

**Serologische Untersuchungen zur endemischen Situation  
der Infektion mit dem FSME-Virus  
in einer südbadischen Pferde- und Hundepopulation**

**Dorothee Janitza-Futterer  
München 2003**

Aus der Medizinischen Tierklinik, Lehrstuhl für innere Krankheiten, Dermatologie und  
Neurologie der kleinen Haustiere sowie für klinische Labordiagnostik  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. W. Kraft

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. A. Grabner, Klinik für Pferde,  
Freie Universität Berlin

**Serologische Untersuchungen zur endemischen Situation der Infektion mit dem  
FSME-Virus in einer südbadischen Pferde- und Hundepopulation**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
**Dorothee Janitza-Futterer**  
aus Sinsheim  
München 2003

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. Rudolf Stolla

Referent: Prof. Dr. Arthur Grabner

Korreferent: Prof. Dr. Munz

(evtl. 2. Korreferent: )

Tag der Promotion: 07. Februar 2003

Meiner Mutter

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung und Fragestellung</b>	1
<b>2. Literaturübersicht</b>	2
<b>2.1. Synonyme der FSME</b>	2
<b>2.2. Geschichte der FSME</b>	4
<b>2.3. Ätiologie und Vorkommen der FSME</b>	5
<b>2.3.1. Der Erreger</b>	5
2.3.1.1. Morphologie des Virus	5
2.3.1.2. Antigenität des Virus	6
2.3.1.3. Tenazität des Virus	6
<b>2.3.2. Verbreitung der FSME</b>	7
2.3.2.1. Situation in Deutschland	10
2.3.2.2. FSME eine Erkrankung mit steigender Tendenz?	11
<b>2.3.3. FSME-Naturherde</b>	15
<b>2.3.4. Epidemiologische Untersuchungen</b>	16
2.3.4.1. Untersuchungen beim Pferd	16
2.3.4.2. Untersuchungen beim Hund	17
2.3.4.3. Untersuchungen bei anderen Tieren	18
<b>2.4. Übertragung</b>	19
<b>2.4.1. Übertragungsmöglichkeiten</b>	19
<b>2.4.2. Zecken</b>	20

Inhaltsverzeichnis	II
<b>2.4.2.1. Ixodes ricinus</b>	21
<b>2.4.2.1.1. Epidemiologie</b>	21
<b>2.4.2.1.2. Morphologie</b>	21
<b>2.4.2.1.3 Entwicklungszyklus</b>	24
<b>2.4.2.1.4 Stichmechanismus</b>	26
<b>2.4.2.1.5. Jahreszeitliche Aktivität</b>	28
<b>2.4.2.1.6. Biotop</b>	30
<b>2.5. Virus-Vektorbeziehung</b>	31
<b>2.6. Vektor-Wirtbeziehung</b>	34
<b>2.7. Virus-Wirtbeziehung</b>	35
<b>2.8. Symptomatik der FSME</b>	37
<b>2.8.1. FSME beim Pferd</b>	37
<b>2.8.2. FSME beim Hund</b>	40
<b>2.8.3. FSME beim Menschen</b>	47
<b>3. Material und Methodik</b>	55
<b>3.1. Material</b>	55
<b>3.1.1. Tiere</b>	55
<b>3.1.1.1. Pferde</b>	55
<b>3.1.1.1.1. Nationale</b>	55
<b>3.1.1.1.2. Haltungsform</b>	59
<b>3.1.1.1.3. Einteilung des Untersuchungsgebietes</b>	60

Inhaltsverzeichnis	III
<b>3.1.1.2. Hunde</b>	61
<b>3.1.1.2.1. Nationale</b>	62
<b>3.1.1.2.2. Haltungsform</b>	65
<b>3.1.1.2.3. Einteilung des Untersuchungsgebietes</b>	66
<b>3.2. Methodik</b>	67
<b>3.2.1. Nachweisverfahren von Antikörpern gegen FSME-Virus</b>	67
<b>3.2.1.1. Direkter ELISA</b>	67
<b>3.2.1.1.1. Allgemeines Prinzip des direkten ELISA</b>	67
<b>3.2.1.1.2. Testprinzip</b>	70
<b>3.2.1.1.3. Testbestandteile des ELISAs</b>	71
<b>3.2.1.1.4. Testdurchführung</b>	72
<b>3.2.1.1.5. Testauswertung</b>	73
<b>3.2.1.2. Serumneutralisationstest</b>	73
<b>3.2.1.2.1. Testprinzip</b>	73
<b>3.2.1.2.2. Testbestandteile</b>	74
<b>3.2.1.2.3. Testdurchführung</b>	76
<b>3.2.1.2.4. Testauswertung</b>	77
<b>3.2.2. Statistische Auswertung der Daten</b>	77
<b>4. Ergebnisse</b>	80
<b>4.1. Untersuchung der Serumproben auf AK gegen das FSMEV</b>	80
<b>4.1.1. Pferde</b>	80
<b>4.1.1.1. Ergebnisse im ELISA</b>	80

---

4.1.1.1.1. Durchseuchungsrate der Pferdepopulation im März 1999	80
4.1.1.1.2. Einteilung des Untersuchungsgebiets	80
4.1.1.1.3. Durchseuchungsrate der Pferdepopulation incl. der serokonvertierten Pferde im Oktober 1999 und im März 2000	83
4.1.1.1.4. Titergrenzen und Titermittelwerte der positiven Reagenten	84
4.1.1.1.5. Titergrenzen und Titermittelwerte positiven incl. der serokonvertierten Reagenten	85
4.1.1.1.6. Gruppenuntersuchung der positiven incl. der serokonvertierten Pferde	87
4.1.1.2. Rassenverteilung	88
4.1.1.3. Fellfarbe	90
4.1.1.4. Geschlechtsverteilung	91
4.1.1.5. Altersverteilung	92
4.1.1.6. Haltungsform	94
4.1.1.7. Zusammenfassung der spezifischen Merkmale der Pferde	97
4.1.1.8. Ergebnisse im Serumneutralisationstest	97
4.1.1.9. Überprüfung der ELISA-Ergebnisse im Serumneutralisationstest	97
4.1.1.10. Symptome der seropositiven Pferde	98
4.1.1.11. Fohlen der seropositiven Stuten	99
4.1.2. Hunde	100
4.1.2.1.. Ergebnisse im ELISA	100
4.1.2.1.1.. Durchseuchungsrate der Hundepopulation im November 2000	100
4.1.2.1.2. Titergrenzen und Titermittelwerte der seropositiven Reagenten sowie aller Hunde	100



---

4.1.2.2. Rassenverteilung	103
4.1.2.3. Geschlechtsverteilung	107
4.1.2.4. Altersverteilung	108
4.1.2.5. Haltungsform	109
4.1.2.6. Zusammenfassung der spezifischen Merkmale der Hunde	110
4.1.2.7. Symptome der seropositiven Hunde	111
4.1.3. Vergleich der Ergebnisse bei Pferden und Hunden	111
<b>5. Diskussion</b>	113
5.1. Fragestellung und Eignung der Probanden	113
5.2. Bewertung der Testmethoden	114
5.3. Durchseuchungsrate beim Pferd	115
5.4. Disposition beim Pferd	118
5.5. Durchseuchungsrate beim Hund	121
5.6. Disposition beim Hund	121
5.7. Symptome der seropositiven Pferde und Hunde	125
5.8. Gegenüberstellung der Ergebnisse bei Pferd und Hund	125
<b>6. Zusammenfassung</b>	128
6.1. Summary	130

---

<b>7. Literaturverzeichnis</b>	132
<b>8. Anhang</b>	143
8.1. Informationsblatt für die Pferdebesitzer	143
8.2. Anamneseblatt Pferd	144
8.3. Informationsblatt für die Hundebesitzer	146
8.4. Anamneseblatt Hund	147
8.5. Ergebnisse der Serumproben der Pferde im ELISA und im SNT	148
8.6. Liste der untersuchten Pferde	151
8.7. Liste der untersuchten Hunde	153
8.8. Abbildungsverzeichnis	157
8.9. Abkürzungsverzeichnis	159

**Danksagung**

## 1. Einleitung und Fragestellung

Unter den durch Zecken übertragenen Viruskrankheiten spielt die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) in Europa die größte Rolle. Sie stellt hier die häufigste durch Arthropoden übertragene Viruskrankheit dar (REHSE-KÜPPER ET AL, 1976; RADDA, 1978; KAHL, 1994; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979). Es handelt sich dabei um eine virale Zoonose. Der Erreger, das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSMEV), ist ein neurotropes Virus aus der Familie der Flaviviridae (CALISHER, 1988; WENGLER, 1991; ROLLE UND MAYR, 1993; TRAAVIK, 1994; MONATH UND HEINZ, 1996).

Erst 1972 wurde ein Fall einer FSME-Erkrankung beim Hund (GRESIKOVA ET AL, 1972A; WANDELER ET AL, 1972) und erst 1981 beim Pferd (WALDVOGEL ET AL, 1981) beschrieben, beide in der Schweiz. Es liegt eine Fallbeschreibung einer FSME beim Schaf (PAPLOV, 1967) und bei einer Ziege vor (ZINDEL UND WYLER, 1983).

In den letzten Jahren wurden beim Hund immer mehr FSME-Fälle bekannt (TIPOLD ET AL, 1993; WEISSENBÖCK UND HOLZMANN, 1997; KNIRZT, 1999, KLIMES ET AL, 2001). Seither wird auch vereinzelt von FSME-Fällen beim Pferd berichtet (GRABNER, 1993; LUKSCHANDER, 1998).

Die Epidemiologie und Klinik der FSME ist bei unseren Haussäugetieren noch wenig erforscht. In Deutschland gibt es erst eine Untersuchung beim Hund, die zeigt, dass in Süddeutschland ein beträchtliches Infektionsrisiko besteht mit Seroprävalenzraten in bestimmten Gebieten Baden Württembergs von bis zu 30 % (MÜLLER, 1997).

Beim Pferd fehlen bisher Untersuchungen zur Seroprävalenz.

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, neue Erkenntnisse über das Vorkommen endemischer Gebiete der FSME-Infektion beim Pferd zu gewinnen. Dazu sollte der Titerverlauf über einen einjährigen Zeitraum bestimmt werden. Aus rein praktischen und standortgebundenen Gründen wurden Pferde aus einem humanen Endemiegebiet und dessen Umgebung in der Region westlicher Bodensee/ Hochrhein für die Studie ausgewählt.

Dabei sollten folgende Fragen beantwortet werden:

Wie hoch ist die Seroprävalenz der Pferdepopulation im Untersuchungsgebiet?

Wie ist der Titerverlauf der Antikörper bei den untersuchten Pferden innerhalb von 15 Monaten?

Liegt eine Disposition der Pferde zur inapparenten FSME-Infektion hinsichtlich Rasse, Alter, Fellfarbe, Geschlecht, Haltung oder Weidegang vor?

Gibt es Hinweise zur diaplazentaren Übertragung von Antikörpern bei Fohlen seropositiver Stuten?

Ist ein kommerziell erhältlicher ELISA (Labor Alomed, Radolfzell) zum Nachweis von Antikörpern gegen das FSME-Virus beim Pferd aussagekräftig?

Liegt beim Hund in den entsprechenden Gebieten eine vergleichbare Seroprävalenz vor und ist beim Hund eine spezifische Disposition zu erkennen ?

Ist während der Untersuchungszeit von 21 Monaten bei den Probanden eine zentralnervöse Symptomatik erkennbar gewesen?

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1. Synonyme der FSME**

Der Name „Zecken-Enzephalitis“ ist heute geläufig und leitet sich von dem Überträger ab. Im englischen Sprachgebrauch spricht man von Tick-borne Encephalitis (TBE), was so viel wie „durch Zecken übertragene Enzephalitis“ bedeutet und im französischen von „l’encephalite a tiques“ (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994).

### ***Europäische Variante***

Der Begriff „Schneidersche Krankheit“ lässt sich auf die Erstbeschreibung der Krankheit in Österreich von SCHNEIDER H zurückführen (zitiert in: ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

Der Name „FSME (Frühsommermeningoenzephalitis)“ geht auf Moritsch und Krausler zurück, die die besondere jahreszeitliche Häufung der Erkrankung im Frühsommer für die Namensgebung verwendeten (MORITSCH, 1962; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

„Central European Encephalitis“ (CEE) weist auf das Vorkommen der Erkrankung in Zentraleuropa hin (MORITSCH, 1962; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; BLESSING, 1982; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

Der Name „Biphasische Meningoenzephalitis“ leitet sich vom charakteristischen Krankheitsverlauf in zwei Fieberphasen ab (MORITSCH, 1962; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

Der Begriff „Biphasisches Milchfieber“ wurde aufgrund von Fällen verwendet, bei denen der Erreger alimentär, durch den Genuss nicht pasteurisierter Milch infektiöser Tiere übertragen wurde (MORITSCH, 1962; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

„Kummling Disease“ weist auf das Vorkommen der FSME auf Kummlinge hin, einer Insel im Südwesten Finnlands (MORITSCH, 1962; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

### ***Fernöstliche Variante***

Die beschriebene Krankheit wurde schon sehr früh in der ehemaligen UdSSR beobachtet. Das jahreszeitlich gehäufte Auftreten führte zu dem Namen „Russian Spring Summer Encephalitis“, nach ihrem geographischen Vorkommen auch „Fernöstliche (Wald) oder Taiga-Enzephalitis“ genannt (MORITSCH, 1962; BLESSING, 1982; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; STANEK UND HOFMANN, 1994).

## 2.2. Geschichte der FSME

Ende der 20er Jahre des letzten Jahrhunderts wurde die klinische Form der FSME im Bezirk Neukirchen von dem Primarius des Krankenhauses Neukirchen, H. Schneider, zum ersten Mal beschrieben und von anderen Infektionen des Gehirns und der Gehirnhäute unterschieden (SCHNEIDER, 1931). Die Krankheit trat regelmäßig im Frühjahr und im Frühsommer in dieser Region auf (KUNZ, 1994).

In der Mitte der dreißiger Jahre wurde sie im Fernen Osten der UdSSR als eine Infektionskrankheit des Zentralnervensystems beobachtet, die sich durch schwere Verläufe und eine Letalität von 30 bis 38 % auszeichnete. Systematische Untersuchungen russischer Forscher, Silber und Mitarbeiter im Jahr 1937, wiesen als Erreger dieser Krankheit ein Virus nach, das durch die Zecke *Ixodes persulatus* übertragen wird. Vom Jahre 1944 an wurde die gleiche Erkrankung in etwas weniger schwerer Form im europäischen Rußland, seit 1949 schließlich auch gehäuft in Mitteleuropa, zuerst in der Tschechoslowakei (1948) nachgewiesen (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; BLESSING, 1982; KUNZ, 1994).

In der Folgezeit wurde sie nach und nach in Ungarn (1954), Bulgarien (1954), Jugoslawien (1955), Österreich (1955), Schweden (1958), Albanien (1958), Rumänien (1960), Finnland (1961), Dänemark (1963), Griechenland (1964), Frankreich (1969) Schweiz (1969), Italien (1967), Polen (1975), Lettland und Estland (1993) beobachtet. Im heutigen Ostdeutschland ist sie seit dem Jahre 1959, in Westdeutschland seit 1964 bekannt (RIEDL ET AL, 1973; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

Die mildere europäische Form der TBE wird als CEE oder Frühsommer-Meningo-Enzephalitis bezeichnet. Ihr Erreger weist geringe serologische Unterschiede gegenüber der Fernöstlichen Variante auf. Hauptüberträger ist die überall in Europa vorkommende Zecke *Ixodes ricinus*. Die mitteleuropäische Variante wurde 1948 erstmalig in der CSSR von Gallia isoliert (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

## **2.3. Ätiologie und Vorkommen der FSME**

### **2.3.1. Der Erreger**

Das FSMEV gehört wie das Gelbfieberevirus, das Japanische-Enzephalitis-Virus und die Dengue-Viren als Vertreter des Genus Flavivirus in die Familie der Flaviviridae.

Es handelt sich um eine virale Zoonose, deren Erreger durch infizierte Zecken übertragen werden. Aufgrund des speziellen Übertragungsweges durch infizierte Zecken oder Stechmücken (z. B. FSMEV, Gelbfieber-Virus, Dengue-Viren, Japanisches-Enzephalitis-Virus) handelt es sich bei vielen Flaviviren auch um so genannte Arbo (= Arthropod-borne)-Viren (CALISHER, 1988; WENGLER, 1991; ROLLE UND MAYR, 1993; TRAAVIK, 1994; MONATH UND HEINZ, 1996).

#### **.2.3.1.1. Morphologie des Virus**

Das FSME-Virus ist ein lipidumhülltes RNA-Virus mit einem Durchmesser von 500 nm. Die positiv strängige RNA mit einer Länge von 11000 Nucleotiden enthält die Information für die Kodierung der drei Strukturproteine sowie für einen Satz von sieben Nichtstrukturproteinen, welche für die Virusreplikation in der Zelle verantwortlich sind.

Die drei Strukturproteine C (Capsid), M (Membran) und E (Envelope) bilden eine aus Proteinkörpern aufgebaute Schutzschicht. Das C-Protein ist die einzige Proteinkomponente des Kapsids, welches aus mehreren, identischen Proteinkörpern (Kapsomere) besteht und die Form eines Ikosaeders hat. Das FSMEV ist weiterhin von einer eiweiß- und lipidhaltigen Hülle umgeben. Die beiden Proteine E und M sind in diese Virusmembran integriert, wobei das Glykoprotein E die Hauptkomponente der Virusoberfläche darstellt (HEINZ, 1996). Durch die Isolierung einer löslichen, kristallisierbaren Form des FSME-Virusproteins E (HEINZ UND MANDL, 1993) konnte dessen dreidimensionale Struktur mittels Röntgenbeugungsanalyse aufgeklärt werden. Wie diese Strukturanalyse zeigte, bildete das Protein E im Gegensatz zu Glykoproteinen anderer lipidumhüllter Viren keine „Spike“ artigen Fortsätze, sondern ist parallel zur Virusoberfläche angeordnet (REY ET AL, 1995) (*Abb. 1*).

Das Protein E ist verantwortlich für die Virulenz des Virus. Es trägt die Bindungsstelle für den Zellrezeptor und ist so für die Induktion einer protektiven Immunität verantwortlich durch die Bildung neutralisierender Antikörper gegen das E-Protein. Mit einem Austausch einer einzigen Aminosäure in der das E-Protein kodierenden Sequenz konnte das Virus attenuiert werden. Hierauf beruhen im Moment die Anstrengungen, einen Lebendimpfstoff zu entwickeln (HEINZ, 1996).

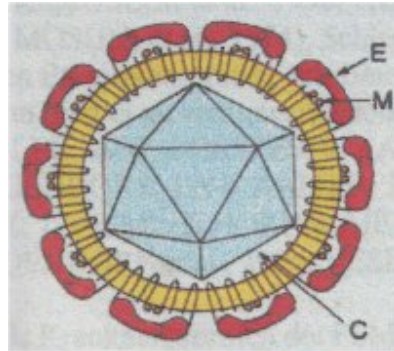
#### **2.3.1.2. Antigenität des Virus**

Antigenanalysen mit monoklonalen Antikörpern und Sequenzvergleiche verschiedener Virusisolate haben gezeigt, dass das FSMEV im gesamten europäischen Verbreitungsgebiet sehr homogen ist (europäischer Subtyp) und unter natürlichen ökologischen Bedingungen keinen signifikanten Antigenvariationen unterworfen ist (JETTMAR, 1957; SCHREIER ET AL, 1994; HEINZ, 1996). Es wurden 19 Stämme des FSMEV in 5 verschiedenen Gebieten Süddeutschlands isoliert (ACKERMANN UND RHESE KÜPPER, 1979). Die Virusisolate aus dem europäischen und dem fernöstlichen Subtyp sind ebenfalls nahe verwandt, sie weisen eine Aminosäuresequenzidentität im E-Protein von 96 % auf (HEINZ, 1996). Aufgrund dieser Homologie schützen neutralisierende Antikörper, die durch die beiden Subtypen induziert wurden, auch gegen den anderen Virustyp (RIEGER ET AL, 1999A).

#### **2.3.1.3. Tenazität des Virus**

Das Virus besitzt eine hohe Tenazität. Es ist in Milch und Butter bis zu zwei Monaten infektiös, in saurer Milch bei 4 °C bis zu 24 Stunden (ROLLE UND MAYR, 1993). Durch Pasteurisieren, sowie durch alle gängigen Desinfektionsmittel wird der Erreger inaktiviert (STANEK UND HOFFMANN, 1994). Virussuspensionen büßen bei 37 °C in drei Stunden die Hälfte ihrer Infektiosität ein. Demgegenüber verliert es bei Temperaturen über 72 °C, bei Austrocknung unter dem Einfluss von Formalin, Betapropiolacton, Wasserstoffsuperoxid und anderen chemischen Substanzen rasch seine Infektiosität (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).





**E= Envelope**

**M= Membran**

**C= Capsid**

**Abb. 1:** Schematische Darstellung eines FSME-Viruspartikels (HEINZ, 1996)

### **2.3.2. Verbreitung der FSME**

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) kommt in so genannten Endemie- oder Risikogebieten vor, das heißt, sie tritt regional begrenzt und damit herdförmig auf. Häufig erweisen sich engumgrenzte Gebiete oder relativ kleine Flächen als beständige Foci (KAHL, 1994; ROGGENDORF UND LENZ, 1994). Gebiete mit gehäuftem Auftreten von FSME-Infektionen finden sich in Deutschland vornehmlich in Baden-Württemberg, Bayern und Südhessen (ROGGENDORF ET AL, 1995). In den „neuen Bundesländern“ besteht zur Zeit ein äußerst geringes FSME-Risiko (SÜSS ET AL, 1999), welches eine Impfindikation nicht rechtfertigt. Weitere Risikogebiete finden sich in der Schweiz (vor allem im Hochrhein- und Bodenseegebiet), in Frankreich (im Elsass), in Österreich, Ungarn, Albanien, Bosnien, Kroatien, Serbien, Slowenien, Tschechien, in der Slowakei, in Rußland, Moldawien, in der Ukraine, in Polen, Südschweden, Finnland, Estland, Lettland und Litauen. Die FSME kommt auch im Nordosten Chinas vor. Und seit neuestem wurden auch Fälle aus Japan gemeldet (HEINZ ET AL, 1997).

Risikogebiete sind Landkreise, in denen mindestens fünf autochthon entstandene FSME-Erkrankungen in einer 5-Jahresperiode seit 1981 oder mindestens zwei autochthon entstandene FSME-Erkrankungen innerhalb eines Jahres registriert wurden.

Als Hochrisikogebiete gelten diejenigen der als Risikogebiete auserwählten Landkreise, in denen in einer der 5-Jahresperioden mindestens fünf FSME-Erkrankungen pro Jahr aufgetreten sind. Auf das Risiko für Einwohner angrenzender Stadtkreise (z. B. Baden-Baden, Karlsruhe) aus denen keine Erkrankungsfälle gemeldet wurden, ist bei der Darstellung der Risikogebiete besonders hinzuweisen (KAISER, 1998).

Aus den FSME-Fallzahlen der vergangenen Jahre der einzelnen Ländern geht hervor, dass der Erreger in Österreich und der Tschechischen Republik (bis über 700 FSME-Fälle) offenkundig am weitesten verbreitet ist. In Österreich wurden vor der Durchführung größerer Impfkationen im Land jährlich zwischen 300 und 600 FSME-Fälle gemeldet, es werden derzeit nur noch bis zu 100 Fälle jährlich gemeldet. Hohe jährliche Fallzahlen werden aus Kroatien (bis zu 87 FSME-Fälle), Litauen (bis über 600 FSME-Fälle), Slowenien (bis über 400 FSME-Fälle), Slowakei (bis zu 100 FSME-Fälle), Polen (bis über 200 FSME-Fälle) und Ungarn (bis über 300 FSME-Fälle) berichtet. In Süddeutschland (bis zu 300 FSME-Fälle), in der Schweiz (bis über 100 FSME-Fälle) und in Schweden (bis über 100 FSME-Fälle) sind ebenfalls Erkrankungsfälle in größerem Ausmaß beschrieben worden. 1993 wurden erstmals FSME-Fälle aus Lettland (791 Erkrankungen) und Estland (166 Erkrankungen) gemeldet. Selten wurden Fälle in Finnland (bis zu 40 FSME-Fälle) nachgewiesen (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; ROGGENDORF UND LENZ, 1994; SÜSS UND BENZIAT, 1996; PERSÖNLICHE MITTEILUNG BAXTER-IMMUNO 2001).

In Russland sind endemische Gebiete über die Sowjetunion verstreut, es treten pro Jahr bis über 10 000 FSME Erkrankungsfälle auf. (VOROBYOVA, 1991; SÜSS UND BENZIAT, 1996, PERSÖNLICHE MITTEILUNG BAXTER-IMMUNO 2001).

Aus China wurden 1994 3500 FSME-Fälle gemeldet.

Lediglich marginale Bedeutung hat die FSME in Frankreich (Elsass), Griechenland, Dänemark und Italien. In diesen Ländern wurde jeweils ein kleiner Naturherd beschrieben, es werden jährlich nicht mehr als 10 FSME-Fälle gemeldet. In Albanien treten FSME-Fälle in größerer Zahl auf, die aufgrund unzureichender Diagnostik derzeit nicht sicher registriert werden können.

In Großbritannien, Portugal und den Benelux-Ländern konnte das Virus bisher noch nicht nachgewiesen werden (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; ROGGENDORF UND LENZ, 1994; SÜSS UND BENZIAT, 1996, PERSÖNLICHE MITTEILUNG BAXTER-IMMUNO 2001) (Abb.2).



**Abb. 2:** Europakarte mit den FSME Verbreitungsgebieten (BAXTER-IMMUNO, 1997)

**Rot:** In diesen Gebieten sind in den vergangenen Jahren FSME-Erkrankungen aufgetreten und dokumentiert worden.

**Grün:** In diesen Gebieten sind in den vergangenen Jahren keine FSME-Erkrankungen aufgetreten und dokumentiert worden.

**Rot-Grün:** In diesen Gebieten ist mit FSME-Erkrankungen zu rechnen, eine genaue Dokumentation liegt nicht vor.

### 2.3.2.1. Situation in Deutschland

In den alten Bundesländern ergaben systematische serologische Untersuchungen eine durchschnittliche Durchseuchungsrate der Bevölkerung in endemischen Gebieten von 1,1 bis 2 % (1,56 %). Die Durchseuchungsrate stieg allmählich im dritten, deutlicher im vierten Lebensjahrzehnt an, bis auf 2,4 % im siebten Lebensjahrzehnt. Danach sank die Durchseuchungsrate wieder (ACKERMANN ET AL, 1968; ACKERMANN ET AL, 1986; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

Die höchsten Antikörper-Raten wurden in Bayern und Baden-Württemberg gefunden, sie betragen in den Kreisen Grafenau (Niederbayern) 5,7 %, Ebern (Unterfranken) 7,9 %, und Hechingen/ Horb (Südwestfalen-Hohenzollern) 7,6 %. Aufgrund dieser Daten und der Infektionsorte serologisch abgesicherter FSME-Erkrankungen, deren Expositionsorte exakt bekannt sind, wurden Naturherde in Bayern (Donaugebiet und südlicher Bayrischer Wald und zwar in der Region entlang der Donau, ihrer südlichen Zuflüsse Lech, Paar, Ilm, Vils, Inn, Salzach und ihrer nördlichen Zuflüsse Altmühl, Schwarze Laaber, Naab und Regen, außerdem einige Gebiete entlang des Mains und seiner Nebenflüsse) und in Baden-Württemberg (Rheintal vom Bodensee bis Karlsruhe, Neckartal von Rottweil bis Mannheim) charakterisiert (ACKERMANN ET AL, 1968; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979). Jährlich werden auch einige Fälle aus Hessen (Odenwald) gemeldet (FIEDLER ET AL, 1999; ÖZDEMIR ET AL, 1999). Sehr geringe FSME-Fälle waren 1994 aus dem Saarland (HAASS UND TREIB, 1996) und aus Rheinland-Pfalz zu berichten (ACKERMANN ET AL, 1986; FIEDLER ET AL, 1999) (*Abb. 3*).

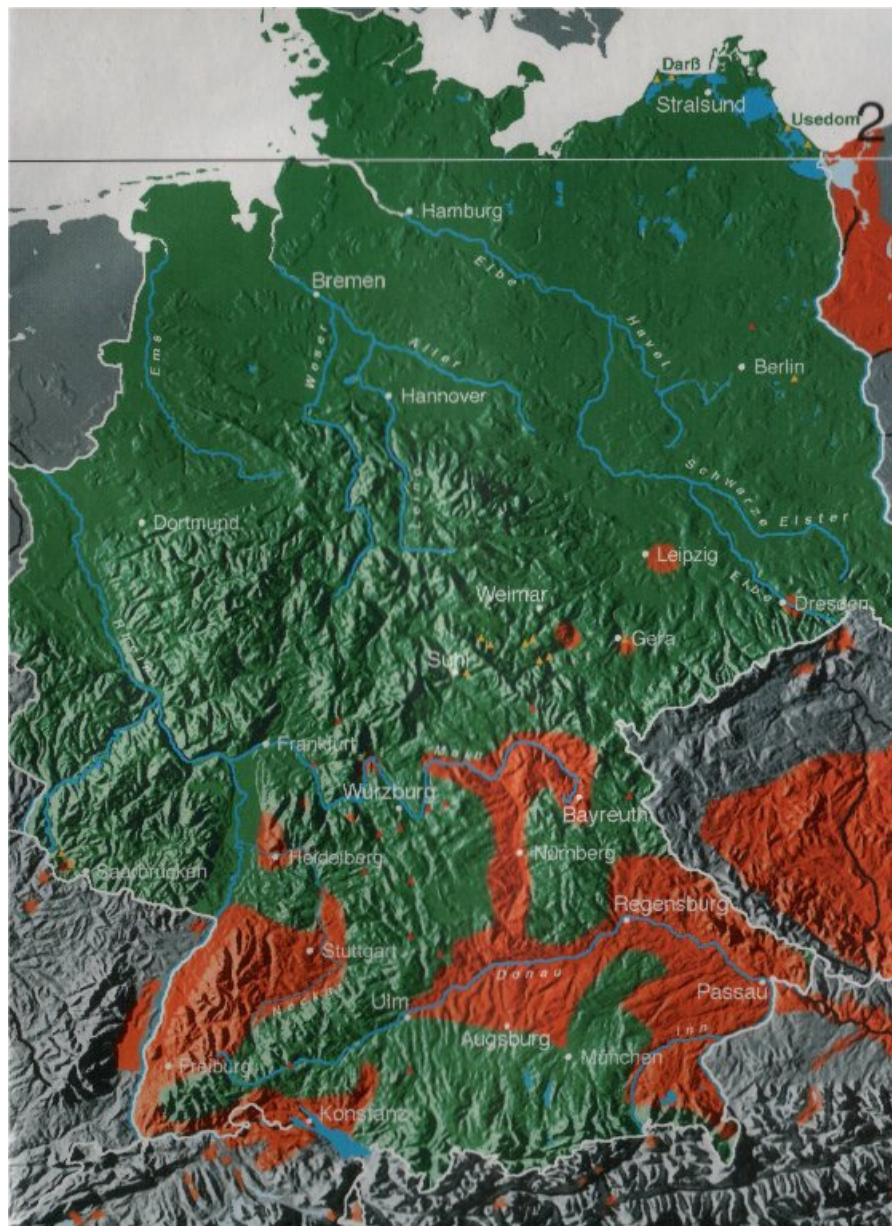
Beruflich exponierte Personen weisen eine deutlich höhere Seroprävalenz auf. In der Land- bzw. Forstwirtschaft Beschäftigte hatten mit 2,1 % (Maximum Süddeutschland 3,3 %) bzw. 3,3 % (Maximum Thüringen 5,6 %) und Gartenarbeiter aus Thüringen mit 11,5 % die höchste Durchseuchungsrate (RIEGER UND HOFMANN, 1999; JACOBI ET AL 1993). Die Ausübung einer Freizeitgewohnheit, die den Zeckenkontakt erhöht (Reiten, Wandern, Beeren sammeln, Fahrrad fahren) verursacht kaum eine Erhöhung der Seroprävalenz und damit des Infektionsrisikos. Nur Jäger sind einem höheren Risiko ausgesetzt (RIEGER UND HOFMANN, 1999).

### **Unterliegen die FSME Naturherde einem Wandel?**

In Ostdeutschland sind mehrere Naturherde der Zentraleuropäischen Zeckenzephalitis bekannt, die zwischen 1960 und 1970 sehr aktiv waren: Mecklenburg-Vorpommern, Thüringen, Sachsen und Brandenburg. Die Morbiditätsrate war mit 0,7/100000 Einwohnern sehr hoch. Bis zu 50 % der Zecken waren Virusträger und in Thüringen z. B. waren 20 % der Bevölkerung Antikörperträger. Seit dieser Zeit treten kaum noch Erkrankungen des Menschen in dieser Region auf und das Virus kann weder in Zecken noch in Kleinsäufern nachgewiesen werden. An einem exemplarischen Naturherd der Insel Usedom in der Ostsee konnte jedoch gezeigt werden, dass sich dieser Naturherd immer noch in einer Phase endemischer Latenz befindet, also nicht vollständig erloschen ist, was insgesamt die Überwachung solcher Naturherde notwendig macht. In der Kleinsäugerpopulation konvertierten an einem Meßpunkt die Antikörper von 0 % (1983 bis 1988) auf 4,5 % (1998) (SÜSS ET AL, 1992, 1995). Es wird vermutet, dass die Gründe für die drastische Abnahme der FSMEV-Aktivität aufgrund des komplizierten ökologischen Systems eines FSMEV-Naturherdes sehr komplex sind. Der Einsatz von Insektiziden wird diskutiert. Wesentlicher Bestandteil dieses Systems sind Größe und Zusammensetzung der bestehenden Kleinsäugerpopulation. Daneben sollte die Interferenz mit anderen viralen Erregern in Betracht gezogen werden, die neben dem FSMEV in Europa durch Zecken übertragen werden können (SÜSS UND BEZIAT, 1996).

#### **2.3.2.2. FSME eine Erkrankung mit steigender Tendenz?**

Von einigen Autoren wurde schon früher (SPIESS ET AL, 1969; DUNIEWICZ, 1976; HOLZER, 1976) und auch in neuerer Zeit (KUNZ, 1995) die Meinung vertreten, dass die FSME in Europa ein gesundheitliches Problem mit steigender Tendenz darstellt. Insgesamt hat die Erkrankungshäufigkeit (außer in Österreich und Ungarn) zu Beginn der 90er Jahre deutlich zugenommen. 1992 stieg die Zahl der registrierten FSME-Fälle in Europa und Asien erstmals über die 10 000 an. Mitte der 90er Jahre wurde ein Peak erreicht (1996 über 18 000 Fälle). Zum Ende des Jahrzehntes pendelte sich die Zahl der registrierten Fälle wieder bei 10 000 ein (PERSÖNL. MITTEILUNG VON



**Abb. 3:** FSME Verbreitungsgebiete in Deutschland (BAXTER IMMUNO, 1998).

**Rot:** In diesen Gebieten sind in den vergangenen Jahren FSME-Erkrankungen aufgetreten und dokumentiert worden.

**Grün:** In diesen Gebieten sind in den vergangenen Jahren keine FSME-Erkrankungen aufgetreten und dokumentiert worden.

BAXTER IMMUNO 2001). Auch in Rußland ist die Zahl der jährlich registrierten FSME-Fälle von bisher 1 500 in den neunziger Jahren auf 5 000 bis 7 000 gestiegen (VOROBYOVA, 1991; SÜSS UND BENZIAT, 1996).

Österreich nimmt diese Ausnahmestellung mit Sicherheit aufgrund des mittlerweile erreichten sehr hohen Durchimpfungsgrades der Gesamtbevölkerung ein. Die Virusaktivität in den Endemiegebieten ist unverändert hoch, wie neuere Naturherduntersuchungen, z. B. aus der Steiermark, beweisen. Auch der deutliche Anstieg der FSME-Morbidität in den Nachbarländern Österreichs (Deutschland, Schweiz, Tschechien, Slowenien) charakterisiert die momentan sehr hohe FSME- Virusaktivität (SÜSS UND BENZIAT, 1996).

Es wird vermutet, dass der Anstieg der FSME-Morbidität eine Folge der Zunahme der Zecken und Kleinsäugerpopulation in den Naturherden des FSMEV ist. Diese konnten sich wegen der milden Winter in den 90er Jahren stellenweise sehr stark vermehren. Die Schwankungen der Häufigkeit des Vorkommens einer FSME ergeben sich aus den klimatischen Bedingungen, wie Feuchtigkeit und Wärme im Sommer bzw. milde und strenge Winter (SÜSS UND BENZIAT, 1996). Dies wurde auch schon in früheren Artikeln untersucht. Zwischen dem Ansteigen der infektiösen Erkrankungen des ZNS, der Zunahme der Zeckendichte und einer Abfolge von Jahren mit überwiegend milden, kurzen Wintern und feuchten Sommern besteht ein Zusammenhang (PRETZMANN, 1965).

- Beispiel: Die Zahl der registrierten FSME-Fälle in Deutschland schwankt zwischen 60 und 150 pro Jahr (ROGGENDORF UND LENZ, 1994).

Vor Beginn der 80er Jahre existierten über die Anzahl der FSME-Erkrankungen in den Endemiegebieten der alten Bundesländer nur sporadische Berichte. Nach ROGGENDORF ET AL (1995, 1996) wurden zwischen 1964 und 1977 insgesamt 149 klinische FSME-Fälle bekannt. 1976 begann man mit der Registrierung der Krankheitsfälle, zusätzlich steht seit 1981 ein empfindliches ELISA-System zum Nachweis spezifischer AK zur Verfügung. Entsprechend stieg die Zahl der diagnostizierten FSME-Erkrankungen zwischen 1978 und 1990 auf 490 Fälle an. 1994 wurde mit 306 Fällen die höchste FSME-Morbidität in einem Jahr seit Beginn

Fällen die höchste FSME-Morbidität in einem Jahr seit Beginn der Erfassung registriert.

Durch die in den letzten Jahren verbesserten diagnostischen Möglichkeiten werden mehr FSME-Fälle aufgedeckt als früher, außerdem wird die Meldepflicht inzwischen ernster genommen.

- Beispiel: In Ungarn sind die FSME-Fälle in den 80er und 90er Jahren drastisch gestiegen, dies liegt an der Verbesserung des diagnostischen Prozedere. Es gibt keine Hinweise, welche auf eine Veränderung der geographischen Verteilung, der Inzidenz oder „case mortality rate“ hindeuten (FERENCZI UND MOLNAR, 1991).

Die Zahl der Erkrankten jährlich ist von der momentan in diesem Gebiet herrschenden Impffrequenz abhängig.

- Beispiel: In Bayern traten in den 80er Jahren 2 bis 3 mal mehr FSME-Fälle auf als in Baden-Württemberg, 1981 hat sich dieses Verhältnis umgekehrt, dafür ist mit hoher Wahrscheinlichkeit die deutlich geringere Impfquote in Baden-Württemberg verantwortlich (ROGGENDORF UND LENZ, 1994).

Die **Epidemiologie der FSME ist keineswegs vollständig geklärt**. Insbesondere weiß man noch nicht, ob das Virus tatsächlich von Osteuropa in Richtung auf die westlichen Länder wandert (SPIESS ET AL, 1969; DUNIEWICZ, 1976; HOLZER, 1976; PLASSMANN, 1980), oder ob es schon immer ubiquitär verbreitet war und nur mit verfeinerten Nachweismethoden die Diagnose heute häufiger gestellt wird (ACKERMANN ET AL, 1968; BLESSING, 1982). Es handelt sich nur um eine Vermutung (BLESSING, 1982), lässt sich aber nicht ausschließen (DUNIEWICZ, 1976), dass das Virus und sein Vektor, der gemeine Holzbock *Ixodes ricinus*, diese Wanderschaft in Viehherden, Futtermitteln oder Wildtieren mitgemacht haben soll.

1960 war es in der BRD noch nicht bekannt, ob diese Viruskrankheit auch hierzulande vorkommt. Ackermann konnte mittels eines Serumneutralisationstestes (SNT) beweisen, dass in den Seren der ländlichen Bevölkerung neutralisierende Antikörper gegen das FSME-Virus gefunden werden konnten. Man ging davon aus, dass eine einmal infizierte Person zeitlebens spezifische Serumantikörper hat (HUBINGER ET AL,



1970). Bei 30 % der positiv getesteten Personen wurde ermittelt, dass sie ihren Heimatkreis nie oder nur ganz kurzfristig verlassen haben und die FSME-Infektion dort erworben haben mussten. Es wurden Personen aller Altersklassen getestet. Diese Angaben lassen mit einigem Vorbehalt daran denken, dass die Infektion mit FSME-Virus mindestens schon zu Beginn des Jahrhunderts vorgekommen ist (ACKERMANN ET AL, 1968).

Vergleichbare serologische Erhebungen aus anderen europäischen Ländern, die ebenfalls mit dem SNT ausgeführt wurden, lieferten ähnliche Ergebnisse. Diese serologischen Erhebungen ließen darauf schließen, dass die FSME auch in der BRD beheimatet ist und Endemiegebiete in der gesamten BRD, vor allem in Süddeutschland bestehen. Bei gezielter Suche war zu erwarten, dass akute Krankheitsfälle und der Erreger selbst in Naturherden nachgewiesen werden könnten. Dass bis dahin keine Erkrankung mit dem FSMEV entdeckt worden war, wurde mit der vergleichsweise Unspezifität der klinischen Erscheinungen, dem mangelnden Einsatz Ätiologischer Untersuchungsverfahren und womöglich einer geringeren Häufigkeit im Vergleich zu unseren südöstlichen Nachbarländern zu erklären versucht (ACKERMANN UND REHSE-KÜPPER, 1979).

### **2.3.3. FSME-Naturherde**

Unter einem Naturherd versteht man nach PAVLOVSKY (1966) ein Gebiet von einem bestimmten geographischen Landschaftstypus mit Biotopen, in denen es im Verlauf der Evolution zur Entwicklung bestimmter gegenseitiger Beziehungen zwischen den Arten gekommen ist und zwar zwischen dem Krankheitserreger (Mikroorganismus) einerseits und seinem Überträger (Vektor) andererseits. Letzterer überträgt den Krankheitserreger vom Tier, das als Donor der Infektion wirkt, auf das Tier, welches den Rezipienten darstellt, und zwar unter Umweltbedingungen, die sich günstig oder störend auf eine weitere Zirkulation des Erregers in solchen Biozoonosen auswirken.

Im Mittelpunkt des Naturherdkonzeptes steht der Erreger, der von hämotophagen Insekten, Milben oder Zecken (Vektoren) auf wildlebende Wirbeltiere übertragen wird. Jene werden auch als so genannte Reservoir oder Reservoirwirte bezeichnet. Der Naturherd beschreibt das räumlich begrenzte (endemische), dauerhafte Vorkom-

men eines Erregers in bestimmten Regionen. So sind bestimmte Naturherdkrankheiten an bestimmte Klimatypen mit gewissen geologischen Verhältnissen und/ oder Pflanzengesellschaften gebunden. Diese charakteristischen Abhängigkeiten spiegeln dabei die Summe der ökologischen (biotisch und abiotischen) Ansprüche, Toleranzen und Empfindlichkeiten sämtlicher Glieder solch eines Erreger-Vektor-Systems sowie ihrer Beziehungen zueinander wieder (zit.: KAHL, 1994).

