

Nachweis und Einfluss einer möglichen autochthonen Übertragung des  
West-Nil-Virus in der Bundesrepublik Deutschland

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

Annette Claudia Jäger  
aus Karlsruhe

2009

Anfertigung mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Michael Faulde

2. Gutachter: Prof. Dr. Martin Exner

Tag der Mündlichen Prüfung: 17.03.2009

Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Koblenz  
Leiter: Flottenarzt Dr. Heinz Bergmann

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn unter  
[http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online) elektronisch publiziert.

Für meinen Vater



## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	7
Abkürzungsverzeichnis Nordamerikanische Bundesstaaten.....	9
Abkürzungsverzeichnis Kanadische Territorien .....	9
Abbildungsverzeichnis .....	10
Tabellenverzeichnis.....	12
1. Einleitung .....	13
1.1 Arboviren .....	17
1.1.1 Systematische Einteilung .....	17
1.1.2 Infektionsketten.....	19
1.2 West-Nil-Virus (WNV).....	21
1.2.1 Erreger und Erkrankungsbild .....	21
1.2.2. Epidemiologie .....	27
1.2.2.1 Europa .....	27
1.2.2.2 Afghanistan .....	29
1.2.2.3 USA.....	29
1.2.2.4 Kanada.....	31
1.3 Andere Flaviviren.....	33
1.3.1 FSME-Virus .....	33
1.3.2 Dengue-Virus .....	39
1.4 Vektoren für WNV.....	45
1.4.1 Culex .....	47
1.4.2 Aedes.....	50
1.4.3 Anopheles.....	51
1.5 WNV-Reservoir.....	51
1.5.1 Pferde .....	51
1.5.2 Andere Säugetiere als Naturreservoir für WNV .....	54
1.5.3 Vögel als WNV-Reservoir .....	56
1.6 Iatrogene Übertragung .....	60
1.6.1 Bluttransfusion .....	60
1.6.1.1 Blutspendedienst der Bundeswehr .....	63
1.6.2 Organtransplantation .....	65
1.7 Monitoring von Meningitiden in Deutschland.....	67
1.7.1 Monitoring von Meningitiden und Enzephalitiden bei der Bundeswehr .....	69
1.8 Immunreaktion .....	71
1.9 Impfwesen.....	73
1.9.1 Impfpflicht des Robert Koch-Institutes .....	73
1.9.2 Impfwesen der Bundeswehr .....	75
2. Material und Methoden .....	77
2.1 Material .....	77
2.1.1 Blutgruppenbestimmung der Bundeswehr .....	77
2.1.2 Fragebogen.....	77
2.2 Methoden.....	79
2.2.1 ELISA .....	79
2.2.1.1. WNV-IgG-ELISA USA .....	81
2.2.1.2. WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN .....	83
2.2.1.3 Aviditätstest.....	86

2.2.1.4 WNV-IgM-ELISA EUROIMMUN .....	88
2.2.1.5 FSME-IgG-ELISA EUROIMMUN .....	88
2.2.1.6 Dengue-IgG-ELISA EUROIMMUN .....	89
2.2.2 Immunfluoreszenztest .....	90
2.2.3 Plaque-Reduktions-Neutralisations-Test (Plaque Reduction Neutralization Test, PRNT) .....	93
2.3. Berechnungsgrundlagen .....	93
2.3.1 Spezifität .....	93
2.3.2 Positiver prädiktiver Wert (Relevanz) .....	94
2.3.3 Positiver Likelihood-Quotient.....	94
2.3.4 Chancen-Verhältnis (Odds Ratio, OR) .....	94
2.3.5 Konfidenzintervall (KI).....	95
2.3.6 Anzahl der notwendigen Screenvorgänge (NNS) .....	95
2.4 Software .....	95
2.4.1 ARIS-Toolset™ .....	96
2.4.2 Grundelemente der Prozessmodellierung .....	96
3. Eigene Ergebnisse .....	98
3.1 Probandenpopulation.....	98
3.2 Screening .....	100
3.2.1 West-Nil-Virus .....	100
3.2.2 Frühsommer-Meningo-Enzephalitis-Viren .....	101
3.2.3 Dengue-Virus .....	104
3.3. Weitergehende Testung zu Bestätigung des für die Serokonversion verantwortlichen Flavivirus.....	104
3.3.2 Ergebnisse Immunfluoreszenzserie 1.....	105
3.3.3 Ergebnisse Immunfluoreszenzserie 2.....	107
3.3.3 Statistische Auswertung .....	110
3.3.4 Auswertung Reiseanamnese.....	111
4. Diskussion .....	113
4.1 West-Nil-Virus .....	113
4.2 Dengue-Virus .....	123
4.3 FSME-Virus .....	130
4.4 Bewertung der verwendeten Testsysteme .....	131
4.4.1 Bewertung aus Kostensicht .....	131
4.4.2 Bewertung aus epidemiologischer Sicht .....	136
5. Zusammenfassung .....	137
6. Anlagen .....	139
7. Literaturverzeichnis.....	141
Danksagung .....	159
Lebenslauf .....	160

## Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
BL-3-Bedingungen	Biologie-Labor-3-Bedingungen
BMVg	Bundesministerium der Verteidigung
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CMV	Cytomegalivirus
Cx.	Culex
DALY	disability adjusted life year
DF	Dengue-Fieber
DHF	Dengue-hämorrhagisches Fieber
DSS	Dengue-Schock-Syndrom
EBM	Einheitlicher Bewertungsmaßstab
EBV	Epstein-Barr-Virus
EHV 1	equiner Herpesvirus
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
FFP	fresh frozen plasma
FITC	Fluorescein
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
GABI	Gemeinsames Amtsblatt des Landes Baden-Württemberg
GI	Grundimmunisierung
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
gw	grenzwertig
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HAV	Hepatitis A Virus
HBc	Hepatitis B core
HB <sub>s</sub> AG	Hepatitis B surface Antigen
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	Human immunodeficiency virus
IfSG	Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen
IFT	Immunfluoreszenstest
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IIFT	Indirekter Immunfluoreszenstest
IPV	inaktivierte Polio Vakzine
JE	Japanische Enzephalitis
k.A.	keine Angaben
KBV	Kassenärztliche Bundesvereinigung
kDA	Kilodalton
Lfd.Nr.	Laufende Nummer
LQ (+)	Positiver Likelihood-Quotient
MEP E	membrane envelope protein E

