, 21.02.2020)</small>	
Abbildung 2: Verbreitung der FSME weltweit.....	5
<small>(Quelle: Dobler G, Erber W, Bröker M, Schmitt HJ. The TBE Book. 3rd Edition. Global Health Press, Singapore 2020 p.143)</small>	
Abbildung 3: Inzidenzen der Landkreise im Jahr 2001.....	6
<small>(Quelle: SurvStat@RKI 2.0, Datenstand 21.02.2020)</small>	
Abbildung 4: Inzidenzen der Landkreise im Jahr 2020.....	6
<small>(Quelle: SurvStat@RKI 2.0, Datenstand: 21.02.2020)</small>	
Abbildung 5: Entwicklungsstadien von <i>Ixodes ricinus</i>	7
<small>(Quelle: http://www.infektionsbiologie.ch/parasitologie/seiten/modellparasiten/mp06ixod.html, 21.02.2020)</small>	
Abbildung 6: Entwicklungszyklus von <i>Ixodes ricinus</i>	8
<small>(Quelle: cortesy EUALB Website, Modifikation nach Kupča [21])</small>	
Abbildung 7: Die Übertragungswege des FSMEV.....	10
<small>(Quelle: Pfeffer und Dobler 2011)</small>	
Abbildung 8: Pathogenese der FSME.....	25
Abbildung 9: Altersverteilung der Katzen.....	34
Abbildung 10: Altersverteilung der Hunde.....	37
Abbildung 11: Alter der positiv und negativ getesteten Hunde.....	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Registrierte humane FSME-Fälle in Bayern seit 2001.....	29
<small>(Quelle: Robert-Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, 21.02.2020)</small>	
Tabelle 2: Kombination der Felleigenschaften der Hunde.....	37
Tabelle 3: Postleitzahlen der positiv getesteten Hunde.....	40

9 Anhang

Fragebogen

Probennummer

Fragebogen zur Erfassung der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)

Tierhalter _____

Telefon _____

Email _____

Vorstellungsgrund _____

Tiername _____

1. Tierart Katze Hund, Rasse _____

2. Geschlecht männlich weiblich kastriert? nein ja

3. Alter (Jahre) 0-1 2-5 6-10 11-15
 16-20 > 20

4. Fellbeschaffenheit a. kurz mittellang lang
b. rauhaarig glatt lockig
c. hell dunkel hell und dunkel

5. Werden bei Ihrem Tier regelmäßig Impfungen durchgeführt? nein ja

6. Wird Ihr Tier regelmäßig entwurmt? nein ja

7. Hat Ihr Tier bekannte Erkrankungen? nein ja, und zwar
 Borreliose Anaplasmose Ehrlichiose Babesiose
 andere chronische Erkrankungen, und zwar _____

8. Wurde/wird Zeckenschutz verwendet? nein ja, und zwar
 Bravecto Exspot Advantix Scalibor Frontline Simparica
 natürliche Mittel, und zwar _____
 andere _____

Bitte wenden! →

9. Zeckenbefall

a. Haben Sie Zecken an Ihrem Tier beobachten können? nein ja

b. Wenn ja, wie oft während der Zeckensaison?

jeden Tag jede Woche jeden Monat seltener als jeden Monat

c. Wieviele Zecken hatte Ihr Tier im Durchschnitt in der von Ihnen angekreuzten Zeitspanne?

1-5 Zecken 6-10 Zecken 11-20 Zecken > 20 Zecken

10. Geht Ihr Tier mit Ihnen auf Reisen? nein

ja, in Deutschland (außerhalb Bayerns)

ja, in Europa (in den letzten 5 Jahren) und zwar in _____

11. Bitte geben Sie die Postleitzahlen und/oder Orte der bevorzugten Gassistrecken (bei Katzen Wohngebiet) an!

12. Benachrichtigung

ja, ich möchte unter o.g. Daten über das Ergebnis informiert werden.

nein, ich möchte nicht über das Ergebnis informiert werden.

Datum _____

Vielen Dank für Ihre Mithilfe!