Das Entstehen eines FSME-Naturherdes ist von mehreren Bedingungen abhängig. Es ist eine bestimmte Besiedlungsdichte der Zecken und ihrer Wirte für die Aufrechterhaltung der Zirkulation des FSMEV in dem Naturherd notwendig. Das Virus wird von den Zecken beim Saugakt vor allem während des virämischen Stadiums des Wirtstieres aufgenommen. Deshalb hängt die Durchseuchung der Zecken mit dem Virus von der Dauer dieser Virämie ab. Ist es einem Wirtstier gelungen, nach einem erstmaligen Kontakt mit dem FSMEV neutralisierende Antikörper zu bilden, so ist es vorerst bei einem zweiten Kontakt immun. Es kommt nicht zu einer Virämie und somit auch nicht zu einer weiteren Virusübertragung. Der Prozentsatz bereits immuner Tiere in einem bestimmten Gebiet entscheidet mit darüber, wie viele Viren in der Natur zirkulieren können (HEINZ, 1996).

#### **2.3.4. Epidemiologische Untersuchungen**

##### **2.3.4.1. Untersuchungen beim Pferd**

Nach LUCKSCHANDER (1998) wurden die Seren von 469 Pferden aus ganz Österreich auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV hin untersucht. In einem kompetitiven ELISA (Immuno, Orth) waren 167 Proben positiv. Das Ergebnis wurde in einem SNT überprüft, 60 Proben konnten als positiv bestätigt werden. Dies entspricht eine Seroprävalenz von 13 % in der untersuchten Pferdepopulation.

### 2.3.4.2. Untersuchungen beim Hund

Ende der 70er wurden einige FSME-Erkrankungen bei Hunden aus der Schweiz bekannt. Eine seroepidemiologische Studie bei Hunden ergab, dass eine FSME-Inzidenz von 4 bis 5 % (Spanne: 1,9 bis 5,9 %) in endemischen Gebieten vorliegt, in denen eine Inzidenz von 1,4 % beim Mensch zu verzeichnen ist. Aus dieser Studie geht auch hervor, dass Hunde im Vergleich zum Menschen die besseren Indikatoren für die Beurteilung der Gefahr einer Infektion mit FSMEV in verseuchten Gebieten und auch für die Entdeckung neuer FSME-Gebiete sind (MATILE ET AL, 1979).

Von KNIRTZ (1999) wurden von Hunden aus Österreich, mit und ohne Symptome, 544 Blutproben und 67 Liquorproben mittels eines ELISAs auf Antikörper gegen FSME untersucht; die positiven Ergebnisse wurden im SNT überprüft. Die Hunde lebten alle in endemischen FSME-Gebieten. Symptome zeigten 218 Hunde, davon waren 56 positiv im ELISA und 53 ließen sich im SNT bestätigen. Antikörper gegen FSMEV wurden bei 130 Hunden gefunden, davon wurden im SNT 110 als positiv bestätigt. Bei 13 Hunden ließen sich Antikörper im Blut und im Liquor nachweisen, bei 4 Hunden nur im Blut und bei 2 Hunden nur im Liquor. Die Ergebnisse wurden im SNT überprüft. Eine weitere Aussage der Arbeit war, dass keine Alters,- Rassen- oder Geschlechtsdisposition für FSME festzustellen war.

In einer in Deutschland durchgeführten epidemiologischen Studie wurde zwischen 1993 und 1999 das Serum von ca. 1 000 Hunden untersucht. Die Seroprävalenz zeigt ein signifikantes Süd-Nord-Gefälle. Es ergab sich eine Seroprävalenz von 0 bis 2 % in den nördlichen Bundesländern Niedersachsen, Bremen und Mecklenburg-Vorpommern und bis zu über 30 % in bestimmten Regionen Baden-Württembergs. Dabei zeigte sich schon in Baden-Württemberg ein deutliches Süd-Nord-Gefälle: Maximalwerte von 31 % im Raum westlicher Bodensee-Hegau bis zu Werten von 4% im Raum Wiesloch-Heidelberg im Norden Baden-Württembergs (MÜLLER, 1997).

KLIMES ET AL (2001) untersuchte das Serum von 151 Hunden in der Tschechischen Republik auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV. Er ermittelte eine Seroprävalenzrate von 3,3 %.

### 2.3.4.3. Untersuchungen bei anderen Tieren

Bei der experimentellen Infektion von Ziegen mit infizierten Zecken zeigte sich, dass Ziegen wegen ihrer kurz andauernden Virämie keine Reservoirtiere darstellen, dass sie aber auf Grund ihrer guten Serokonversion als Indikatoren für endemische Gebiete gelten können (NOSEK ET AL, 1967).

In einer über 3 Jahre (1965 bis 1967) in mitteleuropäischen Naturherden durchgeführten Studie wurde das Vorkommen neutralisierender Antikörper gegen FSMEV und deren Überdauern bei Jungrindern untersucht, die im Laufe einer Weideperiode erstmalig Kontakt mit den infektiösen Zecken hatten. Je nach Jahr und Naturherd, in dem sich die Tiere aufhielten, waren die Rinder am Ende der Weidesaison bis zu 58 % durchseucht. Die neutralisierenden Antikörper gegen FSMEV sanken im Laufe eines Jahres bis auf einen Schwellenwert ab, wenn es zu keinem wiederholten Befall mit den infektiösen Zecken kam. Diese Studie bietet ein relativ gründliches Bild über die Existenz, Aktivität und Lokalisierung des Naturherdes. Die weidenden Rinder können daher als ein zuverlässiger Indikator der Anwesenheit von TBE-Virus in der Natur verwendet werden (ERNEK UND KOZUCH, 1970).

Die Seren von Haustieren (Schweinen, Kühen, Ziegen, Schafen, Gänsen und Enten) und von Menschen wurden in einem FSME-endemischen Gebiet in Ungarn untersucht. Bei 1,4 % der Kühe, bei 1,1 % der Ziegen und bei 11,3 % der Menschen wurden Antikörper gegen das FSMEV gefunden. Die Seren der Schweine, Schafe, Gänse und Enten waren negativ (GIRJABU ET AL, 1985).

Mittels Hämagglutinationshemmungstest (HHT) und ELISA wurden die Seren von Rotwild in einem FSME-endemischen Gebiet in Süddeutschland untersucht. Die positiven Seren wurden in einem NT überprüft. 22 % waren im ELISA positiv und konnten im SNT oder HHT bestätigt werden. Ein Ergebnis der Studie war, dass mehr jüngere und mehr männliche Tiere Antikörper gegen das FSMEV aufwiesen.

Die Ergebnisse stimmen mit den aus der Humanmedizin bekannten Endemiegebieten überein. Rehe sind demnach gute Indikatoren zur Erkennung und zur Überwachung von FSME-Gebieten (GERTH ET AL, 1995).

In einer zwischen 1991 und 1992 durchgeführten Studie wurden Rinder auf die Tauglichkeit als Indikatoren für FSME-Risikogebiete untersucht. Rinder nehmen im südbadischen FSME-Risikogebiet am Zyklus des FSME-Virus in der Natur teil, sie eignen sich als Indikatoren zur Definition und zur Überwachung von Endemiegebieten (RIEGER ET AL, 1997).

Füchse wurden auf die Tauglichkeit als Indikatoren für FSME-Gebiete hin untersucht. Füchse leben in relativ eng umschriebenen Revieren und sind stark von Zecken befallen. Füchse repräsentieren somit gut die Gegend, in der sie aufzufinden sind. Mit Hilfe eines ELISAs wurde das Serum von Füchsen aus dem mittel- und süddeutschen Raum, aus Brandenburg und aus dem Nordosten Frankreichs auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV hin untersucht. Die Ergebnisse reflektierten die FSME-Inzidenz in den verschiedenen Regionen in besonderem Maße (RIEGER ET AL, 1997).

## **2.4. Übertragung**

### **2.4.1. Übertragungsmöglichkeiten**

Hauptüberträger und Hauptreservoir für das FSMEV in der Natur sind die Zecken (JETTMAR, 1957; SPIESS ET AL, 1969; RIEDL ET AL, 1973).

Bei anderen blutsaugenden Arthropoden (Mücken und Flöhe) misslangen Übertragungsversuche, obwohl aus ihnen das Virus isoliert wurde. Diese Arthropoden kommen daher nur für eine gelegentliche mechanische Übertragung, die sich in räumlicher und zeitlicher Hinsicht als beschränkt erwies, in Frage (JETTMAR, 1957; RIEDL ET AL, 1973).

Ebenso ist eine alimentäre Infektion durch den Genuss nicht pasteurisierter Milch oder Frischkäse möglich, wie dies in der Slowakei, Polen und im ehemaligen Jugoslawien beschrieben wurde (JETTMAR, 1957; BLASKOVIC, 1958; GRESIKOVA ET AL, 1975). Diese Übertragung dürfte in den Westeuropäischen Ländern jedoch keine Rolle spielen (RIEGER ET AL, 1998).

Auch Laborinfektionen durch die Inhalation von Viruspartikeln wurden bekannt (BODEMANN ET AL, 1977).

Eine Übertragung von Mensch zu Mensch oder Säugetier zu Säugetier kommt praktisch nicht vor, wäre jedoch theoretisch denkbar, wenn z. B. Blut von einem Patienten (Mensch oder Tier), der sich im Stadium der Virämie befindet, in den Organismus eines gesunden Menschen oder Tieres gelangt (BLESSING, 1982).

Die Übertragung durch direkten Kontakt scheint ausschließbar zu sein, weil unter natürlichen Bedingungen die Konzentration im Rachen oder im Harn nicht hinreichend ist, um die Krankheit hervorzurufen. Auch hat das Virus außerhalb des lebenden Gewebes nur eine beschränkte Lebensdauer (JETTMAR, 1957).

#### **2.4.2. Zecken**

In Mitteleuropa sind bisher 8 so genannte Schildzeckenarten bekannt geworden, die für die Übertragung des FSMEV in Frage kommen (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994).

##### **FSME-übertragende Zecken in Mitteleuropa:**

*Ixodes ricinus*

*Ixodes persulcatus*

*Ixodes hexagonus*

*Ixodes arboricola*

*Haemaphysalis punctata*

*Haemaphysalis concinna*

*Dermacentor marginatus*

*Dermacentor reticulatus*

(LIEBISCH, 1978; STANEK UND HOFMANN, 1994).

### **2.4.2.1. Ixodes ricinus**

#### **2.4.2.1.1. Epidemiologie**

In Mitteleuropa ist diese Art mit Abstand die häufigste Zeckenart überhaupt, sie dürfte etwa 90 bis fast 100 % der gesamten Zeckenfauna ausmachen. *Ixodes ricinus* ist der weitaus bedeutsamste Überträger und zugleich wichtigstes Reservoir. Andere Zeckenarten spielen demgegenüber eine untergeordnete Rolle (LIEBISCH, 1978; RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; STANEK UND HOFMANN, 1994; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

*Ixodes ricinus*, auch „gemeiner Holzbock“ genannt, ist dabei hauptverantwortlich für die Verbreitung des westlichen Subtyps des FSMEV in Europa. Er kommt in ganz Europa, in den westlichen Teilen Russlands und im nördlichen Afrika vor. Der östliche Subtyp des FSMEV kommt hauptsächlich jenseits des Ural vor und wird vor allem von *Ixodes persulcatus*, auch „Taigazecke“ genannt, übertragen. Die Taigazecke kommt von Osteuropa bis Japan, im nördlichen China und in weiten Teilen der ehemaligen Sowjetunion vor (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; STANEK UND HOFMANN, 1994; KAHL, 1994).

Man findet diese Zecken also bevorzugt in kühl- oder warmgemäßigten Breiten der nördlichen Hemisphäre. Interessanterweise beschränkt sich die FSME nach derzeitigen Kenntnisstand weitestgehend auf diesen Klimagürtel (KAHL, 1994).

#### **2.4.2.1.2. Morphologie**

Der Holzbock verdankt seinen wissenschaftlichen Namen „Ricinus“ seiner im voll gesaugten Stadium Ähnlichkeit mit dem Rizinus-Samen (RULFI UND MOMCUOGLU, 1981).

Ein adultes Weibchen misst im nüchternen Zustand 3 bis 4 mm, während die Männchen ca. 2,5 mm lang sind (STANEK UND HOFMANN, 1994) (*Abb. 4*). Ein dunkelbraun bis schwarzes Rückenschild (Scutum) hat als morphologisches Merkmal der Familie der Schildzecken den Namen gegeben. Es bedeckt beim Männchen den ganzen Rücken und beim Weibchen im nicht voll gesogenen Zustand ca. ein Drittel des braunroten Leibes. Das Capitulum („Kopf“) der Schildzecke umfasst einen basalen (Basis

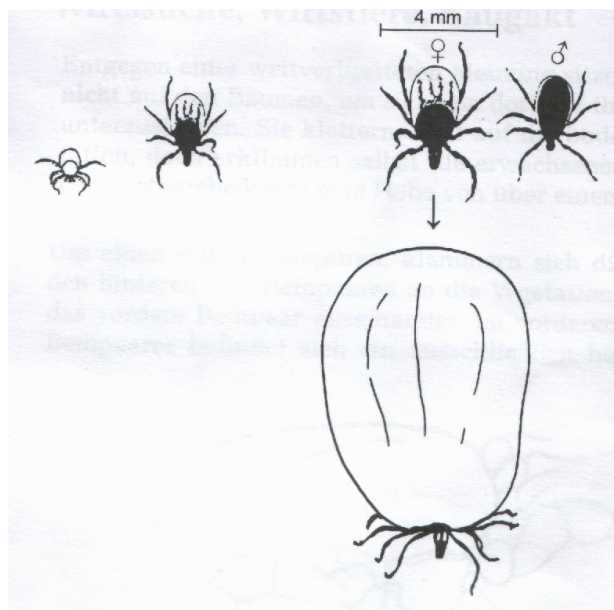
capituli) und einen apikalen Teil, welcher aus Stechborste (Hypostom) den Fühlern (Papeln) und den Cheliceren zusammengesetzt ist (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; HEINZ, 1996). Die hervorstehenden Mundwerkzeuge werden als Gnathosoma bezeichnet (KAHL, 1994). Das an der Ventralseite der Mundgliedmaßen gelegene Hypostom ist mit Widerhaken versehen. Die paarigen Cheliceren sind distal ebenfalls gezähnt. Sie werden mit besonderen Muskeln ein- und ausgezogen. Zwischen den Cheliceren und dem Hypostom münden die Mund- und Speicheldrüsen (*Abb. 6*). Die Speicheldrüsen sind für den Wasserhaushalt verantwortlich und produzieren Antikoagulantien, Enzyme, lokale Anästhetika und zementähnliche Sekrete (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981). Die Mundwerkzeuge der männlichen Zecken sind kürzer und gedrungener (STANEK UND HOFMANN, 1994).

Die Fühler sind aus vier ungleichmäßig großen Gliedern zusammengesetzt, von denen das apikale mit Chemorezeptoren versehen ist. Der übrige Körper (Idiosoma) ist unterschiedlich stark behaart und mit Warzen und Reifen versehen. Beim Weibchen ist er stark dehnbar und nimmt nach der Blutmahlzeit oft eine hellgraue Farbe an. Dabei kann das Weibchen ca. das 100 bis 200fache seines Gewichtes an Blut aufnehmen, womit es sein Volumen etwa um das 120fache vergrößert. Im vorderen Drittel der Ventralseite findet sich die Genitalöffnung, im hinteren Drittel die Analöffnung. Unterhalb der Coxe des vierten Beinpaares liegen die Atemöffnungen (Stigmen). Die Beine sind im Allgemeinen lang, stark chitinisiert und siebengliedrig. Das letzte Beinsegment (Tarsus) des ersten Beinpaares trägt das Hallersche Organ, welches Feuchtigkeit, Geruchskomponenten, Kohlenstoffdioxid und Pheromone wahrnimmt. Das erste Beinpaar wird daher weniger für die Lokomotion als vielmehr zur Orientierung eingesetzt. Weitere Sinneshaare an den Beinen reagieren auf Temperaturschwankungen. Die Beine enden distal in zwei gut ausgebildeten Krallen und tragen zudem eine Haftscheibe (Pulvillum) (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; HEINZ, 1996). Die Nymphen sind 1 mm groß und morphologisch weitestgehend mit den Imagines identisch, Stigmen und Geschlechtsöffnung fehlen. Die Larven sind 0,6 bis 1,0 mm lang, sechsbeinig (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; STANEK UND HOFMANN, 1994). Bei den Larven und den Nymphen wird der Rücken vom Rückenschild weniger als zur Hälfte bedeckt (*Abb. 5*).

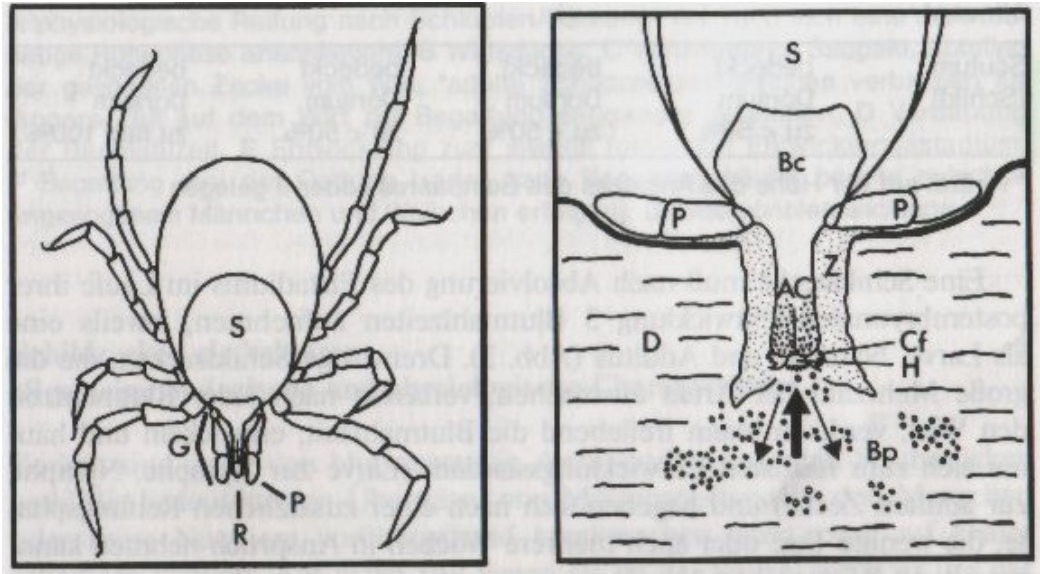




**Abb. 4:** Adulte Zecken : links Männchen, rechts Weibchen (PAULI, 2001).



**Abb. 5:** Entwicklungsstadien von *Ixodes ricinus*. Oben v. l. n. r.: Larve, Nymphe, Adulte (Weibchen, Männchen). Unten: voll gesogenes Weibchen (HOFMANN UND STANEK, 1994).



**Abb. 6:** Zecke Mundwerkzeuge (KAHL, 1994)

Ungesogenes Schildzeckenweibchen

Schematische Darstellung der Mundwerkzeuge einer saugenden Schildzecke

**S** Scutum (Schild), **G** Gnathosoma („Kopf“), **P** Pedipalpen, **R** Rostrum (Cheliceren, Chelicerenscheiden, Hypostom), **Bc** Basis capituli, **Z** Zementsubstanz, **AC** Äußere Chelicerenscheiden, **D** Dermis der Wirtshaut, **Cf** Chelicerenfinger, **H** Apikales Ende des Hypostoms, **Bp** Blutpool, entzündliche Infiltrate, lysiertes Wirtsgewebe.

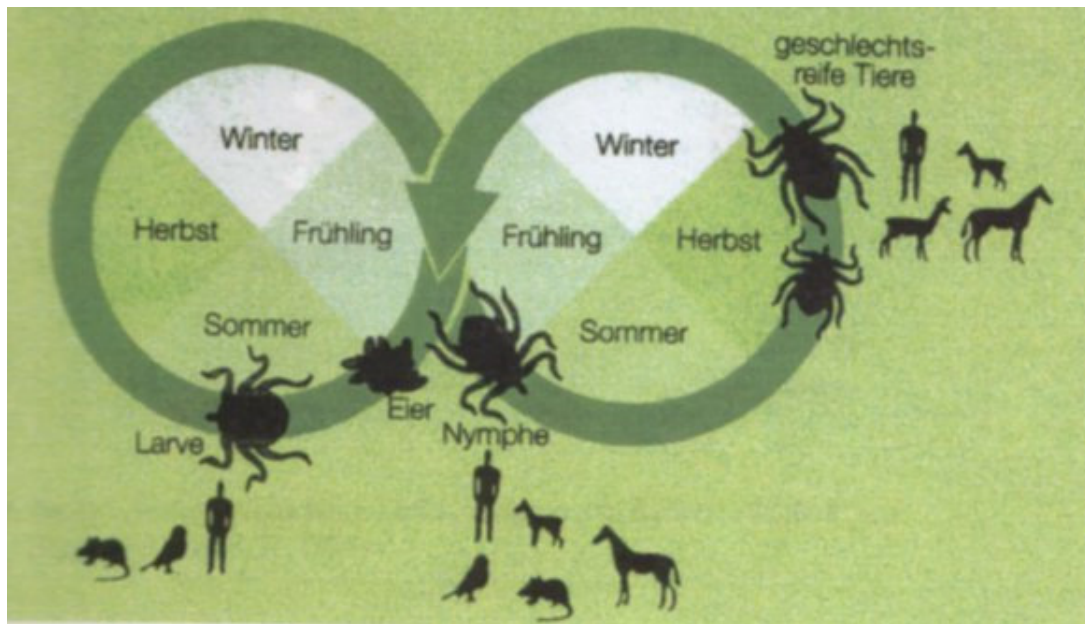
#### 2.4.2.1.3. Entwicklungszyklus

Der Holzbock verbringt den überwiegenden Teil (bis zu 99 %) seines Lebens frei lebend am Boden oder in der Vegetation (LIEBISCH, 1978; RADDI UND KUNZ, 1983; KAHL, 1994).

Es handelt sich um eine dreiwirtige Zecke, das heißt, dass die Zecke in jedem Entwicklungsstadium (Larve, Nymphe, Imago) einmal Blut von einem Wirbeltier aufnehmen muss, ehe sie sich weiter entwickeln kann. In der „frei lebenden“ Zwischenzeit finden die Häutungen und die Eiablage statt (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; RADDI UND KUNZ, 1983; KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

Vor der letzten Blutmahlzeit findet die Kopulation statt, meistens auf einem Wirt. Das Weibchen gibt Pheromone ab, welche das Männchen mit dem Hallerschen Organ wahrnimmt, um so den Weg zu ihm zu finden. Bei der Kopulation kriecht das Männchen auf dem Rücken liegend, unter das Weibchen, die Tiere berühren sich an den Ventralseiten. Das Männchen führt seine Mundwerkzeuge zur Fixation in die weibliche Geschlechtsöffnung ein und scheidet anschließend eine Spermatophore aus, welche nach dem Herausziehen der Mundgliedmaße auf die Spitze der Cheliceren aufgenommen und in die Geschlechtsöffnung eingeführt wird. Die ganze Prozedur kann bis zu einer Woche dauern. Ein Männchen kann mehrere Weibchen befruchten, es stirbt kurz danach. Nach der Kopulation beginnt das Weibchen die 6 bis 11 Tage dauernde Blutmahlzeit. Während der folgenden zwei Monate werden in einigen Eiablagen 500 bis 3000 Eier gelegt. Die Eier sind ovoid und 1 mm lang. Die Eier werden mit dem Sekret des Geneschen Organs, welches sich in der Nähe der Geschlechtsöffnung befindet, zum Schutz vor Austrocknung bedeckt und auf dem Boden unter Laub und Gräsern deponiert. Nach 4 bis 7 Wochen schlüpfen die Larven aus, welche nach 2 bis 3 Wochen einen Wirt aufsuchen und auf diesem während 2 bis 5 Tagen saugen. Anschließend lassen sie sich zu Boden fallen und verbleiben dort während 3 bis 8 Wochen, bevor sie sich zu den Nymphen häuten. Nach weiteren 3 bis 10 Wochen wird ein neuer Wirt aufgesucht, dessen Blut während 2 bis 7 Tage aufgenommen wird. Nach einem Stadium inaktiver Bodenformen während 1 bis 4 Monaten entwickeln sich die Nymphen zu Adulttieren (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; HEINZ, 1996).

Die Entwicklungszeit einer Generation dauert im Minimum 170 Tage. In unseren Breiten verlängert sie sich gewöhnlich auf zwei, nach den Angaben mancher Autoren auf drei Jahre (RADDA, 1978). Alle Entwicklungsstadien können zeitlich ausgedehnt werden, wenn die Umweltverhältnisse für die Entwicklung ungünstig sind. Im Maximum kann die Entwicklung bis zu sechs Jahren dauern (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; RIEDL ET AL, 1973; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996). Gibt es in einem Sommer sehr viele Zecken, ist im übernächsten Jahr mit einer erneuten Plage zu rechnen (BLESSING, 1982) (*Abb. 7*).



**Abb. 7:** Entwicklungszyklus von *Ixodes ricinus* (HEINZ, 1996).

#### 2.4.2.1.4. Stichmechanismus

*Ixodes ricinus* findet seine Wirte unter natürlichen Bedingungen auf thigomotaktischem Weg. Er klettert Gräser und Sträucher hoch bis zu bestimmten, nach Entwicklungsstadien verschiedenen Höhen. Larven entfernen sich dabei bis zu 30 cm, Nymphen bis zu 1 Meter und Adulte bis durchschnittlich 1,50 Meter vom Boden (RIEDL ET AL, 1973; LIEBISCH, 1978; KAHL, 1994). Sie werden auf den Spitzen von Kräutern und Grashalmen sowie auf der Schattenseite von Pflanzen angetroffen, seltener halten sie sich an den Rinden von Bäumen und Sträuchern auf (JETTMAR, 1957).

Der Körper ist nach unten gerichtet, das vorderste Beinpaar wird aufgespreizt, damit mit Hilfe des Hallerschen Organs und anderer Sinnesorgane die Zecke auf thermische, chemische und physikalische Reize (z. B. Erschütterungen, Temperaturschwankungen, hervorgerufen durch ein vorbeigehendes Wirtstier) reagieren kann. Wahrscheinlich spielt auch die Kohlenstoffdioxid- und Buttersäure-Abgabe des Wirtstieres eine Rolle, auf das sich die Zecke im richtigen Moment fallen lässt, bzw. von welchem sie abgestreift wird (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; STANEK UND

HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996). Bereits ein für Sekundenbruchteile bestehender Kontakt reicht einer wirtsuchenden Zecke meist aus, um auf einen Wirt überzuwechseln (KAHL, 1994).

Zecken klettern also nicht, wie z. T. immer noch angenommen wird, auf Bäume und lassen sich dann auf ihre Wirtstiere fallen (KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

An den Cheliceren (den stechend schneidenden Mundwerkzeugen) sind die scharfkantigen Chelicerenfinger angesetzt, mit deren Hilfe die Zecke die Wirtshaut und das darunterliegende Gewebe aufritzt. Die Cheliceren mit den Chelicerenscheiden und das bewegliche Hypostom, in welchem sich das Nahrungsrohr befindet, werden in die Stichwunde eingeführt (JETTMAR, 1957; RULFI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994). Die Zecke erhält durch die Chelicerenfinger und durch die Abgabe eines schnell härtenden Gewebes, der so genannten Zementsubstanz, die sich zwischen Rostrum und Wirtsgewebe ansammelt, schnell guten Halt. Die Pedipalpen liegen während des Saugaktes der Wirtshaut seitlich abgespreizt horizontal auf. Während dieses Vorgangs entsteht eine Wundhöhle, die Blut, verdaute Wände der kleinsten Blutgefäße, aufgelöste Zellen und Gewebsflüssigkeit enthält, deshalb werden Zecken auch als so genannte „Pool-Feder“ bezeichnet (*Abb. 6*) (KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994). Durch die anästhesierenden, schmerz- und entzündungshemmenden Eigenschaften des Speichels bleibt dieser Vorgang vom Wirtstier oft unbemerkt (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994).

*Ixodes ricinus* besitzt stechend-saugende Mundgliedmaßen (Cheliceren und Hypopharynx), daher wird die Durchdringung der Haut des Wirtes als Stich und nicht als Biss bezeichnet (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981).

Vom Befall des Wirtstieres bis zum Stich können 12 Stunden vergehen. Der Stechakt selbst dauert maximal 15 Minuten (RULFI UND MOMCUOGLU, 1981; STANEK UND HOFMANN, 1994).

Die Männchen saugen allerdings kein oder kaum Blut, sondern nehmen während eines kurzen Saugaktes nur etwas Gewebsflüssigkeit zu sich, sie verdoppeln ihr Körpergewicht dabei. Die Weibchen hingegen saugen das 100 bis 200fache ihres Körpergewichtes auf. Larven wachsen dabei um das 10 bis 20fache und Nymphen um das 15 bis 40fache (HOFMANN, 1970; RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; RADDI UND KUNZ, 1983; KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994). Die Zecke wächst und dehnt sich bei dieser Blutmahlzeit also gewaltig. Die zur Zeckenhämolymph hypotomische Blutmahlzeit wird von der Schildzecke noch während des Saugaktes eingedickt und dem Wirt ein Teil des aufgenommenen Wassers reinjiziert. Die Zecke nimmt folglich bei weitem mehr an Substanz auf, als es ihrer Größenzunahme während des Saugaktes entspricht. So erreicht die Zecke eine Maximierung der Substanzaufnahme, denn die Energievorräte bestimmen ihre Überlebensfähigkeit in der folgenden frei lebenden Phase. Der Speichel wird intermittierend abgegeben (KAHL, 1994).

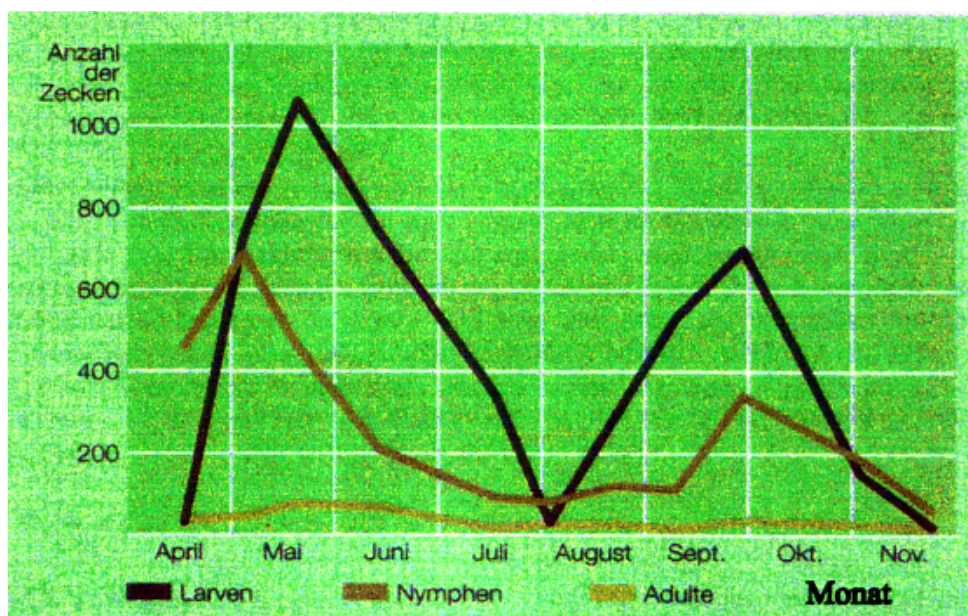
Als bevorzugte Stichstellen an unseren Haussäugetieren gelten die Kopfpartie zwischen den Ohren, der Hals mit der schlaffen Wamme, die Brust und die Leistengegend (JETTMAR, 1957).

#### **2.4.2.1.5. Jahreszeitliche Aktivität**

Der optimale Temperaturbereich für *Ixodes ricinus* liegt bei 14 bis 23 °C. Durchschnittliche Jahrestemperaturen von unter 8 °C unterbinden den Virus-Wirt-Kreislauf. Die Zeckenaktivität wird weiter durch die Bodenfeuchtigkeit und die relative Feuchtigkeit bestimmt. Das Optimum der relativen Luftfeuchtigkeit liegt bei 80 bis 90 %. Die Tiere überleben das Absinken der relativen Luftfeuchtigkeit unter 70 % nicht lang, ebenso ist eine relativen Luftfeuchtigkeit von 90 bis 92% für *Ixodes ricinus* kritisch (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994). Die Jahresniederschlagsmenge sollte 800 mm betragen und die Jahresmitteltemperatur 8 °C (RADDI, 1978).

*Ixodes ricinus* überwintert in allen Entwicklungsstadien im Freien am Boden, unter Laubdetritus, in Bodenspalten oder unterirdischen Höhlen von Wildtieren an Stellen, wo Temperaturen bis 0 °C (kurzfristig auch darunter) und eine relative Luftfeuchtig-

keit von mindestens 92 % bestehen. Eier und nüchterne Larven sterben unterhalb von  $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$  ab. Die Zeckenaktivität ist biphasisch und wird ausgelöst durch ein Ansteigen der Bodentemperatur auf 5 bis  $7\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Monate März, April). Sie endet im Herbst, sobald die durchschnittliche Lufttemperatur auf 5 bis  $7\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgesunken ist (Monate Oktober, November). Für Mitteleuropa generell gilt, dass sich die saisonale Aktivität von *Ixodes ricinus* von März bis Oktober erstreckt, mit Maxima in den Monaten Mai/Juni und September/ Oktober (Abb. 8). Feuchte Sommer und milde Winter fördern die Zeckenpopulationsdichte. Die Aktivitätsunterdrückung im Sommer ist mit hoher Temperatur und niedriger Luftfeuchtigkeit verbunden (GRESIKOVA ET AL, 1968; LIEBISCH, 1978; RADDI, 1978; RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994; KUNZ, 1994). Tageszeitlich ist die Zeckenaktivität auf den späteren Nachmittag, auf den Abend und die Nacht beschränkt. Die Tiere sind an sehr warmen, wolkenarmen Tagen aktiv, insbesondere an sonnenexponierten Stellen. Aktivitätsspitzen in der warmen Jahreszeit treten vor Regenschauern und Gewittern auf (KAHL, 1994). Vor allem bei noch hoher Luftfeuchtigkeit nach Regentagen sind die Zecken aktiv (WYLER ET AL, 1973).



**Abb. 8:** Saisondynamik von *Ixodes ricinus* (IMMUNO, 1996).

#### 2.4.2.1.6. Biotop

Der Holzbock wird bis zu 1200 m ü. M. angetroffen, zwischen 1200 und 1500 m ist er selten, und über 1500 m kommt er kaum mehr vor. Die größte Zeckendichte wird in den Höhenlagen um 600 m gefunden (RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981).

Die Struktur der Vegetation stellt wegen der Art der Wirtssuche einen wichtigen verbreitungsbeschränkenden bzw. -fördernden Faktor dar. So bieten Stellen mit fehlendem oder geringem Unterwuchs, wie etwa Nadelholzbestände, *Ixodes ricinus* keinen geeigneten Lebensraum (RIEDL ET AL, 1973). Die meisten der bisher genau lokalisierten Infektionsorte liegen an Übergangszonen zwischen verschiedenen Vegetationsformen (HEINZ, 1996).

Trotz ihrer relativ hohen Empfindlichkeit gegenüber trockenen Bedingungen sind die *Ixodes*-Zecken außerordentlich erfolgreich, indem sie vor allem in trockeneren Gebieten mikroklimatisch geschützte (= feuchte) Kleinhabitate bevorzugen, z. B. Orte geschützt vor Wind und Sonne, in denen andauernde Feuchtigkeit im Laufe des ganzen Sommers garantiert ist. Feuchte Stellen in der Umgebung von Seen und Flüssen sowie feuchter warmer Laub-, Auenwald und Mischwald sind bevorzugte Lebensräume. Die Larven werden gewöhnlich in Gruppen in feuchten Jungwäldern in Bodennähe gefunden. Sie bevorzugen gedeckte, unterwuchsreiche Standorte, während Nymphen und Adulte eher auf vergrasteten Lichtungen gefunden werden und auch an Waldrändern, die an Wiesen oder Felder grenzen und in diesem Gebiet besonders an Waldpfadrändern, Wildwechselln und Lagerplätze des Rehwildes. Sie kommen hier im Gebüsch (Holunder, Hasel und Brombeeren) und in der krautigen Vegetation, bestehend aus Gräsern und Farnen, vor. Eichen-, Buchen-, Kastanien-, Haselnuss-, Erlen- und Mischwälder werden bevorzugt. Eine ganzjährig geschlossene Laubschicht, wie sie von Buchen und Erlen bestandene Flächen bieten, stellt ein ideales Feuchtreservoir dar. So findet man die Zecken dann auch in diesen Laubschichten, wenn grasiger oder krautiger Unterwuchs fehlt. Sehr häufig finden sich Infektionsorte an wärmeren Südhanglagen mit niedrigem Strauchwerk und Hecken (JETTMAR, 1957; WYLER ET AL, 1973; RADDA, 1978; RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994; HEINZ, 1996).



In der offenen Landschaft ist das Auftreten von Ixodes-Zecken an das Vorhandensein von Büschen gebunden. Eine Ausnahme davon bilden Standorte mit ganzjährig hohen Regenmengen, z. B. auf den Britischen Inseln. Andererseits gilt aber, dass ein auf Dauer staunasser Boden für *Ixodes ricinus* ungeeignet ist.

In den letzten Jahren ist *Ixodes ricinus* in die Stadtparks von Berlin eingedrungen. Die Zecken wurden von Vögeln eingeschleppt und konnten sich wahrscheinlich dort etablieren, da in den letzten Jahren vermehrt das Falllaub liegengelassen wurde (KAHL, 1994).

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass FSME-Naturherde meist nicht durch eine Kultivierung der Landschaft beseitigt werden können. Durch die Einengung der Kleinbiotope auf die nicht kultivierten Restgebiete wird im Gegenteil die Zirkulation des FSMEV noch verstärkt, da die höhere Populationsdichte der Wirtstiere eine höhere Übertragungswahrscheinlichkeit mit sich bringt (HEINZ, 1996).

## 2.5. Virus-Vektorbeziehung

Alle Entwicklungsstadien von *Ixodes ricinus* saugen Blut, das heißt, die Zecke kann sich in jedem Entwicklungsstadium mit dem FSMEV infizieren. Es ist eine transovariale (vom Muttertier auf die Nachkommen) und transstadiale (von Entwicklungsstadium zu Entwicklungsstadium) Übertragung des FSMEV möglich, das heißt, eine einmal infizierte Zecke kann das FSMEV auf ihre Nachkommen übertragen und bleibt lebenslang trotz Häutungen infiziert. Die Angaben hinsichtlich der transovarialen Übertragung schwanken zwischen 0,1 und 25 % der schlüpfenden Larven (JETTMAR, 1957; RIEDL ET AL, 1973; KAHL, 1994; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996). Das Risiko einer Zecke, sich an einem infektiösen Reservoirwirt zu infizieren, steigt mit jedem Blutmahl, deshalb nimmt die Infektionsrate von der Larve über die Nymphe zum Adultus in der Regel an einem Standort zu (JETTMAR, 1957; PEREZ-EID ET AL, 1992; KAHL, 1994).

Die Zecken selbst erkranken dabei nicht. Das Virus vermehrt sich während der Vorhäutungsperiode um das Hundertfache (JETTMAR, 1957), in nahezu allen (RIEDL ET

AL, 1973) oder zahlreichen (KUNZ, 1994) Organen und kann auch auf Zeckengewebe-  
kulturen gut propagiert werden (RIEDL ET AL, 1973; LIEBISCH, 1978).

Nach der Metamorphose tritt das Virus in die Eklipse ein, während der es zwar nicht  
mehr nachweisbar ist, aber dennoch bis zu einem gewissen Prozentsatz im Organis-  
mus der Zecke persistiert. Erst nach einer mehrwöchigen Hungerperiode, wenn das  
neue Zeckenstadium wieder zu einem Saugakt bereit ist, gelingt auch wieder der  
Nachweis des FSME-Virus (RIEDL ET AL, 1973; LIEBISCH, 1978).

Durch die sehr umfangreiche, mehrere Tage dauernde Blutmahlzeit bleibt den Erre-  
gern zur Übertragung relativ lange Zeit. Die reichliche Salivation bietet den Erregern  
weiterhin die Möglichkeit, die Zecke zu verlassen und in den Wirt zu gelangen (siehe  
Stichmechanismus S. 26). Das FSMEV siedelt sich in den Speicheldrüsen und den  
Ovarien infizierter Zecken an (JETTMAR, 1957; KAHL, 1994), ist aber auch in der Coe-  
lomflüssigkeit zu finden (JETTMAR, 1957).

Zecken sind sehr langlebig und widerstandsfähig gegenüber klimatischen Unbilden.  
Dies bietet dem Erreger gute Chancen für ein oft mehrmonatiges oder sogar mehrjäh-  
riges Überdauern bei weiterbestehender Übertragungsmöglichkeit (KAHL, 1994).  
Das Virus kann in jedem Zeckenstadium überwintern (ACKERMANN UND RHESE-  
KÜPPER, 1979; KUNZ, 1994). Die Zecken sind daher nicht nur als Vektoren, sondern  
auch als Virusreservoir (Langzeit-Wirte) des infektiösen Agens anzusehen (RIEDL ET  
AL, 1973).

In Baden-Württemberg und Bayern wurden Gebiete untersucht, in denen sich Men-  
schen mit FSME infiziert hatten. Es wurden einige Tausend Zecken, Adulte und  
Nymphen, gesammelt und in Isolierungsversuchen mit Säuglingsmäusen untersucht.  
Die Durchseuchungsrate der Zecken betrug insgesamt 1,29 %, die der Nymphen be-  
trug 0,76 % und die der Imagines 3,6 % (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

Bei einer jüngeren Untersuchung in Baden-Württemberg und Bayern wurde die  
FSME Durchseuchungsrate der Zecken mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) be-  
stimmt und zwar in Abhängigkeit von der Jahreszeit, in zwei aufeinander folgenden  
Jahren. Zu Beginn der Zeckensaison im Mai waren die Zecken bis auf eine Ausnah-  
me stärker durchseucht als am Ende der Saison im September. Im Jahr 1997 waren

die Durchseuchungsraten allgemein höher als 1998. Die Durchseuchungsrate lag in Baden-Württemberg zwischen 0,6 und 3,4 % und in Bayern zwischen 0,9 und 2,0 % (SÜSS ET AL, 1999).

Im Freiburger Hochendemiegebiet ergab eine weitere Untersuchung eine Durchseuchungsrate der Nymphen von 0,17 % und die der adulten Zecken von 0,46 % (EISTETTER, 1998).

Andere Autoren geben für die mitteleuropäischen Naturherde eine Durchseuchung der Vektorpopulation zwischen 0,1 und 5 % an (0,2 bis 2 % (ROGGENDORF, 1983); 1 bis 5 % (KAHL, 1994); 0,1 bis 5 % (KUNZ, 1994)).

In ausländischen Endemiegebieten ist die Durchseuchungsrate zum Teil erheblich höher oder niedriger.

PEREZ-EID (1992) untersuchte Zecken im Elsass. Dabei waren 0,6 bis 0,79 % der Adulten, 0,04 bis 0,12 der Nymphen und 0,0 % der Larven positiv.