MIR	minimale Infektionsrate
MMR	Maser-Mumps-Röteln
MP M	membrane protein M
neg	negativ
NMR	nuclear magnetic resonance
NNS	number needed to screen
NS	non-structural
NT	Neutralisationstest
Oc.	Ochlerotatus
OD	optische Dichte
OR	Odds ratio
P(+)	Positiver prädiktiver Wert
PBS	phosphat-buffered saline
PCR	polymerase chain reaction
PEI	Paul-Ehrlich-institut
PLZ	Postleitzahl
pos	positiv
PRNT	plaque reduction neutralization test
RAI	relativer Aviditätsindex
RIA	Radioimmunoassay
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	ribonucleid acid
RSSE	Russian-Spring-Summer-Enzephalitis
RT-PCR	reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SanABw	Sanitätsamt der Bundeswehr
SDSU	South Dakota State University
sIgA	Sekretorisches Immunglobulin A
STIKO	Ständige Impfkommision
TBE	tick borne encephalitis
TMB	Tetramethylbenzidin
USA	United States of America
USDA	United States Department of Agriculture
USGS	United States Geological Survey
VMBI	Ministerialblatt des Bundesministeriums der Verteidigung
WEE	Western Equine Enzephalomyelitis
WehrMedStatInst	Institut für Wehrmedizinalstatistik und Berichtswesen Andernach
WNV	West-Nil-Virus
ZDv	Zentrale Dienstvorschrift
ZNS	Zentral-Nervensystem



## **Abkürzungsverzeichnis Nordamerikanische Bundesstaaten**

AK	Alaska
AL	Alabama
AR	Arkansas
AZ	Arizona
CA	Kalifornien
CO	Colorado
CT	Connecticut
DE	Delaware
FL	Florida
GA	Georgia
HI	Hawaii
IA	Iowa
ID	Idaho
IL	Illinois
IN	Indiana
KS	Kansas
KY	Kentucky

LA	Louisiana
MA	Massachusetts
MD	Maryland
ME	Maine
MI	Michigan
MN	Minnesota
MO	Missouri
MS	Mississippi
MT	Montana
NC	North Carolina
ND	North Dakota
NE	Nebraska
NH	New Hampshire
NJ	New Jersey
NM	New Mexico
NV	Nevada
NY	New York

OH	Ohio
OK	Oklahoma
OR	Oregon
PA	Pennsylvania
RI	Rhode Island
SC	South Carolina
SD	South Dakota
TN	Tennessee
TX	Texas
UT	Utah
VA	Virginia
VT	Vermont
WA	Washington
WI	Wisconsin
WV	West Virginia
WY	Wyoming

## **Abkürzungsverzeichnis Kanadische Territorien**

AB	Alberta
BC	British Columbia
MB	Manitoba
NB	New Brunswick
NL	Newfoundland/Labrador
NS	Nova Scotia
NT	Northwest Territories
NU	Nunavut
ON	Ontario
PE	Prince Edward Island
QC	Quebec
SK	Saskatchewan
YT	Yukon

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Infektionskette Typ A der Arboviren
Abb. 2:	Infektionskette Typ B der Arboviren
Abb. 3:	Infektionskette Typ C der Arboviren
Abb. 4 :	West-Nil-Virus Übertragungszyklus
Abb. 5:	Phylogenetische Beziehung von West-Nil-Virusisolaten
Abb. 6:	WNV-Endemiegebiete weltweit
Abb. 7:	Verbreitung WNV USA 1999
Abb. 8:	Verbreitung WNV USA 2000
Abb. 9:	Verbreitung WNV USA 2001
Abb. 10:	Verbreitung WNV USA 2002
Abb. 11:	Verbreitung WNV USA 2003
Abb. 12:	Verbreitung WNV USA 2004
Abb. 13:	Verbreitung WNV USA 2005
Abb. 14:	Verbreitung WNV USA 2006
Abb. 15:	Verbreitung WNV USA 2007
Abb. 16:	Verbreitung WNV USA 2008, Stand 07.09.08
Abb. 17:	WNV-Infektionen bei Menschen in Kanada 2002
Abb. 18:	WNV-Infektionen bei Menschen in Kanada 2006
Abb. 19:	<i>Ixodes ricinus</i>
Abb. 20:	<i>Apodemus sylvaticus</i>
Abb. 21:	3-Wirte-Lebenszyklus <i>Ixodes ricinus</i>
Abb. 22:	FSME Risikogebiete in Deutschland
Abb. 23:	<i>Aedes aegypti</i> (links) und <i>Aedes albopictus</i> (rechts)
Abb. 24:	Verbreitung Dengue weltweit 2005
Abb. 25:	Verbreitung <i>Aedes aegypti</i> 1970 und 2002
Abb. 26:	<i>Culex</i> bei der Eiablage
Abb. 27:	<i>Culex</i> Lebenszyklus
Abb. 28:	<i>Aedes vexans</i>
Abb. 29:	<i>Anopheles punctipennis</i>
Abb. 30:	<i>Aedes albopictus</i> adult
Abb. 31:	<i>Aedes albopictus</i> Larve
Abb. 32:	<i>Sciurus niger</i>
Abb. 33:	<i>Tamias striatus</i>
Abb. 34:	<i>Corvus brachyrhynchos</i>
Abb. 35:	<i>Cyanocitta cristata</i>
Abb. 36:	Virämische Blutspender 2003
Abb. 37:	Virämische Blutspender 2004
Abb. 38:	Virämische Blutspender 2005
Abb. 39:	Virämische Blutspender 2006
Abb. 40:	Virämische Blutspender 2007
Abb. 41:	Virämische Blutspender 2008, Stand 07.09.08
Abb. 42:	Klinischer Verlauf WNV-Enzephalitis: Virämie und AK-Entwicklung
Abb. 43:	Fragebogen
Abb. 44:	Schematische Darstellung Sandwich-Technik
Abb. 45:	Belegung Antigenreaktionskammern (schematisch)
Abb. 46:	Schematische Darstellung Durchführung ELISA-Test

Abb. 47:	Schematische Darstellung IFT
Abb. 48:	Schematische Darstellung Durchführung iIFT
Abb. 49:	Verwendete Grundelemente in den Prozessketten
Abb. 50:	Modell einer Prozesskette
Abb. 51:	Verwendete Operatoren in den Prozessmodellen
Abb. 52:	Alterstruktur der Probanden
Abb. 53:	Geschlechterverteilung der Probanden
Abb. 54:	Heimatregion
Abb. 55:	Ergebnisse WNV-IgG-ELISA
Abb. 56:	Ergebnisse FSME-ELISA und Impfanamnese
Abb. 57:	Regionale Herkunft FSME-positiv/grenzwertig
Abb. 58:	Verteilung grenzwertiger / positiver FSME-ELISA bezüglich Regionen
Abb.:59:	Regionale Herkunft FSME-geimpfter Probanden
Abb. 60:	Gesamtübersicht der Screeningergebnisse bezüglich WNV, FSME- und Dengue-Virus mittels IgG-ELISA Euroimmun
Abb. 61:	Prozentualer Anteil positiver IFT
Abb. 62:	Vermutete oder gesicherte Endemiegebiete des West-Nil-Virus
Abb. 63:	Verbreitungsgebiete Aedes albopictus 2007
Abb. 64:	Verbreitungsgebiete verschiedener Flaviviren ohne FSME und Dengue-Fieber, Stand 2000
Abb. 65:	Verbreitungsgebiete der Malaria
Abb. 66 a:	Dengue-Endemiegebiete westliche Hemisphäre
Abb. 66 b:	Dengue-Endemiegebiete östliche Hemisphäre
Abb. 67:	Prozesskette Screening
Abb. 68:	Prozesskette Immunfluoreszenzserie 1
Abb. 69:	Prozesskette Immunfluoreszenzserie 2