Ihre Daten werden ausschließlich für wissenschaftliche Zwecke verwendet!

FSME-Falldefinition nach RKI, Ausgabe 2019

Klinisches Bild

Klinisches Bild einer akuten FSME, definiert als mindestens eines der beiden folgenden Kriterien:

- Allgemeine Krankheitszeichen (grippeähnliche Symptomatik)
- Meningitis, Enzephalitis oder Myelitis
- oder: krankheitsbedingter Tod

Zusatzinformation

- Typisch ist ein Verlauf in zwei Phasen, mit einer initialen grippeähnlichen Symptomatik und einer nach einem symptomfreien Intervall von 4-10 Tagen einsetzenden ZNS-Symptomatik (Meningitis, Enzephalitis oder Myelitis. Jedoch kann jede dieser Phasen auch für sich allein auftreten).
- Bei impfpräventablen Krankheiten sollten stets Angaben zur Impfanamnese (Anzahl der vorangegangenen Impfungen, Art und Datum der letzten Impfung) erhoben (z.B. Impfbuchkontrolle) und übermittelt werden.

Labordiagnostischer Nachweis

Positiver Befund mit mindestens einer der vier folgenden Methoden:

- direkter Erregernachweis
- Nukleinsäurenachweis (z.B. PCR) nur aus Blut oder Liquor, post mortem aus Organgewebe
- indirekter (serologischer) Nachweis
- IgM- und IgG-Antikörperrnachweis (einzelner deutlich erhöhter Wert; z.B. ELISA, NT)
- IgG-Antikörperrnachweis (deutliche Änderung zwischen zwei Proben; z.B. ELISA, NT)
- Nachweis intrathekal gebildeter Antikörper (erhöhter Liquor/Serum-Index)

Zusatzinformation

- Die Bewertung von Antikörperrnachweisen setzt die Kenntnis eines eventuellen zeitlichen Zusammenhangs mit einer FSME-Impfung voraus.

Epidemiologische Bestätigung

- Entfällt
- Inkubationszeit ca. 4 - 28 Tage, gewöhnlich 7 - 14 Tage

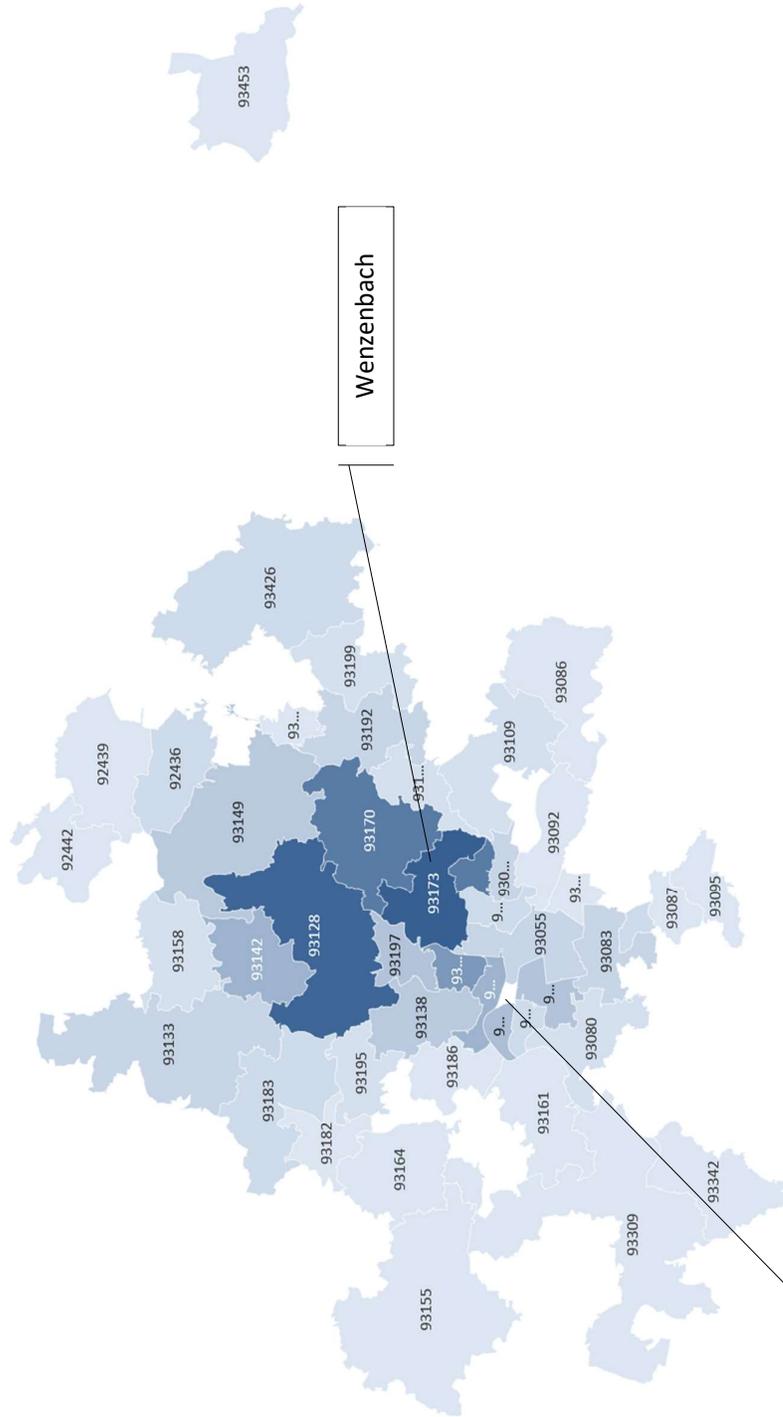
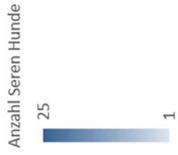
Über die zuständige Landesbehörde an das RKI zu übermittelnder Fall