KOLMAN und HUSOVA (1971) untersuchten Zecken in einem Endemiegebiet in der Tschechischen Republik. 1,91 % der Zecken waren infiziert.

In einem FSME-endemischen Gebiet in der Schweiz wurde von 1000 gesammelten Zecken eine infizierte Zecke gefunden. In einigen Regionen fand sich das Virus bei jeder 100. Zecke (MATILE ET AL, 1981).

GRESIKOVA ET AL (1968) untersuchten zwischen 1964 und 1966 in der Slowakei, in Mähren und in Ungarn Nymphen und Adulte, von denen 0,3 bis 0,9 % bzw. 0,3 bis 8,3 % positiv waren. Eine erhebliche Anzahl von Isolierungsversuchen gelang von Zecken, welche an bestimmten Kontrollpunkten gesammelt wurden. Dieses Ergebnis führte zur Annahme, dass die an solchen Plätzen beobachteten hohen Zahlen virusinfizierter Zecken auf das Vorkommen von Kleinsäugetieren hinweisen, welche mit TBE-Virus infiziert worden waren.

Russische Autoren geben Durchseuchungsraten von 0,25 bis 5,0 % (Smoroinzeff) bzw. 8 bis 10 % (Levkowitsch) an (zitiert in: JETTMAR, 1957).

## 2.6. Vektor-Wirtbeziehung

*Ixodes ricinus* zeigt ein sehr weites Wirtsspektrum. Er parasitiert in Mitteleuropa an über 50 Säugetierarten und zudem an einer Anzahl Reptilien und Vögel. Entsprechend der Horizontalverteilung der einzelnen Entwicklungsstadien im Biotop werden kleinere Säugetiere, darunter eine Vielzahl von Nagetieren v. a. Muriden (Gelb-, Röt-, Feld-, und Spitzmaus) (RADDA, 1978), Vögel und Reptilien hauptsächlich von Larven und Nymphen befallen, Großsäuger dienen den Adulten als häufigste Nahrungsquelle. Wichtigster Wirt der Nymphen und Adulten dürfte das in Mitteleuropa stark gehegte Rehwild sein. Daneben sind Feldhase, Kaninchen, Rothirsch, einige Carnivoren wie Fuchs, Dachs und verschiedene Marderarten entsprechend ihres Vorkommens mehr oder minder stark parasitiert. Die domestizierten Huftiere zeigen nur bei besonderen Weideverhältnissen eine stärkere Verzeckung. Mensch, Hund und Katze werden ebenfalls befallen (RIEDL ET AL, 1973; LIEBISCH, 1978; RUFLI UND MOMCUOGLU, 1981; KAHL, 1994; HEINZ, 1996). Vögel sind im Allgemeinen wesentlich weniger parasitiert als Kleinsäuger (RIEDL ET AL, 1973), aber sie sind ein relativ häufiger Wirt für die Jungstadien, besonders für die Nymphen (MATILE ET AL, 1981). Die Populationsdichte der Zecken steht natürlich in engem Zusammenhang mit der Populationsdichte der Wirtstiere. Von Zecken bevorzugte Biotope weisen im Allgemeinen große Populationen an Kleinsäugetern, besonders Mäusen und Insektivoren auf (RIEDL ET AL, 1973; RADDA, 1978). Die Mäusepopulationen sind bekanntlich starken Schwankungen unterworfen. Insektivoren, Vögel und Reptilien zeigen eine wesentlich konstantere Bevölkerungsentwicklung. Ihre Bedeutung als Wirte der Larven und Nymphen steigt zu Zeiten minimalen Vorkommens der Kleinnagern ganz erheblich (RIEDL ET AL, 1973).

Nach KAHL (1994) widerspricht dieses breit gefächerte Wirtsspektrum an sich der Auffassung von einem idealen Vektor, der ausgeprägt wirtsspezifisch sein sollte und vor allem an solchen Arten parasitiert, welche reservoirkompetent für den betreffenden Erreger sind. Möglicherweise wird der durch die geringe Wirtsspezifität hervorgerufene epidemiologische „Verdünnungseffekt“ im Erregerkreislauf durch eine häufig hohe Befallsdichte dieser Zecke zumindest in Bezug auf die wichtigsten Wirtsarten entschieden gemindert.

## 2.7. Virus-Wirtbeziehung

Vektoren übertragen Erreger beim Saugakt auf Wirte bzw. infizieren sich auf infektiösen Reserviertieren. Im Reservoir findet eine Reproduktion des Erregers statt. Infizierbar durch einen Stich einer Zecke sind viele Wirbeltiere. Dies bedeutet aber nicht, dass eine Infektion in jedem Fall auf andere am Wirt saugende Zecken weitergegeben werden kann. Diese Fähigkeit zeichnet nur Reservoir aus. Der Wirt ist Träger des Erregers, ohne zum Erregerkreislauf beizutragen. Ein Wirt kann also jedes von einem Vektor parasitierte Wirbeltier sein. Reservoir sind Teil eines ökologisch epidemiologischen Konzepts, das funktionelle Aspekte betont, und stellen essentielle Glieder in der Übertragungskette des Erregers dar (KAHL, 1994). Ziegen zum Beispiel können zwar von infektiösen Zecken infiziert werden und zeigen dann auch eine Virämie. Diese Ziegen können aber wiederum keine nicht infizierten Zecken neu infizieren (NOSEK ET AL, 1967).

Zeckenweibchen infizieren im Allgemeinen nur ein einziges Wirtstier. Zeckenmännchen saugen häufig und können dabei das Virus auf mehrere Individuen übertragen (JETTMAR, 1957; HOFMANN, 1970).

Mit dem Zeckenspeichel gelangen eventuell darin enthaltene, Krankheitserreger in den Wirt; gleichzeitig werden im Gewebe des Wirtes befindliche Erreger mit der Blutmahlzeit in den Zeckendarm gesaugt. Für eine Infektion mit dem FSME-Virus ist dabei offenbar nicht notwendig, dass die Zecke längere Zeit Blut saugt. Zeckenmännchen nehmen bei einem nur kurzen Saugakt ein wenig Gewebsflüssigkeit auf, die Zeit reicht jedoch aus für eine Virusübertragung (HOFMANN, 1970). Das Virus wird bei einem Zeckenstich sofort mit dem Einsatz der Abgabe von Speicheldrüsensekret auf das Wirbeltier übertragen (KAHL, 1994; KUNZ, 1994). Bei einer Erstinfektion gelangt es über die Lymphbahnen in die Milz, wo eine Vermehrung stattfindet. Neugebildetes Virus wird dann an die Lymphozyten gebunden und über den Ductus thoracicus in die Blutbahn eingeschwemmt. Im Blut kreist das Virus frei und ist nur zum geringen Teil an die Leukozyten gebunden, um gegebenenfalls in bestimmte Organe, im Besonderen ins Zentralnervensystem zu penetrieren. Die Infektion führt keineswegs regelmäßig zu Symptomen von Seiten des Nervensystems. Mit der Entwicklung von Serumantikörpern pflegen das Fieber und die akuten Krankheitserscheinungen zu

verschwinden. Die entzündlichen Gewebsreaktionen klingen ab. Beim immunen Tier läuft die Infektion nur bis zum regionären Lymphknoten (RIEDL ET AL, 1973; ACKERMANN UND REHSE-KÜPPER, 1979).

Der Prozentsatz virotropher Zecken hängt vom Grad der Virämie des Wirtstieres und des vorangegangenen Entwicklungsstadiums ab (RIEDL ET AL, 1973). Nur während der Dauer der Virämie kann eine Infektion der Zecken erfolgen. Ob eine Spezies als Hauptwirt oder Reservoir des Virus fungiert, ist von der Empfänglichkeit der Tierart für das Virus abhängig. Die Dauer und Stärke der Virämie, die Anzahl der noch nicht immunisierten Individuen, die in erster Linie von der artspezifischen Dauer des Generationswechsels abhängt, sind hierbei entscheidend.

Eine starke Verzeckung und einen relativ raschen Populationstausch weisen im besonderen Maße die verschiedenen Kleinsäugerarten auf. Bei einer Anzahl von Insektivoren- und Nagetierarten, darunter vor allem verschiedene Mäusearten, stellt sich eine genügend hochtitrige und langdauernde Virämie ein, um eine Infektion von Zecken zu gewährleisten. Sie werden daher als Hauptwirte (Reservoir) des FSME-Virus angesehen. Die Zunahme der FSME-Erkrankungen wird häufig nach vorhergehenden Vermehrungen der Mäuse beobachtet; oft geschieht dies im Herbst (RIEDL ET AL, 1973; DUNIEWICZ, 1976; HEINZ, 1996). Die Virämie ist bei FSME-Reservoirtieren in der Zeckensaison auf wenige Tage beschränkt. Die Effektivität der Erregerweitergabe hängt in diesem Fall also stark vom Zeckenbesatz eines Reservoirwirtes in der kurzen virämischen Phase ab. Die Konsequenz ist, dass das FSMEV bevorzugt an Lokalitäten mit einer dauerhaft hohen Vektordichte präsent ist (KAHL, 1994).

Igel, Siebenschläfer und einige Fledermausarten erwiesen sich sogar als geeignete Winterreservoir. Während des Winterschlafs unterliegt auch das Virus einer Persistenz, um nach dem Erwachen seines Wirtstieres wieder eine Virämie zu verursachen (RIEDL ET AL, 1973; ACKERMANN UND REHSE-KÜPPER, 1979).

Kurzdauernde und niedrigtitrige Virämien, traten bei Reh, Rind und Ziege auf. Andererseits scheiden Ziegen, Kühe und Schafe während der Virämie virushaltige Milch aus und können so eine Infektionsquelle für den Mensch darstellen (RIEDL ET AL, 1973; RIEGER ET AL, 1998).

Verschiedene heimische Carnivoren entwickelten hochtitrige Virämien; sie können außerdem durch Verschleppung virophorischer Zecken zur Verbreitung des Virus und Entstehung neuer Herde beitragen (RIEDL ET AL, 1973).

Die Großsäuger tragen unmittelbar nur wenig zu Kreislauf und Vermehrung bei. Es tritt nur eine kurzdauernde Virämie ein. Sind größere Säugetiere durch mehrere Zecken befallen, so kann das Virus, auch ohne Auftreten einer messbaren Virämie im Wirt, von einer infizierten auf eine nicht infizierte Zecke übertragen werden (LABUDA ET AL, 1993). Sie sind außerdem in ihrer Eigenschaft als Hauptwirte der Adulten für die Aufrechterhaltung starker Zeckenpopulationen und damit für den Bestand eines Naturherdes unerlässlich notwendig (RIEDL ET AL, 1973; HEINZ, 1996). Daneben tragen sie durch ihren großen Aktionsradius zu einer weiteren Verbreitung des FSMEV bei (JETTMAR, 1957; RIEDL ET AL, 1973; HEINZ, 1996). Den Großsäugern kommt auf Grund ihrer Antikörperbildung und ihrer längeren Lebensdauer große praktische Bedeutung als „Indikatoren“ bei der Erstellung von serologischen Übersichten und Seuchenkarten zu (RIEDL ET AL, 1973).

Bei Vögeln trat keine (RIEDL ET AL, 1973) oder nur eine sehr kurze (HEINZ, 1996) Virämie auf. Ebenso weisen diese Tiere keine oder nur eine schwache Antikörperbildung auf, außer bei Wasservögeln, welche wohl aber selten von *Ixodes ricinus* parasitiert werden (RIEDL ET AL, 1973). Sie spielen bei der Virusverbreitung eine große Rolle (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; MATILE ET AL, 1981).

Der Mensch spielt weder als Nahrungs- noch als Infektionsquelle für die Zecken eine wesentliche Rolle. Bei ihm endet die Infektionskette (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; BLESSING, 1982; KUNZ, 1994).

## **2.8. Symptomatik der FSME**

### **2.8.1 FSME beim Pferd**

Bisher findet man in der Literatur nur spärliche Angaben über das Erkrankungsbild der FSME bei Pferden.

Die erste Beschreibung der FSME bei einem Pferd, einer 4-jährigen Schimmel-Welshponystute mit schweren neurologischen Ausfällen, stammt von WALDVOGEL ET AL (1981). Den Autoren gelang die Virusisolation aus der nasalen Hälfte der linken Großhirnhemisphäre. Im Serumneutralisationstest (SNT) und im Hämagglutinationstest konnte ein FSME-Virusstamm identifiziert werden.

GRABNER (1993) beschrieb die Symptomatik einer Kleinhirnenzephalitis mit hochgradiger Ataxie und Inkoordination. In Serum und Cerebrospinalfluid (CSF) des Tieres wurden Antikörper gegen das FSMEV nachgewiesen.

Von LUCKSCHANDER (1998) wurden 8 FSME-Verdachtsfälle genauer untersucht und beschrieben. Es handelt sich um Pferde, welche sich in den Sommermonaten in einem österreichischen Endemiegebiet befanden. Alle 8 hatten sowohl im kompetitiven ELISA (Immuno Orth) als auch im SNT einen positiven Antikörper-Titer. Sieben Pferde hatten neurologische Symptome unterschiedlichen Ausmaßes, wobei die von WALDVOGEL ET AL (1981) beschriebenen schweren neurologischen Ausfälle nur bei zwei Pferden beobachtet werden konnten. Bei einem Pferd ließ sich die Verdachtsdiagnose bestätigen. Bei der neuropathologischen Untersuchung wurde eine nichteitrige Meningoenzephalitis mit perivaskulären Infiltraten, Ganglienzellnekrosen und Gliaknötchen gefunden.

Folgende Symptome wurden bei Pferden, welche an schweren neurologischen Ausfällen litten, von den drei Autoren übereinstimmend beschrieben: ein deutlich gestörtes Allgemeinbefinden, Bewusstseinstörungen, Zittern und Zähneknirschen. Die innere Körpertemperatur und die Pulsfrequenz waren erhöht, die Schleimhäute gerötet bis leicht gelblich, die KFZ verzögert. In der Bewegung fiel der ataktische Gang auf. In Intervallen traten epileptiforme Anfälle auf, welche durch „stressende“ Manipulationen beliebig ausgelöst werden konnten. Die Krämpfe, die in der ersten Phase tonisch-klonischer Art waren und sich in einer zweiten Phase als reine Streckkrämpfe an allen vier Gliedmaßen manifestierten, dauerten jeweils 1 bis 2 Minuten. Wegen der immer häufiger auftretenden epileptiformen Anfälle, mussten die Tiere euthanasiert werden (WALDVOGEL ET AL, 1981; GRABNER, 1993; LUCKSCHANDER, 1998).

Neben teilweisen Lähmungen der Hals- und Schultergürtelmuskulatur (GRABNER, 1993) wurden als weitere Symptome Inappetenz, Schreckhaftigkeit, Kreisbewegun-



gen, verminderte Hautelastizität, Apathie bis Stupor beschrieben (LUCKSCHANDER, 1998).

Die Infektion kann jedoch auch einen chronischen Verlauf zeigen. Bei diesen Tieren wurden zum Teil nur geringgradige neurologische Defizite mit stetiger Besserung bis hin zur Heilung verzeichnet, wie zum Beispiel eine geringgradige Schwäche der Hinterextremität, eine zur Seite abweichende Schweifhaltung, gering verzögerte Stell- und Haltungsreflexe. Bis zur vollständigen Heilung vergingen einige Wochen bis Monate. Die Antikörpertiter waren gesunken oder verschwanden (LUCKSCHANDER, 1998).

Eine Sicherung der Verdachtsdiagnosen durch CSF-Untersuchungen wurde in diesen Fällen jedoch nicht vorgenommen.

### **Diagnostische Befunde**

WALDVOGEL (1981) fand außer einer geringgradigen Erhöhung der Muskelenzymaktivitäten (CK und AST) keine Abweichungen der hämatologischen und klinisch-chemischen Werte. Insbesondere war keine Leukopenie nachweisbar. Auch die Liquoruntersuchung ergibt keine Abweichungen.

GRABNER (1993) fand dagegen eine mononukleäre Pleozytose und eine erhöhte Proteinkonzentration im Liquor.

LUCKSCHANDER (1998) fand auch Veränderungen im Liquor, wobei eine positive Pandyreaktion und eine Zellzahl von 1300/  $\mu\text{l}$  vorlagen.

Darüber hinaus konnte LUCKSCHANDER (1998) in einem Fall eine Erhöhung der ALT, AST, AP, von Kreatinin und Harnstoff finden. Eine Leukozytose, ein erhöhter Hämatokrit und eine verlängerte Gerinnungszeit wurden festgestellt. In einem zweiten Fall war nur die Serumkreatinase erhöht, das rote und weiße Blutbild ansonsten in der Norm. In einem dritten Fall war nur die Kreatinkinase erhöht.

## **Diagnose**

Die Diagnose wird aufgrund der Symptome und dem akuten progressiven Verlauf, den Ergebnissen der Liquoranalyse und dem Nachweis spezifischer Antikörper gegen FSMEV mittels eines ELISA in Serum und Liquor gestellt. Das Ergebnis kann in einem SNT überprüft werden. Post mortem kann die Diagnose neurohistologisch bestätigt werden (GRABNER, 1993; LUCKSCHANDER, 1998; REINER UND FISCHER, 1998).

## **Pathologisch-anatomische Befunde**

Makroskopisch waren keine Veränderungen zu finden.

Histologisch fanden alle Autoren bei den Pferden, welche aufgrund der schweren neurologischen Ausfälle und der wiederkehrenden epileptiformen Anfälle euthanasiert werden mussten, eine nichteitrige Meningoenzephalitis in allen Regionen des Gehirns mit lokal wechselnder Intensität. Besonders betroffen war die Kleinhirnrinde (WALDVOGEL ET AL, 1981; GRABNER, 1993; LUCKSCHANDER, 1998).

Prominente Befunde waren dichte vaskuläre und perivaskuläre Infiltrate von Lymphozyten und Monozyten, sowohl in der grauen als auch in der weißen Substanz. Im Kleinhirn trat Purkinjezelldegeneration mit Neuronophagie deutlich in Erscheinung. Die Leptomeninx zeigte hier stark eine besonders massive perivaskuläre Infiltration. Einschlusskörperchen lagen nicht vor (WALDVOGEL ET AL, 1981; LUCKSCHANDER, 1998).

Differentialdiagnostisch sind Entzündungen des Gehirns durch andere virale Erreger (Borna-Virus, EHV, Tollwutvirus) in Betracht zu ziehen (WALDVOGEL, 1981; GRABNER, 1993; LUCKSCHANDER, 1998).

### **2.8.2 FSME beim Hund**

In der Schweiz wurde 1972 erstmals aus dem Gehirn eines an Enzephalitis erkrankten Hundes von GRESIKOVA ET AL (1972A) und WANDELER ET AL (1972) ein Virus isoliert, das im Hämagglutinationshemmungstest als FSMEV charakterisiert wurde. Der Hund wies akute zentralnervöse Störungen auf.

GRESIKOVA ET AL (1972B) führte eine experimentelle Infektion an 6 Hundewelpen durch. Die Infektion führte zu einer Serokonversion, löste aber keine Erkrankung aus. Die Welpen wurden mit infizierten Zecken oder subkutan mit dem Virus direkt infiziert. Die Welpen zeigten weder eine Erhöhung der Körpertemperatur noch klinische Symptome einer FSME, ein Welpen der subkutan infizierten Gruppe zeigte eine Schwäche der Extremitäten und wurde daraufhin eingeschläfert. Eine Virämie konnte zwischen dem 1. und 7. Tag festgestellt werden. Das Blut wurde nach sieben Tagen und dann z. T. wöchentlich auf Antikörper hin untersucht. Alle Welpen serokonvertierten; den höchsten Titer fand man zwischen der 4. und 5. Woche. Das Virus konnte weder aus dem Zentralnervensystem noch aus den inneren Organen oder aus dem Speichel isoliert werden. Histologisch konnten keine Veränderungen gefunden werden. GRESIKOVA kam zu dem Resultat, dass bei Hunden in den meisten Fällen die Infektion inapparent verläuft, wenn sie unter natürlichen Bedingungen mit FSME infiziert werden. Man sollte den Hund als einen möglichen Wirt betrachten, welcher infizierte Zecken in die Nähe der Menschen bringen kann.

TIPOLD ET AL (1993) beschrieb fünf FSME-Fälle bei Hunden aus einem Schweizer Endemiegebiet, alle fünf Hunde starben oder wurden aufgrund der schlechten Prognose euthanasiert. Es wird über die pathohistologischen und immunhistologischen Ergebnisse berichtet. Tipold kam zu dem Schluss, dass beim Hund keine natürliche Resistenz gegenüber dem Virus der Zeckenzephalitis vorliegt. Es besteht aber die Möglichkeit, dass beim Hund eine geringere Neuroinvasivität als beim Mensch vorliegt und andere Organsysteme außerhalb des ZNS keiner krankhaften Veränderung unterliegen, und das Virus, das durch Zeckenstich übertragen wird, durch ein gut funktionierendes Immunsystem rasch eliminiert wird.

Bei 8 Tieren, welche wegen Tollwutverdacht euthanasiert wurden, konnte TIPOLD (1993) eine Infektion mit FSMEV nachweisen und kam zu dem Schluß, dass die Erkrankung häufiger aufzutreten scheint als sie diagnostiziert wird.

WEISSENBOCK und HOLZMANN (1997) bestätigten *post mortem* mittels Immunhistochemie das Vorliegen einer FSME bei vier Hunden mit neurologischen Störungen in Österreich. Sie kamen darüber hinaus zu der Vermutung, dass trotz häufigem Kontakt der Hunde mit infizierten Zecken der Großteil der Infektionen subklinisch verläuft

und nur ein sehr geringer Teil der Tiere klinisch manifest erkrankt. Bei diesen Tieren scheint die Erkrankung allerdings häufig einen schweren, zumeist letalen Verlauf zu nehmen. Welche prädisponierenden Faktoren für einen solchen Verlauf verantwortlich sein könnten, ist unklar.

REINER und FISCHER (1998, 1999) beschrieben vier Fälle von FSME bei Hunden wobei es in zwei Fällen zur Heilung kam.

KNIRTZ (1999) beschrieb die häufigsten klinischen Symptome von an FSME erkrankten Hunden. Er stellte fest, dass sich bei der Hälfte der seropositiven Tiere eine symptomfreie Durchseuchung zeigt.

KLIMES ET AL (2001) beschrieben drei Fälle von Hunden mit hohen FSME-Titern im ELISA und den klinischen Symptomen einer Meningoenzephalitis oder Enzephalitis in der Tschechischen Republik.

In den beschriebenen Fällen von Hunden, die an einer FSME erkrankt waren, wurden übereinstimmend die folgenden Symptome beschrieben:

Die Krankheit verläuft meist akut mit einem rasch progressiven Verlauf. Ein biphasischer Verlauf wurde nicht beobachtet. Nur KLIMES ET AL (2001) äußerten den Verdacht eine initiale Phase mit Gastroenteritis – wie sie beim Mensch beschrieben wurden - bei zwei Hunden mit sehr hohem FSME-Antikörper-Titer beobachtet zu haben, wobei nur eine Hund nach fünf Tagen eine Meningoenzephalitis entwickelte.

Die innere Körpertemperatur ist regelmäßig erhöht (nur KLIMES ET AL (2001) konnte bei keinem seiner beschriebenen Fälle eine Erhöhung der Körpertemperatur feststellen). Die Hunde zeigen zeitweise ein apathisches Allgemeinbefinden mit Schwäche, ein reduziertes Bewusstsein, Anorexie und sind teilweise aber auch schreckhaft und leicht erregbar. Im Krankheitsverlauf können sie Verhaltensänderungen zeigen und mit zunehmender Aggressivität reagieren. Teilweise speicheln die Tiere.

Die neurologischen Ausfallserscheinungen entsprechen einem multifokalen Geschehen, die auf eine Beteiligung des Hirnstamms und Rückenmarks, seltener des Großhirns hindeuten und vor allem die graue Substanz betreffen.

Gangstörungen in Form von Nachhand-, Vorderhandschwäche und Gleichgewichtsstörungen kommen vor, außerdem generalisierte Ataxie und Hypermetrie. Die Tiere zeigen Manegebewegungen, ferner Myoklonus, Exzitationen, Paralysen, Spasmen, Zitterkrämpfe. Der weitere Verlauf kann durch Hemiplegie, Tetraparesen, bis hin zum Festliegen in Seitenlage in verkraempfter Streckhaltung der Beine, Tetraplegie und Opisthotonus und Torticollis gekennzeichnet sein.

Des Weiteren konnten epileptiforme Anfälle (hirnorganisch partielle bzw. generalisierte Anfälle) beobachtet werden, welche durch Aufregung, Geräusche oder Manipulationen beliebig auslösbar waren (WANDELER ET AL, 1972; TIPOLD, 1993; WEISSENBOCK UND HOLZMANN, 1997; REINER UND FISCHER, 1998; KNIRTZ, 1999; REINER ET AL, 1999; KLIMES ET AL, 2001).

Eine Hyperalgesie entlang der gesamten Wirbelsäule, meistens im Bereich der Halswirbelsäule, gefolgt von Brust- und Lendenwirbelsäule und Hypersensitivität wurde im Krankheitsverlauf beobachtet.

Bei der Untersuchung der Kopfnerven können Kopfschiefhaltung, Kopfnervendefizite in Form von Hyposensitivität und Paresen, Hypo- bis Areflexie, vestibulärer Strabismus, rotatorischer Nystagmus, Miose, Anisokorie auftreten. Es wurde eine Hypo- und Hyperalgesie im Kopfbereich beschrieben.

Es kann eine Parese vom Typ des unteren motorischen Neurons vorliegen. Die Haltings- und Stellreaktionen können verzögert sein, evtl. mit Seitenbetonung. Die spinalen Reflexe können normal bis gesteigert sein, zum Teil kann eine Hyper- oder Hyporeflexie vorliegen. Im Verlauf können Kot- und Harnverhalten auftreten (TIPOLD ET AL, 1993; REINER UND FISCHER, 1998; KNIRTZ, 1999; KLIMES ET AL, 2001).

Eine Übereinstimmung des Auftretens der einzelnen Symptome beim Hund und den Symptomen, die für die verschiedenen Krankheitsformen beim Menschen beschrieben sind (siehe FSME beim Menschen S. 48 - 50), konnte festgestellt werden (KNIRTZ, 1999).

Nach der Verlaufsform unterscheidet KNIRTZ (1999) einen perakut letalen, einen akut bis subakut und einen chronischen Verlauf.

Bei einem perakut letalen Verlauf verstarben die Tiere innerhalb von drei bis maximal sieben Tagen oder wurden infolge der schweren klinischen Symptome und der schlechten Prognose euthanasiert.

Bei einem akuten Verlauf wurde eine Krankheitsdauer von einer bis maximal drei Wochen beobachtet. Bei allen Tieren kam es zu einer Remissio ad integrum.

Der chronische Krankheitsverlauf kann sich über einen Zeitraum von einem Monat bis zu einem halben Jahr erstrecken.

### **Diagnostische Befunde**

Im weißen Blutbild kann eine Leukopenie (TIPOLD ET AL, 1993; REINER UND FISCHER, 1999) mit Lymphopenie (TIPOLD ET AL, 1993; REINER UND FISCHER, 1999) und Monozytopenie (REINER UND FISCHER, 1999) und eine geringgradige Linksverschiebung vorliegen (WANDELER ET AL, 1972; TIPOLD ET AL, 1993; REINER UND FISCHER, 1999). KNIRTZ (1999) fand eine Lymphopenie vorwiegend bei Hunden mit perakutem Krankheitsverlauf, bei einem Fall zusammen mit Thrombozytopenie, in den anderen Fällen beschrieb er aber auch eine Leukozytose wobei bei Hunden mit längerem Krankheitsverlauf zum Teil eine absolute Neutrophilie vorlag, evtl. verursacht durch die Gabe von Glukokortikoiden. Eine Leukozytose mit Neutrophilie wurde auch in einem Fall von KLIMES ET AL (2001) beschrieben.

Die übrigen hämatologischen und klinisch-chemischen Parameter ergaben Werte im Referenzbereich (WANDELER ET AL, 1972; TIPOLD ET AL, 1993; REINER UND FISCHER, 1999). WANDELER ET AL (1972) fanden leicht erniedrigte Werte im roten Blutbild, wahrscheinlich verursacht durch die Sedierung. KLIMES ET AL (2001) fanden in einem Fall erniedrigte Werte im roten Blutbild und erhöhte Harnstoff- und Kreatinin-Werte.

Im Liquor lag eine Pleozytose vor, mit Vermehrung der Lymphozyten und der Monozyten (TIPOLD ET AL, 1993; KNIRTZ, 1999; REINER UND FISCHER, 1999; KLIMES ET AL, 2001), der Plasmazellen (REINER UND FISCHER, 1999; KLIMES ET AL, 2001) und in einem Fall der neutrophilen Granulozyten (TIPOLD ET AL, 1993).

Der Eiweißgehalt kann mäßig bis deutlich erhöht sein, die Pandyreaktion mit zwei bis vier Plus deutlich positiv (TIPOLD ET AL, 1993; KNIRTZ, 1999; REINER UND FISCHER,

1999; KLIMES ET AL, 2001). Bei perakuten Krankheitsverläufen lagen aber auch physiologische Befunde im Liquor vor, evtl. wegen der zu kurzen Krankheitsdauer, welche keine Veränderungen bewirken konnte (KNIRTZ, 1999).

Antikörper gegen das FSMEV können im Serum und im Liquor nachgewiesen werden (KNIRTZ, 1999; REINER UND FISCHER, 1999). Ein erhöhter IgG-, IgM- und zum Teil IgA-Index wurde im Serum und ein erhöhter IgM- und IgA-Gehalt wurde im Liquor gefunden (TIPOLD ET AL, 1993).

Die Elektrophorese ergab einen Fall mit erhöhtem Alpha-2-Globulinspiegel (TIPOLD ET AL, 1993). Bakteriologische Untersuchungen von Blut- und Harn verliefen negativ (REINER UND FISCHER, 1999).

Immunhistologisch lässt sich mittels eines polyklonalen FSME-Antiserums Antigen in Purkinjezellen, Ganglienzellen der Kerngebiete des Stammhirns, Fortsätzen von Nervenzellen und im Zytoplasma von Makrophagen nachweisen (WEISSENBOCK UND HOLZMANN, 1997), jedoch nicht in jedem Fall (TIPOLD ET AL, 1993).

### **Diagnose**

Die Diagnose wird aufgrund der Symptome, der erhöhten Körperinnentemperatur und der multifokalen neurologischen Symptome mit Prädilektion von Hirnstamm und cervikalem Rückenmark und dem akuten progressiven Verlauf gestellt. Die Ergebnisse der Blut- und Liquorbefunde, der Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen FSMEV in Serum und Liquor mittels ELISA sind von diagnostischer Bedeutung (REINER ET AL, 1999). Antikörpertiterbestimmungen im Liquor können aber auch zu falsch-positiven Ergebnissen führen, da bei entzündlichen Prozessen des Zentralnervensystems Lymphozyten in den Liquorraum wandern und dort Antikörper produzieren. Untersuchungen über den direkten Virusnachweis im Liquor mittels indirekter oder direkter Immunfluoreszenz bzw. PCR fehlen beim Hund bisher. Die Evaluation von verschiedenen Indizes von Antikörpern im Liquor und Serum könnte hier hilfreich sein, bisher sind beim Hund zu wenig Daten dafür vorhanden (TIPOLD, 2002).

Ein erheblicher Anstieg des Serumantikörpertiters weist auf das Vorliegen einer akuten FSME-Infektion hin (KNIRTZ, 1999; REINER ET AL, 1999; KLIMES ET AL 2001). Die ursprünglich hohen Titer fallen in der Rekonvaleszenzphase kontinuierlich ab (REINER ET AL, 1999).

### **Pathologisch-anatomische Untersuchungen**

Makroskopisch wurden keine Veränderungen der viszeralen Organe und des Gehirns gefunden (WANDELER ET AL, 1972; TIEPOLD ET AL, 1993; WEISSENBOCK UND HOLZMANN, 1997).

Histopathologisch wurden keine Veränderungen von Magen, Leber und Niere gefunden (WANDELER ET AL, 1972).

Histologisch fand sich in allen Fällen im Gehirn eine ausgeprägte nichteitrigue Meningoenzephalitis mit Ganglien- und Gliazellnekrose, Neuronophagie, Gliaknötchen und Gliarassen, perivaskulären Infiltration, die in Stamm- und Kleinhirn am stärksten ausgeprägt war (WANDELER ET AL, 1972; TIEPOLD ET AL, 1993; WEISSENBOCK UND HOLZMANN, 1997).

Im Rückenmark waren vor allem im Bereich der Ventralhörner die Veränderungen zu sehen. Vereinzelt waren die Spinalnerven entzündlich (Infiltration mit mononukleären Zellen) und degenerativ verändert (TIEPOLD ET AL, 1993).

### **Differentialdiagnose**

Nach dem klinischen Bild sollten differentialdiagnostisch Staupe (IgM- und IgG-Titer), Borreliose, Tollwut, durch die Bestimmung der Antikörpertiter im Serum und/oder im Liquor ausgeschlossen werden. Außerdem sollte ein Staupeantigenachweis im Liquor durch Immunfluoreszenz durchgeführt werden (TIEPOLD ET AL, 1993; REINER UND FISCHER, 1998). Eine fluoreszenzserologische Untersuchung des Gehirns auf Tollwut und Mäusetierversuch sollte weiterhin durchgeführt werden (TIEPOLD ET AL, 1993).

### **Virusisolierung und -identifizierung**

WANDELER ET AL (1972) konnten aus dem Gehirn eines Hundes mit neurologischen Ausfällen ein Virus isolieren, welches im Hämagglutinationshemmungstest als westlicher Subtyp des FSME-Virus charakterisiert werden konnte.



### 2.8.3 FSME beim Menschen

Nicht jede Infektion mit dem FSME-Virus führt beim Menschen zur klinisch apparenten Erkrankung (SPIESS ET AL, 1969; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; DUNIEWICZ UND KULCOVA, 1982; ACKERMANN ET AL, 1986). Etwa 60 % der Infektionen verlaufen inapparent oder abortiv (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979). Bei 30 % (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979), 10 bis 30 % (RIEGER UND HOFMANN, 1999) kommt es zur apparenten Erkrankung.

Das Risiko nach einem Zeckenstich in einem FSME-Hochrisikogebiet, an einer klinisch apparenten FSME zu erkranken, dürfte bei etwa 1:1000 bis 1:2000 liegen (NÜBLING ET AL, 1999).

Infektionen werden nahezu ausnahmslos von April bis November beobachtet, mit einem jahreszeitlichen Gipfel der Erkrankungshäufigkeiten. Die meisten Erkrankungsfälle treten jedoch nicht wie allgemein angenommen im Früh-, sondern im Hochsommer auf: im Juli/ August (HARASEK, 1974; KAISER, 1995), im Juni bis September (SPIESS ET AL, 1969; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; AEBI UND SCHAAD, 1994) im Juli bis Oktober (ROGGENDORF, 1983).

Männer (DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KAISER, 1995) und Knaben (HARASEK, 1974) erkranken mehr als doppelt so häufig wie Frauen bzw. Mädchen. Dies könnte möglicherweise mit einem etwas anderen Freizeitverhalten der Männer zusammenhängen (KAISER, 1995). Die große Bedeutung der FSME für beruflich und freizeitexponierte Personen steht inzwischen außer Frage (RIEGER ET AL, 1999A).

Die Erkrankung betrifft alle Altersklassen, am häufigsten Erwachsene mittleren und höheren Alters. Schwere, d. h. paralytische Verlaufsformen werden fast ausschließlich bei über 50 Jahre alten Personen gesehen (KRECH ET AL, 1969; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979). ROGGENDORF (1983) hingegen stellte fest, dass die FSME alle Altersklassen in relativ gleicher Häufigkeit betrifft, d.h. auch Kinder und Jugendliche. Im Kindesalter sind die Krankheitsverläufe aber in der Regel günstiger als bei Erwachsenen. (HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; KAISER, 1996 A,B). Die Symptome bei der Enzephalitis sind weniger schwerwiegend, Myeliten und Radikulitiden werden seltener beobachtet (HARASEK, 1974; KAISER, 1996 A, B). Beide

Krankheitsverläufe haben im Kindesalter eine gute Prognose. Dauerschäden wurden nicht festgestellt. Mit zunehmendem Alter der Kinder steigt aber auch die Häufigkeit an einer FSME zu erkranken (HARASEK, 1974).

Die Krankheit nimmt normalerweise einen biphasischen Verlauf. Nach einer Inkubationszeit von etwa sieben Tagen (Spannweite: 2 bis 28 Tage) kommt es zur ersten Phase, der Virämie, in Form von uncharakteristischen, grippeähnlichen Beschwerden wie Fieber (nicht höher als 38 °C), Kopfschmerzen, Unwohlsein, Inappetenz bis Nausea, Müdigkeit, Muskelschmerz, Kreuz-Gliederschmerzen, katarrhalische Erscheinungen, gastrointestinale Beschwerden. Die erste Erkrankungsphase dauert ca. ein bis 8 Tage. Danach kann ein asymptomatisches Intervall von einem bis maximal 20 Tagen folgen (KRECH ET AL, 1969; SPIESS ET AL, 1969; HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; RADDI UND KUNZ, 1983; KUNZ, 1994; IMMUNO, 1998). Dabei können noch leichte Beschwerden wie Müdigkeit, Appetitlosigkeit und leichter Kopfschmerz bestehen bleiben (DUNIEWICZ, 1976).

Teilweise geht das Prodromalstadium ohne ein grippales Vorstadium in das Stadium der Organmanifestation über. Dies kann bei bis zu ca. 47 % der Patienten der Fall sein (KRECH ET AL, 1969; HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; KAISER, 1995).

Bei 20 bis 30 % der Infizierten bricht etwa zwei bis vier Wochen nach der Infektion eine Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS) aus, durch Überwinden der Blut-Hirn-Schranke durch das Virus. Dabei kann sich die Krankheit in 4 Verlaufsformen manifestieren (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KUNZ, 1994; IMMUNO, 1998):

### **Meningitische Verlaufsform**

Symptome der meningitischen Verlaufsform gehen meist mit Fieber (bis zu 40° C) einher, die Patienten leiden unter heftigen Kopfschmerzen und Drehschwindel, Übelkeit mit Erbrechen kann auftreten. Symptome wie Lichtscheue, Nackensteifigkeit, Abduzensparese sind regelmäßig beschrieben (DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KUNZ, 1994; KAISER, 1995, 1997; IMMUNO, 1998). Eine starke Diarrhöe kann zunächst im Vordergrund der Beschwerden stehen (KAISER, 1995).

Prognose: Heilt meist völlig aus (IMMUNO, 1998).

### **Meningoenzephalitische Verlaufsform**

Zusätzlich zu den Symptomen der meningitischen Verlaufsform kommen enzephalitische Symptome wie quantitative Bewusstseinsstörungen, die von Somnolenz bis zu Sopor und in seltenen Fällen bis zum Koma reichen und qualitative Bewusstseinsstörungen (Delir, Desorientierung, Halluzinationen, Größenideen). Manchmal dominieren die psychischen Veränderungen in Form von akuten Psychosen, so dass der Patient zunächst in eine psychiatrische Abteilung eingewiesen wird (KRECH ET AL, 1969; HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KUNZ, 1994; KAISER, 1995, 1997; IMMUNO, 1998). Müdigkeit, Schwindel, Schlafstörungen, Bradypsychie und Dämmerzustände können auftreten (DUNIEWICZ, 1976).

Andere Symptome sind Rastlosigkeit, Hyperkinese der Glieder-Gesichtsmuskeln, Zittern der Zunge, Konvulsionen, Schwindel, Konzentrations- und Gedächtnisstörungen, Sprachstörungen, Lesestörungen, Hemiparesen, Reflexdifferenz, cerebrale Anfälle, Ataxie, Dysmetrie, Intentionstremor (HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; KUNZ, 1994; KAISER, 1995, 1997; IMMUNO, 1998).

Bei Beteiligung der Hirnnerven sind Störungen der Okulomotorik, Abduzensparese (Doppelsehen), Opsoklonus, Downbeat-Nystagmus, Fazialisparesen, Hörstörungen, Gleichgewichtsstörungen, Schluckstörungen, Kopfheberschwäche die Folge. Es kann zu vegetativen Entgleisungen kommen (HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; KUNZ, 1994; KAISER, 1995, 1997; IMMUNO, 1998).

Prognose: Restschäden bis zu 25 %, Todesfälle bis zu 5 % (IMMUNO, 1998).

### **Meningoenzephalomyelitische bzw. Meningoenzephaloradikulitische Verlaufsform**

Polyradikulitis-Symptome treten 5 bis 10 Tage nach dem Abfallen des Fiebers auf (HARASEK, 1974; KUNZ 1993). Zusätzlich zu den Symptomen der meningoenzephalitischen Verlaufsform kommen myelitische Symptome, wie Para- und Tetraparesen (KAISER, 1995), meist proximal betonte, schlaffe Paresen vorwiegend der oberen (HARASEK, 1974; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KUNZ, 1994; IMMUNO, 1998) gelegentlich auch der unteren Extremitäten vor. Ferner werden Phrenikusparese mit Ateminsuffizienz, Blasen-Mastdarmstörungen (DUNIEWICZ,

1976; KAISER ET AL, 1997; IMMUNO, 1998) und radikulitische Symptome, wie schlaffe Lähmungen an Armen und Beinen, Gefühlsstörungen und Schmerzen festgestellt (IMMUNO, 1998).

Prognose: Restschäden bis zu 73 %, Todesfälle bis zu 14 % (IMMUNO, 1998).

Eine Meningoenzephalitis kommt in 41 % bis 72 %, eine Meningitis in 23 % bis 50 % und eine Myelitis bzw. Radikulitis in 5 bis 14 % der Fälle vor (KRECH ET AL, 1969; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KAISER, 1995, 1997; IMMUNO, 1998). Bei 1 bis 2 % der Patienten verläuft die Krankheit tödlich (DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; ACKERMANN ET AL, 1986; IMMUNO, 1998).

Folge- oder Spätschäden nach einer FSME liegen zwischen 0 bis 10 % und zeigen in Ausprägung und Dauer eine Korrelation zur Schwere der akuten Erkrankung (HARASEK, 1974; ACKERMANN ET AL, 1986; KAISER ET AL, 1997). Die klinische, neurologische und elektroenzephalographische Nachuntersuchung von an FSME erkrankten Menschen ergab, dass bei 94 % der Patienten ein ausgeprägtes neurasthenisches Syndrom bestehen bleibt, 32 % waren nach der Entlassung aus der Klinik allein aufgrund einer erheblichen subjektiven Leistungsminderung, einer vermehrten Erschöpfbarkeit und einer erhöhten emotionalen Labilität bis zu 3 Monaten arbeitsunfähig. Bei 54 % der Patienten fanden sich pathologische Befunde im neurologischen Status. Persistierende Störungen der Hirnnerven äußerten sich als Hypakusis, Dysphagie und Dysarthrie. Während die Extremitätenparesen bei Patienten mit einer Radikulitis innerhalb weniger Monate bis Jahre eine fast vollständige Rückbildung zeigten, war die Besserungstendenz der Para- und Tetraparesen bei der Myelitis auch nach 3 Jahren deutlich geringer. Elektroenzephalographisch ist bei 75 % schon nach wenigen Monaten ein Normalbefund zu erheben. Kognitive Defizite zeigten 7 von 11 Patienten mit schwerer Verlaufsform (KAISER ET AL, 1997).