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Leistungsbilanz Blutspendedienst Bw 2006
Tabelle 2	Erbrachte Laborleistungen Blutspendedienst Bw 2006
Tabelle 3	Krankenzugang von Soldaten der Bundeswehr insgesamt und nach ausgewählten Obergruppen und Diagnosen (ICD 10) 2000 bis 2006
Tabelle 3a	bereinigte Meldedaten zu Tabelle 3
Tabelle 4	Allgemeine Impfpfempfehlung STIKO
Tabelle 5	Impfschemata der Bundeswehr
Tabelle 6	Ergebniskonstellationen Immunfluoreszenzserie 1
Tabelle 7	Ergebniskonstellationen Immunfluoreszenzserie 2
Tabelle 8	Ergebnisse Aviditätstest mittels EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA
Tabelle 8a	Vollständige Ergebnisse Aviditätstest mittels EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA
Tabelle 9	Statistische Auswertung
Tabelle 9a	WNV IgG DxSelect™
Tabelle 9b	WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN
Tabelle 9c	Dengue-IgG-ELISA EUROIMMUN
Tabelle 9d	WNV-IFT EUROIMMUN
Tabelle 9e	Dengue-IFT EUROIMMUN
Tabelle 10	Top-20-Reiseziele im Probandenkollektiv
Tabelle 10a	Verteilung der Reisenden hinsichtlich Dengue-Endemiegebiete/Reisen ins Verbreitungsgebiet Aedes aegypti
Tabelle 11:	Grundimmunisierungsrate gegen FSME in Hessen und Baden-Württemberg
Tabelle 12	Vierfeldertafel Exposition/Erkrankung Dengue
Tabelle 13	Krankenzugang von Soldaten der Bundeswehr insgesamt und nach ausgewählten Obergruppen und Diagnosen (ICD 10) 2000 bis 2006
Tabelle 14	Gemeldete Dengue-Erkrankungen 01/2001 – 05/2008
Tabelle 15	Material- und Gesamtkosten der Testsysteme
Tabelle 16	Vierfeldertafel FSME-Impferfolg

## 1. Einleitung

Bis 1999 war das West-Nil-Virus (WNV) nur in der „Alten Welt“ bekannt, insbesondere in Europa, Afrika, dem Mittleren Osten und Asien, wo es immer wieder zu sporadischen Ausbrüchen bei Menschen oder Pferden kam (Couissinier-Paris, 2006). Der unerwartete Ausbruch von West-Nil-Infektionen in New York und die nachfolgende Verbreitung über die gesamten Vereinigten Staaten (Ciota et al., 2007) bei hoher Variabilität und genetischer Diversivität haben diese nahezu vergessene Infektionskrankheit wieder in den Fokus gerückt. Vor dem Ausbruch in den Vereinigten Staaten standen daher auch nur sehr wenige Testmethoden zur Diagnostik zur Verfügung (Dauphine et al., 2006). Im August 2003 wurde in Deutschland erstmals bei einer Patientin eine West-Nil-Virus-Infektion nachgewiesen (Robert Koch-Institut, 2003). Die Patientin war 17 Tage nach Einreise in die USA erkrankt, nach Rückkehr nach Deutschland entwickelte sich ein Meningismus. Auf Grund der Vorgeschichte wurde eine Untersuchung hinsichtlich West-Nil-Virus veranlasst, der Nachweis gelang mittels IgM-Nachweis im ELISA. Am 02.09.2003 reagierte das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) mit der Anordnung des Ausschlusses von Blutspendern zur Verhinderung der möglichen Übertragung des West-Nil-Virus durch zelluläre Blutprodukte oder gefrorenes Frischplasma auf diesen Tatbestand (Paul-Ehrlich-Institut, 2003).

Offergeld et al. (2003) legen in ihrer Übersichtsarbeit „Infektionen bei Blutspendern“ dar, dass eine Vielzahl von Viren, Bakterien und Protozoen transfusionsassoziiert übertragen werden können, diese derzeit aber nicht durch die spezifische transfusionsmedizinische Surveillance erfasst werden. Wie wichtig diesbezügliche epidemiologische Erkenntnisse hinsichtlich der Blutsicherheit sind, zeigt sich nach Meinung der Autoren am Beispiel des West-Nil-Virus, welches erstmalig 1999 in den USA epidemisch auftrat und dort auch transfusionsassoziiert übertragen wurde. Daher wird in den Vereinigten Staaten seit Juli 2003 flächendeckend zum Screening der Blutspender ein geeigneter WNV-Genomnachweis eingesetzt.

Über die epidemiologische Situation zur gleichen Fragestellung existierten bis vor kurzem in Deutschland keinerlei Daten, eine valide Aussage zur Notwendigkeit von Testverfahren konnte daher nicht getroffen werden. Bereits 2001 wiesen Faulde und

Hoffmann auf das mögliche Vorkommen von WNV in Deutschland hin. Nach der Oderflutkatastrophe im Juli und August 1997 wurden im Rahmen einer aktiven Surveillance in der Tschechischen Republik virologische und seroepidemiologische Studien durchgeführt, die auf eine Zirkulation des WNV bei *Culex pipiens*-Stechmücken sowie der Bevölkerung der Region Mähren (Moravia) hinweisen. Weitere Fälle (Mensch/Pferd/Vogel) im benachbarten Ausland (Frankreich, Polen) sind in diesem Rahmen beschrieben (Faulde et al., 2002).

Puglies et al. (2006) zeigen auf, dass verschiedene Viruserkrankungen, wie z.B. SARS und WNV, zunehmend in den Fokus der Öffentlichkeit, aber auch der wissenschaftlichen Betrachtung rücken. Auch werden immer wieder Fälle schwerer Verläufe bei verschiedensten viralen Erkrankungen wie FSME oder Dengue berichtet. Die Diagnostik dieser Fälle konnte zunehmend verbessert werden. Tiermedizinische Screening-Untersuchungen haben gezeigt, dass auch in Deutschland Zugvögel leben, die in Kontakt mit West-Nil gekommen sind (Müller et al., 2006), dies stellt jedoch noch keinen Hinweis darauf dar, dass das Virus auch in Deutschland zirkuliert. In Südportugal konnte das West-Nil-Virus 2004 in *Culex* spp. nachgewiesen werden (Esteves et al., 2005). Hierbei wurde gezeigt, dass der dort zirkulierende Virus nur geringe genetische Variabilität im Vergleich zu bereits im Mittelmeerraum nachgewiesenen Varianten aufweist. Insbesondere vor dem Hintergrund der zunehmenden globalen Erwärmung wird die Ausbreitung des Virus nördlich der Alpen regelmäßig diskutiert, wobei weniger die erhöhte Luftfeuchtigkeit als die ansteigenden Temperaturmittelwerte als ausschlaggebender Faktor betrachtet werden (Paz, 2006). Ein früher und extremer Anstieg der Temperatur wird als guter Indikator für den möglichen Ausbruch von West-Nil-Virus-Infektionen betrachtet. Letztendlich muss die Klimaveränderung einen Einfluss auf die Ausbreitung von vektor-assoziierten Erkrankungen haben (Platonov, 2006). Hierbei können die Einflüsse kurzfristiger Wetteränderungen als Modell herangezogen werden. Die im Rahmen der Flutkatastrophen 1997 und 2002 gesammelten Daten in der Tschechischen Republik wiesen widersprüchliche Daten auf. Während Hubálek et al. (2000) den Nachweis von WNV in *Culex pipiens* nach der Flut 1997 in Südmähren publizierten, sowie 1999 bereits den Nachweis von Antikörpern bei einer Studie in der gleichen Region führten (Hubálek et al., 1999 a), konnten diese Ergebnisse nach der

