

Zusammenfassung

Johanna Maria Fürst

Untersuchung zur Prävalenz von Sindbisviren in Stechmücken aus Zentralschweden

Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im November 2019

44 Seiten, 6 Tabellen, 4 Abbildungen, 101 Literaturstellen

Schlüsselwörter: Sindbis, Ockelbo, Alphavirus, Arbovirus, *Aedes*, *Culex*, *Culiseta*

Einleitung: Sindbisviren sind durch Stechmücken übertragene Pathogene des Menschen, die in der Alten Welt vorkommen. In Europa sind sie v.a. in den skandinavischen Ländern endemisch, wobei humane Fälle in einem Sieben-Jahres-Zyklus verstärkt im Spätsommer auftreten. Die Gründe für dieses Sieben-Jahresintervall sind unbekannt.

Zielstellung: Ziel dieser Untersuchung war es, die Prävalenz in bestimmten Mückenarten im Jahr vor, während und nach einem erwarteten Ausbruchsjahres zu beschreiben.

Material & Methoden: Es wurden 80.524 Stechmücken untersucht, welche in den Jahren vor, während und nach einem vermuteten Ockelbo-Ausbruch im Jahr 2009 gefangen wurden. Zunächst wurden die Proben in 2.543 Pools sortiert, homogenisiert und anschließend die RNA extrahiert. Eine real-time RT-PCR, die ein 134bp-Fragment vom Nicht-Strukturprotein 1 des Sindbisvirus (SINV) amplifiziert,

diente zum Nachweis viraler RNA. Mit PCR-positiven Proben wurden Zellkulturen (Vero B4 Zellen) infiziert, um Virus zu isolieren. Zum Vergleich der gefundenen Prävalenzen in den unterschiedlichen Stechmückenarten und Fangorten wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson und der Exakte Test nach Fisher jeweils mit einem Typ I-Fehler von 0,05 verwendet.

Ergebnisse: Von den insgesamt 2.543 Pool-Proben waren 60 in der real-time RT-PCR positiv. Im Vergleich der einzelnen Jahre untereinander waren 2010 signifikant weniger Proben positiv als 2008 oder 2009. Im Stechmückenspezies-Vergleich wurde SINV signifikant häufiger in *Aedes spp.* als in *Culiseta/Culex spp.* gefunden. In 18 der 60 inokulierten Zellkulturen konnten wir SINV isolieren und per real-time RT-PCR das Viruswachstum nachweisen. Im Vergleich der Fangstellen zeigten einige Orte ein höheres Vorkommen von SINV, allerdings waren diese nicht signifikant. Bei den verschiedenen Stechmückenarten war die höchste SINV-Prävalenz in *Ae. rossicus* zu finden, welche als Brückenvektoren eine wichtige Rolle bei Humaninfektionen einnimmt. Im saisonalen Verlauf sind positive Stechmücken bereits im späten Juni nachweisbar, während die meisten positiven Stechmücken im August und September gefunden werden, dann, wenn auch die menschlichen Erkrankungsfälle auftreten.

Schlussfolgerungen: Die SINV Prävalenz hatte in dem antizipierten Ausbruchsjahr 2009 ihren Maximalwert, aber auch im Vorjahr war eine deutliche Virusprävalenz vorhanden. Im darauffolgenden Jahr, fiel diese jedoch stark ab. Dies unterstützt die Hypothese, dass alle sieben Jahre humane Erkrankungen gehäuft auftreten. Surveillance eignet sich um bereits im Sommer erhöhte Virusaktivität zu erkennen und entsprechende Präventionsmaßnahmen einzuleiten.

Summary

Johanna Maria Fürst

Studies on the prevalence of Sindbis virus in mosquitoes from Central Sweden

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

Submitted in November 2019

44 pages, 6 tables, 4 figures, 101 references

Keywords: Sindbis, Ockelbo, Alphavirus, Arbovirus, *Aedes*, *Culex*, *Culiseta*

Introduction: Sindbis viruses are mosquito-transmitted human pathogens, existing in the old world. In Europe it is mainly endemic in Scandinavia, while human cases apparently appear in a seven-year-cycle, especially in the later summer. The reasons of this seven-year-cycle are unknown.

Objective: The aim of this investigation was, to describe the prevalence of SINV in specific mosquitoes in the year before, during and after a supposed outbreak-year.

Material & Methods: We investigated 80.524 mosquitoes, that were collected in the year before, during and after the supposed Ockelbo-outbreak in 2009. Initially, the samples have been sorted in 2.543 pools, then homogenized, and subsequently the RNA was extracted. A real-time RT-PCR targeting a 134bp-fragment of the non-structural protein 1 of Sindbis virus (SINV) was performed to detect viral RNA. We infected cell cultures (Vero B4 cells) with PCR-positive samples to isolate virus. To compare the detected prevalence in the different mosquito-species and trap sites, Pearson's chi-square-test and Fisher's exact test were used with a type I error α of

0.05 in each case.

Results: Out of 2.543 pool-samples, 60 have been SINV-positive in the real-time RT-PCR. Comparing the years, there were significant fewer positive samples in 2010 than in 2008 or 2009. In mosquito-species comparison, SINV has been found significant more in *Aedes spp.* than in *Culiseta/Culex spp.*. In 18 of the 60 inoculated cell cultures, we were able to isolate SINV and detect virus growth via real-time RT-PCR. In comparison of the trap-sites, some places had a higher SINV-rate, but this was not significant. Between the different mosquito-species, *Ae. rossicus* as important bridge-vector in human infection, had the highest SINV-prevalence. In seasonal regime, SINV-positive mosquitoes have been found in the late June already, while the most positive ones were detected in August and September. This is also the time period most human cases appear.

Conclusions: The SINV-prevalence had its maximum value in the anticipated outbreak year 2009, but also in the previous year, there was an obvious detectable prevalence. However, it clearly decreased in the following year. So, we can support the hypothesis of the seven-year-circle of cumulative human cases. Surveillance is practical to detect higher virus activities already in summertime and therefore, to start with prevention measures.