### **Laborbefunde**

Eine Beziehung zwischen Schwere der Erkrankung und den Laboratoriumsbefunden kann nicht hergestellt werden (HARASEK, 1974).

In der ersten Phase der Krankheit findet man eine Leukopenie (KRECH ET AL, 1969; IMMUNO, 1998) und/ oder eine Thrombozytopenie. Die Leberenzymaktivitäten kön-

nen erhöht sein (LOTTRIC-FURLAN UND STRLE, 1995). In der zweiten Krankheitsphase findet man dann eine neutrophile Leukozytose, welcher eine nochmalige Leukopenie folgt (KRECH ET AL, 1969; IMMUNO, 1998). Die Blutsenkungswerte sind stark erhöht (HARASEK, 1974).

Während der ersten Phase ist der Liquor unauffällig (KRECH ET AL, 1969). Mit Beginn der zweiten Krankheitsphase steigt der Liquordruck leicht. Man findet eine Pleozytose von einigen hundert bis zu 14600 polynukleären später auch mononukleären Zellen pro  $\mu\text{l}$  (SPIESS ET AL, 1969; HARASEK, 1974; IMMUNO, 1998), eine geringe bis mäßige Eiweißvermehrung (50 bis 200 mg/dl) mit einer deutlich positiven Pandy-Reaktion (KRECH ET AL, 1969; SPIESS ET AL, 1969; HARASEK, 1974; IMMUNO, 1998). Der Liquorzucker ist normal oder leicht erhöht (HARASEK, 1974). Nach vier bis fünf Wochen werden die Liquorbefunde meist wieder normal, doch können in Einzelfällen erhöhte Werte bis zu einigen Monaten bestehen bleiben (KRECH ET AL, 1969; HARASEK, 1974).

### **Diagnose**

Die Diagnose der FSME basiert in der Regel auf der Exposition, einem beobachteten Zeckenstich innerhalb der letzten drei Wochen (fakultativ) (KAISER, 1998). Nicht immer können die an einer FSME erkrankten Patienten von einem kürzlich zurückliegenden Zeckenstich berichten (SPIESS ET AL, 1969; HARASEK, 1974; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979). Der Stich wird oft wegen der lokalanästhesierenden Wirkung des Speichels der Zecken nicht bemerkt und nicht jede Zecke, die sticht, saugt sich letztendlich auch fest (siehe Stichmechanismus S. 26). An der Stelle des Zeckenstiches kann eine toxinbedingte entzündliche Lokalreaktion beobachtet werden (SPIESS ET AL, 1969).

Des Weiteren wird die Diagnose anhand der klinischen Symptomatik mit Fieber, Kopfschmerzen und neurologischen Funktionsstörungen, einem auf Entzündung hinweisenden Liquorbefund, sowie dem positiven Nachweis von FSME-spezifischen IgM- und IgG-Antikörpern im Serum gestellt (KAISER, 1998).

Auch nach einer inapparenten Infektion mit dem FSMEV sind neutralisierende und in geringen Mengen auch komplementbindende Antikörper im Blut nachweisbar (KUNZ

UND KRAUSLER, 1964). Deshalb kann der isolierte Nachweis von IgG-Antikörpern nicht beweisend für die akute Infektionskrankheit sein.

Da die klinischen Symptome der FSME nicht spezifisch sind, muss die Diagnose letztendlich im Labor gestellt werden. Während der ersten virämischen Phase der Krankheit kann das Virus direkt im Blut nachgewiesen werden und im Falle eines letalen Ausganges auch im Gehirn (KRECH ET AL, 1969; SPIESS ET AL, 1969; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; HOLZMANN, 1999).

Mit Hilfe der PCR kann virusspezifische RNA nachgewiesen werden oder es kann eine Verimpfung des Virus auf Säuglingsmäuse oder auf eine Gewebekultur durchgeführt werden (KRECH ET AL, 1969; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; HOLZMANN, 1999).

Für die Praxis ist dies jedoch nicht hilfreich. Mit dem Beginn der zweiten Phase, wenn die Patienten ins Krankenhaus eingeliefert werden, ist das Virus im Blut verschwunden und spezifische IgM-, IgG-Antikörper werden messbar, welche schnell zu hohen Titern ansteigen. Der ELISA stellt sich dabei als Testsystem der Wahl heraus, um IgM- und IgG-Antikörper im Blut und Liquor zu bestimmen und den Titeranstieg zu erfassen (HOLZMANN, 1999). Die IgM-Fraktion ist nur bei einer akuten Infektion messbar und tritt relativ früh im Krankheitsverlauf auf (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; ROGGENDORF, 1983).

Empfehlenswert sind zwei bzw. drei Blutentnahmen für serologische Untersuchungen. Die erste soll möglichst frühzeitig zu Beginn der neurologischen Symptome, die zweite nach 2 Wochen (HARASEK, 1974; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979) und die dritte nach 4 Wochen (SPIESS ET AL, 1969) vorgenommen werden. Neutralisierende Antikörper sind beim Menschen immer schon zu Beginn der zweiten Phase mit einer Organmanifestation vorhanden. Einen Titeranstieg wird man besonders häufig bei frühzeitiger erster Untersuchung nachweisen können. Das Titermaximum findet sich nach drei bis vier Wochen der ZNS-Erkrankung (SPIESS ET AL, 1969; HARASEK, 1974). Der serologische Nachweis einer akuten Infektion mittels spezifischer IgM-Antikörper und/ oder der vierfache Titeranstieg für IgG-Antikörper liegt allerdings nicht in jedem Fall vor (AEBI UND SCHAAD, 1994).

Sind bei einem klinischen Verdacht auf eine FSME keine spezifischen IgM-Antikörper nachweisbar, kann die Bestimmung der Avidität von IgG-Antikörpern zur Klärung einer frischen Infektion hilfreich sein. Alternativ kann auch 10 Tage nach Erkrankungsbeginn die intrathekale Synthese FSME-spezifischer Antikörper im Liquor bestimmt werden, die dann bei mehr als 90 % der Erkrankten nachweisbar ist (KAISER, 1998).

Außerdem eignen sich zum Nachweis von Serumantikörpern gegen FSME-Viren der Hämagglutinationshemmungstest (HHT), die Komplementbindungsreaktion (KBR), der Serumneutralisationstest (SNT) (KRECH ET AL, 1969; SPIESS ET AL, 1969), der Immunfluoreszenztest (IFT) und der Radioimmuntest (RIA). Von hoher Spezifität ist der SNT, er erfasst auch länger zurückliegende Infektionen. Einfacher auszuführen sind der HHT und die KBR, die von gelegentlichen unspezifischen Reaktionen belastet sind. Der RIA und der IFT erlauben es, die Antikörper der IgM-Fraktion zu erfassen. Hierdurch wird die Frühdiagnose anhand einer einzigen Serumprobe möglich (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

Der Titer fällt im SNT geringfügig 6 bis 8 Wochen nach der Infektion (HUBINGER ET AL, 1969) und in der KBR (KUNZ UND KRAUSLER, 1964) beträchtlich ab, bleibt dann aber über 6 bis 8 Jahre hinweg konstant. Dieser dann Jahre, evtl. sogar Jahrzehnte hindurch anhaltende Antikörpertiter ist imstande vor einer Reinfektion zu schützen (HUBINGER ET AL, 1969). Nach der Erkrankung bleiben neutralisierende, komplementbindende und hämmagglutinationshemmende Serumantikörper lange Zeit, wahrscheinlich zeitlebens nachweisbar (KUNZ UND KRAUSLER, 1964; HUBINGER ET AL, 1969; SPIESS ET AL, 1969; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

### **Pathologisch-anatomische Untersuchungen**

Im Vordergrund der pathologisch-anatomischen Veränderungen stehen die am Zentralnervensystem. Hauptsächlich vermehrt sich das Virus in den Neuronen. Die Virus-Zell-Interaktion führt zur Nekrose (Neurolyse) und Zerstörung (Neuronophagie) der Nervenzellen und zu einer entzündlichen Reaktion mit einer resorptiven Phase durch die Entzündungszellen (Granulozyten, Makrophagen) und einer immunogenen Phase zur Eliminierung des Virus. Ähnlich wie bei anderen Arbovirose entsprechen die Veränderungen am Gehirn dem einer knötchenförmigen Polioenzephalitis. Während

die Veränderungen im Bereich der Rinde relativ gering bleiben können, sind sie ausgeprägter im Mittelhirn, in der Brücke und dem verlängerten Mark. Betroffen werden ferner das Zwischenhirn, das Corpus striatum und cinereum sowie die Kleinhirnrinde unter Bevorzugung der Purkinjezellen

Neben den motorischen Hirnnervenkernen und der Vorderhornsäule, besonders im Bereich des Halsmarks, werden die Substantia nigra, der Nucleus ruber und die Olive befallen, selten auch die spinalen Nervenbahnen und die peripheren Nerven. Die weichen Hirnhäute zeigen Rundzellinfiltration, zumal auch in der Umgebung der Gefäße (JELLINGER, 1981; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979). Die qualitativ einheitlichen enzephalitischen Symptome sind nicht speziesspezifisch und spiegeln ein Läsionsbild wider, das typisch viral ist, aber speziesspezifisch. Dieses Muster unterscheidet sich von anderen Flavivirus- und Neurovirus-Infektionen, wie durch die mikrobiologische Analyse von 24 Autopsiefällen in Österreich festgestellt wurde (JELLINGER, 1981).

### **Differentialdiagnose**

Die Differentialdiagnose der FSME hat zunächst alle Virusarten zu berücksichtigen, die abakterielle Meningitiden hervorrufen, wie Echo-, Coxsackie, Parotitis-, Herpes- und Poliomyelitisviren. Das Alter des Patienten, die Jahreszeit, ein Aufenthalt in einem bekannten endemischen Gebiet sowie ein vorausgegangener Zeckenstich können zur Abgrenzung beitragen. Durch Leptospiren hervorgerufene Meningitiden pflegen mit einer erheblichen Blutsenkungsbeschleunigung einherzugehen. Die tuberkulöse Meningitis zeichnet sich durch niedrige Zucker- und Chloridwerte im Liquor und hohen Eiweißgehalt aus. Von chronischen Meningitiden lässt sich die FSME durch ihren akuten Verlauf abgrenzen. Auch die durch Zecken übertragene Meningopolyneuritis Garin-Bujadoux-Bannwarth verläuft chronisch (KRECH ET AL, 1969; SPIESS ET AL, 1969; HARASEK, 1974; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).



## 3. Material und Methodik

### 3.1. Material

#### 3.1.1. Tiere

Im Verlauf der Studie wurden insgesamt 205 Pferde und 243 Hunde untersucht.

##### 3.1.1.1. Pferde

Bei den 205 Pferden wurde der Titerverlauf der Antikörper gegen das Virus der FSME während eines Jahres untersucht. Zu diesem Zweck wurde von jedem Pferd Blut zur Gewinnung von Serum im März 1999, im Oktober 1999 und im Mai 2000 abgenommen. Außerdem wurden die Fohlen von vier seropositiven Stuten auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV hin überprüft.

Für die Studie wurden nur klinisch unauffällige Pferde verwendet, welche im südwestlichen Gebiet des Bodensees zwischen Ravensburg und Waldshut gehalten wurden (*Abb. 13*) und in dem angegebenen Zeitraum ihren Standort nicht wechselten. Die Pferde sollten sich möglichst zeitlebens nicht in anderen aus der Humanmedizin bekannten FSME-Gebieten aufgehalten haben. Außerdem sollten die Pferde so gehalten werden, dass eine Zeckenexposition wahrscheinlich ist, also Pferde mit Weidegang in Waldnähe oder Pferde, die ins Gelände (Wald) geritten werden. Die Pferdehalter wurden vorab in einem Schreiben über die Studie informiert (siehe Anhang 8.1.). Für jedes Pferd wurde ein Anamneseblatt erhoben (siehe Anhang 8.2.).

##### 3.1.1.1.1. Nationale

Um eine mögliche Rassendisposition bezüglich einer FSMEV-Infektion erfassen zu können, wurden die einzelnen **Rassen** dokumentiert. Folgende Rassen kamen nur vereinzelt vor und wurden unter „Sonstige“ zusammengefasst (5 Englische Vollblüter, 4 Norweger, 3 Shetlandponys, 4 Freiberger, 2 Criollo, 1 Shire Horse und 1 Tinker). Es kamen einige Rassenkreuzungen vor, diese wurden unter „Mischlinge“ zusammengefasst (*Tab.1*).

**Tab. 1:** Rassenverteilung der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Rasse</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Warmblut	75	36.6
Isländer	31	15.1
Arabisches Vollblut	28	13.7
Quarter-Horse	20	9.8
Haflinger	10	4.9
Deutsches Reitpony	10	4.9
Mischling	11	5.4
Sonstige	20	9.8

Die **Fellfarben** der Tiere wurden erfasst, um zu ermitteln ob es eine Disposition für bestimmte Fellfarben bezüglich einer FSMEV-Infektion gibt (*Tab.2*).

**Tab. 2:** Fellfarbenverteilung der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Fellfarbe</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Fuchs	54	26.3
Brauner	47	22.9
Schimmel	30	14.6
Dunkel Brauner	24	11.7
Rappe	22	10.7
Falbe	11	5.4
Schecke braun	8	3.9

Fortsetzung **Tab. 2:**

<b>Fellfarbe</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Schecke schwarz	6	3.4
Isabelle	2	1.0
Schecke schwarz/ braun	1	0.5

Tiere mit dunklem Fell wurden unter dem Merkmal „Farbe dunkel“, Tiere mit hellem Fell wurden unter dem Merkmal „Farbe hell“ und Tiere, deren Fell dazwischen lag wurden unter dem Merkmal „Farbe mittel“ zusammengefasst (*Tab. 3*).

**Tab. 3:** Farbabstufungen der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Farbe</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Dunkel	93	45.4
Mittel	80	39.0
Hell	32	15.6

Um eine mögliche Geschlechtsdisposition bezüglich einer FSMEV-Infektion zu erfassen, wurde das **Geschlecht** der einzelnen Tiere festgehalten (*Tab. 4*).

**Tab. 4:** Geschlechtsverteilung der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Geschlecht</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Hengst	14	6.8
Stute	100	48.8
Wallach	91	44.4

Das **Alter** der untersuchten Pferde wurde dokumentiert, um eine mögliche Disposition bezüglich einer FSMEV-Infektion zu ermitteln, es lag zwischen einem und 26 Jahren. Das durchschnittliche Alter betrug 9,3 Jahre.

Es wurden Altersklassen von jeweils drei Jahren aufgestellt (*Tab. 5*).

**Tab. 5:** Altersverteilung der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Alterklasse; in Jahren</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1; 0-3	30	14.6
2; 4-6	44	21.5
3; 7-9	44	21.5
4; 10-12	33	16.1
5; 13-15	23	11.2
6; 16-18	15	7.3
7; 19-21	6	2.9
8; 22-24	7	3.4
9; 25-27	2	1.0
10; 28-30	1	0.5

Für die statistische Auswertung wurden die Altersklasse noch einmal in Gruppen zusammengefasst und zwar umfasst die Altersgruppe 1 ungerittene Pferde bis drei Jahre, die Altersgruppe 2 gearbeitete Pferde bis 15 Jahre und die Altersgruppe 3 nicht regelmäßig gerittene Pferde über 15 Jahre (*Tab. 6*).

**Tab. 6:** Altersgruppen der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Altersgruppen</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1	30	14.6
2	144	70.3
3	31	15.1

### 3.1.1.1.2. Haltungsform

Die Haltungsformen der Pferde wurden dokumentiert, um zu ermitteln, ob eine bestimmte Haltungsform eine Disposition für eine FSMEV-Infektion darstellt (*Tab. 7*).

**Tab. 7:** Haltungsform der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Haltungsform</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Stallhaltung mit Koppel	122	59.5
Offenstall mit Koppel	76	37.1
Koppelhaltung	7	3.4

Alle Pferde hatten das ganze Jahr über Weidegang. Und zwar entweder nur tagsüber (T), oder tagsüber, aber im Sommer nur nachts (T, N Sommer) oder Tag und Nacht, wobei sie im Sommer nur nachts draußen waren (T+N Sommer) oder Tag und Nacht, egal zu welcher Tageszeit (T+N) (*Tab. 8*).

**Tab. 8:** Weidegang der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Weidegang</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
T	63	30.7
T, N Sommer	93	44.4
T+N Sommer	44	21.5
T+N	7	3.4

Für die statistische Auswertung wurde das Merkmal Weidegang in häufig (T und T, N Sommer) oder wenig Weidegang (T+N Sommer und T+N) zusammengefasst (*Tab. 9*).

**Tab. 9:** Weidegang der Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Weidegang</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
häufig	51	24.9
wenig	154	75.1

### 3.1.1.1.3. Einteilung des Untersuchungsgebietes

Es wurden Pferde aus 21 verschiedenen Ställen untersucht. Diese Ställe wurden je nach Gebiet in 8 Gruppen von Westen nach Osten zusammengefasst (*Abb. 13*). Der Anteil der Pferde der einzelnen Gruppen ist in *Tab. 10* angegeben.

**Tab. 10:** Gruppeneinteilung der untersuchten Pferde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Gruppennummer</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Gruppe 1	20	9.8
Gruppe 2	18	8.8

Fortsetzung **Tab. 10**:

<b>Gruppennummer</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Gruppe 3	13	6.3
Gruppe 4	19	9.3
Gruppe 5	17	8.3
Gruppe 6	26	12.7
Gruppe 7	36	17.6
Gruppe 8	56	27.3

### **3.1.1.2. Hunde**

In dem genannten Gebiet wurde von 243 Hunden Blut zur Gewinnung von Serum abgenommen und auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV untersucht. Dies geschah am Ende der Zeckensaison, im November 2000.

Alle Hunde waren klinisch unauffällig und sollten sich möglichst zeitlebens nicht in anderen endemischen Gebieten aufgehalten haben. Auch für die Hunde galt, dass durch die Haltungsform oder durch regelmäßige Spaziergänge im Wald oder am Waldrand die Möglichkeit einer Zeckenexposition in ihrem Heimatgebiet gegeben sein musste.

29 der 243 Seren wurden von Tierärzten, die in diesem Gebiet praktisch tätig sind, für diese Studie zur Verfügung gestellt.

37 der 243 der Proben stammen von dem in das Labor Alomed, Radolfzell eingeschickten Seren. Es wurden nur Seren von Hunden zugelassen, welche klinisch unauffällig waren, z. B. Seren von Hunden bei denen eine Hormonbestimmung für die Läufigkeitsdiagnostik vorgenommen wurde. Weder Veränderungen im weißen Blutbild noch Abweichungen in den chemischen Parametern waren zulässig.

Die restlichen 177 Proben stammen aus den eigenen Blutabnahmen hauptsächlich von Hunden aus Hundesportvereinen in diesem Gebiet. Die Tierbesitzer wurden auch

hier in einem Schreiben über die Studie informiert (siehe Anhang 8.3.). Für jeden Hund wurde wiederum ein Anamneseblatt erhoben (siehe Anhang 8.4.).

### 3.1.1.2.1. Nationale

Zweckgemäß wurden nicht die einzelnen Rassen ausgewertet (s. Anhang), sondern die Rassen wurden nach Größen in **kleine, mittlere und große Rassen** zusammengefasst und es wurde die **Fellfarbe** und die **Felllänge** dokumentiert, um für die einzelnen Merkmale festhalten zu können, ob eine mögliche Disposition für eine FSMEV-Infektion vorliegt (*Tab. 11, Tab. 12, Tab. 13, Tab. 14*).

**Tab. 11:** Größenverteilung der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Rassengröße</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Kleine Rassen	20	8.2
Mittlere Rassen	77	31.7
Grosse Rassen	146	60.1

**Tab. 12:** Fellfarbe der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Fellfarbe</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Schwarz/ braun	92	37.9
Schwarz	43	17.7
Braun/ weiß	24	9.9
Schwarz/ weiß	15	6.2
Blond	15	6.2
Tricolor	15	6.2
Braun	14	5.8



Fortsetzung **Tab. 12:**

<b>Fellfarbe</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Weiß	8	3.3
Grau	7	2.9
Grau/ weiß	6	2.5
Braun/ grau	1	0.4
Grau/ schwarz	1	0.4
Silber	1	0.4
Weiß/ gelb	1	0.4

Tiere mit dunklem Fell wurden unter dem Merkmal „Farbe dunkel“, Tiere mit hellem Fell unter dem Merkmal „Farbe hell“ und Tiere, deren Felltönung dazwischen lag, unter dem Merkmal „Farbe mittel“ zusammengefasst (*Tab. 13*).

**Tab. 13:** Farbabstufungen der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Farbe</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Dunkel	151	62.1
Mittel	61	25.1
Hell	31	12.8

**Tab. 14:** Felllänge der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Felllänge</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
kurz	155	63.8
lang	88	36.2

Das **Geschlecht** der Tiere wurde dokumentiert, um eine mögliche Disposition bezüglich einer FSMEV-Infektion feststellen zu können (Tab. 15).

**Tab. 15:** Geschlechtsverteilung der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Geschlecht</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
männlich	118	48.6
weiblich	77	31.7
männlich kastriert	12	4.9
weiblich kastriert	36	14.8

Das **Alter** wurde festgehalten, um eine mögliche Disposition für eine FSMEV-Infektion ermitteln zu können. Es wurden nur Hunde zu der Studie zugelassen, welche wenigstens einen Sommer lang die Möglichkeit gehabt hatten, Kontakt zu Zecken zu haben. Die Hunde mussten wenigstens ein halbes Jahr alt sein.

Die untersuchten Hunde waren zwischen einem halben Jahr und 15 Jahren alt. Das durchschnittliche Alter betrug 5.4 Jahre. Es wurden Altersklassen zu je drei Jahren gebildet (Tab.16).

**Tab. 16:** Altersverteilung der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent

<b>Altersklasse; in Jahren</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1; 0-3	113	46.5
2; 4-6	71	29.2
3; 7-9	32	13.2

Fortsetzung **Tab. 16:**

<b>Altersklasse; in Jahren</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
4; 10-12	15	6.2
5; 13-15	11	4.5
6; 16-18	1	0.4

### 3.1.1.2.2. Haltungform

Es wurden die **Haltungsformen** der einzelnen Hunde dokumentiert, um festzustellen ob eine bestimmte Haltungform eine Disposition für eine FSMEV-Infektion darstellt. Dabei wurde auch ermittelt, ob die Hunde häufig oder selten Kontakt zu dem Wald im Untersuchungsgebiet hatten (*Tab. 17 und Tab 18*).

**Tab. 17:** Haltung der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Haltungform</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Wohnung	188	77.4
Zwinger	50	20.6
Kette	5	2.1

**Tab. 18:** Waldkontakt der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

<b>Waldkontakt</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
häufig	126	51.9
mittel	43	17.7
selten	74	30.5

### 3.1.1.2.3. Einteilung des Untersuchungsgebietes

Es wurden Hunde verstreut aus dem Gebiet zwischen Ravensburg und Waldshut untersucht. Die Tiere wurden in 5 Gruppen von Westen nach Osten beginnend zusammengefasst.

Der Anteil der Hunde der einzelnen Gruppen ist in *Tab. 19* angegeben.

**Tab. 19:** Gruppeneinteilung der untersuchten Hunde in absoluten Zahlen (n) und in Prozent %.

Gruppennummer	n	%
Gruppe 1	49	20.2
Gruppe 2	67	27.6
Gruppe 3	40	16.5
Gruppe 4	44	18.1
Gruppe 5	43	17.7

## 3.2. Methodik

### 3.2.1. Nachweisverfahren von Antikörpern gegen FSME-Virus

In den Serumproben der zu untersuchenden Probanden sollten Antikörper gegen FSMEV nachgewiesen werden. Dazu wurde ein Enzym Immunoassay (ELISA) benutzt, welcher von Herrn Dr. Müller, Labor Alomed Radolfzell entwickelt wurde, um Gesamt-Antikörper gegen das FSMEV im Serum von Hunden oder Pferden zu bestimmen. Die Testergebnisse wurden mittels eines Serumneutralisationstestes der Firma Immuno (Orth a.d. Donau, Österreich) überprüft. Dazu wurden 30 Pferdeseren stichprobenartig ausgewählt.

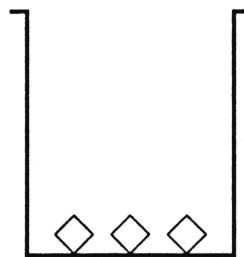
### 3.2.1.1. Direkter Elisa

#### 3.2.1.1.1. Allgemeines Prinzip des direkten ELISA

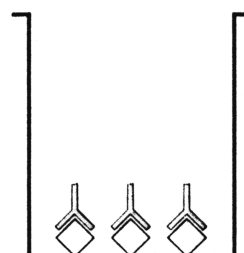
Antikörper im Serum können mit diesem Test direkt nachgewiesen werden. Ein spezifisches Antigen wird auf einer inerten Festphase wie Polyesterol absorbiert. Die Serumprobe, die auf die gewünschten Antikörper hin untersucht werden soll, wird auf die mit Antigen besetzte Oberfläche aufgetragen, so dass sich der Antikörper an das Antigen binden kann. Die entstandene Antikörper-Antigen-Bindung wird mit einem antikörperspezifischen Antigen inkubiert, dieses Antigen ist mit einem leicht nachweisbaren Enzym kovalent verknüpft (Antigen- Enzym- Konjugat). Das überschüssige, nicht gebundene Antigen-Konjugat wird durch wiederholtes Waschen entfernt. Das Enzym des fixierten Antigen-Antikörper-Antigen-Enzym-Komplexes wird nachgewiesen, indem man ein Substrat zugibt, welches durch das Enzym in einen Farbstoff umgewandelt wird. Die Menge gebundenen Antikörpers ist direkt proportional zur Farbintensität (STRYER, 1991; ROLLE UND MAYR, 1993; BUDDECKE, 1994; VOET, 1994; TIZARD, 1996; LEIDINGER, 1998) (*Abb. 11*).

**Abb. 11:** Direkter ELISA für Antikörpernachweis (KÖLBL, 1998)

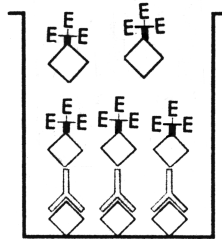
a) Antigen wird an die Plastikwand gebunden (gecoatet).



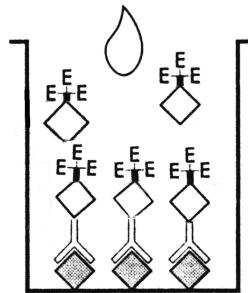
b) Zugabe der Probe mit fraglichem Antikörpergehalt.



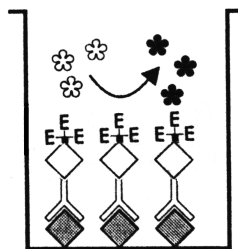
c) Zugabe von Konjugat, d.h. enzymgekoppelte Antikörper, die gegen die nachzuweisenden Antikörper in der Probe gerichtet sind.



d) Waschschrift, um nicht gebundenes Konjugat zu entfernen.



e) Substratzugabe (Chromogen) als Indikator: Durch das Enzym des Konjugats wird das Chromogen in einen Farbstoff umgewandelt.



### 3.2.1.1.2. Testprinzip

Eine Mikrotiterplatte mit inaktiviertem festphasengebundenem FSME-Virus wurde für den Test benutzt. Die Serum- oder Plasma-Proben wurden in einer Verdünnung von 1:26 auf die Platte aufgetropft und 90 min bei Zimmertemperatur inkubiert. Während der Inkubationsphase wurden Antikörper gegen das FSMEV an die Festphase gebunden und nicht-spezifische Komponenten in 7 anschließenden Waschvorgängen entfernt. Die überstehende Flüssigkeit wurde durch Trockenklopfen auf Zellstoff entfernt.

Danach fand die 90 minütige Konjugatinkubation bei Raumtemperatur statt: Ein FSMEV-Antigen-Peroxidase-Konjugat fungiert als Marker und bindet mit den spezifischen Anti-FSMEV-Antikörpern.

Ungebundenes Konjugat wurde in einem zweiten Waschvorgang entfernt. Auch danach wurde trockengeklopft.

In der dritten Inkubationsphase fand die Substratreaktion statt. Die Peroxidase, die ein Teil des Konjugats ist, oxidiert unter der Verwendung des Wasserstoffperoxids (enthalten im Substrat) das Chromogen zu einer blauen Substanz.. Um die Reaktion zu stoppen, wurde Schwefelsäure aufgetragen. Dadurch wechselt die Farbe zu gelb. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Menge der in der Probe enthaltenen Anti-FSMEV-IgG-Antikörper. Die optische Dichte wurde mittels eines Photometers (2001, Anthos, Salzburg) bei einer Wellenlänge von 450 nm (Referenzwellenlänge 620 nm) gemessen.

Die Quantifizierung der Antikörpertiter erfolgte mit einem negativen und positiven Hunde-Serum als zweiten Standard. Dabei wurden die Konzentrationen 0 und 100 U/l angenommen, beziehungsweise es wurde ein positives Anti-TBE-IgM-Kontrollserum mit bekannter Konzentration verwendet (Immuno GmbH, Heidelberg).

### 3.2.1.1.3. Test-Bestandteile des ELISAs

Die verwendeten Testbestandteile für den ELISA sind in *Tab. 20* aufgeführt.

**Tab. 20:** Test-Bestandteile des ELISAs.

Test-Bestandteile	Beschreibung
ELISA- Teststreifen	mit jeweils 8 Vertiefungen, beschichtet mit inaktivierten FSME-Viren; mit Trockenmittel im Aluminiumbeutel verpackt
Kontrollseren	FSME-IgM Kontrollserum „negativ“ zur Cut-off-Berechnung; Positives Anti-FSME-IgM-Antikörper Kontrollserum, „low level“ und „high level“ zur Richtigkeitskontrolle, lyophilisiertes Humanserum mit Stabilisatoren
Konjugat	FSME-Antigen-Peroxidase; inaktiviertes FSME-Antigen mit Peroxidase konjugiert (Immunozy-m-FSME-IgM aus dem Testkit der Firma Immuno GmbH Heidelberg)
Chromogen	TMB (Tetra-Methyl-Benzidin in Ethanol/ DMSO)
Stopplösung	1,9 mol/l Schwefelsäure
Ablebefolie	für ELISA-Teststreifen; perforiert

### 3.2.1.1.4. Testdurchführung

#### Vorbereitungen

Bevor der Test gestartet wird, werden alle Komponenten auf Raumtemperatur gebracht. Danach wird der Waschpuffer S hergestellt. Dazu wird ein Volumenteil Waschpuffer-Konzentrat S mit 9 Volumenteilen Aqua deas. verdünnt (1+9) und gut gemischt.



Als nächstes werden die Kalibratoren und Kontrollsera mit je 200 µl Arbeitspuffer versetzt und 10 Sekunden gemischt.

Nun werden die Kalibratoren, die Kontrollsera und die Proben (1:26), Liquor (1:5) verdünnt und zwar jeweils 20 µl der Kalibratoren, der Kontrollsera bzw. der Proben mit 500 µl Arbeitspuffer.

Danach wird die Konjugatlösung hergestellt, in dem man das lyophilisierte Konjugat mit 300 µl Arbeitspuffer mischt. Aus dieser Konjugatlösung wird nun die Konjugatsarbeitslösung (1:100) hergestellt, in dem man 1 Teil Konjugatlösung mit 100 Teilen Arbeitspuffer verdünnt, kurz bevor die Probeninkubation beendet ist.

Kurz vor ihrer Anwendung wird die Substratlösung (1:20) mit 1 Teil Chromogen plus 20 Teile Substratpuffer hergestellt.

### **Durchführung**

Als erster Schritt werden je 200 µl verdünnte Kalibratoren, verdünnte Kontrollsera und verdünnte Proben auf die Platte aufgetragen. Die Platte wird mit der Folie abgeklebt und 90 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Danach wird siebenmal ein Waschvorgang mit Arbeitspuffer durchgeführt (3 Mal mit 200 µl, 1 Mal mit 300 µl und 3 Mal mit 200 µl).

Nun wird trockengeklopft, d. h. die überstehende Flüssigkeit wird durch Klopfen auf Zellstoff entfernt.

Als nächster Schritt wird das Konjugat als Konjugatsarbeitslösung auf die Platte aufgetragen und zwar je 200 µl. Es wird erneut 90 min bei Raumtemperatur inkubiert und mit dem Arbeitspuffer -wie oben beschrieben- der Waschvorgang durchgeführt. Danach wird wieder trockengeklopft.

Als letzter Schritt wird der Vorgang gestoppt. Dazu werden je 50 µl Stopplösung auf die Platte auftragen.

#### **3.2.1.1.5. Testauswertung**

Die Farbreaktionen werden in einem Photometer bei der Lichtabsorption 450 nm gemessen. Der Cut-Off des ELISAs wurde bei 5 U/l festgelegt, d.h. Werte < 5 U/l wurden negativ gewertet.

### 3.2.1.2. Serumneutralisationstest

#### 3.2.1.2.1. Testprinzip

Der Test dient zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern gegen das FSME-Virus in Plasma und Liquor cerebrospinalis.

Er beruht auf der Bindung spezifischer Antikörper an die für die Infektion verantwortlichen Oberflächenantigene des Virus.

FSME-Viren vermehren sich in Zellkulturen und verursachen dabei virusspezifische zytopathogene Effekte, so genannte Plaques. Diese Virusvermehrung wird durch die Reaktion mit spezifischen Antikörpern verhindert. Der Grad der Reduktion der zytopathischen Effekte gegenüber einer Antikörper-freien Kontrolle kann zur qualitativen Bestimmung für die in der Probe vorkommenden neutralisierenden Antikörper gegen FSME-Viren verwendet werden.

Um eine quantitative Analyse gewährleisten zu können, wird die FSME-AK-haltige Probe in geeigneter Weise verdünnt, immer mit derselben Menge Antigen inkubiert und anschließend auf die Gewebekultur aufgebracht (TIZARD, 1996; KÖLBL, 1998).

Eine Probenverdünnung ist dann als neutralisierend zu bezeichnen, wenn die Menge der Antikörper in der Probeverdünnung gerade noch ausreicht, um in 50 % aller Fälle die Menge der Virusantigene zu neutralisieren, so dass es zu keiner Virusvermehrung in der Gewebekultur mehr kommt. Die Virusvermehrung im Gewebekulturüberstand wird mittels eines spezifischen Solid Phase Enzym Immunsassays qualitativ bestimmt (TIZARD, 1996).

#### 3.2.1.2.2. Testbestandteile

Für den Serumneutralisationstest ist eine Gewebekultur und ein Enzymtest notwendig.

Die Bestandteile der **Gewebekultur** sind in *Tab. 21* aufgeführt.

**Tab. 21:** Gewebekulturbedingteile des NT.

Gewebekulturmikrotiterplatten	
Medium	199 mit 1,26 g/l NaHCO <sub>3</sub> + 5 % fötales Kälberserum (FKS)
Gewebekultur	2 x 10 <sup>5</sup> Verozellen/ml in Medium 199
FSME-Antigen (=AG)	
FSME-AK-Positivkontrolle	
Negativkontrolle	

Die Bestandteile des **Enzymtest** sind in *Tab. 22* aufgeführt.

**Tab. 22:** Enzymtest des NT.

Mikroelisplatten		
Beschichtungspuffer, pH 9,6	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> :	3,18 g/l
	NaHCO <sub>3</sub> :	5,86 g/l
Waschlösung PBS-Tween, pH 7,2	NaCl:	8,00 g/l
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> :	0,20 g/l
	Na <sub>2</sub> HPO x 2H <sub>2</sub> O:	1,45 g/l
	KCL:	0,20 g/l
	Tween 20:	0,5 ml/l

Fortsetzung **Tab. 22:**

DSW (Doppel-Sand-Wich)-Verdünnungspuffer, pH 7,2	
Tris:	30,30 g/l
NaCl:	20,45 g/l
BSA:	3,00 g/l
Tween 20:	1,00 ml/l
DSW-Konjugatpuffer, pH 7,4	
Tris:	2,42 g/l
NaCl:	9,00 g/l
Anti-FSME-Meerschweinchen-IgG	
FSME-AG-Standard	
Anti-FSME-Kaninchen-Serum	
Anti-Kaninchen-IgG markiert vom Esel	
Ortho-phenyldiamin (OPD)-Substrat	
OPD-Substratpuffer, pH ca. 5,0	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O:	18,334 g/l
Zitronensäure:	10,185 g/l
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30 %):	0,15 ml/10 ml
1 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	

**3.2.1.2.3. Testdurchführung**

Zuerst werden die Reagenzien für die Gewebekultur und den Enzymtest vorbereitet, danach folgt der Testansatz.

Zur Vorbereitung der Reagenzien für die Virusvermehrung in der **Gewebekultur** werden zuerst die Verozellen mit dem Medium (Med. 199 mit 1,26 g/l NaHCO<sub>3</sub> + 5 % fötales Kälberserum (FKS)) in eine Konzentration von 2 x 10<sup>5</sup>/ml suspendiert. Danach werden das FSME-Antigen für die Kontrolltitration, die Positivkontrollen und die Probe in geeigneter Weise mit dem Medium verdünnt (*Tab 23*). Nun werden jeweils 1 ml bzw. 750 µl der Probe und der Positivkontrolle mit jeweils 1 ml des FSME-Antigens bzw. 750 µl von dessen Verdünnungsstufen bei 25 °C (± 5 °C) für 2,5 (± 0,5) Stunden inkubiert.

**Tab. 23:** Vorbereitung der Reagenzien und Proben.

Reagenz/Probe	Medium	Verdünnung/Konz.	Bemerkung
FSME-Antigen für Kontrolltitration	Medium 199 + 5 % FKS	Fünf Verdünnungsstufen 1:10	Verdünnung $10^{0,-1, -2, -3, -4}$
Positivkontrolle (Plasma)	Medium 199 + 5 % FKS	1:32 bis 1:512	0,1 ml Probe + 1,5 ml Medium =
Positivkontrolle (Gammaglobulin)		1:256 bis 1:8192	1,6 ml (1:16)
Probe (FSME-Bulin)		1:256 bis 1:8192	1 ml (1:16) + 1ml Medium = 2 ml (1:32) usw.
Probe (Plasma)	Medium 199 + 5 % FKS	1:10 bis 1:640	0,1 ml Probe + 0,9 ml Medium = 1 ml (1: 10) 250 µl (1:10) + 750 µl Medium = 1 ml (1: 40) usw.

Danach wird der Test angesetzt. Die Reagenzien werden auf Gewebekulturmikrotiterplatten aufgebracht. Von der Verozellsuspension werden 100 µl in alle vorhandenen Nöpfchen aufgebracht und für 24 ( $\pm$  2) Stunden bei 37 ( $\pm$  2) °C inkubiert (Anreicherung mit CO<sub>2</sub>). Nun werden jeweils 100 µl der Probe-Antigen-Mischung und der Viruskontrolle in 8 Nöpfchen pro Verdünnungsstufe pipettiert und für sieben Tage bei 37 ( $\pm$  2) °C inkubiert (Anreicherung mit CO<sub>2</sub>); von der Negativ- bzw. Zellkontrolle werden jeweils 100 µl in 8 Nöpfchen titriert und unter den selben Bedingungen inkubiert.

Für den **Solid Phase Enzym Immuno Assay** werden die Reagenzien vorbereitet. Alle Reagenzien werden eine halbe Stunde vor Gebrauch bei Zimmertemperatur gelagert. Das Anti-FSME-IgG vom Meerschweinchen wird mit dem Beschichtungspuffer, die Positivkontrolle wird mit dem DSW-Puffer und das OPD-Substrat wird mit dem OPD-Substratpuffer in einem geeigneten Verhältnis verdünnt (Tab 24).

Das Anti-FSME-IgG vom Kaninchen wird mit dem DSW-Konjugatpuffer für jede neue Charge in Form einer Blocktitration ermittelt und unmittelbar vor Gebrauch hergestellt.

**Tab. 24:** Vorbereitung der Reagenzien.

Reagenz	Verdünnungsmittel	Verdünnung	Bemerkung
Anti-FSME-IgG Meerschweinchen	Beschichtungspuffer	1 µg/ml	
Positivkontrolle	Verdünnungspuffer	1:8 - 1:256	700 µl Probe + 100 µl Puffer = 800 µl 1:8
OPD-Substrat	OPD-Substratpuffer	2 mg/ml	

Danach wird der Test angesetzt. Die Reagenzien werden auf die Mikroelisaplaten aufgebracht und inkubiert.

Es werden jeweils 100 µl von dem Anti-FSME-IgG vom Meerschweinchen in alle Nüpfchen pipettiert und für 16 bis 18 Stunden bei 2 °C bis 12 °C inkubiert. Antikörper, welche gegen das FSMEV gerichtet sind, so an eine feste Phase gebunden. Danach wird dreimal geschwaschen.

Von der Probe und der Positivkontrolle werden jeweils pro Verdünnungsstufe 100 µl in ein Nüpfchen pipettiert. Eventuell vorhandenes FSME-Antigen heftet sich an die bereits gebundenen FSME-Antikörper an. In ein Nüpfchen wird nur 100 µl des DSW-Puffers zur Puffer-Kontrolle verbracht. Nun wird eine Stunde ( $\pm$  5 Minuten) bei 37 °C inkubiert und dann dreimal gewaschen.

Danach werden jeweils 100 µl Anti-FSME-Kaninchenserum in alle Nüpfchen - außer dem Leerwert - pipettiert. Die darin enthaltenen Antikörper heften wiederum an die FSME-Antigene an; es wird für eine weitere Stunde ( $\pm$  5 Minuten) bei 37 °C inkubiert und dann 5-mal gewaschen. Anschließend werden jeweils 100 µl von dem Anti-Kaninchen-Konjugat in alle Nüpfchen - außer dem Leerwert - pipettiert und wiederum

eine Stunde ( $\pm 5$  Minuten) bei 37 °C inkubiert. Abhängig von der Menge gebundenen Anti-FSME-Kaninchenserums wird die entsprechende Menge Konjugat gebunden.

Um die Farbreaktion des Konjugates hervorzurufen werden 100  $\mu$ l von dem OPD-Substrat in alle Nöpfchen verbracht und ebenso 100  $\mu$ l der Schwefelsäure, welche die Reaktion stoppt.

Die Farbreaktionen auf der Platte werden mit einem Photometer bei 492 nm gemessen.

#### **3.2.1.2.4. Testauswertung**

Bestimmung des Extinktionswertes (Cut-off):

Das arithmetische Mittel der optical density (O. D.)-Wert der Viruskontrolle mit der Verdünnungsstufe  $10^{-3}$  wird mit 2 multipliziert und ergibt den Cut-Off-Wert.

Bestimmung des Neutralisationstiter:

Der Neutralisationstiter jeder Probe wird mittels Logit-Probit-Methode oder mittels der Statistikmethode nach G. Kärber zur Erfassung einer 50 % Dosis-Wirkungsbeziehung bestimmt. Alle Positionen auf der Mikrotiterplatte, denen ein O. D.-Wert von größer oder gleich dem Cut-Off-Wert zugeordnet werden kann, sind als positiv (nicht neutralisierend) zu werten.

#### **3.2.2. Statistische Auswertung der Daten**

Die Auswertung der Daten wurde mit dem SAS-Programm vorgenommen. Es wurde ein Signifikanz-Intervall von  $p < 0.05$  vorgegeben.