Flut 2002 nicht verifiziert werden (Hubálek et al., 2004). Hierbei kam es zwar zu positiven Testergebnissen bei dem Nachweis von Antikörpern gegen WNV, diese wurden jedoch als Kreuzreaktionen nach Kontakt mit dem FSME-Virus interpretiert. Ein für Europa geeignetes, routinemäßig durchführbares und spezifisches diagnostisches Modell zum Nachweis von Antikörpern gegen das West-Nil-Virus zu identifizieren, ist – neben dem Nachweis einer eventuell autochthon zirkulierenden WNV-Infektion – ein Ziel dieser Arbeit. Dies gilt insbesondere vor dem Hintergrund, dass eine Übertragung des Virus durch Blutkonserven mehrfach beschrieben ist.

Pealer et al. veröffentlichten 2003 in ihrer Studie 23 Fälle von West-Nil-Virus-Infektionen, die durch Gabe von Blut und Blutprodukten in den Vereinigten Staaten von Amerika übertragen worden waren und dies, obwohl alle Blutspender vor der Spende einer Untersuchung und Befragung unterzogen worden waren. Von sechzehn als Infektionsquelle identifizierten Spendern, gaben in der retrospektiven Befragung nur neun an, dass sie im Zeitraum der Blutspende Symptome einer Viruserkrankung hatten. Teilweise waren die Symptome auch erst nach der Spende aufgetreten. Es wurde seitens der Autoren daher diskutiert, ob die alleinige Ausweitung der Befragung hinsichtlich den Symptomen Fieber und Kopfschmerzen ausreichende Sicherheit vor einer Übertragung des Virus durch Blutspenden bietet. Seit Juli 2003 werden alle Blutspenden in den Vereinigten Staaten und Puerto Rico auf Virus-RNA getestet, um eine akute Infektion sicher ausschließen zu können.

Um die Notwendigkeit derartiger Testungen für die Blutspendedienste in der Bundesrepublik Deutschland zu verifizieren, wurden mehrfach Studien durchgeführt, wobei initial der grundsätzliche Kontakt mit dem Virus und der mögliche Kontaktort im Fokus standen. Auch dieser Sachverhalt wird in dieser Arbeit diskutiert werden.

Zielsetzung der Arbeit im Detail:

1. Identifizierung, Evaluierung und ggf. Etablierung geeigneter serologischer Testverfahren zum Nachweis von West-Nil-Virus-Infektionen unter mitteleuropäischen Bedingungen, insbesondere unter Beachtung und Ausschluss möglicher Kreuzreaktionen mit dem FSME-Virus.

2. Untersuchung von ca. 2300 im Rahmen der Blutgruppenbestimmung gewonnenen Seren, um unter Einbeziehung eines standardisierten Fragebogens eine bislang unentdeckte autochthone Übertragung des West-Nil-Virus nach zu weisen.
3. Schwerpunktmäßige Untersuchungen wurden vor dem Hintergrund des Vorkommens des West-Nil-Virus in der Tschechischen Republik im Jahre 1997 bevorzugt in den angrenzenden Bundesländer Sachsen und Bayern sowie in der Grenzregion zu Polen mit den Ländern Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern auf ein autochthones Vorkommen durchgeführt, da diese Regionen als Eintrittsgebiete für das Virus nach Deutschland diskutiert worden waren.
4. Auf Grund der hohen Vektordichte und den vereinzelt im Grenzgebiet in Frankreich gemeldeten Infektionen bei Vögeln wurden ebenfalls zwei Testorte im Oberrheingraben gewählt.

Die Durchführung der vorliegenden wissenschaftlichen Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Bonn, Nr. 166/04 vom 22.09.2004, genehmigt.



## **1.1 Arboviren**

### **1.1.1 Systematische Einteilung**

Arboviren werden durch Insekten übertragen (arthropod borne viruses) und stellen die größte und in ihrer Pathogenese uneinheitlichste Gruppe von Viren dar. Klinisch können nach Meta und Raettig (1998) folgende durch Arboviren ausgelöste Erkrankungen unterschieden werden:

- Enzephalomyelitiden
- Gelbfieber
- Dengue-Fieber
- Pappataci-Fieber

Die Gruppe der Enzephalomyelitiden ließ sich bis vor einigen Jahren gemäß Meta und Raettig nach geographischen Gesichtspunkten unterteilen:

- Amerikanische Gruppe (östliche, westliche und Venezuelanische Pferdeenzephalomyelitis, St.-Louis-Enzephalitis)
- Fernöstliche Gruppe (japanische B-Enzephalitis, Murray-Valley-Enzephalitis)
- Eurasische Gruppe (russische Früh-Sommer-Enzephalitis, zentraleuropäische Enzephalitis, Louping-ill)
- Afrikanische Gruppe (West-Nil-Enzephalitis)

Diese Einteilung nach Regionen muss aus heutiger Sicht verlassen werden, insbesondere nach dem erstmaligen Auftreten des West-Nil-Virus in den Vereinigten Staaten 1999.