- a) Klinisch diagnostizierte Erkrankung: Entfällt
- b) Klinisch-epidemiologisch bestätigte Erkrankung: Entfällt
- c) Klinisch-labordiagnostisch bestätigte Erkrankung: Klinisches Bild einer akuten FSME und labordiagnostischer Nachweis
- d) Labordiagnostisch nachgewiesene Infektion bei nicht erfülltem klinischen Bild: Labordiagnostischer Nachweis bei bekanntem klinischen Bild, das die Kriterien für eine akute FSME nicht erfüllt. Hierunter fallen auch asymptomatische Infektionen
- e) Labordiagnostisch nachgewiesene Infektion bei unbekanntem klinischen Bild: Labordiagnostischer Nachweis bei fehlenden Angaben zum klinischen Bild (nicht ermittelbar oder nicht erhoben)

Referenzdefinition

In Veröffentlichungen des Robert Koch-Instituts, die nicht nach Falldefinitionskategorien differenzieren (z.B. wöchentliche „Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten“ im Epidemiologischen Bulletin), werden nur Erkrankungen der Kategorie C gezählt.

Übersicht Seren Hunde



10 Danksagung

Susanne Modrow – ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre

Martin Pfeffer – für die uneingeschränkt tolle Betreuung während dieser Arbeit

Gerhard Dobler – für den tollen und äußerst lehrreichen Tag am Institut in München und für die Hilfe bei der Durchführung der Immunfluoreszenzteste

Philipp Girl – für die Hilfe bei der Durchführung der ELISA-Untersuchungen

Kathrin, Nicole, Lisa, Kirsten, Babsi – für die großartige Assistenz bei den Blutabnahmen und der Aufbereitung der Proben und Alicia und Monica zusätzlich für die Hilfe in Englisch

Christian – für den tollsten Chef der Welt

meinem Göttergatten und meiner Schwester – für die seelische und moralische Unterstützung

Günter und Jan – für`s Korrekturlesen

den Omas – für die tollste Kinderbetreuung, die sich Enkel wünschen können

meiner Mama – nochmal besonders für die tatkräftige Unterstützung in allen Sachen

allen Tierbesitzern – für die Mitarbeit an dieser Studie