Die einzelnen Merkmale der einzelnen Spezies Pferd und Hund wurden auf Signifikanz geprüft, dazu wurde ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Bei den Pferden wurden die Merkmale Ort bzw. Gruppe, Rasse, Farbe, Alter, Geschlecht, Haltung und Weidegang auf Signifikanz geprüft und bei den Hunden die Merkmale Ort bzw. Gruppe, Rasse, Farbe, Felllänge, Alter, Geschlecht, Waldkontakt. Bei dem Merkmal

Haltung war bei den Hunden die Wohnungshaltung zu der Ketten und Zwingerhaltung prozentuell zu stark vertreten. Das Merkmal konnte nicht ausgewertet werden.

Die gesamten Merkmale der einzelnen Spezies Pferd und Hund wurden in einer Logitregression mit einem Chi-Quadrat-Test explorativ auf Signifikanz hin überprüft. So konnte festgestellt werden, welche der untersuchten Merkmale für die Seropositivität der jeweiligen Spezies signifikant entscheidend waren.

Weiter wurde der Titerverlauf der Pferde innerhalb der Untersuchungszeit mit einer Varianzanalyse auf einen signifikanten Anstieg hin untersucht. Dazu wurde ein GLM (General-Linear-Model)-Test durchgeführt. Innerhalb der einzelnen Untersuchungszeitpunkte wurde der Anstieg der Titerdurchschnitte der positiven Reagenten und der arithmetischen Mittel aller Tiere auf Signifikanz mit einem LS-Means-Test geprüft.

Außerdem wurden die Spezies Pferd und Hund in einem T-Test auf signifikante Unterschiede in Hinsicht des Positivseins und der Titerhöhe kontrolliert.



## 4. Ergebnisse

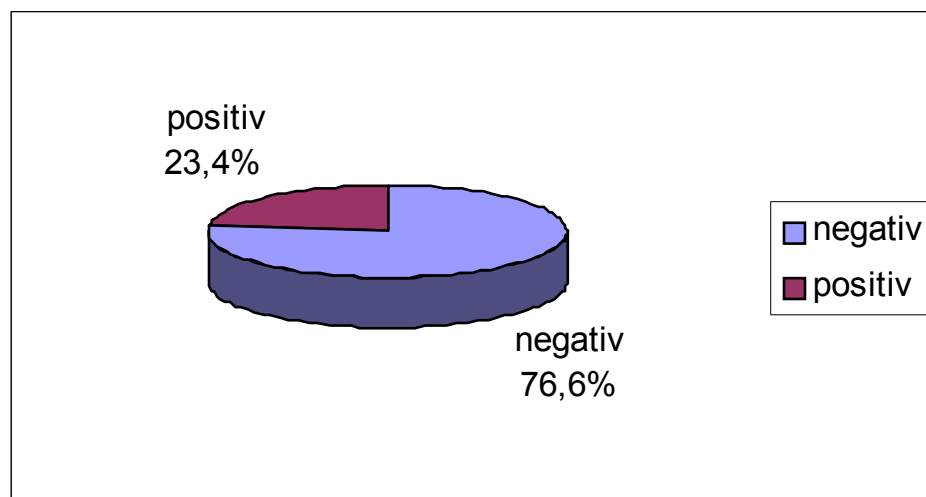
### 4.1. Untersuchung der Serumproben auf AK gegen das FSMEV

#### 4.1.1. Pferde

##### 4.1.1.1. Ergebnisse im ELISA

###### 4.1.1.1.1. Durchseuchungsrate der Pferdepopulation im März 1999

In der Erstuntersuchung im März 1999 wurden bei 48/205 Pferden Antikörper gegen das FSMEV festgestellt, das entspricht einem Anteil von 23,4 % (*Abb. 10*).



**Abb. 10:** Anteil der seropositiven Pferde in der untersuchten Population im März 1999.

###### 4.1.1.1.2. Einteilung des Untersuchungsgebietes

Die Pferde wurden nach ihren Standorten in 8 Gruppen innerhalb des Untersuchungsgebietes zwischen Ravensburg und Waldshut zusammengefasst. Der Anteil der seropositiven Pferde der einzelnen Gruppen bei der Erstuntersuchung im März 1999 ist in *Tab. 25* angegeben und in *Abb. 11* dargestellt.

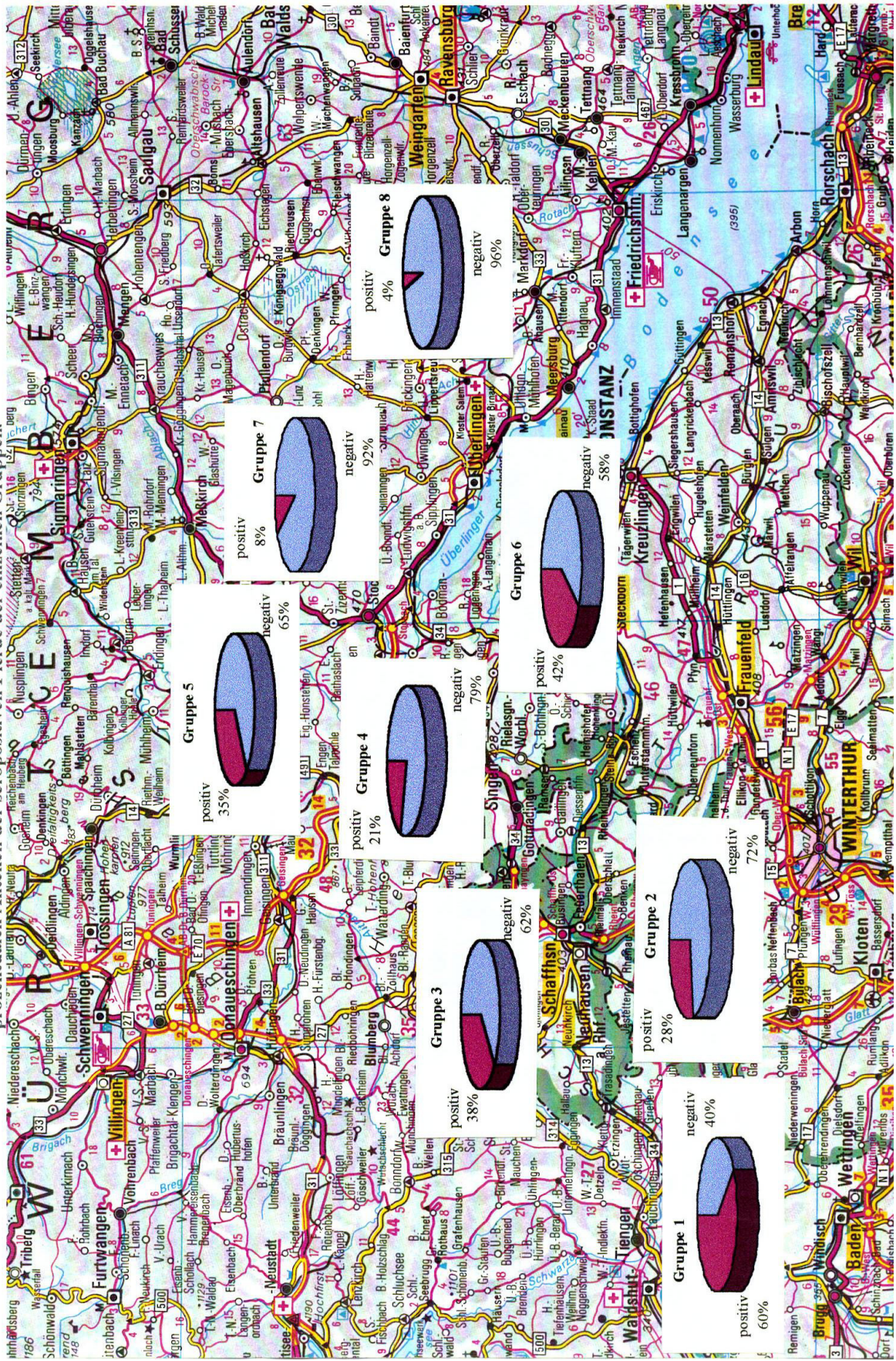
**Tab. 25:** Prozentualer Anteil der seropositiven Pferde der einzelnen Gruppen bei der Erstuntersuchung im März 1999.

<b>Gruppennummer</b>	<b>Anteil der seropositiven Pferde in %</b>
Gruppe 1	60.0
Gruppe 2	27.8
Gruppe 3	38.5
Gruppe 4	21.1
Gruppe 5	35.3
Gruppe 6	42.3
Gruppe 7	8.3
Gruppe 8	3.6

Der Anteil der seropositiven Pferde in den 8 Gruppen wurde im Chi-Quadrat-Test auf einen signifikanten Anstieg der prozentualen Seropositivität von Westen nach Osten hin untersucht ( $p= 0.001$ ).

Das Gebiet zwischen Ravensburg und Waldshut ließ sich anhand der Ergebnisse in ein „niedrig-endemisches Gebiet“ (Gruppe 8) zwischen Ravensburg und Ludwigshafen (a. Bodensee), indem eine Seroprävalenzrate von 3,6 % vorlagen und ein „hoch-endemisches Gebiet“ (Gruppen 1 bis 7) zwischen Ludwigshafen und Waldshut, indem eine Seroprävalenzrate von durchschnittlich 33,3 % (8,3 % - 60 %) vorlagen einteilen (*Abb. 11*).

Abb. 13: Darstellung der 8 Gruppen innerhalb des Untersuchungsgebietes, mit den prozentualen Anteilen der seropositiven Pferde der einzelnen Gruppen.



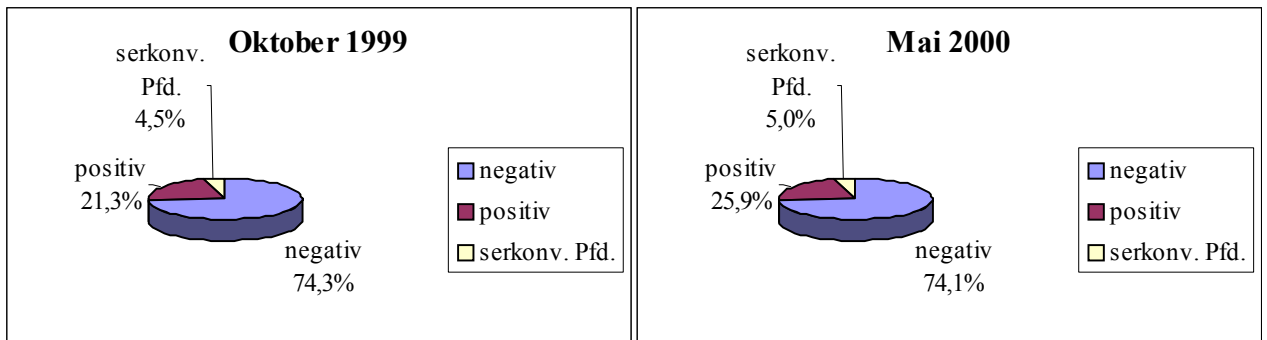
#### 4.1.1.1.3. Durchseuchungsrate der Pferdepopulation incl. serokonvertierte Pferde im Oktober 1999 und im Mai 2000

Die Untersuchungen wurden im Oktober 1999 und im Mai 2000 wiederholt. Im Verlauf der Untersuchung fand im hoch-endemischen Gebiet bei 10 Pferden eine Serokonversion statt. Bei einem Pferd, welches in der 1. Untersuchung schwach positiv war, ließen sich in der 2. Untersuchung keine Antikörper gegen das FSMEV mehr nachweisen. Zwei der positiv getesteten Pferde wurden wegen COPD bzw. Altersschwäche euthanasiert und konnten nicht mehr an der Studie teilnehmen. Alle anderen Pferde wurden im Verlauf eines Jahres kontrolliert (*Tab.26*) (Titerhöhen siehe Anhang 8.6.).

**Tab. 26:** Anzahl der positiven, negativen und serokonvertierten Pferde in den Monaten März und Oktober 1999 und Mai 2000

	<b>März 1999</b>	<b>Okt 1999</b>	<b>Mai 2000</b>
untersuchte Pferde (n)	205	202	201
negative Pferde (n)	157	150	149
positive Pferde (n)	48	52	52
Pferde mit Serokonversion (n)	0/48	9/52	10/52

Der Anteil der positiven Pferde von der Gesamtpopulation stieg von 23 % im März 1999 auf 25 % im Oktober 1999 und auf 26 % im Mai 2000. Zu beachten ist, dass ein positives Pferd in dieser Zeit negativ geworden ist und zwei positive Pferde euthanasiert wurden und deshalb nicht mehr zur Verfügung standen (*Abb. 12*).



**Abb. 12:** Anteil der positiven und der serokonvertierten Pferde in der untersuchten Population in den Monaten Oktober 1999 und Mai 2000.

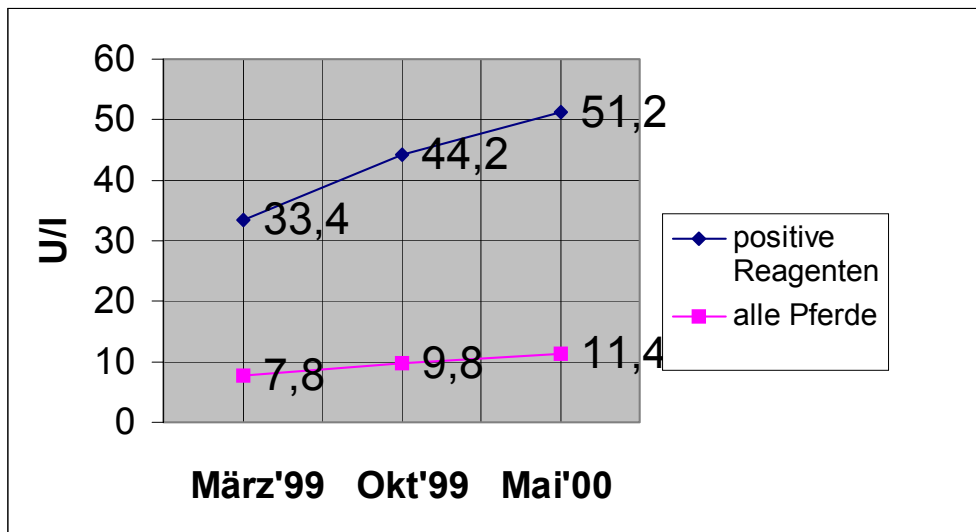
#### 4.1.1.1.4. Titergrenzen und Titermittelwerte der positiven Reagenten

Pferde mit einem Antikörper-Titer  $< 5$  U/l wurden zu den negativen Reagenten gezählt, Pferde mit einem Titer zwischen 5 bis 7 U/l wurde als grenzwertig bezeichnet und gehörten wie auch die Pferde mit einem Titer über 7 U/l in die Gruppe der positiven Reagenten,

Bei der ersten Blutabnahme im März 1999 befanden sich die Titergrenzen zwischen 7 U/l und 87 U/l, der durchschnittliche Titer betrug 33,4 U/l.

Im Monat Oktober 1999 lagen die Titer zwischen 6 U/l und 100 U/l, der durchschnittliche Titer war 44,2 U/l.

Im Monat Mai 2000 lagen die Titer zwischen 7 U/l und 101 U/l, der Titermittelwert betrug 51,2 U/l (*Abb. 13*).



**Abb 13:** Titermittelwerte der seropositiven Reagenten und Titermittelwerte aller Pferde.

Die Titermittelwerte der seropositiven Reagenten an allen drei Untersuchungszeitpunkten wurden im GLM-Test statistisch erfasst. Es ließ sich ein signifikanter Anstieg innerhalb des Untersuchungszeitraumes feststellen ( $p= 0.0029$ ). Der Anstieg war zwischen dem ersten und zweiten ( $p= 0.0374$ ) und dem ersten und dritten ( $p= 0.0007$ ) Untersuchungszeitpunkt signifikant. Zwischen dem zweiten und dritten Untersuchungszeitpunkt lag kein signifikanter Anstieg vor.

Bezieht man die negativen Tiere in den Test mit ein, so war der Anstieg weder zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten noch insgesamt signifikant.

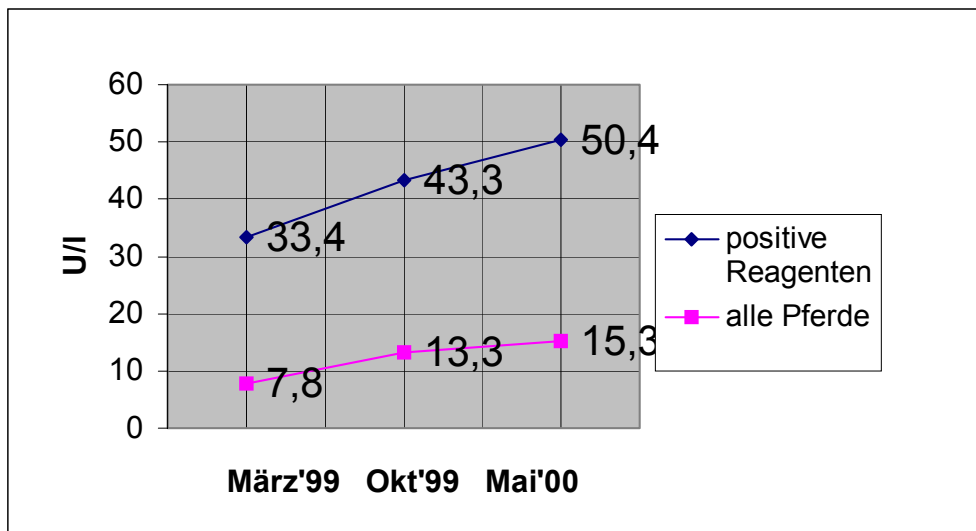
#### **4.1.1.1.5. Titergrenzen und Titermittelwerte der positiven incl. der serokonvertierten Reagenten**

Schließt man die serokonvertierten Pferde in die Gesamtheit der untersuchten Pferde mit ein und errechnet man hiervon den durchschnittlichen Titer der positiven Tiere und das arithmetische Mittel aller untersuchten Tiere, ergeben sich die in *Abb. 14* dargestellten Werte.

Die Antikörpertiter lagen bei der ersten Blutabnahme im März 1999 zwischen 7 U/l und 87 U/l, der Titermittelwert betrug 33,4 U/l.

Im Monat Oktober 1999 lagen die Titer zwischen 6 U/l und 141 U/l, der Titermittelwert betrug 43.3 U/l.

Im Monat Mai 2000 lagen die Titer zwischen 7 U/l und 101 U/l. Hier wurde ein Titermittelwert 50.4 U/l errechnet (Abb. 14).



**Abb. 14:** Titermittelwerte der seropositiven incl. der serokonvertierten Pferde und Titermittelwerte aller untersuchten Pferde.

Die Titermittelwerte der seropositiven Tiere incl. der serokonvertierte Tiere aller drei Untersuchungszeitpunkte wurden dem GLM-Test unterzogen. Es ließ sich ein signifikanter Anstieg innerhalb des Untersuchungszeitraumes feststellen ( $p=0.0001$ ). Im LS-Means-Test war der Anstieg zwischen dem ersten und zweiten ( $p=0.0021$ ) und dem ersten und dritten ( $p=0.0001$ ) Untersuchungszeitpunkt, nicht aber zwischen dem zweiten und dritten ( $p=0.1701$ ) Untersuchungszeitpunkt signifikant.

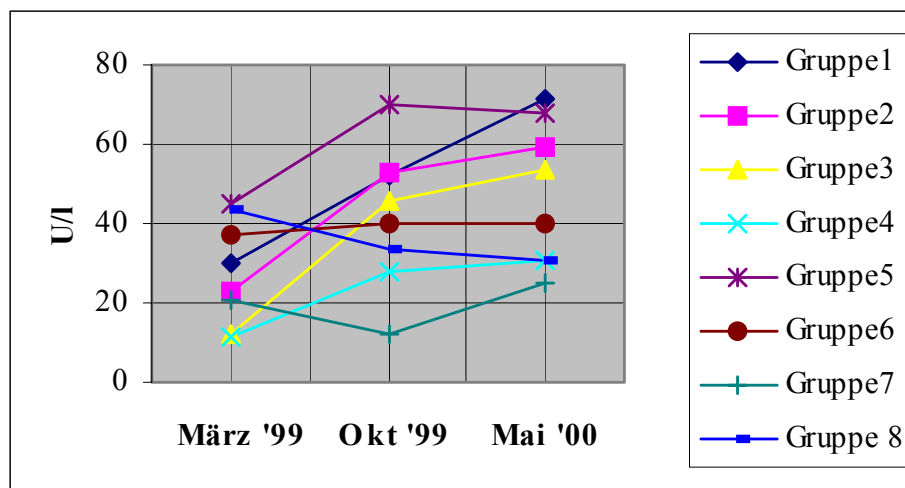
Bezieht man die negativen Tiere in den Test mit ein, d. h. setzt man den GLM Test auf Titermittelwerte aller Tiere an, so ist der Anstieg immer noch signifikant ( $p=0.00508$ ). Der LS-Means-Test ergab, dass der Anstieg zwischen dem ersten und zweiten ( $p=0.00228$ ) und ersten und dritten ( $p=0.002$ ) Untersuchungszeitpunkt, nicht aber zwischen dem zweiten und dritten ( $p=0.4114$ ) Untersuchungszeitpunkt signifikant war.

#### 4.1.1.1.6. Gruppenuntersuchung der seropositiven incl. der serokonvertierten Pferde

Für die einzelnen Gruppen sind die Titermittelwerte der positiven incl. der serokonvertierten Pferde und die Titermittelwerte aller Pferde zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten in *Tab. 27* aufgelistet und in *Abb. 15* bzw. *16* dargestellt.

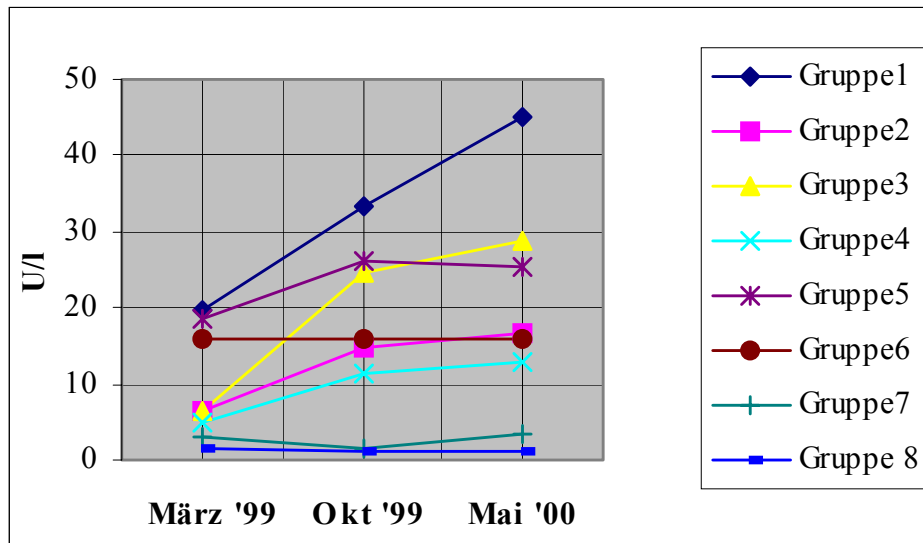
**Tab. 27:** Gegenüberstellung der Titermittelwerte positiver incl. serokonvertierter Reagenten und aller Pferde an den drei Untersuchungszeitpunkten in den jeweiligen Gruppen.

Gruppe (Anzahl der positiven Reagenten)	Serokonvertierte Pferde	Titermittelwert(U/l) Pos.Reagenten/ alle Pferde März 1999	Titermittelwert(U/l) Pos.Reagenten/ alle Pferde Okt. 1999	Titermittelwert(U/l) Pos.Reagenten/ alle Pferde Mai 2000
1 (12)	1	30.2 / 19.7	52.5 / 33.2	71.6 / 45.2
2 (5)	0	23.2 / 6.4	52.6 / 14.6	59.6 / 16.6
3 (5)	2	11.9 / 6.4	45.9 / 247	53.3 / 28.7
4 (4)	4	11.5 / 4.8	27.6 / 11.3	30.8 / 13.0
5 (6)	1	45.3 / 18.7	69.8 / 26.2	68.0 / 25.5
6 (10)	0	37.3 / 15.8	40.1 / 16.0	40.0 / 16.0
7 (3)	2	20.6 / 2.9	12.2 / 1.7	25.0 / 3.5
8 (2)	0	43.5 / 1.6	33.5 / 1.2	30.5 / 1.1



**Abb. 15:** Titermittelwerte der seropositiven incl. der serokonvertierten Pferde der einzelnen Gruppen an den Untersuchungszeitpunkten März und Oktober 1999 und Mai 2000.





**Abb. 16:** Titermittelwerte aller untersuchten Pferde der einzelnen Gruppen an den Untersuchungszeitpunkten März und Oktober 1999 und Mai 2000.

Die Titermittelwerte der seropositiven incl. der serokonvertierten Pferde aller 8 Gruppen zu den drei Untersuchungszeitpunkten wurden im LS-Means-Test erfasst. Gruppe 1 ( $p=0.0001$ ), Gruppe 2 ( $p=0.0163$ ) und Gruppe 3 ( $p=0,0217$ ) zeigten einen signifikanten Anstieg innerhalb des Untersuchungszeitraumes, wobei ein signifikanter Anstieg vor allem zwischen dem ersten und zweiten und dem ersten und dritten Untersuchungszeitpunkt vorlag. Bei der ersten Gruppe war ein signifikanter Anstieg ( $p=0.0085$ ) sogar zwischen dem zweiten und dritten Untersuchungszeitpunkt vorhanden. Bei den restlichen Gruppen lag kein signifikanter Anstieg der Titermittelwerte vor (*Abb. 15*).

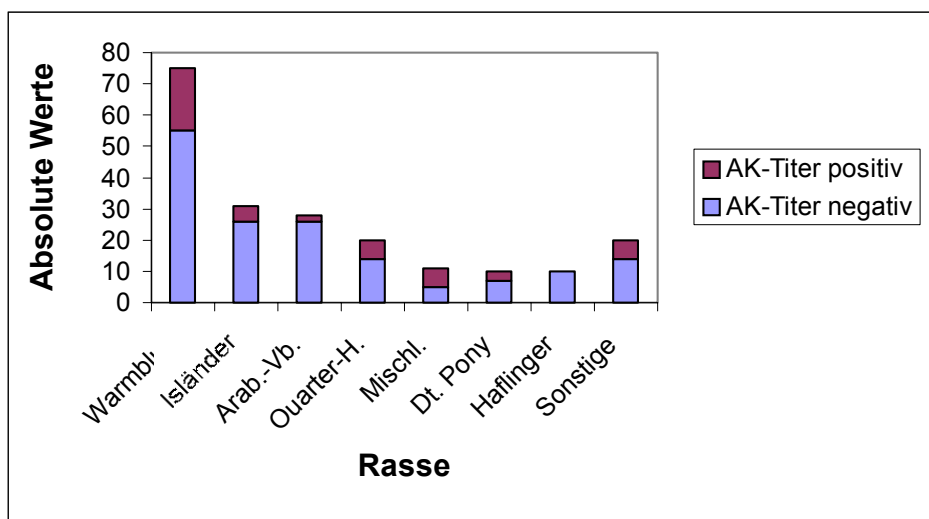
Bezieht man die negativen Tiere in den Test mit ein, so war der Anstieg der Titermittelwerte nur in der Gruppe 1 ( $p=0.03$ ) signifikant und zwar zwischen dem ersten und zweiten Untersuchungszeitpunkt (*Abb. 16*).

#### 4.1.1.2. Rassenverteilung

Unter den seropositiven Reagenten waren Pferde der verschiedensten Rassen zu finden. Die Rassenverteilung in Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Pferde ist in *Tab. 28* und *Abb. 17* aufgeführt.

**Tab 28:** Absoluter und prozentualer Anteil der seropositiven Reagenten einer bestimmten Rasse von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Rasse (n).

Rasse	Anteil positiver Pferde/ n	%
Warmblut	20/75	26.7
Isländer	5/31	15.6
Arabisches Vollblut	2/28	7.1
Quarter-Horse	6/20	30
Mischling	6/11	54.5
Deutsches Reitpony	3/10	30
Haflinger	0/10	0
Sonstige :	6/20 :	30
Engl. Vollblut	0/5	0
Norweger	3/4	75
Freiberger	2/4	50
Shetland Pony	0/3	0
Creolo	1/2	50
Shire Horse	0/1	0
Tinker	0/1	0



**Abb. 17:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einer bestimmten Rasse von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Rasse.

Das Merkmal Rasse war im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant. Auffallend ist, dass keiner der untersuchten Haflinger (n= 10) positiv war.

#### 4.1.1.3. Fellfarbe

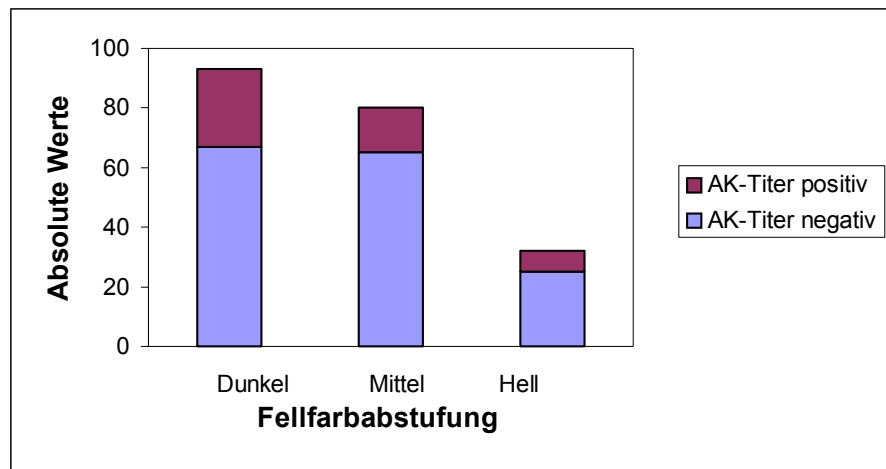
Unter den positiven Reagenten waren Pferde mit den verschiedensten Fellfarben vertreten. In Bezug auf die Gesamtheit aller untersuchten Pferde sind die Fellfarben in *Tab. 29* aufgelistet. Die Fellfarben wurden zur Auswertung in dunkle, mittlere und helle Fellfarben geordnet (*Tab. 30*) (*Abb. 18*).

**Tab. 29:** Absoluter und prozentualer Anteil der seropositiven Pferde einer best. Fellfarbe von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Fellfarbe (n).

Fellfarbe	Positive Reagenten/n	%
Fuchs	9/54	16.7
Brauner	17/48	35.4
Schimmel	7/30	23.3
Rappe	5/22	22.7
Dunkel Brauner	4/24	16.7
Falbe	4/11	40
Schecke braun	0/8	0
Schecke schwarz	2/6	33.3
Isabell	0/2	0
Schecke schwarz, braun	0/1	0

**Tab. 30:** Absoluter und prozentualer Anteil der seropositiven Pferde einer best. Fellfarbenabstufung von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Fellfarbe (n).

Farbabstufung	Positive Reagenten/n	%
Dunkel	26 / 93	28.0
Mittel	15 / 80	18.8
Hell	7 / 32	21.9



**Abb. 18:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Reagenten einer bestimmten Farbabstufung von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Farbabstufung.

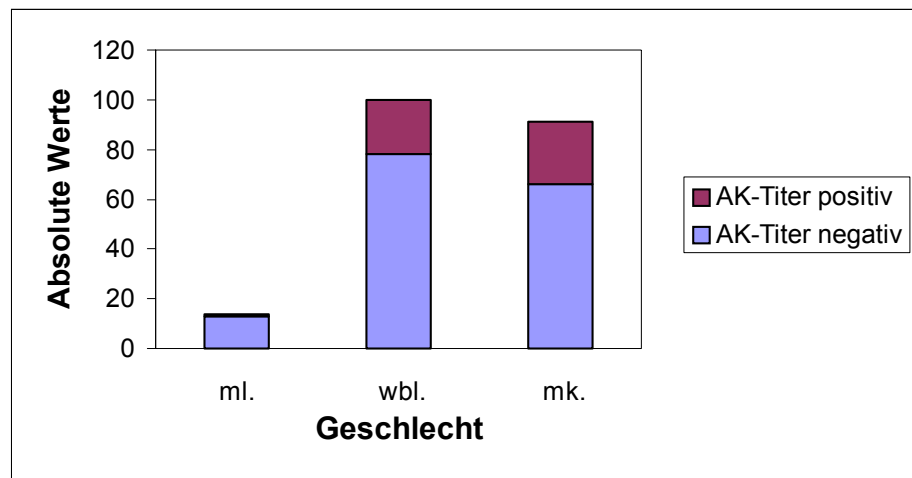
Das Merkmal Farbabstufung war im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant.

#### 4.1.1.4. Geschlechtsverteilung

Seropositive Reagenten waren bei Hengst, Stute und Wallach zu finden. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Pferde erhält man die in *Tab. 31* angegebenen Werte. Positive und negative Reagenten werden in *Abb. 19* gegenübergestellt.

**Tab. 31:** Geschlechtsverteilung der seropositiven Pferde in absoluten Zahlen und in Prozent % in der Gesamtheit der untersuchten Pferde des jew. Geschlechtes (n).

Geschlecht	Positive Reagenten/n	%
Hengst	1/14	7.1
Stute	22/100	22
Wallach	25/91	27.5



**Abb. 19:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde eines bestimmten Geschlechtes von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieses Geschlechtes.

Das Merkmal Geschlecht war nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant.

#### 4.1.1.5. Altersverteilung

Das Alter der seropositiven Reagenten lag zwischen einem und 26 Jahren. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Pferde erhält man die in *Tab. 32* eingetragenen Werte.

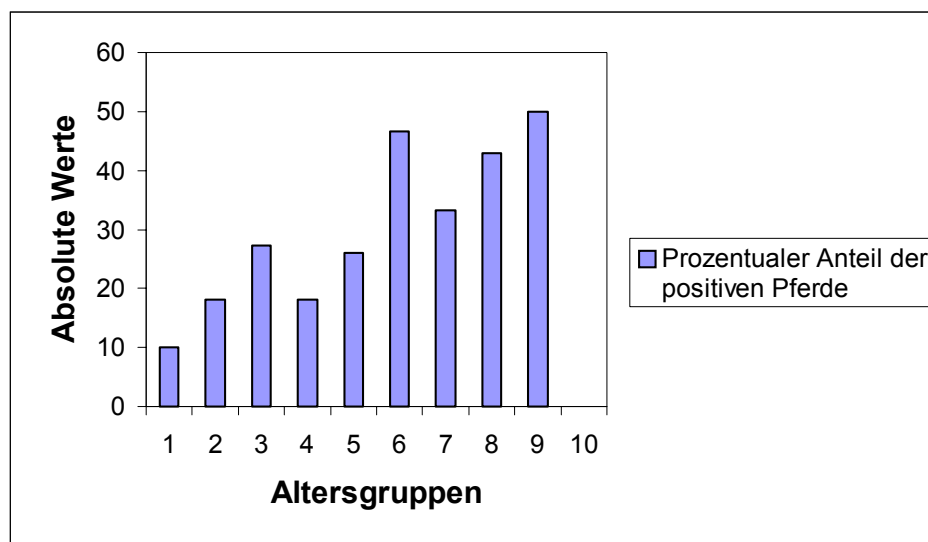
**Tab. 32:** Altersverteilung in absoluten Zahlen und in Prozent % der seropositiven Pferde in der Gesamtheit der untersuchten Pferde des jeweiligen Alters.

Altersgruppen in Jahren	n	%
0-3	3/30	10
4-6	8/44	18.2
7-9	12/44	27.3
10-12	6/33	18.2
13-15	6/23	26.1
16-18	7/15	46.7

Fortsetzung Tab 32.:

Altersgruppen in Jahren	n	%
19-21	2/6	33.3
22-24	3/7	42.9
25-27	1/2	50
28-30	0/1	0

Stellt man den prozentualen Anteil der seropositiven Pferde einer definierten Altersgruppe dar, erhält man die Verteilung in *Abb. 20*.

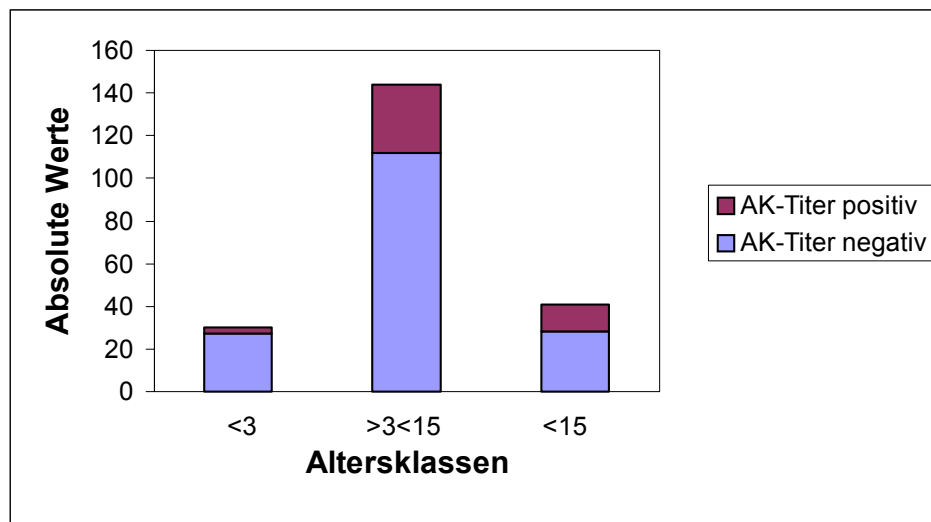


**Abb. 20:** Prozentualer Anteil der seropositiven Reagenten einer definierten Altersgruppe von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Altersgruppe.

Für die statistische Auswertung wurden die Altersgruppen noch einmal in Klassen zusammengefasst und zwar umfasst die Altersklasse 1 ungerittene Pferde bis drei Jahre, die Altersklasse 2 gearbeitete Pferde bis 15 Jahre und die Altersklasse 3 alte Pferde über 15 Jahre (*Tab. 33*). In *Abb. 21* werden seropositive und seronegative Reagenten gegenübergestellt.

**Tab. 33:** Altersklassen in absoluten Zahlen und in Prozent % der seropositiven Pferde von der Gesamtheit der untersuchten Pferde des jeweiligen Alters.

Altersklasse; in Jahren	n	%
1; <3	3/30	10
2; >3 <15	32/144	22.2
3; >15	13/31	41.9



**Abb. 21:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Reagenten einer bestimmten Altersklasse von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Altersklasse.

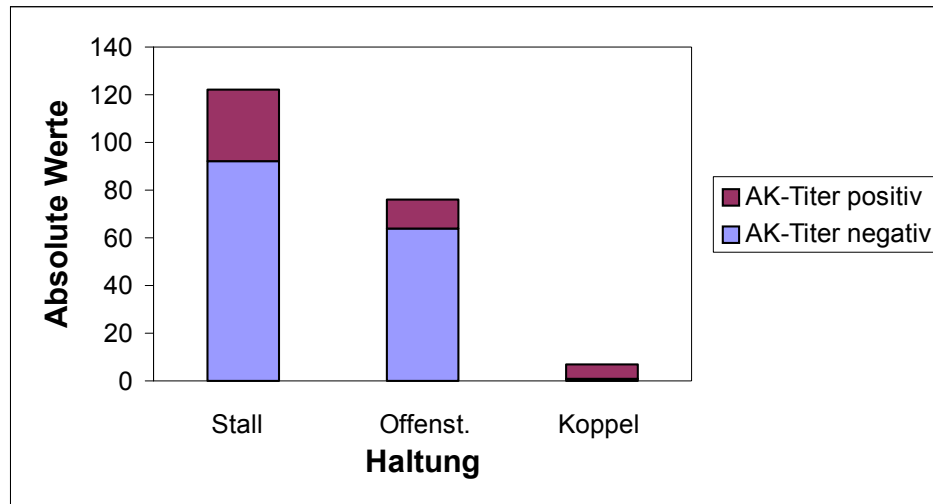
Das Merkmal Alter war im Chi-Quadrat-Test signifikant ( $p=0.011$ ).

#### 4.1.1.6. Haltungsform

Alle seropositiven Pferde hatten Koppelgang. Es waren Tiere aus Stallhaltung und aus Offenstallhaltung mit ganzjährigem Koppelgang je nach Witterung und Tiere, welche das ganze Jahr über Tag und Nacht auf der Koppel gehalten wurden vertreten. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Pferde sind die Zahlenwerte in *Tab. 34* dargestellt. Eine Gegenüberstellung seropositiver und seronegativer Reagenten findet sich in *Abb. 22*.

**Tab. 34 :** Haltungsform in absoluten Zahlen und in Prozent % der seropositiven Pferde von der Gesamtheit der Pferde einer bestimmten Haltungsform (n).

Haltungsform	Positive Reagenten/n	%
Stallhaltung mit Koppel	30/122	24.6
Offenstall mit Koppel	12/76	15.8
Koppelhaltung	6/7	85.7



**Abb. 22:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einer bestimmten Haltungsart von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Haltungsart.

Das Merkmal Haltung wurde in einem Chi-Quadrat-Test auf Signifikanz überprüft ( $p=0.001$ ).

Alle Pferde hatten das ganze Jahr über Weidegang. Die unterschiedliche Dauer des Weidegangs wurde folgendermaßen erfasst: nur tagsüber (T); tagsüber, aber im Sommer nur nachts (T, N Sommer); Tag und Nacht, wobei sie im Sommer nur nachts draußen waren (T+N Sommer); Tag und Nacht egal zu welcher Jahreszeit (T+N) (Tab. 35).



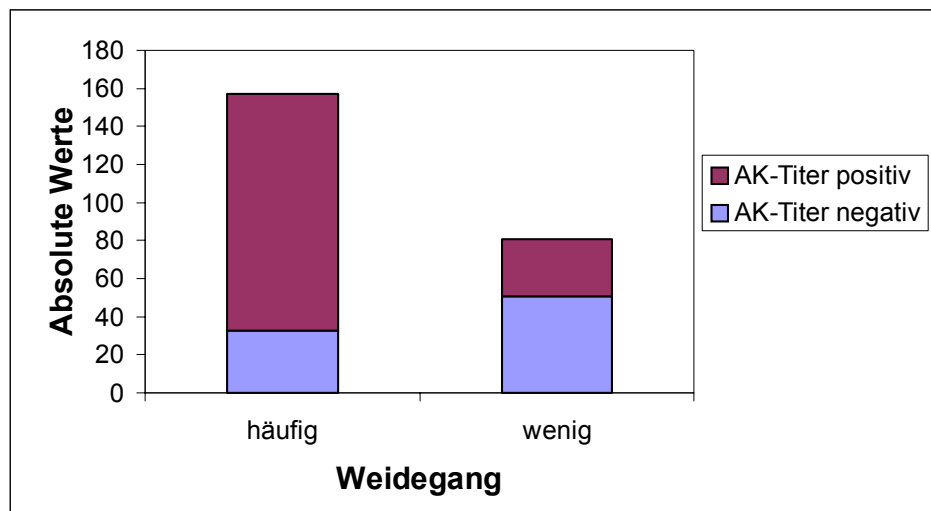
**Tab. 35:** Weidegang in absoluten Zahlen und in Prozent % der seropositiven Pferde von der Gesamtheit der untersuchten Pferde mit einem bestimmten Weidegang (n).