Nach gültiger Einteilung werden die folgenden klinischen Bilder, hervorgerufen durch Arboviren, unterschieden (Munz et al., 2000):

- Fieberhafte Allgemeinerkrankungen (systemische Fiebererkrankungen, undifferenziertes Fieber)
- Fieberhafte Allgemeinerkrankungen mit besonderer Beteiligung der Gelenke
- Dengue-Fieber-artiges Syndrom

- Hämorrhagisches Fieber-Syndrom
- Enzephalitiden

Im anglo-amerikanischen Sprachraum erfolgt die Einteilung ebenfalls nach klinischem Bild, wobei hier nur vier Symptomkomplexe unterschieden werden (Chin et al., 2000):

- Akute Erkrankungen des zentralen Nervensystems, von leichter, aseptischer Meningitis über Enzephalitis, gegebenenfalls mit Koma und/oder Lähmung, bis hin zu tödlichem Verlauf
- Akute, benigne Fieberkrankung von kurzer Dauer mit oder ohne Exanthem, wobei hieraus teilweise eine Mitbeteiligung des zentralen Nervensystems oder das Auftreten von Hämorrhagien erwachsen kann
- Hämorrhagische Fieber mit akuter fieberhafter Erkrankung und mit teilweise extensiven Blutungen nach Innen und/oder Außen, kapillären Leckagen, Schocksymptomatik und hoher Letalität. Hierbei können alle Erkrankungen Leberschäden hervorrufen, wobei dies insbesondere bei Gelbfieber häufig ist.
- Polyarthritid ggf. mit Hautausschlag, mit oder ohne Fieber und von unterschiedlicher Dauer, von kurzzeitig bis hin zu rezidivierenden Arthralgien über mehrere Monate

Im Rahmen der Klassifikation werden alle viralen Zoonoseerreger acht Familien zugeordnet:

- Togaviridae, Genus Alphavirus
- Flaviviridae, Genus Flavivirus
- Bunyaviridae
- Reoviridae
- Rhabdoviridae
- Arenaviridae
- Filoviridae
- Poxviridae

Die Familie Flaviviridae, Genus Flavivirus beinhaltet u.a. folgende durch Stechmücken und oder Zeckenstich übertragene Erreger: Dengue-Virus, Japan-B-Enzephalitisvirus, Frühsommer-Meningo-Ezephalitis-Virus, Gelbfieber-Virus und das West-Nil-Virus. Alle genannten Viren haben gemeinsame Antigenkomponenten auf dem Glykoprotein der Hülle (Munz et al., 2000), was eine Erklärung für ausgeprägte Kreuzreaktionen bei serologischen Testverfahren sein kann.

### 1.1.2 Infektionsketten

Nach Krauss et al. (1997) können drei verschiedene Infektketten bei Arboviren unterschieden werden:

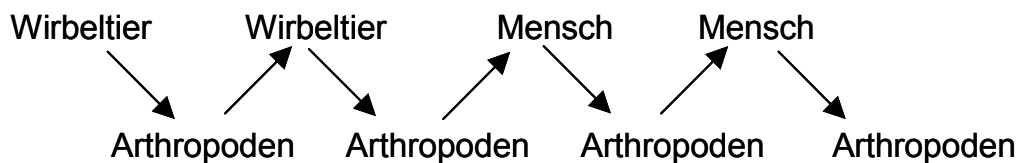


Abb. 1: Infektionskette Typ A der Arboviren (Wirbeltiere und Arthropoden im Wechsel)

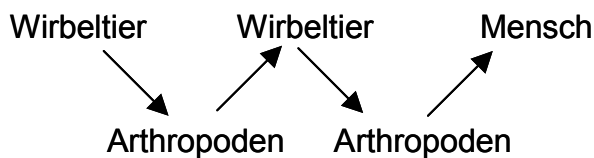


Abb. 2: Infektionskette Typ B der Arboviren (Mensch als Endwirt)

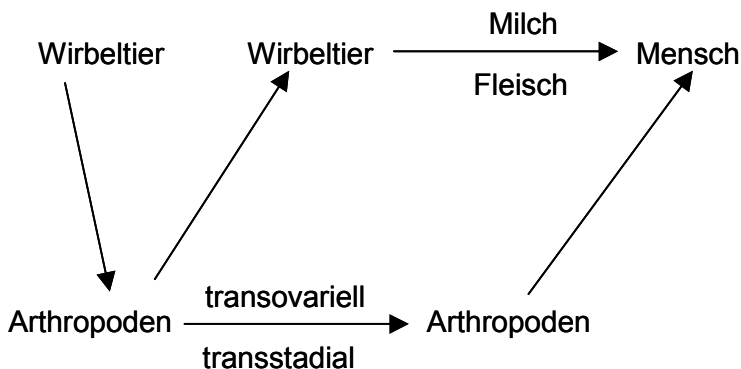


Abb. 3: Infektionskette Typ C der Arboviren (mit zusätzlichem vertikalen Infektionsweg) Arthropoden über Eiablage und Stadien hinweg, Wirbeltier auf Mensch durch Produkte

Die Infektionskette Typ A (Abb. 1) ist nachgewiesen für folgende Erkrankungen: Gelbfieber, Venezuelanische Pferdeenzephalitis und Chikungunya-Fieber. Möglich ist er bei O'nyong-nyong, Mayaro-, Ross-River-, Oropouche-, Rift-Valley- und Wesselsbron-Fieber, wobei Rift-Valley-Fieber auch durch den direkten Kontakt mit dem Erreger auf den Menschen übertragen werden kann.

Bei der Infektionskette Typ B (Abb. 2) ist der Mensch Endwirt. Dies gilt für die Ost- und Westafrikanische Pferdeenzephalitis, St.-Louis-Enzephalitis, Rocio-, West-Nil- und Sindbis-Fieber.

Bei der Infektionskette Typ C (Abb. 3) kommt zudem ein vertikaler Infektionsweg (transovariell und transtadial) vor, welcher epidemiologisch bedeutsam sein kann. Dieser Typ kommt vor bei durch Zecken übertragenen Virusinfektionen, wie Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME), Russischer Frühjahr-Sommer-Meningoenzephalitis (RSSE), Louping ill, Kyasanur-Forest-Fieber, Omsker Hämorrhagisches Fieber, Krim Kongo Hämorrhagisches Fieber, Colorado-Zeckenstichfieber, aber auch bei durch Stechmücken übertragenen Infektionserkrankungen, wie der Kalifornischen und der Japanischen Enzephalitis sowie beim Murray-Valley-Fieber.

Bei der Infektionskette Typ A kann eine weitere Unterscheidung getroffen werden in:

- einen urbanen Transmissionszyklus und
- einen ruralen Transmissionszyklus

Der urbane Zyklus ist dadurch gekennzeichnet, dass der Mensch in erster Linie als Infektionsquelle für Stechmücken dient bzw. Spezies, die in engem Kontakt mit dem Menschen leben oder in seine Siedlungsräume eingedrungen sind. Beim ruralen Zyklus besiedeln die Reservoirspezies Wiesen und Felder im ländlichen Bereich in der Nähe von menschlichen Siedlungsstrukturen.

Grundsätzlich wird die Epidemiologie von Arbovirusinfektionen durch eine Reihe unabhängiger Faktoren reguliert, wie z.B. Anzahl und Immunstatus der Wirbeltiere,

welche das Erregerreservoir bilden, sowie die klimatischen Bedingungen, welche die Reproduktionsfähigkeit der Vektoren im hohen Maße beeinflussen.

Für das West-Nil-Virus stellt sich der hauptsächliche Übertragungsweg wie in Abbildung 4 aufgezeigt dar (CDC, 2007).