Weidegang	Positive Reagenten /n	%
T	10/63	15.9
T,N Sommer	20/92	21.7
T+N Sommer	12/43	27.9
T+N	6/7	85.7

Für die Auswertung wurde das Merkmal Weidegang in wenig (T und T, N Sommer) oder häufig (T+N Sommer und T+N) zusammengefasst (*Tab. 36*). Seropositive und seronegative Reagenten werden in *Abb. 23* gegenübergestellt.

**Tab. 36:** Haltungsform in absoluten Zahlen und in Prozent % der seropositiven Pferde von der Gesamtheit der untersuchten Pferde einer bestimmten Haltungsform (n).

Weidegang	Positive Reagenten/n	%
häufig	18/51	35.3
wenig	30/154	19.5



**Abb. 23:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einer bestimmten Weidegangfrequenz von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Weidegangfrequenz.

Das Merkmal Weidegang war nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test signifikant ( $p= 0.021$ ).

#### **4.1.1.7. Zusammenfassung der spezifischen Merkmale der Pferde**

Die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.001$ ), Haltung ( $p= 0.001$ ), Weidegang ( $p= 0.021$ ) und Altersgruppe ( $p= 0.011$ ) sind signifikante Merkmale. Der Aufenthalt im westlichen Untersuchungsgebiet, reine Koppelhaltung und häufiger Weidegang erhöhen die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität eines Individuums. Auch mit zunehmendem Alter steigt diese Wahrscheinlichkeit.

#### **Logitregression**

Die Merkmale Ort bzw. Gruppe, Altersgruppe, Farbabstufung, Geschlecht, Weidegang, Haltung wurde in einer Logitregression mit dem Chi-Quadrat-Test auf Signifikanz geprüft. Die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.0001$ ) und Haltung ( $p= 0.003$ ) sind signifikante Merkmale. Das Merkmal Weidegang ( $p= 0.1041$ ) hat nur tendenziellen Charakter. Bei Durchführung der Logitregression mit diesen drei Merkmalen fällt die Höhe der Signifikanz in der Reihenfolge der Merkmale Ort ( $p= 0.0001$ ), Haltung ( $p= 0.0023$ ), Weidegang ( $p= 0.0608$ ) ab.

#### **4.1.1.8. Ergebnisse im Serumneutralisationstest**

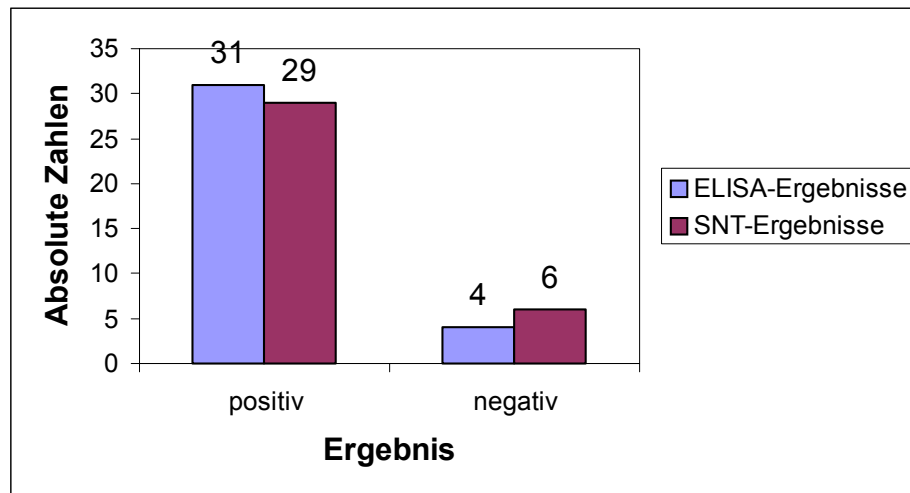
Mit einem Titer  $> 1:10$  wird das Ergebnis im SNT als positiv gewertet, Werte  $< 1:10$  gelten als negativ.

Die Titer im Serumneutralisationstest lagen zwischen  $< 1:6$  und  $< 1:1280$ .

#### **4.1.1.9. Überprüfung der ELISA-Ergebnisse der Pferde im Serumneutralisationstest**

Es wurden stichprobenartig 35 Pferdeseren ausgewählt, welche im ELISA schwach, mittel oder hoch positiv, negativ oder grenzwertig waren (siehe Anhang 8.5.). Von 31 positiven ELISA-Ergebnissen waren 28 im SNT übereinstimmend positiv, das entspricht einer Sensitivität von 90,3 %. 3 von 4 negativen ELISA-Ergebnissen ließen sich im SNT bestätigen, das entspricht einer Spezifität von 75 %. Eine Probe war im ELISA falsch-negativ, wobei im SNT nur ein schwach positives Ergebnis von  $< 1:16$  erreicht wurde und zwei Proben waren im ELISA falsch-positiv, wobei ein Ergebnis

im ELISA schwach-positiv und eines grenzwertig war. Insgesamt ließen sich 32 von 35 Proben im SNT bestätigen, das entspricht 91,4 % (Abb. 24).



**Abb. 24:** Überprüfung der ELISA-Ergebnisse der Pferde im Serumneutralisationstest.

#### 4.1.1.10. Symptome der seropositiven Pferde

Die seropositiven Pferde zeigten während des Untersuchungszeitraumes von 21 Monaten keine zentralnervösen Symptome wie sie bei einer FSME-Infektion beschrieben werden.

Bei 3 seropositiven Pferden berichteten die Besitzer von vorübergehendem Fieber und schlechtem Allgemeinbefinden ungeklärter Ursache in den vorangegangenen Monaten. Ein Pferd welches in der Untersuchung im März 1999 im ELISA negativ war hatte bei der Untersuchung im Oktober 1999 Antikörper gegen das FSMEV im Serum, die Besitzer berichteten, dass das Pferd im August 1999 eine „schlechte Phase“ gehabt habe.

#### 4.1.1.11. Fohlen der seropositiven Stuten

Fünf der seropositiven Stuten waren tragend. Von den Fohlen wurden zum Teil sofort nach der Geburt und zum Teil einige Wochen danach Blut zur FSME-AK-Bestimmung abgenommen, der Titer der Fohlen wurde über ein Jahr kontrolliert (Tab. 37).

**Tab. 37:** Titerhöhen in U/l der Fohlen und der seropositiven Stuten in einzelnen Monaten.

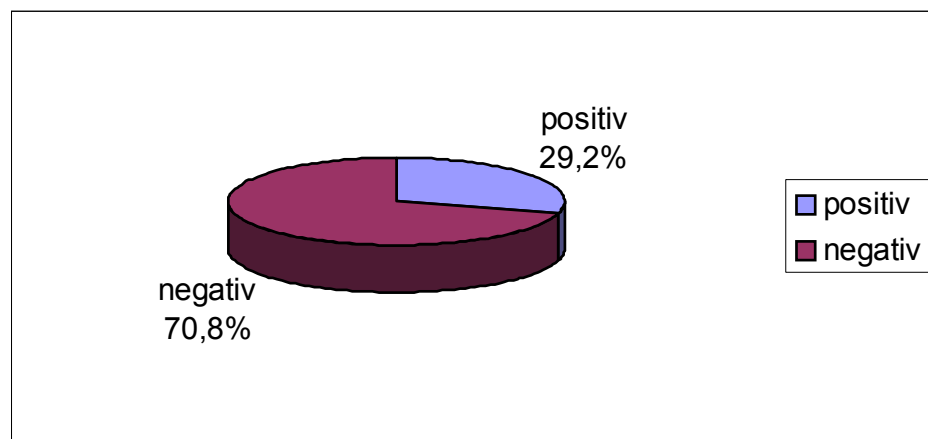
	<b>Aug. '99/ März '99</b>	<b>Okt. '99</b>	<b>Mai '00</b>	<b>Aug. '00</b>	<b>Feb. '00</b>
Fohlen 1 geb. 08.98 Stute	Neg/ 17	Neg 14	Neg 19		
Fohlen 2 geb. 08.99 Stute	Neg/ 17	Neg 14	Neg 19		
Fohlen 3 geb. 08.99 Stute	Neg/ 12	Neg 13	Neg 19		
Fohlen 4 geb. 08.99 Stute	Neg/ 39	Neg 26	Neg 31		
Fohlen 5 geb. 05.00 Stute			60 55	19	Neg

## 4.1.2. Hunde

### 4.1.2.1. Ergebnisse im ELISA

#### 4.1.2.1.1. Durchseuchungsrate der Hundepopulation im November 2000

In der Untersuchung vom November 2000 wurden bei 71/243 Hunden Antikörper gegen das FSMEV festgestellt, das entspricht einem Anteil von 29,2 % (Abb. 25).



**Abb. 25:** Anteil der seropositiven Hunde in der untersuchten Population im November 2000.

#### 4.1.2.1.2. Titergrenzen und Titermittelwerte der seropositiven Reagenten sowie aller Hunde.

Die Antikörpertiter der positiven Reagenten lagen bei der Blutabnahme nach der Zeckensaison 2000 zwischen 6 U/l und 196 U/l, der Mittelwert betrug 65,5 U/l und der Titelmittelwert von allen untersuchten Hunden lag bei 19,1 U/l.

Die Hunde ließen sich nach ihren Standorten in 5 Gruppen einteilen, wobei die Seroprävalenz zwischen 16,3 % und 41,8 % lag (Tab. 38) (Abb. 26).

**Tab. 38:** Prozentualer Anteil der seropositiven Hunde innerhalb der 5 Gruppen.

<b>Gruppen</b>	<b>Anteil positiver Reagenten in %</b>
1	28.6 %
2	41,8 %
3	25 %
4	27,3 %
5	16,3 %

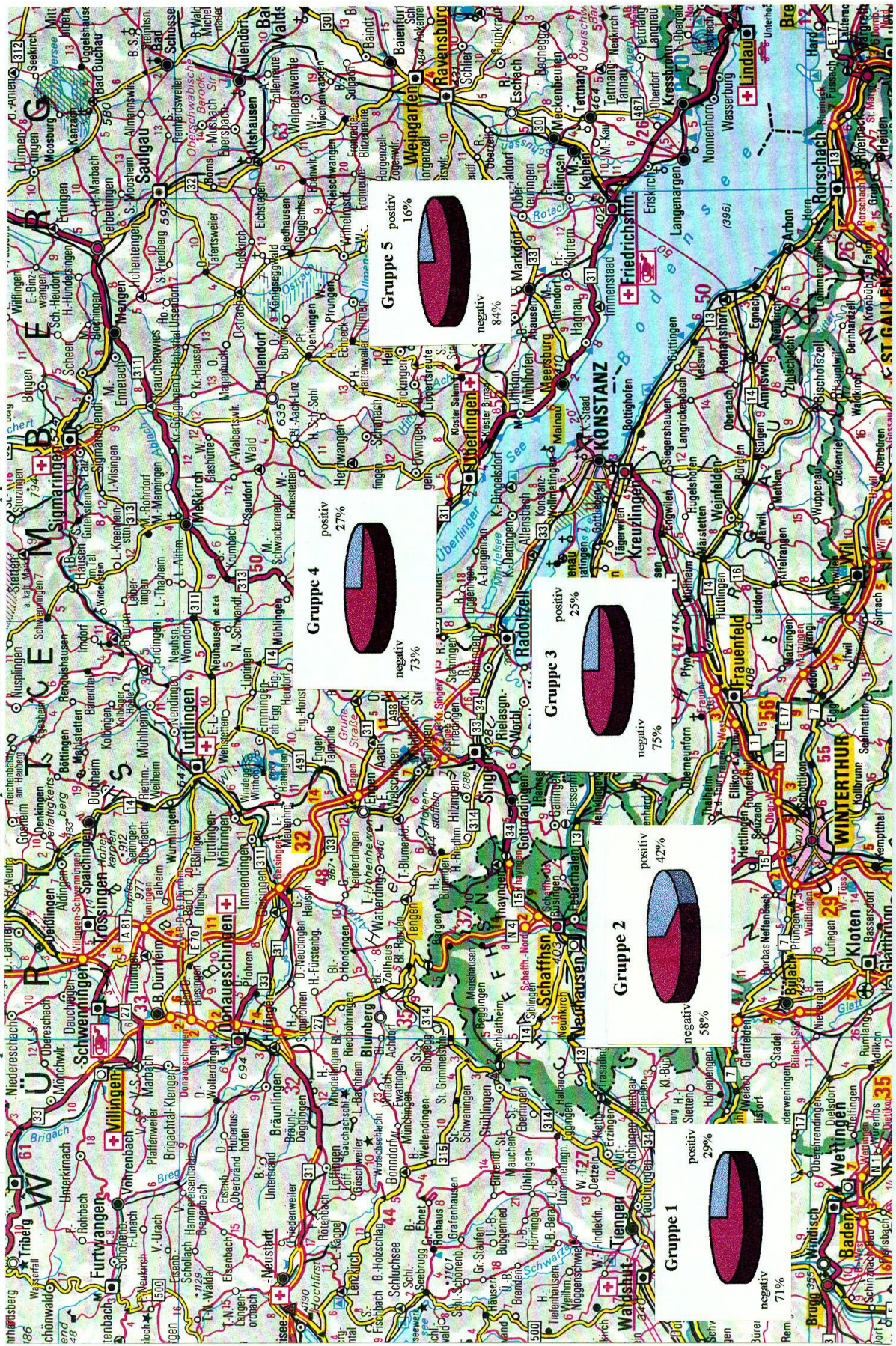
Die durchschnittlichen Titer der positiven Reagenten und die Titermittelwerte aller Hunde der einzelnen Gruppen sind in *Tab. 39* aufgeführt.

**Tab. 39:** Titermittelwerte der seropositiven Reagenten (n= 71) und aller untersuchten Hunde (n= 243) im November 2000.

<b>Gruppen</b>	<b>Titermittelwerte (U/l) der seropositiven Hunde</b>	<b>Titermittelwerte (U/l) aller Hunde</b>
1	45.3	12,9
2	61.5	25,7
3	79.6	19,9
4	86.5	23,6
5	65.3	10,6

Das Merkmal Ort bzw. Gruppe ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant.

Abb. 32: Darstellung der 5 Gruppen innerhalb des Untersuchungsgebietes, mit den prozentualen Anteilen der seropositiven Hunde der einzelnen Gruppen.

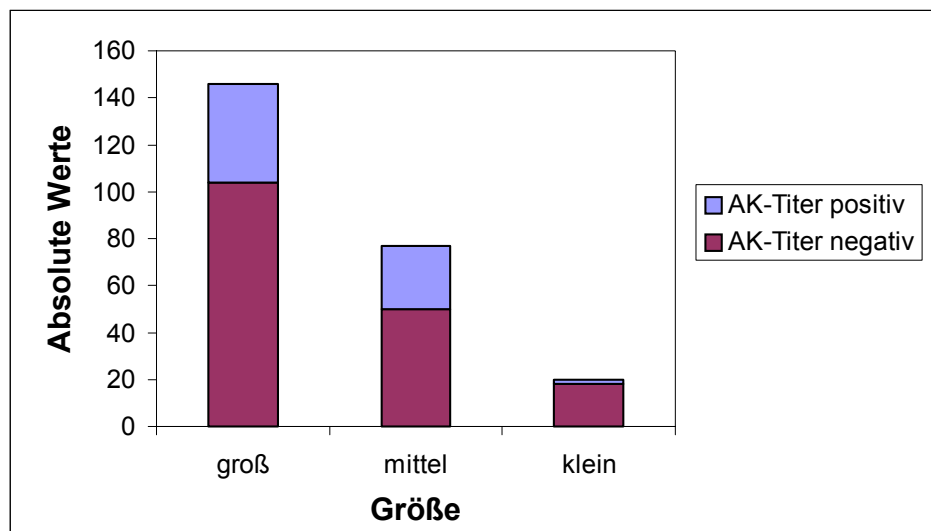


#### 4.1.2.2. Rassenverteilung

Bei den Hunden wurden die Merkmale Größe, Fellfarbe und Felllänge untersucht. Bei den seropositiven Reagenten waren große (Hunde über 25 kg Körpergewicht), mittlere (Hunde über 10 kg und bis 25 kg Körpergewicht) und kleine (Hunde bis 10 kg Körpergewicht) Hunde vertreten. Die absolute Zahl der Rassenrößen und der prozentuelle Anteil in Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde sind in *Tab. 40* und *Abb. 27* angegeben.

**Tab. 40:** Verteilung der seropositiven Hunde in absoluten Zahlen und in Prozent der Gesamtheit der untersuchten Hunde einer jeweiligen Größe (n).

Rassengröße	positive Reagenten/n	%
Große Rassen	42/146	28.8
Mittlere Rassen	27/77	35.1
Kleine Rassen	2/20	10.0



**Abb. 27:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde einer definierten Größe von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Größe.

Das Merkmal Größe ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant.



Bei den seropositiven Reagenten waren Tiere verschiedener Fellfarben vertreten, die Fellfarbenverteilung und der prozentuelle Anteil in Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde sind in *Tab. 41* aufgeführt.

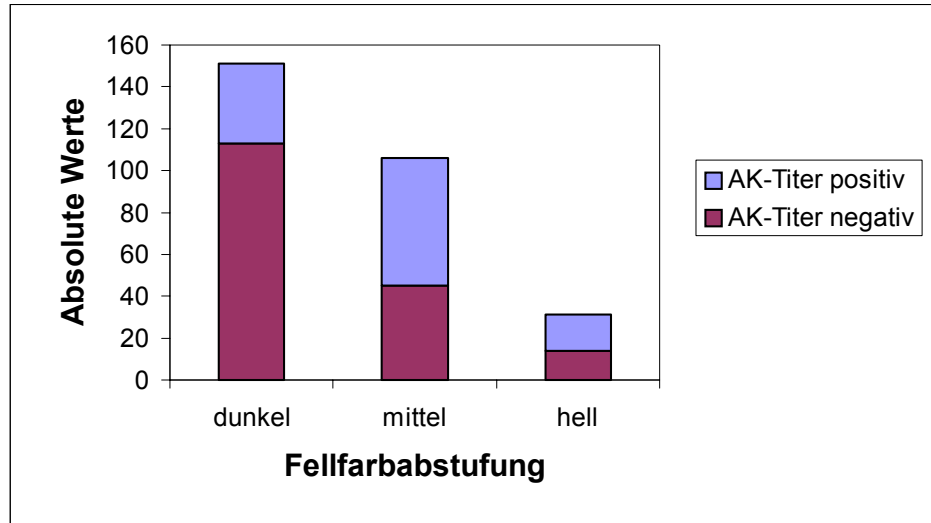
**Tab. 41:** Absoluter und prozentualer Anteil der seropositiven Hunde einer bestimmten Fellfarbe von der Gesamtheit der untersuchten Hunde mit dieser Fellfarbe.

<b>Fellfarbe</b>	<b>Positive Reagenten/n</b>	<b>%</b>
Schwarz/ braun	20/92	21.7
Schwarz	13/43	30.2
Braun/ weiß	5/24	20.8
Blond	8/15	53.3
Schwarz/ weiß	7/15	46.7
Schwarz/ braun/ weiß	3/15	20.0
Braun	4/14	28.6
Weiß	4/8	50
Grau	1/7	14.3
Grau/ weiß	2/6	33.3
Grau/ schwarz	1/1	100
Silber	1/1	100
Weiß/ gelb	1/1	100
Braun/ grau	0/1	0

Für eine statistische Auswertung war es sinnvoll die Farben in Gruppen zusammenzufassen. Tiere mit dunklem Fell wurden unter dem Merkmal „Farbe dunkel“, Tiere mit hellem Fell wurden unter dem Merkmal „Farbe hell“ und Tiere, deren Farbton zwischen hell und dunkel lag, wurden unter dem Merkmal „Farbe mittel“ zusammengefasst (Tab. 42) (Abb. 28).

**Tab. 42:** Farbabstufungen der seropositiven Hunde von der Gesamtheit der untersuchten Hunde mit dieser Fellfarbabstufung (n) in absoluten Zahlen und in Prozent %.

Farbabstufung	n	%
Dunkel	38/151	25.2
Mittel	16/61	26.2
Hell	17/31	54.8



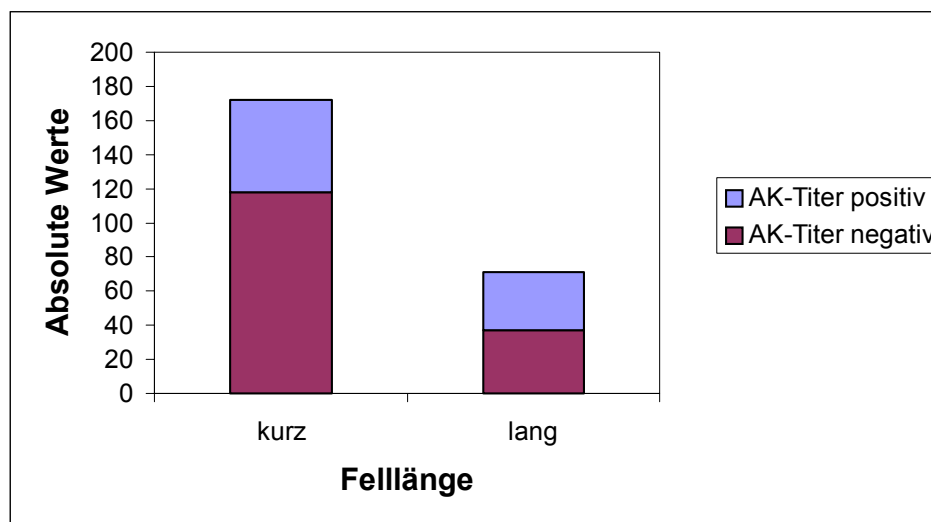
**Abb. 28:** Anteil seropositiver und seronegativer Hunde einer bestimmten Farbabstufung von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Farbabstufung.

Das Merkmal Farbabstufung ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test signifikant ( $p=0.004$ ).

Neben der Fellfarbe war auch interessant, zu überprüfen, ob die Felllänge auf einen Befall mit infizierten Zecken Einfluss haben kann. Die Untersuchungen hierzu sind der *Tab. 43* und der *Abb. 29* zu entnehmen.

**Tab. 43:** Anteil seropositiver Hunde unterschiedlicher Felllänge in absoluten Zahlen und in Prozent von der Gesamtheit der Hunde dieser Felllänge (n).

Felllänge	Positive Reagenten/n	%
kurz	37/155	23.9
lang	34/88	38.6



**Abb. 29:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde einer bestimmten Felllänge von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Felllänge.

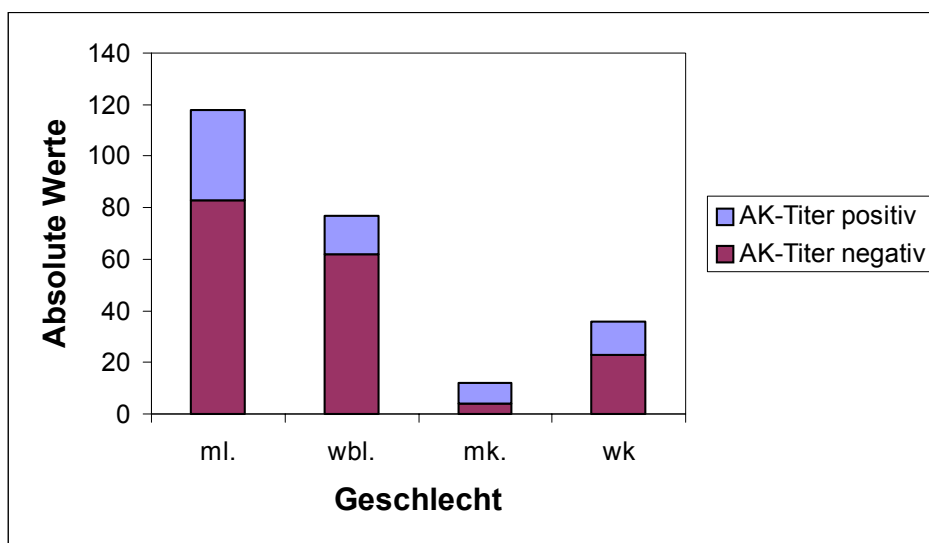
Das Merkmal Felllänge ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test signifikant ( $p=0.015$ ).

#### 4.1.2.4. Geschlechtsverteilung

Die seropositiven Reagenten waren auf männliche, weibliche, männlich kastrierte weiblich kastrierte Hunde verteilt. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde ergeben sich die in *Tab. 44* und (*Abb. 30*) dargestellten Werte.

**Tab. 44:** Geschlechtsverteilung der seropositiven Hunde in absoluten Zahlen und in Prozent % in der Gesamtheit der Hunde dieses Geschlechtes (n).

Geschlecht	Positive Reagenten/n	%
männlich	35/118	29.7
weiblich	15/77	19.5
männlich kastriert	8/12	66.7
weiblich kastriert	13/36	36.1



**Abb. 30:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde eines bestimmten Geschlechtes von der Gesamtheit der untersuchten Hunde diesen Geschlechtes.

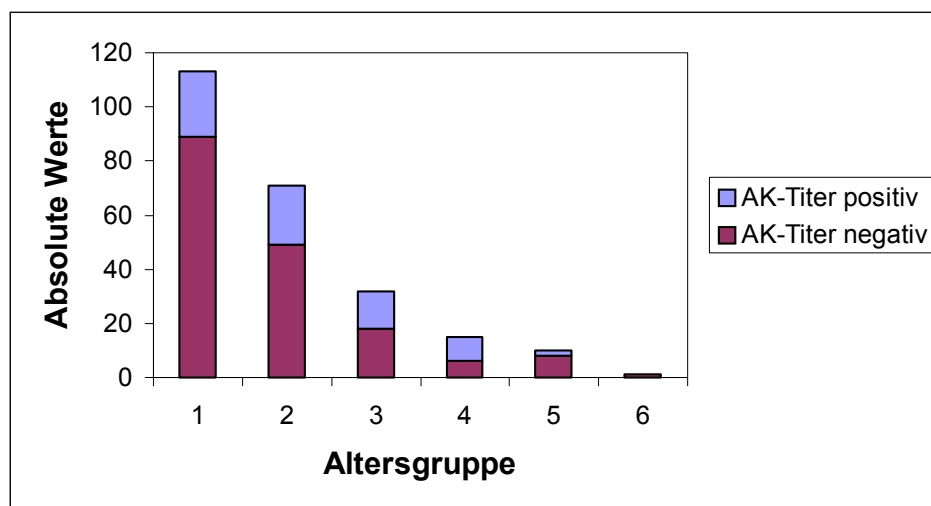
Das Merkmal Geschlecht ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test signifikant ( $p= 0.006$ ). Dabei stellte sich heraus, dass kastrierte Hunde einen vergleichsweise höheren positiven Anteil besitzen. Schließt man die kastrierten Tiere in die geschlechtsspezifischen Gruppen mit ein und errechnet erneut die Signifikanz, so ist das Merkmal männlich oder weiblich nicht signifikant.

#### 4.1.2.3. Altersverteilung

Unter den seropositiven Reagenten befanden sich Hunde zwischen einem halben und 14 Jahren. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde ergeben sich die in *Tab. 45* und in *Abb. 31* dargestellten Werte.

**Tab. 45:** Altersverteilung in absoluten Zahlen und in Prozent % der seropositiven Hunde in der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieses Alters (n).

Altersgruppe/ in Jahren	Positive Reagenten/n	%
1 / 0-3	24/113	21.3
2 / 4-6	22/71	31.0
3 / 7-9	14/32	43.8
4 / 10-12	9/15	60
5 / 13-15	2/11	18.2
6 / 16-18	0/1	0



**Abb. 31:** Anteil seropositiver und seronegativer Hunde einer bestimmten Altersgruppe von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Altersgruppe.

Das Merkmal Altersgruppe ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test signifikant ( $p=0.011$ ).

#### 4.1.2.5. Haltungform

Unter den seropositiven Hunden befanden sich Hunde, die im Zwinger an der Kette und in der Wohnung gehalten wurden. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde ergeben sich die Werte in *Tab. 46*.

**Tab. 46:** Anteil seropositiver Hunde einer bestimmten Haltungform in absoluten Zahlen und in Prozent von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Haltungform (n).

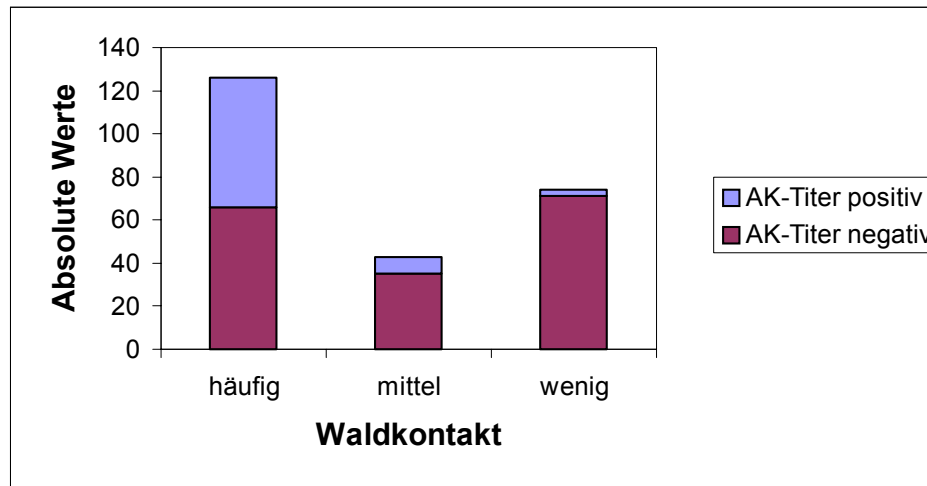
Haltungform	Positive Reagenten/n	%
Wohnung	64/189	33.9
Zwinger	5/49	10.2
Kette	2/5	40.0

Eine statistische Auswertung hinsichtlich der Haltungform war aufgrund zu unterschiedlicher Zahlengrößen zwischen Wohnungshaltung und Ketten- bzw. Zwingerhaltung nicht sinnvoll.

Alle Hunde hatten durch regelmäßige Spaziergänge im Wald Gelegenheit, mit Zecken Kontakt zu haben. In Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde ergeben sich die in *Tab. 47* und in *Abb. 32* dargestellten Werte.

**Tab. 47:** Anteil seropositiver Hunde mit Waldkontakt in absoluten Zahlen und in Prozent % in Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Hunde.

Waldkontakt	Positive Reagenten/n	%
häufig	60/126	47.6
mittel	8/43	18.6
wenig	3/74	4.2



**Abb. 32:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde einer bestimmten Waldkontaktfrequenz von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Waldkontaktfrequenz.

Das Merkmal Waldkontakt ist nach Überprüfung im Chi-Quadrat-Test hochsignifikant ( $p=0.001$ ).

#### 4.1.2.6. Zusammenfassung der spezifischen Merkmale der Hunde

Die Merkmale Felllänge ( $p=0.015$ ), Farbabstufung ( $p=0.004$ ), Waldkontakt ( $p=0.001$ ) Alter ( $p=0.011$ ) sind signifikant. Dagegen sind Größe ( $p=0.088$ ) und Geschlecht ( $p=0.156$ ) keine signifikanten Merkmale. Langes, helles Fell und häufiger Waldkontakt sind Merkmale, bei denen die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität des Individuums ansteigt. Hinsichtlich des Alters ist ein Anstieg der seropositiven Reagenten bis zum Alter von 12 Jahren zu verzeichnen. Junge und ältere Hunde weisen nur selten Antikörper gegen das FSMEV auf.

#### Logitregression

Die Merkmale Ort bzw. Gruppe, Altersgruppe, Farbabstufung, Felllänge, Geschlecht, Waldkontakt wurde in einer Logitregression mit dem Chi-Quadrat-Test auf Signifikanz geprüft. Dabei wiesen die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p=0.0041$ ),

Altersgruppe ( $p= 0.0322$ ) und Waldkontakt ( $p= 0.0001$ ) eine Signifikanz auf. Das Merkmal Farbabstufung zeigte nur eine Tendenz ( $p= 0.0598$ ).

Führt man die Logitregression nur mit diesen vier Merkmalen durch, so sind die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.0001$ ), Waldkontakt ( $p= 0.0001$ ) und die Farbabstufung ( $p= 0.0291$ ) signifikant.

#### 4.1.2.7. Symptome der seropositiven Hunde

Die überwiegende Anzahl der seropositiven Hunden zeigten während des Untersuchungszeitraumes von 21 Monaten keine auffallenden Symptome, insbesondere keine zentralnervösen Symptome wie sie bei einer FSME-Infektion beschrieben werden.

Nur bei 7 seropositiven Hunden berichteten die Besitzer von vorübergehendem Fieber und schlechtem Allgemeinbefinden ungeklärter Ursache in den vorangegangenen Monaten. Bei zwei Hunden war eine Vorgeschichte mit einer Borreliose-Erkrankung bekannt, die erfolgreich therapiert worden sein soll.

#### 4.1.3. Vergleich der Ergebnisse bei Pferden und Hunden

Die bei den Pferden nach der Zeckensaison 1999 bzw. bei den Hunden nach der Zeckensaison 2000 gewonnenen Ergebnisse wurden gegenübergestellt.

Zum Vergleich sind absolute Zahlen und Prozentanteile der seropositiven Reagenten der Pferde und Hunde in Bezug auf die Gesamtheit der untersuchten Spezies (n) in *Tab. 48* aufgelistet.

**Tab. 48:** Seropositive Pferde und Hunde im Vergleich.

Spezies	Positive Reagenten / n	%
Pferd	48/205	23.4
Hund	71/243	29.2



Zum Vergleich sind die Titergrenzen und die Titermittelwerte der seropositiven Pferde und Hunde und aller untersuchten Tiere nach der Zeckensaison 1999 bzw. 2000 in *Tab. 49* aufgelistet.

**Tab. 49:** Titergrenzen und Titermittelwerte der seropositiven Reagenten bei Pferd (n= 48) und Hund (n= 71) im Vergleich zu Titermittelwerten aller untersuchten Tiere.

<b>Spezies</b>	<b>Titergrenzen U/l</b>	<b>Titermittelwerte (U/l) seropositiver Reagenten</b>	<b>Titermittelwerte (U/l) aller Tiere</b>
Pferd (Okt.1999)	6-100	44.1	11.8
Hund (Nov.2000)	6-196	65.5	19.1

Zum Vergleich der Titermittelwerte seropositiver Reagenten bei Pferd und Hund und der Titermittelwerte aller untersuchten Tiere wurde ein T-Test durchgeführt.

Die Merkmale Titermittelwerte der seropositiven Tiere ( $p= 0,001$ ) und Titermittelwerte aller Tiere ( $p= 0,0134$ ) zwischen Pferd und Hund sind signifikant. Die untersuchten Hunde hatten signifikant höhere Antikörpertiter als die untersuchten Pferde.

## **5. Diskussion**

### **5.1. Fragestellung und Eignung der Probanden**

Zielsetzung dieser Arbeit war es, abzuklären, wie hoch die Prävalenz von FSME-AK in einer Pferde- und Hundepopulation im Vergleich im Bodensee/ Hochrheingebiet ist. Zu diesem Zweck wurden mittels eines ELISAs von 205 Pferden und von 243 Hunden Serumproben auf Antikörper gegen das FSMEV untersucht. Alle Probanden waren klinisch gesund und hielten sich zeitlebens in dem Untersuchungsgebiet zwischen Ravensburg und Waldshut auf, außerdem hatten alle Tiere die Möglichkeit zu Zeckenkontakt. Somit konnten alle Probanden für die Studie als geeignet angesehen werden. Die Seroprävalenz belief sich in der Pferdepopulation auf 23,4 % und in der Hundepopulation auf 29,2 %. Die Ergebnisse wurden ausgewertet, um eine mögliche Alters-, Rassen-, Geschlechts-, Fellfarbe-, Felllänge- und Haltungsd disposition zu ermitteln. Es konnten bisher bekannte Erkenntnisse bestätigt sowie weitere Informationen gewonnen werden. Der Titerverlauf während eines Jahres in der Pferdepopulation wurde drei Mal kontrolliert und zeigte - wie zu erwarten - seine Abhängigkeit von der Zeckenaktivität auf. Fünf Fohlen seropositiver Stuten wurden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV untersucht. Im Verlauf des ersten Lebensjahres wurde der Titer drei Mal kontrolliert. Es stellte sich heraus, dass nur bei einem Fohlen dessen Mutter einen hohen Antikörper-Titer aufwies, während der ersten Lebensmonate ebenso Antikörper nachzuweisen waren. Außerdem wurden die Ergebnisse des ELISAs (Labor Alomed) in einem Neutralisationstest (Firma Immuno, Orth) überprüft, die Übereinstimmung der Testergebnisse lag bei 91,4 %. Die überwiegende Anzahl der seropositiven Tiere zeigten während des Untersuchungszeitraumes von 21 Monaten keine auffallenden Symptome, insbesondere keine zentralnervösen Symptome wie sie bei einer FSME-Infektion beschrieben werden.

## 5.2. Bewertung der Testmethoden

### ELISA

ELISA-Verfahren zur Feststellung einer FSME-Infektion beim Menschen können von unspezifischen Reaktionen und den daraus resultierenden falsch-positiven Testergebnissen begleitet sein.

Diese Möglichkeit ist insbesondere bei der Feststellung der Immunitätslage oder bei seroepidemiologischen Studien zu bedenken, da bei diesen Fragestellungen keine klinischen Symptome zur Plausibilitätserklärung herangezogen werden können (RIEGER ET AL, 1999A). In einer Studie von TREIB ET AL (1996) wurden die ELISA-Ergebnisse bei einer Risikogruppe von Patienten mit entzündlichen Liquorveränderungen mit Hilfe eines Western Blot bewertet. Von den positiven ELISA-Ergebnissen konnten nur 31,8 % bestätigt werden. Von den grenzwertigen ELISA-Ergebnissen reagierte der Western Blot nur bei 5,5 % spezifisch. Stichprobenartig wurden einige negative ELISA-Testergebnisse im Westernblot kontrolliert. Keine der Proben war positiv. Die hohe Zahl der falsch positiven ELISA-Ergebnisse kann durch die hochselektionierte Patientengruppe und die niedrige FSME-Prävalenz in der untersuchten Region erklärt werden. Dennoch sollten bei positiven ELISA-Testergebnissen mit uncharakteristischer klinischer Symptomatik stets an die unspezifischen Reaktionen mit Entzündungsmediatoren oder an Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviridae gedacht werden. Das ELISA-Ergebnis sollte daher stets mit weiterführenden serologischen Untersuchungen (Western Blot, Hämagglutinationshemmungstest, Neutralisationstest) überprüft werden.

RIEGER ET AL (1999A) kontrollierten positive und grenzwertige ELISA-Ergebnisse im Western Blot in zwei Populationen beruflich exponierter gesunder Personen, eine aus einem hoch- und eine aus einem niedrig-endemischen FSME-Gebiet. In der Population aus dem hoch-endemischen FSME-Gebiet konnten 63,9 % der positiven und 3,6 % der grenzwertigen ELISA-Ergebnisse im Western Blot bestätigt werden. In der Population aus dem niedrig-endemischen Gebiet fiel die Bestätigung mit 10,5 % bzw. 0 % noch geringer aus. Sie kamen zu dem Schluß, dass in dem niedrig endemischen FSME-Gebiet die Rate der natürlich infizierten Individuen sehr gering ist. Die ELISA-Testergebnisse sollten mit einem Test hoher Spezifität kontrolliert werden, wenn die Proben aus einem Gebiet mit unbekannter oder niedriger FSME-Inzidenz stammen.

Nach KIEBIG ET AL (1993) wurden biometrische Probleme des ELISA der Firma Immuno zum Nachweis von Anti-FSME-IgG-Antikörpern diskutiert. Der Schwellenwert für einen Antigenkontakt bzw. für einen sicheren Antikörpernachweis wurde bestätigt. Die Sensitivität und Spezifität für den Immunozyt-FSME-IgG betrug außerhalb der Grenzen des „Graubereichs“ an einem Probenpanel 97,1 % bzw. 98,9 %.

Dieser Testkit der Firma Immuno liegt auch dem ELISA-Testverfahren des Labor Alomedis zugrunde.

### **Überprüfung der ELISA-Ergebnisse im Serumneutralisationstest (SNT)**

Stichprobenartig wurden 35 ELISA-Testergebnisse in einem Serumneutralisationstest kontrolliert. Es wurden negative, grenzwertige und Proben mit einem hohen Titer im ELISA überprüft. Von den 31 positiven ELISA-Ergebnissen konnten 28 im SNT als positiv bestätigt werden, das entspricht einer Sensitivität von 90,3 %. Die beiden im SNT nicht bestätigten positiven ELISA-Ergebnisse waren schwach positiv bzw. grenzwertig. Von den vier negativen ELISA-Ergebnissen ließen sich drei als negativ im SNT bestätigen, eine Probe war im SNT schwach positiv, das entspricht einer Spezifität von 75 %. Aufgrund dieser Ergebnisse könnte der Cut-off im ELISA etwas höher angesetzt werden. Von den 35 ELISA-Ergebnissen ließen sich 32 Ergebnisse im SNT bestätigen, das entspricht 91,4 %. Diese gute Übereinstimmung der Ergebnisse im ELISA und im SNT sprechen für eine hohe Sensitivität und Spezifität der vorliegenden Studie. Die epidemiologische Situation in dem untersuchten Gebiet wird durch den ELISA gut repräsentiert.

### **5.3. Durchseuchungsrate beim Pferd**

In der ersten Untersuchung im März 1999 waren 48 von 205 untersuchten Pferden positiv, das entspricht einer Durchseuchung von 23,4 %. Das Ergebnis stimmt gut mit den Untersuchungen von LUCKSCHANDER (1998) überein, sie ermittelte in einer österreichischen Pferdepopulation eine Durchseuchungsrate von 13 %.

Die bisherigen seroepidemiologischen Studien an Tier und Mensch liefern unterschiedliche Ergebnisse, je nach Durchseuchungsrate der Zecken in diesem Gebiet und je nach

Zeckenexposition der untersuchten Spezies (siehe Literaturteil 2.3.2. und 2.5.). Für die Durchseuchungsrate der Zecken in Baden-Württemberg findet man Angaben zwischen 0,6 % und 3,6 % für die adulten Stadien (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; SÜSS ET AL, 1999). Verschiedene Säugetierpopulationen wurden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das FSMEV untersucht. Übereinstimmend kamen die Autoren zu dem Schluß, dass ihre Ergebnisse mit den aus der Humanmedizin bekannten Endemiegebieten übereinstimmen und dass die von ihnen untersuchten Säugetiere gute Indikatoren zur Erkennung und zur Überwachung von FSME-Gebieten sind. Es liegen Untersuchungen vor bei Rindern (ERNEK UND KOZUCH, 1970) aus mitteleuropäischen Naturherden (Durchseuchungsrate 58 %) und aus südbadischen FSME-Risikogebieten (RIEGER ET AL, 1997), von Füchsen aus dem mittel- und süddeutschen Raum, aus Brandenburg und aus dem Nordosten Frankreichs (RIEGER ET AL, 1999), von Ziegen (NOSEK ET AL, 1967), von Rotwild aus Süd-Deutschland (GERTH ET AL, 1995) und von Haustieren (Durchseuchungsrate bei Kühen 1,4 %, bei Ziegen 1,1 %). Die Seren der Schweine, Schafe, Gänse und Enten waren negativ (GIRJABU ET AL, 1985).

Die Angaben aus der Humanmedizin hinsichtlich der Durchseuchungsraten variieren je nach Untersuchungsgebiet und Zeckenexposition beträchtlich. In den alten Bundesländern ergaben systematische serologische Untersuchungen eine durchschnittliche Durchseuchungsrate der Bevölkerung in endemischen Gebieten von 1,56 % (Spanne 1,1 bis 2 %). Beruflich exponierte Personen weisen deutlich höhere Seroprävalenzen auf (ACKERMANN ET AL, 1968; ACKERMANN ET AL, 1986; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; RIEGER UND HOFMANN, 1999).

### **Durchseuchungsrate der Gruppen**

In der vorliegenden Studie wurden die Pferde nach ihren Standorten in 8 Gruppen eingeteilt, die Seroprävalenzen lagen zwischen 3,7 % und 60 %. Die Seroprävalenz der einzelnen Gruppen stieg von Osten beginnend nach Westen hin signifikant an ( $p= 0.001$ ). Folglich kann zwischen einem hoch-endemisch und einem niedrig-endemischen Gebiet unterschieden werden. Dieses Ergebnis deutet auf eine höhere Aktivität bzw. Vorkommen FSME-infizierter Zecken in den beschriebenen westlichen Untersuchungsregionen hin. Dieser Befund könnte damit zusammenhängen, dass im westlichen Untersuchungsgebiet - aufgrund der vielen Flussläufe - mehr Feuchtbiootope vorkommen und so den Zecken ein ideales Milieu geboten wird.

### **Titermittelwerte der untersuchten Pferde**

Der Titermittelwert der seropositiven Pferde stieg im Untersuchungszeitraum eines Jahres von 33,4 U/l im März 1999 auf 44,2 U/l im Oktober und auf 51,2 U/l im Mai 2000 (*s. Abb. 13*).

Der Titermittelwert der seropositiven Pferde und aller Pferde wurden einem GLM-Test unterzogen. Der Titer der seropositiven Pferde stieg signifikant während des Untersuchungszeitraumes an ( $p= 0.0029$ ). Ein signifikanter Anstieg wurde im LS-Means-Test für den Titermittelwert zwischen den ersten beiden Untersuchungszeitpunkten (März 1999 bis Oktober 1999) ermittelt ( $p= 0.0374$ ), was einer ganzen Zeckensaison entspricht. Zwischen dem zweiten und dem dritten Untersuchungszeitpunkt (Oktober 1999 bis Mai 1999) ist der Anstieg nicht signifikant. Der Titer der seropositiven Pferde steigt signifikant während des Untersuchungszeitraumes an, die Pferdepopulation hatte demnach erneut Kontakt mit FSMEV infizierten Zecken. Im Titerverlauf spiegelt sich die Zeckenaktivität wieder.

Während des Untersuchungszeitraums eines Jahres serokonvertierten 10 Pferde. Dabei wiesen 8 Pferde im ELISA ein Ergebnis zwischen 23 U/l und 141 U/L auf. Es ist anzunehmen, dass es sich hierbei um frische Infektionen handelt. 2 Pferde wiesen Titer von  $<10$  U/l auf, welche nicht als neue Infektionen gewertet werden dürfen, sondern auf unspezifischen Reaktionen des ELISAs zurückzuführen sind. Der Titermittelwert der positiven und der serokonvertierten Pferde stieg vom März 1999 von 33,4 U/l auf 43,3 U/L im Oktober 1999 und auf 50,4 U/l im Mai 2000 (*s. Abb. 14*).

Um den Anstieg des Titermittelwertes genauer bewerten zu können, müssen die serokonvertierten Pferde miteinbezogen werden. Der Titermittelwert der seropositiven incl. der serokonvertierten Tiere steigt signifikant während des Untersuchungszeitraumes an ( $p= 0.0001$ ). Ein signifikanter Anstieg der Titermittelwerte bei den seropositiven incl. der serokonvertierten Pferden ist zwischen den ersten beiden Untersuchungszeitpunkten (März 1999 bis Oktober 1999) zu verzeichnen ( $p= 0.0021$ ), was einer ganzen Zeckensaison entspricht. Zwischen dem zweiten und dem dritten Untersuchungszeitpunkt (Oktober 1999 und Mai 2000) ist der Anstieg nicht signifikant. Dieser Unterschied lässt sich dadurch erklären, dass die Zecken in diesem Zeitraum während vier Monaten nicht aktiv waren.

Betrachtet man die gesamte Pferdepopulation (incl. der negativen Pferde) so war ein signifikanter Anstieg nur zwischen dem ersten und zweiten Untersuchungszeitpunkt (März 1999 bis Oktober

1999) zu beobachten ( $p= 0.00508$ ). Zwischen dem zweiten und dritten Untersuchungszeitpunkt (Oktober 1999 und Mai 2000) war der Anstieg nicht signifikant. Dieses Ergebnis weist auf eine konstante Durchseuchung der Pferde mit dem FSMEV in den Frühjahrs- und Sommermonaten hin, die wiederum zwischen Herbst und Frühjahr deutlich abnimmt.

### **Titermittelwerte der Pferde der einzelnen Gruppen**

Auch innerhalb der 8 Gruppen wurden die Titermittelwerte der seropositiven incl. der serokonvertierten Pferde und aller untersuchten Pferde im LS-Means-Test auf ihre Signifikanz überprüft. Dabei fiel auf, dass die im Hochrhein-Gebiet gehaltenen seropositiven Pferde (Gruppen 1, 2, 3) zwischen Oktober 1999 und Mai 2000 einen signifikanten Titeranstieg aufwiesen, der sich deutlich von den weiter im Osten gehaltenen Pferden (Gruppen 4, 5, 6, 7, 8) abhob (s. *Abb. 15*). Dieses Ergebnis deutet auf eine höhere Aktivität bzw. Vorkommen FSME-infizierter Zecken in den beschriebenen westlichen Untersuchungsregionen hin.

## **5.4. Disposition beim Pferd**

Die Merkmale Ort, Rasse, Fellfarbe, Alter, Geschlecht, Haltung wurden untersucht. Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.001$ ), Haltung ( $p= 0.001$ ), Weidegang ( $p= 0.021$ ) und Altersgruppe ( $p= 0.011$ ) sind signifikante Merkmale. Die Merkmale Rasse und Geschlecht sind nicht signifikant. Der Aufenthalt im westlichen Untersuchungsgebiet, reine Koppelhaltung und häufiger Weidegang erhöhten die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität eines Individuums mit zunehmendem Alter.

### **Rassendisposition**

Für eine bestimmte Rasse besteht nach der vorliegenden Untersuchung keine Disposition. Dies stimmt auch mit den Ergebnissen von LUCKSCHANDER (1998) überein, die in einer österreichischen Pferdepopulation keine Rassendisposition feststellen konnte.

### **Geschlechtsdisposition**

Auch für ein bestimmtes Geschlecht konnte keine Disposition festgestellt werden was ebenfalls mit den Ergebnissen von LUCKSCHANDER (1998) übereinstimmt.

Auch beim Menschen liegt keine Geschlechtsdisposition für eine FSME-Infektion vor. Nach einer Studie von ACKERMANN und RHESE-KÜPPER (1979) wurde bei 1,6 % der männlichen und bei 1,5 % der weiblichen Probanden Antikörper ermittelt.

Dagegen liegen für eine Erkrankung an FSME beim Mensch unterschiedliche Angaben bezüglich einer Geschlechtsdisposition vor. Männer (DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; KAISER, 1995) und Knaben (HARASEK, 1974) erkrankten mehr als doppelt so häufig als Frauen und Mädchen. Dies könnte möglicherweise mit einem anderen Freizeitverhalten der Männer zusammenhängen (KAISER, 1995). Die große Bedeutung der FSME für berufliche und freizeitexponierte Personen steht inzwischen außer Frage (RIEGER ET AL, 1999A).

### **Altersdisposition**

Hinsichtlich des Alters der untersuchten Pferde liegt eine Disposition vor. Mit zunehmendem Alter stieg die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität an. LUCKSCHANDER (1998) konnte keine Altersdisposition in einer österreichischen Pferdepopulation ermitteln. Beim Menschen wurde ermittelt, dass die Durchseuchungsrate allmählich im dritten, deutlicher im vierten Lebensjahrzehnt ansteigt; bis auf 2,4 % im siebten Lebensjahrzehnt. Danach sinkt die Durchseuchungsrate wieder (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979).

Beim Menschen wird eine Altersdisposition hinsichtlich einer Erkrankung an FSME vermutet. Die Erkrankung betrifft zwar alle Altersklassen, am häufigsten jedoch Erwachsene mittleren und höheren Alters. Schwere, d.h. paralytische Verlaufsformen werden fast ausschließlich bei über 50 Jahre alten Personen gesehen (KRECH ET AL, 1969; DUNIEWICZ, 1976; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER B, 1979). Hingegen stellte ROGGENDORF (1983) fest, dass die FSME alle Altersklassen in relativ gleicher Häufigkeit betrifft, d. h. auch Kinder und Jugendliche.

### **Haltungsdisposition**

Eine erhebliche Disposition liegt hinsichtlich der Haltung der Pferde vor. Besonders Pferde mit ganzjährigem Koppelgang, aber auch Pferde mit häufigem Koppelgang haben eine höhere Antikörperfrequenz gegen das FSMEV als überwiegend im Stall gehaltene Pferde vorzuweisen. Es besteht eine größere Wahrscheinlichkeit für die Pferde, mit Zecken Kontakt zu haben. LUCKSCHANDER (1998) ermittelte, dass in Österreich Pferde mit Koppelgang einen um 7 % höheren Anteil an Seropositivität besitzen, als Pferde die im Stall gehalten werden. Auch beim Menschen haben beruflich exponierte Personen deutlich höhere Seroprävalenzen aufzuweisen. Die höchsten Durchseuchungsraten weisen Beschäftigte in der Landwirtschaft mit durchschnittlich 2,1 % (Maximum Süddeutschland 3.3 %) und in der Forstwirtschaft mit 3,3 %



(Maximum Thüringen 5,6 %) ebenso Gartenarbeiter aus Thüringen mit 11,5 % auf (ACKERMANN ET AL, 1968; ACKERMANN ET AL, 1986; ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979; RIEGER UND HOFMANN, 1999). Die Ausübung einer Freizeitgewohnheit, die die Wahrscheinlichkeit des Zeckenkontakts erhöhen kann (Reiten, Wandern, Beeren sammeln, Radfahren) verursacht kaum eine Steigerung der Seroprävalenz. Nur Jäger sind einem höheren Risiko ausgesetzt (RIEGER UND HOFMANN, 1999).

### **Logitregression**

Die Merkmale Ort bzw. Gruppe, Altersgruppe, Farbabstufung, Geschlecht, Weidegang, Haltung wurde nach Logitregression mit dem Chi-Quadrat-Test auf Signifikanz geprüft. Die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.0001$ ), Haltung ( $p= 0.003$ ) und tendenziell auch das Merkmal Weidegang ( $p= 0.1041$ ) sind signifikante Merkmale, das bedeutet dass die Seropositivität eines Pferdes signifikant von diesen Merkmalen abhängt. Führt man die Logitregression mit diesen drei Merkmalen durch, so stellt man fest, dass die Merkmale Ort, dann die Haltung und zuletzt der Weidegang signifikant sind. Das Merkmal Ort bzw. Gruppe stellt demnach den wichtigsten Parameter für die Seropositivität eines Pferdes dar; ihm folgen die Art der Haltung und die Weidemöglichkeiten. Je weiter im Westen ein Pferd gehalten wird und je häufiger es auf die Weide darf - bis hin zur ganzjährigen Weidehaltung, desto wahrscheinlicher hat es Kontakt zu mit FSME-infizierten Zecken und entwickelt Antikörper dagegen.

### **Fohlen der seropositiven Stuten**

Die Fohlen der seropositiven Stuten mit Antikörpertitern unter 40 U/l waren negativ. Es kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei den Mutterstuten um residuale Antikörperträger handelte. Nur bei einem Fohlen ließ sich einige Stunden nach der Geburt ein Antikörpertiter von 60 U/l nachweisen, dessen Mutter einen hohen Titer von 55 U/l hatte. Das Fohlen wurde über einen Zeitraum von 9 Monaten kontrolliert. Nach 3 Monaten sank der Titer auf 19 U/l und nach weiteren 6 Monaten war das Fohlen im ELISA negativ. Es handelte sich bei den nachgewiesenen Antikörpern offensichtlich um kolostrale Antikörper. Vertikale Übertragungen einer FSME-Infektion und frische Infektionen beim Fohlen wurden im Untersuchungszeitraum nicht beobachtet.

## 5.5 Durchseuchungsrate beim Hund

Von den 243 untersuchten Hunden waren 71 im ELISA positiv, das entspricht 29,2 %.

Bisherige seroepidemiologische Studien bei Hunden ergaben eine FSME-Prävalenz bis durchschnittlich 4 bis 5 % (Spanne: 1.9 bis 5.9 %) in einem endemischen Gebiet, in dem eine Prävalenz bis zu 1,4 % beim Mensch vorliegt (MATILE ET AL, 1979). In einer österreichischen Hundepopulation wurde eine Seroprävalenz von 20,18 % ermittelt (KNIRTZ, 1999). In Deutschland wurde eine Seroprävalenz von 0 bis 2 % in den nördlichen Bundesländern Niedersachsen, Bremen und Mecklenburg-Vorpommern und bis zu über 30 % in bestimmten Regionen Baden-Württembergs festgestellt. Dabei zeigte sich schon in Baden-Württemberg ein deutliches Süd-Nord-Gefälle: Maximalwerte von 31 % im Raum westlicher Bodensee-Hegau bis zu Werten von 4 % im Raum Wiesloch-Heidelberg im Norden Baden-Württembergs (MÜLLER, 1997). Diese Ergebnisse sind im Einklang mit den Resultaten der vorliegenden Studie.

### Durchseuchungsrate der Gruppen

Die Hunde wurden in 5 regionale Gruppen eingeteilt. Die Gruppen wiesen Seroprävalenzen zwischen 16,3 % und 41,8 % auf. Auch beim Hund war ein Anstieg der Seroprävalenz nach Westen hin zu verzeichnen. Dieser Anstieg war jedoch im Gegensatz zur Situation beim Pferd nicht signifikant, sondern nur tendenziell. Dieses Ergebnis kann damit zusammenhängen, dass Hunde innerhalb eines Untersuchungsgebietes viel mobiler als Pferde sind und somit eine höhere Durchmischung der Infektionsmöglichkeiten stattfindet. Es ist zu bedenken, dass die Zeckendurchseuchung in jedem FSME-Gebiet unterschiedlich ist.

## 5.6. Disposition beim Hund

Die Merkmale Größe, Fellfarbe, Felllänge, Alter, Geschlecht und Haltung der Hunde wurden untersucht.

Felllänge ( $p= 0.015$ ), Farbabstufung ( $p= 0.004$ ), Waldkontakt ( $p= 0.001$ ) und Alter ( $p= 0.011$ ) wurden als signifikante Merkmale festgestellt. Die Merkmale Größe ( $p= 0.088$ ) und Geschlecht ( $p= 0.156$ ) sind dagegen nicht signifikant. Langes, helles Fell und häufiger Waldkontakt sind Merkmale, die die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität des Individuums ansteigen lassen. Die

Seropositivität nahm bis zu dem Alter von 4 Jahren zu, um dann wieder abzunehmen. Junge Hunde unter einem Jahr und alte Hunde ab 12 Jahre wiesen wiederum seltener Antikörper gegen das FSMEV auf.

### **Rassendisposition**

Für eine bestimmte Rasse konnte keine Disposition festgestellt werden. Es sind aber häufiger die großen und mittleren Hunde, bei denen Antikörper gegen das FSMEV gefunden werden. Bei den kleinen Rassen hingegen lassen sich nur selten Antikörper nachweisen. Dies hängt wahrscheinlich mit den verschiedenen Nutzungsarten zusammen und der damit verbundenen Wahrscheinlichkeit eines Zeckenkontaktes. Zecken klettern Gräser und Sträucher hoch bis zu einer bestimmten, nach Entwicklungsstadien verschiedenen Höhe. Larven entfernen sich dabei bis zu 30 cm, Nymphen bis zu 1 Meter und Adulte bis durchschnittlich 1,50 Meter vom Boden (RIEDL ET AL, 1973; LIEBISCH, 1978; KAHL, 1994). Große und mittlere Hunde können beim Durchstreifen von Gebüsch einer größeren Zeckendichte ausgesetzt sein, vor allem den Nymphen und Adulten, die häufiger Träger des FSMEV sind. Die Infektionsrate nimmt von der Larve über die Nymphe zum Adultus an einem Standort in der Regel zu. Das Risiko einer Zecke, sich an einem infektiösen Reservoirwirt zu infizieren, steigt mit jedem Blutmahl. Von den Larven geht dagegen nur ein geringes Infektionsrisiko aus (JETTMAR, 1957; PEREZ- EID ET AL, 1992; KAHL, 1994).

Diese Ergebnisse der Studie stimmen mit den Resultaten von KNIRTZ (1999) überein, der bei großen Hunden die jagdlich genutzt wurden, vermehrt Antikörper nachweisen konnte, dagegen bei kleinen Hunden seltener. REINER und FISCHER (1998) vermuteten, dass eine FSME häufiger bei größeren als bei kleineren Hunden auftreten kann. WEISSENBÖCK UND HOLZMANN (1997) konnten bei 3 von 4 Sibirian Huskys eine FSME nachweisen und vermuteten bei dieser Rasse eine Disposition für die Erkrankung. TIPOLD (1997) hingegen konnte keine Rassendisposition feststellen.

### **Farbdisposition**

Hinsichtlich der Farbabstufung konnte eine Disposition festgestellt werden. Hunde mit hellem Fell waren doppelt so häufig seropositiv als Hunde mit dunklem Fell oder Hunde, welche mit

ihrer Farbabstufung dazwischen lagen. Von erfahrenen Jägern und Holzfällern hört man immer wieder den Ratschlag nicht mit heller Kleidung in den Wald zu gehen, da dies den Zeckenkontakt erhöhen kann. Es ist bekannt, dass mit guten Zecken-Fangquoten gerechnet werden kann, wenn man mit einer weißen Fahne langsam über walddnahe Wiesen streicht. Wenn man die Physiologie der Zecken betrachtet, so ist es unwahrscheinlich, dass sie auf ein helleres Tier besser reagieren, als auf ein dunkleres. Da *Ixodes ricinus* seine Wirte unter natürlichen Bedingungen auf thigomotaktischem Weg findet (RIEDL ET AL, 1973; LIEBISCH, 1978; KAHL, 1994), ist es höchst unwahrscheinlich, dass diese Zecke auf hellere Farben eher reagiert als auf dunkle. Es sind vielmehr thermische, chemische und physikalische Reize (z. B. Erschütterungen, Temperaturschwankungen, hervorgerufen durch ein vorbeigehendes Wirtstier), die die Zecke mit dem Wirt verbindet. Wahrscheinlich spielt auch die Kohlenstoffdioxid- und Buttersäure-Abgabe des Wirtstieres eine Rolle, auf das sich die Zecke im richtigen Moment fallen läßt, bzw. von welchem sie abgestreift wird (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

### **Felllängendisposition**

Eine Disposition für die Felllänge konnte festgestellt werden. Hunde mit langem Fell sind häufiger seropositiv, als Hunde mit kurzem Fell. Es ist vorstellbar, dass sich die Zecken in einem längeren Fell besser „festhalten“ können, als in einem kurzen Fell und die Wahrscheinlichkeit, dass sie schnell wieder abgestreift werden ist geringer. Vom Befall des Wirtstieres bis zum Stich können 12 Stunden vergehen. Die Zecke wandert auf dem Tier, um sich eine geeignete Stichstelle zu suchen. Der Stechakt selbst dauert maximal 15 Minuten (RUFLI UND MUMCUOGLU, 1981; STANEK UND HOFMANN, 1994; HEINZ, 1996).

### **Altersdisposition**

FSME-Antikörper konnten in jeder Altersklasse nachgewiesen werden, trotzdem scheint eine Disposition für ein bestimmtes Alter vorzuliegen. Das Ergebnis einer Zunahme der Seropositivität bis zu einem Alter von 12 Jahren hängt möglicherweise damit zusammen, dass Hunde mittleren Alters häufiger Zeckenkontakt haben. Ganz junge Tiere hatten noch nicht ausreichend Kontakt zu Zecken; alte Hunde wiederum bewegen sich wahrscheinlich weniger im Gebüsch und Unterholz und vermindern auf diese Weise die Kontaktmöglichkeiten mit Zecken.

KNIRTZ (1999) konnte keine Altersdisposition feststellen, aber ihm viel auf, dass bis zu einem Alter von 6 Jahren der Anteil seropositiver Hunde höher liegt, als bei älteren Tieren. TIPOLD (1997) konnte keine Altersdisposition für eine FSME feststellen.

### **Geschlechtsdisposition**

Es konnte keine Disposition für ein bestimmtes Geschlecht festgestellt werden. KNIRTZ (1999) und TIPOLD (1997) konnten ebenfalls keine Geschlechtsdisposition feststellen. Dieses Ergebnis stimmt auch mit den Resultaten eigener Untersuchungen beim Pferd und jener beim Menschen (ACKERMANN UND RHESE-KÜPPER, 1979) überein.

### **Haltungsdisposition**

Es konnte eine Disposition für die Haltung bzw. die Nutzungsart festgestellt werden. Wie nicht anders zu erwarten, sind Hunde, welche häufig Waldkontakt haben, häufiger seropositiv als Hunde die sich selten oder nicht im Wald aufhalten.

### **Logitregression**

Die Merkmale Ort bzw. Gruppe, Altersgruppe, Farbabstufung, Felllänge, Geschlecht, Waldkontakt wurde in einer Logitregression mit dem Chi-Quadrat-Test auf Signifikanz geprüft. Die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.0041$ ), Altersgruppe ( $p= 0.0322$ ) und Waldkontakt ( $p= 0.0001$ ) und tendenziell Farbabstufung ( $p= 0.0598$ ) sind die entscheidenden Merkmale für das Positivsein eines Hundes.

Führt man die Logitregression mit diesen vier Merkmalen durch, so bleiben die Merkmale Ort bzw. Gruppe ( $p= 0.0001$ ), Waldkontakt ( $p= 0.0001$ ) und die Farbabstufung ( $p= 0.0291$ ) signifikant. Die Wahrscheinlichkeit bei einem Hund Antikörper gegen das FSMEV zu finden, steigt besonders wenn er sich überwiegend im westlichen Teil des Untersuchungsgebietes und da besonders häufig im Wald aufhält, außerdem steigt die Wahrscheinlichkeit je heller das Fell ist.

## 5.7. Symptome der seropositiven Pferde und Hunde

Einige Tiere mit Antikörpern gegen das FSMEV zeigten in den Monaten vor der Blutabnahme vorübergehend Fieber und ein gestörtes Allgemeinbefinden ungeklärter Ursache. Ob diese Symptome mit einem milden FSMEV-Verlauf zusammenhängen, oder ob ihnen eine andere Ursache zugrunde lag, ist im Nachhinein nicht mehr nachvollziehbar. Zeigt ein Tier, welches sich in einem FSME-Endemiegebiet aufhält, nur die Symptome „vorübergehendes Fieber mit schlechtem Allgemeinbefinden“, ist auch eine blande Erkrankung an FSME differentialdiagnostisch mit einzubeziehen.

## 5.8. Gegenüberstellung der Ergebnisse bei Pferd und Hund

Es wurde bei beiden Populationen darauf geachtet, dass nur Individuen untersucht wurden, die auch regelmäßig Gelegenheit zu Zeckenkontakt hatten. Vor allem die Pferde wurden zum Teil mit ganztägig und sogar ganztägig bis ganzjährigem Koppelgang gehalten, wobei bei jeder Koppel Wald angrenzte oder sogar Wald in die Koppel integriert war. Die Hundepopulation wies eine geringgradig höhere Seroprävalenz von 29,2 % auf, als die Pferdepopulation mit 23,4 %. Dies liegt höchstwahrscheinlich daran, dass Hunde durchschnittlich häufiger Kontakt zu Zecken haben. Hunde laufen oft frei und bewegen sich viel mehr im Unterholz und Gebüsch, einem schon erwähnten, beliebten Standort der Zecken. Außerdem haben Zecken in dem zum Teil langen Fell der Hunde eine größere Chance sich festzuhalten und zu verankern. Die Hunde wiesen nach einer Zeckensaison einen höheren durchschnittlichen Titer von 65,4 U/l als die Pferde mit einem durchschnittlichen Titer von 46,3 U/l auf. Dies gibt möglicherweise einen Hinweis darauf, dass Hunde die besseren „Antikörperbildner“ sind als Pferde. Bei Pferden stieg die Seroprävalenz mit dem Alter an. Bei alten Hunden fand man seltener Antikörper gegen das FSMEV, was ein Hinweis darauf sein könnte, dass die Antikörper bei den Pferden länger in Form residualer Antikörper überdauern.

Um die Signifikanz der beiden Spezies in Bezug auf die Merkmale Titermittelwerte der seropositiven Tiere und aller Tiere vergleichen zu können, wurde ein T-Test durchgeführt.

Dabei erwiesen sich beide Merkmale als signifikant ( $p= 0.001$  bzw.  $p= 0.0134$ ). Das bedeutet, dass Hunde signifikant häufiger seropositiv in diesem Untersuchungsgebiet sind und dass der durchschnittlich erreichte Titer der Hunde signifikant höher ist.

Hunde und Pferde eignen sich gut zur Kartierung von FSME-Endemiegebieten, da sie häufig eine Serokonversion zeigen und durch ihre Haltungsweise in der Regel eine hohe Zeckenexposition aufweisen. Hunde zeigen ein FSME-endemisches Gebiet mit einer größeren Sicherheit an. Der Vorteil der Pferde aber ist, dass sie innerhalb eines Gebietes in der Regel standorttreuer sind und sie sich daher besser zur feinen Einteilung der FSME-Gebiete eignen, zum Beispiel zur Auffindung von „Hot Spots“ in niedrig-endemischen Gebieten. Die Hunde zeigen laut den Angaben der Besitzer eine höhere Mobilität innerhalb des Untersuchungsgebietes. Im Untersuchungsgebiet lässt sich ein signifikanter Anstieg ( $p=0.001$ ) innerhalb der untersuchten Gruppen von Osten nach Westen bei den Pferden feststellen. Bei den Hunden ist dieser Anstieg nicht signifikant ( $p=0.06$ ).

Die Studie von MATILE ET AL (1979) zeigt, dass der Hund ein besserer Indikator für eine epidemiologische Studie dieser Art ist, als z.B. der Mensch als Jäger und Arbeiter im land- und forstwirtschaftlichen Bereich. Mit Hilfe von Titerbestimmungen beim Hund gelang es, neue FSME-Risikogebiete in der Schweiz abzugrenzen, bei denen vorher anhand von Untersuchungen am Menschen keine neuen FSME-Gebiete erkannt werden konnten. Das Nordufer des Bodensees, westlich von Ravensburg, ist erst 1994 als Endemiegebiet der FSME anerkannt und in die Endemiekarten mitaufgenommen worden (ROGGENDORF ET AL 1995). Dieses Gebiet lässt sich als FSME-Endemiegebiet mit der vorliegenden Studie gut bestätigen.

Für die FSME ist keine Kausaltherapie bekannt. Daher kommt der Prophylaxe der FSME besondere Bedeutung zu. Für eine sinnvolle Prophylaxe ist die Kenntnis von Endemiegebieten der FSME nötig.

Trotz der Meldepflicht der Erkrankung und der Todesfälle an die zuständigen Gesundheitsämter (Bundesseuchengesetz) ist davon auszugehen, dass nicht alle FSME-Erkrankungen gemeldet werden. Folglich ist das Wissen bezüglich der einzelnen Risikogebiete nach wie vor lückenhaft. Regionen, für die keine Meldungen vorliegen, können tatsächlich oder nur scheinbar risikofrei sein. Zur Beurteilung des tatsächlichen Risikos ist eine möglichst vollständige Meldung von Erkrankungsfällen sehr wünschenswert. Bei der Definition von Risikogebieten ist außerdem zu berücksichtigen, dass eine hohe Durchimpfungsrate der Bevölkerung (z. B. in einzelnen Landkreisen in Bayern) die Zahl der Erkrankungsfälle deutlich senkt, so dass bekannte

Risikogebiete scheinbar risikofrei werden, obwohl weiterhin FSME-infizierte Zecken vorhanden sind.

Gesunde, ungeimpfte Einwohner und stark von Zecken befallene Großsäuger, z.B. Rinder und Rehe bzw. Kleinsäuger (RIEGER ET AL, 1997) sowie die Prävalenz von FSME-Viren in Zecken können zur Kartierung von Risikogebieten herangezogen werden (KAISER, 1998).

Sinnvoll ist es sicherlich gerade diese Tiere zu untersuchen, die denselben Lebensraum wie der Mensch besitzen und so der gleichen Zecken-Exposition ausgesetzt sind.

Die Studie hat gezeigt, dass insbesondere die Haustiere Hund und Pferd sich dazu eignen, Endemiegebiete einer FSME-Infektion zu erkennen und zu überwachen.



## 6. Zusammenfassung

Mit dem Ziel, Erkenntnisse zur Ausbreitung der FSME-Infektion beim Pferd zu gewinnen, wurden im Rahmen einer seroepidemiologischen Studie Probanden (n= 205) aus einem bekannten Endemiegebiet und dessen Umgebung in der Region westlicher Bodensee/ Hochrhein randomisiert ausgewählt. Durch eine dreimalige Untersuchung innerhalb eines Jahres konnte die Antikörperkinetik im Verlauf bestimmt werden. Darüber hinaus wurden in den entsprechenden Gebieten auch Hunde (n= 243) auf das Vorliegen von Antikörpern gegen das FSME-Virus hin untersucht. Zur Antikörperbestimmung wurde ein kommerziell erhältlicher ELISA (Labor Alomed, Radolfzell) verwendet. Die Ergebnisse wurden stichprobenartig durch einen Neutralisationstest (Referenzmethode, Baxter-Immuno, Orth a. d. Donau, Österreich) überprüft.

Bei der serologischen Erstuntersuchung waren 48/205 Pferde (23,4 %) in der ausgewählten Population positiv. Der Anteil der seropositiven Pferde stieg im Untersuchungsgebiet von Osten nach Westen zu signifikant an ( $p= 0.001$ ), was eine Einteilung in ein hoch endemisches Gebiet (31 % positiv) und in ein niedrig endemisches Gebiet (4 % positiv) ermöglichte. Die Antikörpertiter nahmen im Untersuchungszeitraum ebenfalls signifikant zu. Die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität eines Reagenten war zudem von reiner Koppelhaltung ( $p= 0.001$ ) und häufigem Weidegang ( $p= 0.021$ ) abhängig. Eine Rassen- oder Geschlechtsdisposition lag nicht vor. Dagegen stieg der Anteil der seropositiven Reagenten mit dem Alter an ( $p= 0.011$ ).

Die serologische Untersuchung der Hunde ergab 71/243 positiven Reagenten (29,2%). Hinsichtlich der geographischen Veränderung der Seroprävalenz war ein tendenzieller Anstieg ebenfalls nach Westen hin zu erkennen, wobei die Gebietsgrenzen nicht so deutlich wie bei den Pferden abzustecken waren. Dieses Ergebnis lässt sich durch höhere Mobilität der Hunde und geringere Standortfestigkeit innerhalb eines Gebietes im Vergleich zu den Pferden erklären.

Die Merkmale Felllänge ( $p= 0.015$ ), Farbabstufung ( $p= 0.004$ ), häufiger Waldkontakt ( $p= 0.001$ ) und Alter ( $p= 0.011$ ) sind beim Hund signifikant. Es liegt keine Disposition für Größe und Geschlecht vor. Die Wahrscheinlichkeit der Seropositivität eines Reagenten stieg bei den Merkmalen „langes, helles Fell“ und „häufiger Waldkontakt“ an. Mit zunehmendem Alter nahm die Seropositivität zu, um dann wieder abzunehmen. Junghunde unter einem Jahr und Hunde über 12 Jahre wiesen deutlich weniger Antikörper gegen das FSME-Virus auf.

Hunde und Pferde eignen sich gut als Indikatoren zur Kartierung für Endemiegebiete, da sie häufig eine Serokonversion zeigen und aufgrund ihrer Haltungsweise in der Regel eine hohe Zeckenexposition aufweisen.

Der Anteil der seropositiven Reagenten bei den Hunden und deren durchschnittlich erreichte Antikörpertiter waren im Untersuchungsgebiet signifikant höher als jene der Pferde. Deshalb kann durch serologische Untersuchungen beim Hund ein endemisches Gebiet mit einer höheren Wahrscheinlichkeit angezeigt werden. Der Vorteil von Untersuchungen bei Pferden kann dahingehend bewertet werden, dass diese innerhalb eines Gebietes in der Regel standorttreuer sind und sich daher besser zur Feineinteilung endemischer Bezirke eignen, so z. B. zur Auffindung von „Hot spots“ in niedrig endemischen Gebieten.

Im Untersuchungszeitraum wurden weder bei den seropositiven Pferden noch bei den Hunden Symptome beobachtet, die Hinweise auf eine Erkrankung an FSME geben könnten. Völlig unspezifisch berichteten die Besitzer seropositiver Tiere gelegentlich von vorübergehendem Fieber und schlechtem Allgemeinbefinden ungeklärter Ursache in den vergangenen Monaten.

## 6.1. Summary

### **Seroepidemiological investigation of endemic TBE infection in a horse and dog population in southwestern Germany**

To determine the expansion of TBE infection of horses, this seroepidemiological study took place in a known endemical area, the western Bodensee/ Hochrhein region, in which the horses (n= 205) were chosen randomly. In this area the anti-body development was tracked by testing the sample three times over one year. The existence of TBE antibodies in dogs (n= 243) were also checked in the same area over the same period. A commercially obtainable ELISA (Labor Alomed, Radolfzell) was used in this anti-body determination. Random samples of the results were double checked by a neutralisation test (reference method, Baxter-Immuno, A-Orth a.d. Donau, Austria).

In the first examination 48 out of 205 horses in the chosen population were tested positive. The percentage of seropositive horses in the examination area increased significantly from east to west ( $p= 0,001$ ), which allowed the classification of a highly endemical area (31 % positive) and a lower endemical area (4 % positive). The anti-body titer increased significantly during the examination period. The probability of the seropositivity of a horse depended if ( $p= 0,001$ ) and how often the horse visits pastures ( $p= 0,021$ ). The percentage of seroreagents increased with the age of the horses ( $p= 0,011$ ). A racial or sex disposition was not present.

The serological examination of the dogs resulted in 71 seroreagents out of 243 (29,2 %). A geographical westward increase was noticed; however the area could not be marked out as well as could be done with the horses. This result can be explained by the higher mobility of the dogs within an area in comparison to the horses. The features: Length of fur ( $p= 0,015$ ), Colour shades ( $p= 0,004$ ), frequent forest contact ( $p= 0,001$ ) and age ( $p= 0,011$ ) are significant for dogs. A disposition for size and sex is not relevant. The probability of seropositivity of a dog increased with the features “long, fair fur” and “frequent forest contact”. The seropositivity increased with the age of the dogs; dogs younger than one year and older than 12 years had much less antibodies against the TBE virus.

Dogs and horses are good indicators for mapping endemical areas, because they often show seroconversion and normally have a high exposure to ticks because of the way they are kept.

The proportion of the seroreagents of dogs and their average number of antibody titers in the research area were significantly higher than the average number of the horses. Due to the result of this serological research with dogs, an endemical area can be spotted with a higher probability. Horses can then be used to narrow in the endemic areas and to find “hot spots” in low endemic areas.

During the period of the research no symptoms were observed, which could give hints of a possible TBE infection, in either horses or dogs. In recent months some owners of seropositive animals have reported occurrences of bad health and temporary high temperatures which may or may not be related to TBE.

## 7. Literaturverzeichnis

ACKERMANN R., K. KRÜGER, M. ROGGENDORF, B. REHSE-KÜPPER, M. MORTTER, M. SCHNEIDER, I. VUKADINOVIC (1986). Verbreitung der Frühsommermeningoenzephalitis in Süddeutschland. Dtsch. Med. Wschr. 111 (24): 927 - 933.

ACKERMANN R., B. RHESE-KÜPPER (1979). Die Zentraleuropäische Enzephalitis in der Bundesrepublik Deutschland. Fortschr. Neurol. Psychiat. Georg Thieme Verlag Stuttgart. 47: 103 - 122.

ACKERMANN R., B. RHESE-KÜPPER, R. LÖSER, W. SCHEID (1968). Neutralisierende Serumantikörper gegen das Virus der Zentraleuropäischen Enzephalitis bei der ländlichen Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland. Dtsch. Med. Wschr. 93 (37): 1747 - 1754.

AEBI C., U. B. SCHAAD (1994). FSME-Immunglobulin- eine kritische Beurteilung der Wirksamkeit. Schweiz Med. Wschr. 124 (42): 1837 - 1840.

BLASCOVIC D. (1958). Epidemiologische und immunologische Probleme bei der Zeckenzephalitis. Wien. Klein. Wschr. 70 (38/39): 742 - 749.

BLESSING J. (1982). Eine Togavirus-Infektion mit steigender Tendenz? Gegen FSME rechtzeitig gerüstet sein. Selecta 12: 1270 - 1282.

BODEMANN H., P. HOPPE-SEYLER, H. BLUM, L. HERKEL (1980). Schwere und ungünstige Verlaufsformen der ZE 1979 in Freiburg. Dtsch. Med. Wschr. 105: 921 - 924.

BODEMANN H., J. PAUSCH, H. SCHMITZ, G. HOPPE-SEYLER (1977). Die Zeckenzephalitis als Laborinfektion. Med. Welt 28 (44): 1779 - 1781.

BUDDECKE E. (1994). Grundriß der Biochemie. Walter de Gruyter Verlag: 32.

Calisher C. H. (1988). Antigenic classification and taxonomy of flaviviruses (Family Flaviviridae) emphasizing a universal system for the taxonomy of viruses causing Tick-Borne Encephalitis. Acta virol. 32: 469 - 478.

DUNIEWICZ M. (1976). Klinisches Bild der Zentraleuropäischen ZE. Münch. Med. Wschr. 118 (94): 1609 - 1612.

DUNIEWICZ M., H. KULKOVA (1982). Kortikoide in der Behandlung von Zecken- und anderen Virus-Meningoenzephalitiden. Münch. Med. Wschr. 124: 69 – 70.

EISTETTER S., P. KIMMING, R. OEHME (1998). Untersuchungen zur Epidemiologie der FSME in Baden-Württemberg. Bundesgesundheitsblatt Originalien und Übersichtsarbeiten 2 (98): 62 – 66.

ERNEK E., O. KOZUCH (1970). Zeckenzephalitis neutralisierende Antikörper bei Rindern als Indikator der Virusanwesenheit in mitteleuropäischen Naturherden. Zent.bl. Bakt. I-Abt.Orig. 213: 151 - 160.

FERENCZI E., E. MOLNAR (1991). Epidemiology of Tick-Borne Encephalitis. Tick-Borne Encephalitis in Hungary in the last ten years. Ellipse 29: 458 – 459.

FIEDLER M., G. JÄGER, R. KAISER, M. ROGGENDORF (1999). TBE Epidemiology in Germany (1997-1998). Zent.bl. Bakteriologie. Urban und Fischer Verlag 289: 579 - 582.

GERTH H.-J., D. GRIMSHANDL, B. STAGE, G. DÖLLER, C. KUNZ (1995). Roe deer as sentnells for endemicity of tick-borne encephalitis virus. Epidemiol. Infect. 115: 355 - 365.

GIRJABU E., N. DRAGANESCU, R. IFTIMOVICI (1985). Serological investigations on the presence of antibodies to tick-borne encephalitis virus in domestic animals and birds and in humans. Revue Roumaine de Medicine Virologie 36 (3): 161 - 164.

GRABNER A. (1993). Klinische Differentialdiagnose infektiös bedingter Krankheiten des ZNS beim Pferd mit besonderer Berücksichtigung der EHV-Infektionen. Fortbildung-Pferde Coll. Vet. 24: 30.

GRESIKOVA M, O. KOZUCH, J. NOSEK (1968). Die Rolle von Ixodes ricinus als Vektor des Zeckenzephalitisvirus in verschiedenen mitteleuropäischen Naturherden. Zbl. für Bakteriologie. Para., Inf.krankh. und Hygiene I. Abt. Orig. 207 (4): 421 - 429.

GRESIKOVA M., M. SEKEYOVA., S. STUPALOVA, S. NECAS (1975). Sheep Milk Borne Epidemic of Tick Borne Encephalitis in Slovakai. Intervirologie 5: 57-61 .

GRESIKOVA M., M. SEKEYOVA, K. WEIDENEROVA, D. BLASKOVIC, F. STECK, A. WANDELER (1972A). Isolation of Tick-born Encephalitis from the brain of a sick dog in Switzerland. *Acta Virol* 16: 88.

GRESIKOVA M., K. WEIDNEROVA, J. NOSEK, J. RAJCANI (1972B). Experimental Pathogenicity of Tick-Borne Encephalitis Virus for dogs. *Acta virol.* 16: 336 – 340.

HAAS T, J. TREIB (1996). *Borreliosis and Tick-Borne Encephalitis. Infection Medizin Verlag München* 24: 393 / 59.

HARASEK G. (1974). Zeckenenzephalitis im Kindesalter. *Dtsch. Med. Wschr. Georg Thieme Verlag Stuttgart* 99: 1965 - 1969.

HEINZ F. X. (1996). Die FSME und ihre Immunprophylaxe. Schematische Darstellung eines FSME-Viruspartikels. In: *Immuno* (Hrsg.): 1 - 32.

HEINZ F. X., M. ECKER, C. W. MANDL, H. HOLZMANN (1997). The molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus in Europe and Asia. 4th. Int. Potsdam-Symposia on Tick-borne Encephalitis and Lyme Borreliose 1997. Hrsg. J.Süss, O. Kahl (eds.) Pabst Science Publishers: 204 – 218: 27 - 33.

HEINZ F. X , C.W. MANDL (1993). The molecular biology of tick-borne encephalitis virus- Review. *APMIS* 101: 735 - 745.

HOFMANN H. (1970). Zur Inf. mit FSMEV durch Zecken. *Win. klin. Wschr.* 82: 180 - 181.

HOLZER E. (1976). Zum Vordringen der europäischen Enzephalitis in Südbayern. *Münch. Med. Wschr.* 118 (49): 1613 - 1614.

HOLZMANN H. (1999). Pitfalls in Modern TBE Sero-dignosis. 5<sup>th</sup> Int. Potsdam-Symposium on Tick-borne Diseases. *Zent.bl. Bakteriol. Urban Fischer Verlag* 289: 548 - 549.

HUBINGER M. G., H. HOFMANN, J. KRAUSLER (1970). Das Überdauern von Antikörpern gegen das Frühsommer-Meningoenzephalietis (FSME)-Virus beim Menschen. *Z.bl. für Bakteriol, Para., Inf.krankh und Hygiene.* 213 (2): 145 - 151.

IMMUNO GMBH (1996 und 1998), Heidelberg, Kompendium FSME.

JACOBI U., G. HENNE, G. HESSE, S. HAUSTEIN, W. DORN, H. SCHOLZ, E. LINKE (1994). 2. Potsdamer Symposium 1993. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen. Hrsg. J. Süss Weller Verlag: 39 - 61.

JELLINGER K. (1981): The Histopathology of Tick-Borne Encephalitis. International Symposium Baden/ Vienna. Tick-Borne Encephalitis. Kunz Ch. (Ed.), Facultas Verlag, Wien: 59 - 75.