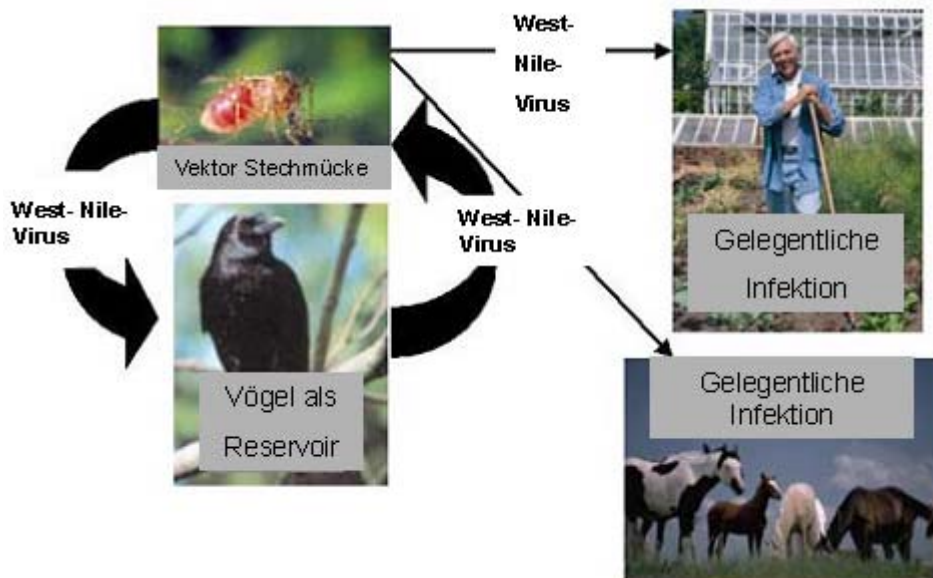


Abb. 4: West-Nil-Virus Übertragungszyklus mit Stechmücken als Vektoren und Vögeln als Reservoir (gelegentlicher Endwirten: Mensch und Pferd)

## 1.2 West-Nil-Virus (WNV)

### 1.2.1 Erreger und Erkrankungsbild

Bei dem Erreger des West-Nil-Fiebers handelt es sich um ein Flavivirus, welche eine Dengue-ähnliche Erkrankung hervorruft. Wie bei allen anderen Arboviren handelt es sich um ein RNA-haltiges Virus (Meta et Raettig, 1998). Erstmals wurde der Erreger 1937 in Uganda nachgewiesen (Smithburn et al., 1940).

Das West-Nil-Virus kann, wie viele andere Flaviviren auch, bei Säugetieren verschiedenste Zellen und Zelllinien infizieren (Castillo-Olivares et Wood, 2004). Je nach Wirtsspezies gelingt der Nachweis in verschiedenen Geweben , so z.B. in Hirn-

und Gliazellen sowie Zellstrukturen der Leber, der Milz, des Herzens, der Lunge und in den Lymphknoten. Die Virusreplikation findet im endoplasmatischen Retikulum statt. Letztendlich kann die Infektion der einzelnen Zelle sowohl zum Zelltod, zur Virusreplikation oder zur Viruspersistenz ohne Replikation führen. Die Persistenz des Virus wurde insbesondere bei Affen bis zu fünf Monaten nach Infektion nachgewiesen, bei Hamstern gelang der Nachweis bis zu 53 Tagen nach Infektion. Das Virus setzt sich zusammen aus einem Kern bestehend aus Capsidprotein (C) mit einem Gewicht von 12 kDA. Der Kern wird durch eine von der Wirtszelle entlehnte Hülle umschlossen, in welche zwei Virusproteine – MEP E (53 kDa) und MP M (8 kDa) – integriert werden, bevor das Virus die infizierte Zelle verlässt. Das Kapsid enthält einen einzelnen RNA-Strang mit positiver Polarität, welcher ein Fehl der Polyadenylat-Strecke am 3'-Ende aufweist. Der Strang enthält eine 5' und 3' noncoding Region von 96 und 631 Nukleotiden, welche den Rahmen für den einzelnen offenen RNA-Strang von 10302 Nukleotiden darstellen. Dieser codiert ein Polyprotein, welches von viralen und zellulären Proteasen in drei Strukturproteine (C, E und M oder pr-M) und fünf Nichtstruktur-Proteine (NS1, NS2a / NS2b, NS3, NS4a / NS4b und NS5) aufgespaltet wird. Das Ende des Genoms enthält eine Tertiärstruktur, welche eine entscheidende Rolle für die Replikation und Zusammensetzung spielt. Auch die Nichtstruktur-Proteine sind an der Replikation und Zusammensetzung beteiligt. NS1 und NS4a wirken bei der Replikation mit, NS2a spielt eine Rolle bei der Zusammensetzung des Virus und seiner Ausschleusung aus der Zelle. NS3 und NS5 haben proteolytische Eigenschaften, wobei NS5 als RNA-abhängige RNA Polymerase und Methyltransferase an der Methylierung der 5'cap-Struktur teilnimmt.

Nach Couissiner-Paris (2000) können grundsätzlich zwei Subspezies des Virus differenziert werden, welche genetisch um 25 bis 30 % differente Nukleotidsequenzen zeigen. Die Line 1 enthält alle Subspezies, die für Ausbrüche bei Menschen in Europa, Afrika, Australien und Amerika verantwortlich waren. Diese Linie lässt sich in drei Klassen differieren, wobei Klasse 1a diejenigen enthält, welche in Europa, Asien, Afrika, Amerika und dem Mittleren Osten vorkommen. Klasse 1b enthält den Nukleotidstrang „Kunjin“, die australische Variante des West-Nil-Virus. In der Klasse 1c sind diejenigen Varianten enthalten, welche in Indien isoliert wurden. In der Linie 2 sind nur die

Nukleotidstränge klassifiziert, welche in Afrika südlich der Sahara und in Madagaskar isoliert werden konnten. Es wird angenommen, dass die Varianten der Linie 2 weniger schwere Erkrankungen beim Menschen auslösen, da sie in erster Linie bei Patienten mit nur geringer Symptomatik isoliert werden konnten bzw. als Zufallsbefund bei asymptomatischen Trägern nachgewiesen wurden. Abbildung 5 gibt einen Überblick über die phylogenetischen Beziehungen bisher gefundener Virusisolate.