JETTMAR H. M. (1957). Über die Rolle der Zecke bei der Verbreitung der zweiwelligen Virus-Meningoenzephalitis in Österreich. Anzeiger für Schädlingskunde vereint mit Schädlingsbekämpfung 30 (9): 129 - 132.

KAHL O. (1994). Die Zecke als Vektor. 2. Potsdamer Symposium 1993. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen. Hrsg. J. Süss Weller Verlag: 1 - 19.

KAISER, R. (1995). Die FSME in Süddeutschland: Klinische und epidemiologische Beobachtungen aus dem Jahre 1994. 3. Potsdamer Symposium. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen. Hrsg. J. Süss Weller Verlag: 20 - 24.

KAISER R. (1996A). Tick-Borne Encephalitis in Southwestern Germany. Infection Medizin Verlag GmbH München (MMV) 24 (5): 398 - 399.

KAISER R. (1996B). Frühsommer-Meningoenzephalitis in Süddeutschland unter besonderer Berücksichtigung der Verläufe im Kindesalter. Pädiatrie Hautnah. 3: 186 -192.

KAISER R. und die Teilnehmer der Expertenkonferenz (1998). Frühsommermeningoenzephalitis und Lyme-Borreliose-Prävention vor und nach Zeckenstich. Aus Fachgremien und Konsensuskonferenzen, 1998. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York Dtsch. Med. Wschr.123: 847 - 853.

KAISER R., H. VOLLMER, K. SCHMIDTKE, S. RAUER, W. BERGER (1997). Verlauf und Prognose der FSME. Nervenarzt Springer-Verlag 68: 324 - 333.

KIEBIG S. T., U. ABEL, P. RISSE, J. FRIEDRICH, F. X. HEINZ, CH. KUNZ (1993). Bestimmung von Schwellenwerten (Cut-Off) bei Enzymimmunoassays am Beispiel des FSME-ELISA. Klin. Lab. 39: 877 - 886.



KLIMES J., Z. JURICOVA, I. LITERAK, P.SCHANILEC, E. TRACHTA, E. SILVA (2001). Prevalence of antibodies to tickborne encephalitis and West Nile flaviviruses and the clinical signs of tickborne encephalitis in dogs in the Czech Republic. *Vet Rec* 148: 17 – 20.

KNIRTZ G. (1999) FSME in einer österreichischen Hundepopulation. Dissertation aus der Wiener Veterinärmedizinischen Universität I. Medizinische TK.

KÖLBL S. (1998). Diagnostik der Hunde-und Katzenvirosen. *Vet special Enke Verlag Stuttgart*: 38 - 39.

KOLMAN J. M., M. HUSOVA (1971). Virus-Carrying ticks *Ixodes ricinus* in the mixed natural focus of the Central European Tick-Borne Encephalitis Virus (CETE) and Uukunieme Virus (UK). *Folia Parasitologica (PRAHA)* 18: 329 – 335.

KRECH U., F. JUNG, M. JUNG (1969). Zentraleuropäische Zeckenenzephalitis in der Schweiz. *Schweiz. Med. Wschr.* 99: 282 - 285.

KUNZ CH. (1994). Die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) in Europa. 2. Potsdamer Symposium 1993. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen. Hrsg. J. Süss Weller Verlag: 23 - 30.

Kunz Ch. (1995). Epidemiologische Situation der FSME in Europa. 3. Potsdamer Symposium 1994. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen: FSME und Lyme-Borreliose. Hrsg J. Süss, Weller Verlag Schriesheim: 3 - 6.

KUNZ CH., J. KRAUSLER (1964). Bildung und Überdauerung der komplementbindenden Antikörper nach Infektion mit Frühsommermeningoenzephalitis (Tick-borne encephalitis)Virus. *Archiv f. Virusforschung* 14 (4): 499 - 507.

LABUDA M, JONES L. D., WILLIAMS T., DANIELOVA V, NUTTALL P. A. (1993). Efficient transmission of tick-borne encephalitis virus between cofeeding ticks. *J. Med. Entomol.* 30: 295 - 299.

LEIDIGER A. L., NELSON D. L. , COX M. M. (1994). Prinzipien der Biochemie. Spektrum Akadem. Verlag: 158 - 160.

LIEBISCH A. (1978). Zur Überträgerökologie der Zeckenzephalitis in der Bundesrepublik Deutschland. In: Beiträge zur Geoökologie der Zentraleuropäischen Zecken-Enzephalitis, Hrsg.H. J. Jusat Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 20-29.

LOTIC-FURLAN S., F. STRLE (1995). Thrombocytopenia- A Common Finding in the Initial Phase of Tick-Borne Encephalitis. *Infection* 23, 4 MMV: 203 / 15 – 206 / 18

LUKSCHANDER N. (1998). FSME-Infektion in der Österreichischen Pferdepopulation. Dissertation aus der Wiener Veterinärmedizinischen Universität I. Medizinische TK.

MATILE H., A. AESCHLIMANN, R. WYLER (1979). Seroepidemiologic investigation on the incidence of TBE in man and dog in Switzerland. In: Kunz Ch (ed.): TBE Facultas Wien: 227 - 234.

MATILE H., E. FERRARI, A. AESCHLIMANN, R. WYLER (1981). Die Verbreitung der Zecken-Enzephalitis in der Schweiz. *Klinik und Laborium. Schweiz. Med. Wschr.* 111: 1262 - 1269.

MONATH P., HEINZ F. X. (1996). Flaviviruses, *Fields Virology*. Third Edition edited by B.N. Fields, D. M. Knipe, P.M. Howley, et al. Lippincott-Raven Publishers Philadelphia: 961 - 995.

MORITSCH H. (1962). Durch Arthropoden übertragene Virusinfektionen des Zentralnervensystems in Europa. *Ergebn. Inn. Med. Kinderheilk.* 17(1): 12 –5 6.

MÜLLER W. (1997). FSME Seroprävalenz beim Hund in Deutschland. 4th. Int. Potsdam-Symposia on Tick-borne Encephalitis and Lyme Borreliose 1997. Hrsg. J.Süss, O. Kahl (eds.) Pabst Science Publishers: 204 - 218.

NOSEK J., O. KOZUCH, E. ERNEK, M. LICHARD (1967). The importance of goats in the maintenance. Tick-Borne Encephalitis virus in *Nature Acta. Virol.* 11: 470 - 472.

NÜBLING M., M. RIEGER, G. SPILKER, F. HOFMANN, R. KAISER (1999) FSME. Erkrankungsrisiko nach Zeckenstich. *Epidemiologisches Bulletin (Robert Koch Institut)* 12: 76 - 77.

ÖZDEMİR F. A., F. ROSENOW, W. SLENCZKA, T. O. KLEIINE, W. H. OERTEL (1999). FSME Ausbreitung des Endemiegebietes nach Mittelhessen. *Nervenarzt*, Springer Verlag, 99 (0): 119 - 122.

PAULI M. (2001). Bevor die ersten Zecken kommen. *Hundejournal* 118 (2): 1

PAVLOV P. (1967). Studies on tickborne encephalites of sheep and their natural foci in Bulgaria. *Zbl. Bakt. Abt. Orig.* 4 (206): 360 - 367.

PAVLOVSKY E. N. (1966). *Naturality of transmissible diseases*. University of Illinois Press, Urbana and London, (Engl. Übersetzung, Hrsg: Levine ND): 261.

PEREZ-EID C., C. HANNOUN, F. RODHAIN (1992). The Alsatian tick-borne encephalitis focus: presence of the virus among ticks and small mammals. *EUR J. Epidemiol.* 8: 178 - 186.

PLASSMANN E. (1980). Zecken-Enzephalitis auch durch infizierte Milch. *Ärztliche Praxis* 32 (58): 2025 - 2026.

PRETZMANN G. (1965). Bedeutung des Wetters für die Morbidität einer durch Zecken übertragene Virusinfektion des Menschen. *Arch. Hyg.* 149 (97): 96 - 105.

RADDA A.C. (1978). Die Frühsommer-Meningoenzephalitis in Österreich. In: *Beiträge zur Geoökologie der Zentraleuropäischen Zecken-Enzephalitis*. Hrsg. H .J Juszatz Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 134 - 139.

RADDA A. C., C. KUNZ (1983). Die Frühsommermeningoenzephalitis in Mitteleuropa. *Kinderarzt* 14: 714 - 724 .

REINER B., A. FISCHER (1998). Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte. *Kleintierpraxis.* 43: 255 - 268.

REINER B., A. FISCHER , TH. GÖDDE, W. MÜLLER (1999). Clinical Diagnosis of Canine TBE: Contribution of CSF analysis and CSF antibody titers. 5<sup>th</sup> Intern. Potsdam-Symposia (IPS-V) on Tick-borne Diseases: Tick-borne Encephalitis and Lyme Borreliosis, Berlin *Zent.bl. Bakteriolog. Urban Fischer Verlag.* 289: 605 – 609.

REY A. R., F. X. HEINZ, CH. MANDL, CH. KUNZ, ST. C HARRISON (1995). The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. *Nature* Vol, 357: 291 - 298.

RHESE-KÜPPER B., V. DANIELOVA, W. KLENK, B. ABAR, R. ACKERMANN (1976). Epidemiologie der Zentraleuropäischen Enzephalitis in der Bundesrepublik Deutschland. *Münch. Med. Wschr.* 118 (49): 1615 - 1616.

RIEDL H., W. SIXL, J. NOSEK (1973). Studie zur Synökologie des FSMEV in Österreich. *Z. ges. Hyg.* 19: 733 - 737.

RIEGER M. A., F. HOFMANN (1999). Frühsommermeningoenzephalitis. *Handbuch der Arbeitsmedizin*. Hrsg. Konietzko J., H. Dupuis. Verlag, Ecomed. IV – 4.2.23: 1 - 5.

RIEGER M. A., D. NEUMANN-HAEFELIN, J. P GREGERSEN, M NÜBLING, F. HOFMANN (1999A). Detection of antibodies against TBEV by means of Western blot: confirmation of high level of false positive results in a population with low TBE incidence. *Zent.bl. Bakteriologie*. 289: 620 - 627.

RIEGER M.A., NÜBLING M., HOFMANN F. (1999B). Die Frühsommermeningoenzephalitis als arbeitsmedizinisches Problem. *Ergo Med Reisemedizin, Infektionskrankheiten, Impfeempfehlungen*. 2: 72 – 85.

RIEGER M. A., NÜBLING M., HUWER M., MÜLLER W., HOFMANN F. (1997). Untersuchungen zur Epidemiologie der Frühsommermeningoenzephalitis: Nehmen Rinder am Zyklus der Virusübertragung im Südwestdeutschen Endemiegebiet teil? *Immun. Infect* 2: 52- 57.

RIEGER M. A., M. NÜBLING, R. KAISER, F. W. TILLER, F. HOFMANN (1998). FSME-Infektion durch Rohmilch- welche Rolle spielt dieser Infektionsweg? Untersuchungen aus dem südwestdeutschen FSME-Endemiegebiet. *Gesundheitswesen* (Georg Thieme Verlag Stuttgart New York). 60: 348 - 356.

RIEGER M. A., NÜBLING M., MÜLLER W., HASSELHORN H. M., HOFMANN F. (1999). "TBE in foxes study group": Foxes as indicator for TBE endemicity- a comparative serological investigation. *Zentralbl. Bakteriologie*. 289: 610 - 618.

ROGGENDORF M. (1983). Zur Häufigkeit der Frühsommermeningoenzephalitis in Bayern. Bay. Ärzteblatt. 5 (83): 306 - 308.

ROGGENDORF M. (1996). Epidemiology of Tick-Borne Encephalitis Virus in Germany. Infection 24 No. 6, Medizin Verlag GmbH München: 465 / 61 – 466 / 62.

ROGGENDORF M., P. LENZ (1994). Änderungen der Epidemiologie der FSME in Süddeutschland. Ellipse. 11: 33 - 40.

ROGGENDORF M., P. LENZ, R. KAISER, G. JÄGER (1995). Epidemiologische Situation der FSME in Bayern und Baden-Württemberg. 3. Podsdamer Symposium. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen. FSME und Lyme-Borreliose. Hrsg. J. Süss. Weller Verlag: 7 - 19

ROLLE, A. MAYER, B. GEDEK, O. R. KAADEN, H. MAHNEL (1993). Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke Verlag: 220, 357 - 359.

RUFLI TH., Y. MUMCUOGLU (1981). Ixodidae, Schildzecken, Dermatologische Entomologie, Schweiz. Rundschau Med, (Praxis) 70: 362 - 367.

SCHNEIDER H. (1931). Über epidemische akute „Meningitis serosa“. Wiener klin. Wschr. 44: 350 - 352.

SCHREIER E, B. SCHWEIGER, C. RAMELOW, P. BEZIAT, J. SÜSS (1994). Rapid detection of tick-borne encephalitis virus sequences by cDNA amplification coupled to a simple DNA enzyme immunoassay. Clin. Diagn. Virol. 2: 291 - 295.

SPIESS H., M. MUMENTHALER, S. BURKHARDT, H. KELLER (1969). Zentraleuropäische Enzephalitis (Zeckenzephalitis) in der Schweiz. Schweiz. Med. Wschr. 99: 277 - 282.

STANEK G., H. HOFMANN (1994). Krank durch Zecken FSME und Lyme-Borreliose. Verlag Wilhelm Maudrich Wien: 9 - 50.

STRYER L. (1991). Biochemie Spektrum Akad. Verlag Heidelberg, Berlin, New York: 64 - 65.

SÜSS J., P. BEZIAT (1996). Epidemiologie der FSME in Europa, insbesondere in Deutschland, sowie Anmerkungen zu weiteren durch Zecken übertragbare Viren. Aktuelle Themen der Reisemedizin, Robert-Koch-Institut. 12: 121 - 133.

SÜSS J., P. BEZIAT, C. RAMELOW, D. BERNDT (1995). Untersuchungen zur epidemiologischen Situation der FSME in den neuen Bundesländern von 1992-1994. 3. Podsdamer Symposium. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen. FSME und Lyme-Borreliose. Hrsg. J. Süß. Weller Verlag: 25 - 31.

SÜSS J., CH. SCHRADER, U. ABEL, W. P. VOIGT, R. SCHOSSER (1999). Annual and seasonal Variation of Tick-borne Encephalitis Virus (TBEV) Prevalence in Ticks in Selected Hot Spot Areas in Germany Using a nRT-PCR: Results from 1997 and 1998. Zent.bl. Bakteriologie. 289: 564 - 578.

SÜSS J., H. SINNECKER, R. SINNECKER, D. BRENDT, E. ZILSKE, G. DEDEK, L. APITZSCH: (1992). Epidemiology and ecology of tick-borne encephalitis in the eastern part of Germany between 1960 and 1990 and studies on the dynamic of a natural focus of tick-borne encephalitis. Zent.bl. Bakteriologie. 277: 224 - 235.

TIPOLD A. (1997). Entzündlich-infektiöse Erkrankungen des ZNS beim Hund. In: Entzündungen im Zentralnervensystem, Vet Special Enke Verlag: 32 - 48.

TIPOLD A. (2002). Zentraleuropäische Zeckenzephalitis - eine Übersicht. Tierärztliche Praxis 30 (K): 36 / 106 – 39 / 109.

TIPOLD A., R. FATZER, H. HOLZMANN (1993). Zentraleuropäische Zeckenzephalitis beim Hund. Kleintierpraxis 38: 619 - 628.

TIZARD I.R. (1996). Serology. The Detection and Measurement of Antibodies. In: Veterinary Immunology. An Introduction. 5th Edition, Saunders, Philadelphia: 216 - 236.

TRAAVIK T. (1994). Encephalitis Viruses. Enzyklopedia of Virology. Robert Webster Academic Press. 361 - 372.

TREIB J., A. HAASS, S. T. KIEBIG, R. WOESSNER, M. T. GRAUER, K. SCHIMRIGK (1996) Tick-Borne Encephalitis Diagnosis in Patient with Inflammatory Changes in the CSF

in a Region with Very Low Prevalence. *Infection* (MMV Medizin Verlag GmbH München). 24 (5): 66 / 400 – 68 / 402.

VOET D., J. G. VOET. *Biochemie*. VCH Verlag (1994): 74.

VOROBYOVA M. S. (Moskau) (1991). *Epidemiology of Tick-Borne Encephalitis*. 2. Internat. Symposium on TBE Baden/ Vienna 1991. *Ellipse*. 29: 449.

WALDVOGEL A., H. MATILE, CH. WEGMANN, R. WYLER, CH. KUNZ (1981). *Zeckenenzephalitis beim Pferd*. *Schweizer Arch. Tierheilkunde*. 123: 227 - 233.

WANDELER A., F. STECK, R. FRANKHAUSER, B. KAMMERMANN, M. GRESIKOVA, D. BLASCOVIC (1972). *Isolierung des Virus der Zentraleuropäischen Zeckenenzephalitis in der Schweiz*. *Path. Microbiol.* 38: 258 - 270.

WEISSENBOCK H., H. HOLZMANN (1997). *Immunhistologischer Nachweis der Frühsommer Meningoenzephalitis beim Hund in Österreich*. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 84: 34 - 38.

WENGLER G. (1991). *Flaviviridae, Classification and Nomenclature of Viruses*. Springer Verlag Wien *Arch. Of. Virol. Suppl.*2: 223 - 227.

WYLER R., W. SCHMIDTKE, CH. KUNZ, A. RADDI, V. HENN, R. MEYER (1973). *Zeckenenzephalitis in der Region Schaffhausen*. *Schw. Med. Wschr.* 103 (43): 1487 - 1492.

ZINDEL W., R. WYLER (1983). *Zeckenenzephalitis bei einer Ziege im unteren Prättigau*. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 125: 383 - 386.

## 8. Anhang

### 8.1. Informationsblatt über FSME für die Pferdebesitzer

#### ***Informationsblatt zu der Studie über FSME von der I. Medizinischen Tierklinik in München***

##### ***Was ist FSME?***

Die Frühsommer-Meningo-Enzephalitis (kurz **FSME**) ist eine durch ein sogenanntes Flavivirus verursachte Erkrankung des Zentralnervensystems.

##### ***Seit wann ist die Krankheit bekannt?***

Die Erkrankung wurde 1927 zum ersten Mal beim Mensch beschrieben. 1972 wurde der Virus erstmals beim Hund nachgewiesen und beim Pferd sogar erst 1981.

##### ***Wie wird die Erkrankung übertragen?***

Der Erreger das FSME-Virus wird hauptsächlich durch Zeckenbisse übertragen. Als Quelle der Verbreitung gelten Nagetiere und Wildtiere. Es besteht keine Gefahr der Ansteckung des Menschen durch das Pferd.

##### ***Wo kommt die Erkrankung in Deutschland vor?***

FSME kommt regional gehäuft vor. Beim Menschen kommen in der Gegend des westlichen Bodensees, des Hochrheins, von Freiburg bis Baden-Baden, am oberen Neckar, im Schwarzwald immer wieder FSME-Fälle vor. Auch beim Hund sind in diesen Regionen gesicherte Fälle bekannt geworden. Wie sieht jedoch die Situation beim Pferd aus? Es treten immer wieder Verdachtsfälle im westlichen Gebiet des Bodensees auf. Bisher wurden diese aber nicht eindeutig dokumentiert.

##### ***Wie ist die Gefahr durch das Virus derzeit einzuschätzen?***

In den Europäischen FSME-Gebieten war 1993-1995 ein starker Anstieg der Erkrankungsrate zu beobachten, die sich 1996 auf einem hohen Niveau stabilisiert. Auch beim Hund wurde in den letzten Jahren vermehrt über Fälle von Zeckenzephalitis berichtet. Bezüglich der Pferde sind die Informationen bisher sehr spärlich, die Krankheit ist beim Pferd noch nicht gut erforscht. Untersuchungen von Pferdeseren geben Grund zur Annahme, dass auch in der Pferdepopulation im süddeutschen Raum das Virus verbreitet ist.

##### ***Wie sieht die Erkrankung beim Pferd aus ?***

Vorrangig ist die FSME-Erkrankung eine des Zentralnervensystems. Es kommt zu Nervenausfällen, die sich in einem unsicheren Gang, Krämpfen, epileptiformen Anfällen bis hin zum Festliegen in Seitenlage bemerkbar machen können. Verhaltensstörungen, Müdigkeit jedoch auch gesteigerte Erregbarkeit können während des Krankheitsverlaufes auftreten.



Wie viele der infizierten Tiere jedoch überhaupt Krankheitserscheinungen zeigen ist noch ungeklärt. Oft verläuft die Infektion nämlich ohne, oder mit milden Symptomen. Vermutet wird jedoch auch, dass Tiere mit Symptomen der FSME oft nicht auf den Erreger hin untersucht werden, da die Symptomatik bislang noch nicht eindeutig beschrieben ist.

***Gibt es bisher die Möglichkeit sich vor der Krankheit zu schützen?***

Für Menschen gibt es die Möglichkeit, sich vor der Erkrankung durch eine Impfung zu schützen.

Diese Möglichkeit gibt es bislang für das Pferd noch nicht.

***Wie können Sie und Ihr Pferd einen Beitrag zur weiteren Erforschung der FSME leisten?***

Sie können einen großen Beitrag zur Erforschung der Erkrankung leisten, indem Sie uns bei unserer Studie weiterhelfen. Die Studie soll dazu dienen, mehr über die Verbreitung des FSME-Virus und über die Symptomatik der Krankheit beim Pferd zu erfahren. Es ist die **erste** Studie über FSME beim Pferd in Deutschland.

Ihrem Pferd sollte zu diesem Zwecke eine kleine Menge Blut abgenommen werden, dies sollte innerhalb eines Jahres 2 Mal wiederholt werden.

***Was passiert mit dem Blut?***

Das Blut wird auf Antikörper gegen das Virus untersucht. Es kann somit festgestellt werden, ob Ihr Pferd schon einmal mit dem Virus Kontakt hatte.

***Was passiert mit den Ergebnissen des Testes?***

Sie bzw. Ihr Tierarzt werden über das Testergebnis informiert.

***Welche weiteren Untersuchungen laufen parallel ?***

Die Pferdetierärzte im süddeutschen Raum wurden von uns über die Studie informiert. Sobald ein Verdacht bei einem Pferd besteht,  äss es an FSME erkrankt sein könnte, werden wir informiert, um auch an diesem Pferd eine Blutuntersuchung durchführen zu können und die Symptome der Erkrankung in diesem Falle zu dokumentieren.

## 8.2. Anamneseblatt Pferd

**Besitzer:**

**Pferd** : Name  
Alter  
Geschlecht  
Rasse  
Farbe

**Haltung:**

Boxenhaltung  
Fensterbox  
Paddock

Offenstall

**Koppelgang:**

nein

ja                    Jahreszeit  
                         Tageszeit

**Geländeritte:**

ganzjährig

Häufigkeit

**Zeckenbiß :**

Ja

Nein

**Klinische Symptome:**

Allgemeinverhalten

o.B    apathisch    schreckhaft

Stupor    Koma

Bewegungsablauf

o.B.

Ataxien

Krämpfe

ja

nein

Augenuntersuchung

o.B.

Nystagmus

Strabismus

Pupillarreflex    o.B.  
   verändert

Vorbehandlungen

nein

ja

womit

seit wann

Krankheitsverlauf

akut

chronisch

stationär

progressiv

### 8.3 Informationsblatt für die Hundebesitzer

#### ***Informationsblatt zu der Studie über FSME von der I. Medizinischen Tierklinik in München***

##### ***Was ist FSME?***

Die Fröhsommer-Meningo-Enzephalitis (kurz FSME) ist eine durch ein sogenanntes Flavivirus verursachte Erkrankung des Zentralnervensystems.

##### ***Seit wann ist die Krankheit bekannt?***

Die Erkrankung wurde 1927 zum ersten Mal beim Menschen beschrieben. 1972 wurde der Virus erstmals beim Hund nachgewiesen und beim Pferd sogar erst 1981.

##### ***Wie wird die Erkrankung übertragen?***

Der Erreger das FSME-Virus wird hauptsächlich durch Zeckenbisse übertragen. Als Quelle der Verbreitung gelten Nagetiere. Es besteht keine Gefahr der Ansteckung des Menschen durch das Pferd oder den Hund.

##### ***Wo kommt die Erkrankung in Deutschland vor?***

FSME kommt regional gehäuft in Süddeutschland vor und auch im westlichen Gebiet des Bodensees.

##### ***Wie ist die Gefahr durch das Virus im Moment einzuschätzen?***

In den Europäischen FSME-Gebieten war 1993-1995 ein starker Anstieg der Erkrankungsrate zu beobachten, die sich 1996 auf einem hohen Niveau stabilisiert hat. Durch Untersuchungen an Pferden in diesem und im letzten Jahr stellte sich heraus, dass gerade in ihrer Gegend die Gefahr einer FSME Infektion besonders groß ist.

Auch beim Hund wurde in den letzten Jahren vermehrt über Fälle von Zeckenenzephalitis berichtet. Gerade die Hunde sind ja viel mehr als der Mensch und meist mehr als die Pferde den Zecken ausgesetzt.

##### ***Wie sieht die Erkrankung beim Hund aus ?***

Vorrangig ist die Erkrankung ein Problem des Zentralnervensystems. Es kommt zu Nervenausfällen, die sich in einem unsicheren Gang, Krämpfen, epileptiformen Anfällen bis hin zum Festliegen in Seitenlage bemerkbar machen können. Verhaltensstörungen, Müdigkeit jedoch auch gesteigerte Erregbarkeit sind im Zusammenhang mit dem Virus beschrieben.

##### ***Gibt es bisher die Möglichkeit sich vor der Krankheit zu schützen?***

Für Menschen gibt es die Möglichkeit sich vor der Erkrankung durch eine Impfung zu schützen.

Diese Möglichkeit gibt es bislang für den Hund noch nicht.

##### ***Wie können Sie und Ihr Hund einen Beitrag zur weiteren Erforschung der FSME leisten?***

Sie können einen großen Beitrag zur Erforschung der Erkrankung leisten, indem Sie uns bei unserer Studie weiterhelfen. Die Studie soll dazu dienen, mehr über die Verbreitung des FSME-Virus und über die Symptomatik der Krankheit beim Hund zu erfahren. Letztendlich erfahren Sie wie hoch die Gefahr einer FSME Infektion in Ihrer Umgebung für Sie und Ihre Familie einzuschätzen ist. Ihrem Hund sollte zu diesem Zwecke eine kleine Menge Blut abgenommen werden.

***Was passiert mit dem Blut?***

Das Blut wird auf Antikörper gegen das Virus untersucht. Es kann somit festgestellt werden, ob Ihr Hund schon einmal mit dem Virus Kontakt hatte.

***Was passiert mit den Ergebnissen des Tests?***

Sie bzw. Ihr Tierarzt werden über das Testergebnis informiert. Die Ergebnisse werden innerhalb der Studie ausgewertet, um eine Aussage über die Gefahr einer FSME- Infektion speziell in Ihrem Gebiet machen zu können.

***Welche Aussage lässt sich mit dem Testergebnis machen und welchen Vorteil haben Sie bzw. Ihr Hund davon?***

Beim Menschen geht man davon aus, dass ein Antikörpertiter von 30 U/l vor einer Erkrankung schützt. Auch durch einen Kontakt mit dem Virus selbst bildet der Hund Antikörper, ohne an FSME zu erkranken und bleibt so für einige Zeit geschützt. Sie erfahren in dieser Untersuchung den genauen Antikörpertiter ihres Hundes.

#### 8.4. Anamneseblatt Hund

**Tierarzt:**

**Besitzer:** Name

Wohnort

Telefonnr.

**Hund** : Name

Alter

Geschlecht

Gewicht

Rasse

Farbe

Fell lang kurz

**Seit wann lebt der Hund in dieser Gegend:**

**Wo lebte er vorher:**

**Reisen innerhalb Deutschlands:**

**Auslandsaufenthalte:**

(wenn möglich keine längeren Aufenthalte in anderen endemischen Gebieten)

**Haltung:** Wohnung

Zwinger

Kette

<b>Spaziergänge im Wald:</b> selten häufig
<b>Zeckenbiß beobachtet:</b> selten häufig
<b>Klinische Symptome:</b> ja nein
<u>Allgemeinverhalten</u> o.B. apathisch          Stupor schreckhaft Koma
<u>Bewegungsablauf</u> o.B. Ataxien
<u>Krämpfe</u> ja nein
<u>Augenuntersuchung</u> o.B. Nystagmus Strabismus Pupillarreflex o.B. verändert
<u>Vorbehandlungen</u> nein ja womit seit wann
<u>Krankheitsverlauf</u> akut                  stationär chronisch          progressiv

### **8.5. Ergebnisse der Serumproben der Pferde im ELISA und im SNT im Vergleich**

Die Ergebnisse der Serumproben der Pferde im ELISA und im SNT sind in *Tab. 50* aufgelistet.

**Tab. 50:** Ergebnisse der Serumproben der Pferde im ELISA und im SNT.

<b>Probenanzahl</b>	<b>Testergebnis ELISA U/I</b>	<b>Testergebnis SNT</b>
	<b>negativ oder grenzwertig im ELISA</b>	
3	negativ	<1:6
1	negativ	1:16
1	5 (grenzwertig)	1:24
2	7 (grenzwertig)	<1:6
1	10	1:113
1	11	1:48
1	13	1:320
1	13	>1:1280
1	16	1:80
1	18	<1:6
	<b>mittel positiv im ELISA</b>	
1	20	1:135
1	26	>1:1280
1	28	1:328
1	29	1:160
1	29	>1:1280

Fortsetzung **Tab. 50:**

<b>Probenanzahl</b>	<b>Testergebnis ELISA U/I</b>	<b>Testergebnis SNT</b>
1	36	1:1076
1	37	1:1076
1	40	1:453
1	45	1:453
1	46	>1:1280
	<b>hoch positiv im ELISA</b>	
1	58	1:538
1	62	1:905
1	67	1:320
1	82	1:1076
1	87	>1:1280
1	45	1:453
1	46	>1:1280
1	58	1:538
1	62	1:905
1	67	1:320

### 8.6. Liste der untersuchten Pferde

In *Tab. 51* sind die seropositiven Pferde, in *Tab. 52* sind alle negativen und in der *Tab. 53* sind alle serokonvertierten Pferde aufgelistet, jeweils mit den Standorten und den ELISA Ergebnissen des gesamten untersuchten Zeitraumes.

**Tab. 51:** Liste der seropositiven Pferde mit den Standorten und allen Ergebnissen.

Ort	Nummer des Pferdes	Titer März 1999 U/l	Titer Okt. 1999 U/l	Titer Mai 2000 U/l
<b>Liggeringen</b>	1	16	16	15
	7	29	27	44
	10	72	86	33
	12	45	43	68
	17	11	10	8
	18	17	14	19
	19	12	13	19
	20	39	26	31
	23	58	64	52
	25	59	64	52
	26	52	48	67
<b>Bonndorf</b>	27	33	24	81
	28	30	31	26
	29	40	negativ	negativ
<b>Erzingen</b>	69	28	56	55
	70	29	78	87
	71	11	30	23
	77	21	56	73
	80	27	43	60
<b>Tiengen/Waldshut</b>	81	37	45	76
	83	35	42	67
	84	13	20	35
	85	35	tot	tot
	86	25	57	80
	89	22	52	74
	92	39	72	82
	93	26	67	51



Fortsetzung **Tab. 51:**

<b>Ort</b>	<b>Nummer des Pferdes</b>	<b>Titer März 1999 U/l</b>	<b>Titer Okt. 1999 U/l</b>	<b>Titer Mai 2000 U/l</b>
	94	40	61	67
	95	48	69	99
	97	46	65	90
	98	27	40	69
<b>Eigeltingen</b>	101	87	80	101
	102	27	24	26
	103	47	tot	tot
	108	7	9	12
	113	67	65	73
	114	82	100	95
<b>Gottmadingen</b>	118	20	50	52
	125	18	14	24
	128	18	0	0
	132	36	37	25
<b>Horgenzell</b>	136	62	51	30
	176	25	16	31
<b>Schaffhausen</b>	196	10	8	10
	197	7	6	7
	199	28	80	79
	201	25	84	73
	202	13	55	68

**Tab. 52:** Liste der seronegativen Pferde

<b>Ort</b>	<b>Anzahl März 1999</b>	<b>Anzahl Okt. 1999</b>	<b>Anzahl Mai 2000</b>	<b>Anzahl der serokonvertierten Pferde</b>
<b>Liggeringen</b>	15	15	15	0
<b>Bonndorf</b>	31	29	29	2
<b>Erzingen</b>	13	13	13	0
<b>Tiengen/Waldshut</b>	8	7	7	1
<b>Eigeltingen</b>	11	10	10	1
<b>Gottmadingen</b>	15	11	11	4
<b>Horgenzell</b>	54	31	31	0
<b>Schaffhausen</b>	8	6	6	2

**Tab. 53:** Liste der serokonvertierten Pferde

<b>Bonndorf</b>	31	0	0	31
	32	0	6	7
<b>Tiengen/Waldshut</b>	82	0	40	69
<b>Eigeltingen</b>	117	0	141	101
<b>Gottmadingen</b>	121	0	51	82
	127	0	35	25
	131	0	23	26
	134	0	11	12
<b>Schaffhausen</b>	194	0	23	63
	198	0	65	71

**8.7. Liste der untersuchten Hunde**

In *Tab. 54* sind die positiven Hunde in *Tab. 55* die Anzahl der negativen Hunde mit ihren Standorten aufgelistet.

**Tab. 54:** Liste der seropositiven Hunde

<b>Ort</b>	<b>Nummer des Hundes</b>	<b>Titer in U/l im ELISA</b>
Horgenzell, Fronhofen	H 3	114
	H 5	68
	H 9	32
Friedrichshafen	H 17	56
	H 18	102
Markdorf	H 24	48
Überlingen	H 31	37
Bonndorf	H 44	39
	H 45	46
	H 48	135
Radolfzell	H 56	24
	H 65	95

Fortsetzung Tab. 54:

<b>Ort</b>	<b>Nummer des Hundes</b>	<b>Titer in U/l im ELISA</b>
	H 68	94
	H 70	81
	H 72	196
Engen, Honstetten	H 75	45
	H 80	148
	H 81	43
	H 83	92
Singen	H 90	103
	H 93	49
	H 98	75
	H 104	50
	H 105	98
	H 106	91
	H 108	42
Gottmadingen	H 118	69
	H 126	76
	H 127	143
Schaffhausen	H 130	56
	H 131	153
	H 137	85
	H 138	101
	H 143	116
	H 148	6
	H 151	142
	H 154	23
	H 156	55
	H 157	36

Fortsetzung **Tab. 54:**

<b>Ort</b>	<b>Nummer des Hundes</b>	<b>Titer in U/l im ELISA</b>
	H 158	36
	H 159	69
	H 162	6
	H 163	48
	H 166	52
	H 167	29
	H 173	56
	H 176	61
	H 177	93
	H 178	19
	H 180	100
Erzingen	H 183	8
	H 186	7
Neunkirchen	H 193	97
	H 194	46
	H 196	6
	H 197	47
	H 199	19
	H 201	114
	H 202	52
Waldshut	H 204	93
	H 207	27
	H 208	34
	H 209	14
	H 224	10
	H 235	84
	H 236	135

Fortsetzung **Tab. 54:**

<b>Ort</b>	<b>Nummer des Hundes</b>	<b>Titer in U/l im ELISA</b>
	H 237	13
	H 138	13
	H 239	71
	H 240	34
	H 241	85

**Tab. 55:** Liste der seronegativen Hunde

<b>Ort</b>	<b>Anzahl der negativen Hunde</b>
Horgenzell	8
Friedrichshafen	6
Markdorf	4
Überlingen	19
Bonndorf	2
Radolfzell	7
Engen, Honstetten	21
Singen	17
Gottmadingen	13
Schaffhausen	34
Erzingen	7
Neunkirchen	5
Waldshut	28

**Tab. 56:** Einteilung der Hunde nach den Wohngebieten in Gruppen.

<b>Gruppennummer</b>	<b>Anzahl der positiven Hunde im ELISA</b>	<b>Anzahl der negativen Hunde im ELISA</b>	<b>Prozentzahl der positiven Hunde von der Gesamtpopulation</b>
Gruppe 1 (Erzingen, Waldshut)	14	35	28,6 %
Gruppe 2 (Schaffh, Neunkirch)	28	39	41,8 %
Gruppe 3 (Singen, Gottmadingen)	10	26	25 %
Gruppe 4 (Bonndorf, Engen, Honstetten, Radolfzell, Liggeringen, Langenrain)	12	22	27,3 %
Gruppe 5 (Horgenzell, Friedrichshafen, Markdorf, Überlingen)	7	36	16,3 %
<b>Summe</b>	<b>71</b>	<b>172</b>	<b>29,2 %</b>

## 8.8. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Schematische Darstellung eines FSME-Viruspartikels (HEINZ, 1996).  
**Abb. 2:** Europakarte mit den FSME Verbreitungsgebieten (BAXTER-IMMUNO, 1997).  
**Abb. 3:** FSME Verbreitungsgebiete in Deutschland (BAXTER IMMUNO, 1998).  
**Abb. 4:** Adulte Zecken: links Männchen, rechts Weibchen (PAULI, 2001).  
**Abb. 5:** Entwicklungsstadien von Ixodes ricinus. Oben v.l.n.r.: Larve, Nymphe, Adulte (Weibchen, Männchen). Unten: vollgesogenes Weibchen (HOFMANN UND STANEK, 1994).  
**Abb. 6:** Zecke Mundwerkzeuge (KAHL, 1994).  
**Abb. 7:** Entwicklungszyklus von Ixodes ricinus (HEINZ, 1996).  
**Abb. 8:** Saisondynamik von Ixodes ricinus (IMMUNO, 1996).  
**Abb. 9:** Direkter ELISA für Antikörpernachweis (KÖLBL, 1998).  
**Abb. 10:** Anteil der seropositiven Pferde in der untersuchten Population im März 1999.

- Abb. 11:** Darstellung der seropositiven Pferde im Untersuchungsgebiet in 8 Gruppen.
- Abb. 12:** Anteil der positiven und serokonvertierten Pferde in der untersuchten Population in den Monaten Oktober 1999 und Mai 2000.
- Abb. 13:** Titermittelwerte der seropositiven und Titermittelwerte aller Pferde.
- Abb. 14:** Titermittelwerte der seropositiven incl. der serokonvertierten und Titermittelwerte aller Pferde.
- Abb. 15:** Titermittelwerte der seropositiven incl. der serokonvertierten Pferde der einzelnen Gruppen an den Untersuchungszeitpunkten März und Oktober 1999 und Mai 2000.
- Abb. 16:** Titermittelwerte aller untersuchten Pferde der einzelnen Gruppen an den Untersuchungszeitpunkten März und Oktober 1999 und Mai 2000.
- Abb. 17:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einer bestimmten Rasse von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Rasse.
- Abb. 18:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Reagenten einer bestimmten Farbabstufung von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Farbabstufung.
- Abb. 19:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einem bestimmten Geschlecht von der Gesamtheit der untersuchten Pferde diesen Geschlechtes.
- Abb. 20:** Prozentualer Anteil der seropositiven Reagenten einer definierten Altersgruppe von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Altersgruppe.
- Abb. 21:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Reagenten einer bestimmten Altersklasse von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Altersklasse.
- Abb. 22:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einer bestimmten Haltungart von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Haltungart.
- Abb. 23:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Pferde einer bestimmten Weidegangfrequenz von der Gesamtheit der untersuchten Pferde dieser Weidegangfrequenz.
- Abb. 24:** Überprüfung der ELISA-Ergebnisse der Pferde im Serumneutralisationstest.
- Abb. 25:** Anteil der seropositiven Hunde in der untersuchten Population im November 2000
- Abb. 26:** Darstellung der seropositiven Hunde im Untersuchungsgebiet in 5 Gruppen
- Abb. 27:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde einer definierten Größe von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Größe.
- Abb. 28:** Anteil seropositiver und seronegativer Hunde einer bestimmten Farbabstufung von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Farbabstufung.
- Abb. 29:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde einer bestimmten Felllänge von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Felllänge.
- Abb. 30:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde eines bestimmten Geschlechtes von der Gesamtheit der untersuchten Hunde diesen Geschlechtes.
- Abb. 31:** Anteil seropositiver und seronegativer Hunde einer bestimmten Altersgruppe von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Altersgruppe.

**Abb. 32:** Anteil der seropositiven und der seronegativen Hunde einer bestimmten Waldkontaktfrequenz von der Gesamtheit der untersuchten Hunde dieser Waldkontaktfrequenz.

### 8.9. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
ALT	Alaninaminotransferase
AST	Aspartataminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
CEE	Central European Encephalitis
CK	Kreatininkinase
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
CSF	Cerebrospinalflüssigkeit
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSW	Doppel Sandwich
EHV	Equines Herpesvirus
ELISA	Enzym Link Immunosorbent Assay
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
FSMEV	Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus
FUS	Foetales Kälberserum
GLM	General Linear Model



Fortsetzung **Abkürzungsverzeichnis:**

HHT	Hämagglutinationshemmungstest
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
incl.	Inclusive
IFT	Immunfluoreszenstest
KBR	Komplementbindungsreaktion
LS-Means-Test	Least-Squares Means
Med.	Medium
NaHCO <sub>3</sub>	Dinatriumhydrogencarbonat
NH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Schwefelsäure
NT	Neutralisationstest
O.D.	Optical Density
Okt.	Oktober
OPD	Orthophenyldiamin
PBS-Tween	Phosphate buffered Saline
PCR	Polymerasekettenreaktion
POD	Peroxidase
RIA	Radioimmunassay
RSSE	Russian Spring Summer Enzephalitis
SAS-Program	Statistical-Analysis-System

Fortsetzung **Abkürzungsverzeichnis:**

SNT	Serum-Neutralisationstest
TBE	Tick Borne Encephalitis
TBEV	Tick Borne Encephalitis Virus
TMB	Tetra-Methyl-Benzidin
Tris/HCL	3-wertige Salzsäure
T-Test	Student-t-Test
ZNS	Zentralnervensystem

## **Danksagung**

Ich möchte mich mit diesen Zeilen bei allen bedanken, die mich in dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt folgenden Personen:

Herrn Prof. Dr. Wilfried Kraft für die Möglichkeit der Anfertigung dieser Dissertation an der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München.

Herrn Prof. Dr. Arthur Grabner für die Überlassung des Themas, der Unterstützung und Betreuung während der Durchführung der Untersuchungen, sowie für seine geduldige Hilfe bei der stilistischen Ausarbeitung des Themas.

Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann für die Betreuung während der Durchführung der Arbeit.

Herrn Dr. Werner Müller (und seinem Labor-Team), Labor Alomed, Radolfzell für die Unterstützung bei der Durchführung der ELISA Tests.

Herr Dr. Oskar Enzersberger (Immuno, Orth an der Donau) für die Unterstützung bei der Durchführung der Neutralisationstests. Der Firma Immuno, Heidelberg für die Bereitstellung der Testkits für den ELISA.

Herrn Dr. Stangelmaier für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Meinem Mann Reiner, meinem Sohn Joshua, meiner Tochter Marla, meinem Bruder Oliver, Rosel und Helmut, meiner Tante Moni, Maria und Eduard, meinen Freundinnen Sabine und Anne (Benji), Kathrin und Yvonne, Pepe, Roland, Andreas, Frau Bilian (Bibliothek für Tiermediziner, München) und Copyshop Ravensburg.