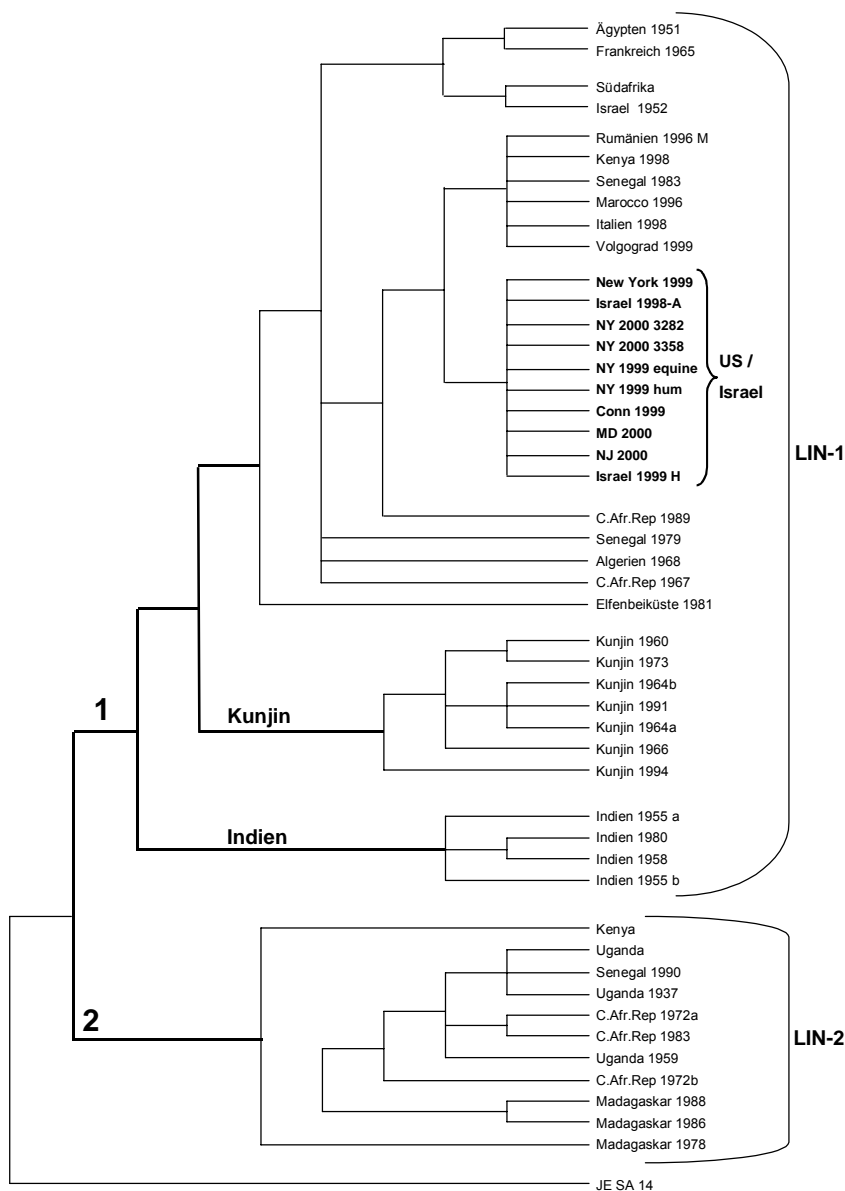


Abb. 5: Phylogenetische Beziehung von West-Nil-Virusisolaten (Lanciotti et al., 2002)  
Darstellung des Stammbaumes der bisher typisierten Stämme

Im Gegensatz hierzu beschreiben Bakonyi et al. (2006), dass beide bekannten Linien in Europa nachgewiesen werden konnten. Beide Virusvarianten führten in den Jahren 2003 und 2004 in einer Gänseherde und bei einem Hühnerhabicht zu letal endenden Enzephalitiden im südöstlichen Ungarn. Während des Ausbruchs in der Gänseherde wurden ebenfalls vierzehn Fälle bei Menschen in der gleichen Region beschrieben. Nach der Sequenzierung zeigte es sich, dass der bei den Gänsen isolierte RNA-Strang den größten Verwandtschaftsgrad mit demjenigen aufweist, der 1998 in Israel isoliert worden und der auch für den Ausbruch von WNV in den Vereinigten Staaten von Amerika 1999 verantwortlich war. Der in dem Hühnerhabicht nachgewiesene Strang zeigte den höchsten Verwandtschaftsgrad mit demjenigen der Linie 2, welcher in Zentralafrika isoliert worden war. Der gleiche Strang konnte beim Wiederaufflammen der Infektion 2005 erneut isoliert werden, was ein Überwintern in Europa nahe legt.

Bondre et al. wiesen 2007 darauf hin, dass die von ihnen untersuchten West-Nil-Viren eine Einteilung in fünf verschiedene Gruppen zulassen, wobei die genetische Differenz zwischen 20 und 25 % liegt. Der indische Typ wird hierbei als eigenständige Linie betrachtet.

Die Übertragung erfolgt durch *Culex* spp. (Munz et al., 2000). Wie Lásiková et al. (2006) zusammenfassend beschreiben, verläuft die Erkrankung in den meisten Fällen asymptomatisch oder mit nur milden Erkrankungszeichen, wie einem leichten Fieber. Die manifesten West-Nil-Virusinfektion zeigt typischer Weise ein plötzlich einsetzendes Fieber über 39 Grad Celsius, Schwindel, Kopf- und Rückenschmerzen, Gelenk- und Muskelschmerzen, Husten und Halsschmerzen. Teilweise sind auch gastro-intestinale Symptome beschrieben worden, eine generalisierte Lymphadenopathie sowie eine Konjunktivitis kann ebenfalls auftreten. Nur in wenigen Fällen kommt es zur Meningo-Enzephalitis. Auch Debiasi und Tyler postulieren 2006, dass die neuroinvasive Form in weniger als 1% der Fälle auftritt, jedoch mit einer hohen Mortalität einhergeht. In den Vereinigten Staaten waren in den Jahren 1999 bis 2005 mehr als 8000 Personen an einer West-Nil-Meningoenzephalitis erkrankt, mehr als 780 sind daran verstorben. Zuckerman ging 2003 ebenfalls davon aus, dass die meisten Infektionen asymptomatisch verlaufen, 20 % führen zu einer leichten fieberhaften Erkrankung mit



milder Allgemeinsymptomatik und nur in ca. 1% der Infektionen treten schwere neurologische Verläufe auf, vornehmlich bei Patienten über 50 Jahren. Hermanowska-Szpakowicz et al. (2006) zeigen, dass bei Patienten über 65 Jahren mit WNV-Enzephalitis die Mortalitätsrate 35 % erreichen kann und beschreiben in diesem Zusammenhang das autochthone Auftreten der Infektion im Nordosten von Polen.

Bode et al. zeigten 2006 in einer retrospektiven Studie, dass die Schwere der Erkrankung, der klinische Verlauf und eventuelle bleibende Behinderungen von vorbestehenden Grunderkrankungen abhängig sind. Als Risikofaktoren für das Auftreten einer Enzephalitis wurden Diabetes mellitus, Alkoholabhängigkeit und ein höheres Lebensalter identifiziert. Insgesamt betrug die Letalität in der Patientengruppe mit West-Nil-Enzephalitis 18 %, wobei Patienten, welche in der Vorgeschichte einen Schlaganfall oder eine Form der Immunsuppression aufwiesen oder im Rahmen der Erkrankung beatmungspflichtig wurden, eine erhöhte Letalität aufwiesen. Penn et al. beschreiben 2006 den Fall eines 57-jährigen Patienten, welcher wegen eines B-Zell-Lymphoms therapiert worden war und mit den Symptomen einer West-Nil-Meningoenzephalitis in stationäre Behandlung kam. Im Rahmen der 99-tägigen Behandlung konnten keine Antikörper gegen WNV nachgewiesen werden, in den post mortem durchgeführten Biopsien des zentralen Nervensystem konnte sowohl die Virus-RNA als auch Antigene nachgewiesen werden. Vor diesem Hintergrund wird eine immunsuppressive Behandlung als ein wesentlicher Risikofaktor für den fatalen Verlauf gesehen.

Auch Murray et al. identifizieren 2006 verschiedene Risikofaktoren, welche das Auftreten einer Enzephalitis im Rahmen einer WNV-Infektion beeinflussen. In ihrer retrospektiven Studie untersuchten sie 172 bestätigte WNV-Infektionen in Houston in den Jahren 2002 bis 2004. Von den untersuchten 172 Fällen litten 113 an einer Enzephalitis, davon waren 17 verstorben, 47 litten an Meningitis, 12 waren nur an Fieber erkrankt. Die multivariante Regressionsanalyse identifizierte die folgenden Risikofaktoren für das Auftreten einer Enzephalitis: Alter (odds ratio 1,1;  $P < 0,001$ ), hoher Blutdruck inklusive der Fälle, bei denen die Hypertension durch Medikamente und oder Drogen ausgelöst worden war (odds ratio 2,9;  $P = 0,012$ ) und kardiovaskuläre Erkrankungen (odds ratio 3,5;  $P = 0,061$ ). Nach Adjustierung bezüglich Alter, konnte

Rassenzugehörigkeit, hier Afroamerikaner (odds ratio 12,0;  $P < 0,001$ ), chronische Nierenerkrankungen (odds ratio 10,6;  $P < 0,001$ ), Hepatitis C (odds ratio 23,1;  $P = 0,0013$ ) und Immunsuppression (OR 3,9;  $P = 0,033$ ) als weitere Risikofaktoren identifiziert werden.

Bei Kindern und Jugendlichen werden ebenfalls schwere Verläufe beschrieben. Civen et al. beschreiben 2006 elf Fälle von WNV-Erkrankungen in einem entsprechenden Patientenkollekt. Bei acht der elf Patienten trat eine fieberhafte Erkrankung auf, zwei entwickelten eine Meningitis und einer eine Enzephalitis.

Carson et al. untersuchten 2006 retrospektiv insgesamt 49 Patienten, die an einer West-Nil-Virus-Infektion gelitten hatten, um die Langzeitfolgen der Infektion zu aufzuzeigen. Dreizehn Monate nach stattgehabter Infektion wurden die Patienten nach persistierender Symptomatik befragt und umfangreichen neuropsychologischen Testverfahren unterzogen. Hauptsächlich klagten die Patienten über Müdigkeit, Nachlassen der Merkfähigkeit, Schwächegefühl in den Extremitäten, Wortfindungsstörungen und Kopfschmerzen. 49 % der Patienten beklagten insgesamt einen schlechten Gesundheitszustand, ebenfalls 49 % nannten Müdigkeit als weiteres wesentliches Symptom. 12 der 49 Patienten (24%) litten unter depressive Stimmungsschwankungen, 4 (8%) an mäßiger bis schwerer Behinderung. Mehrfachnennungen waren möglich. Die neuropsychologischen Testverfahren zeigten Abweichungen von der Norm bei den motorischen Fähigkeiten, der Aufmerksamkeit und der Durchführung von Bewegungsabläufen. Eine univariante Analyse von multiplen Risikofaktoren ergab in dieser Studie jedoch keinerlei Vorhersagewerte für ein Defektheilung bzw. eine erhöhte Mortalität. Auch die initiale Schwere der Erkrankung hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit, an Spätfolgen zu leiden.

Eidness et al. beschreiben 2005 zwei Fälle von Chorioretinitis bei Patienten mit WNV - Infektionen in Kanada. Die Chorioretinitis war in beiden Fällen selbst limitierend. Es wird jedoch darauf hingewiesen, dass eine Chorioretinitis auch alleiniges Symptom bei einer WNV-Infektion sein kann.

Diamond und Klein weisen 2006 darauf hin, dass gegebenenfalls eine genetische Disposition das klinische Endergebnis bei einer WNV-Infektion determiniert. Es wird beschrieben, dass eine Korrelation zwischen dem Vorhandensein einer Mutation des CCR5-Rezeptors (CCR5Delta32) und einem schweren Verlauf einer West-Nil-Infektion bestehen könnte.

Lewis und Amsen zeigten in einer Pilotstudie 2007 anhand eines Patienten, der an einer komplizierten West-Nil-Infektion mit Meningo-Enzephalitis litt, dass neben der bisher durchgeführten Behandlung mit Ribavirin auch eine Therapie mit Interferon alpha-2b erfolgreich sein kann.

## 1.2.2. Epidemiologie

### 1.2.2.1 Europa

In Europa sind nur wenig gesicherte Daten über WNV-Infektionen beim Menschen vorhanden. Solomon et al. (2003) verzeichnen jedoch auch in Europa, z.B. unter Einbeziehung der Bundesrepublik Deutschland, Dänemark, Belgien und den Niederlanden, große Endemiegebiete, die in Abbildung 6 rot markiert sind.

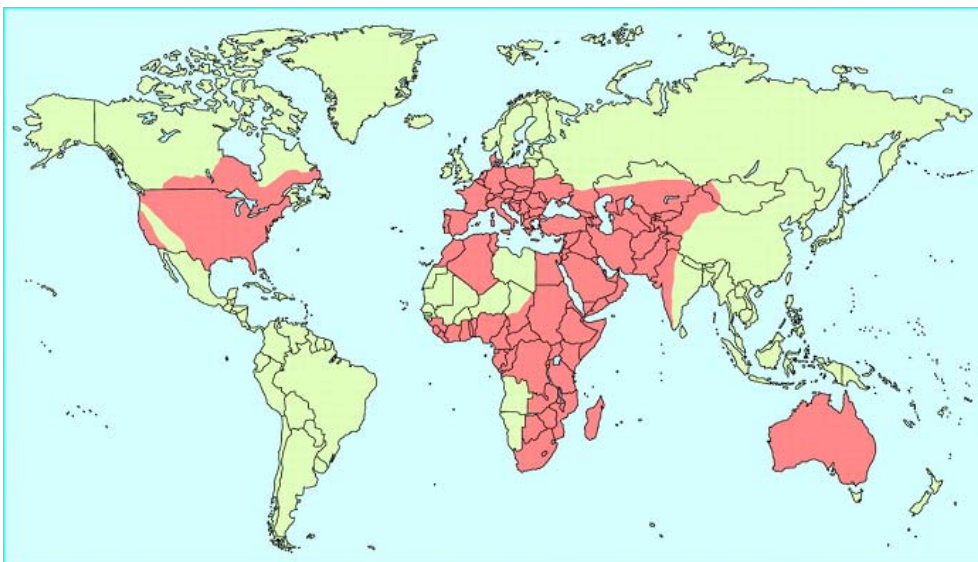


Abb. 6: angenommene oder gesicherte WNV-Endemiegebiete weltweit (rot gekennzeichnet), Solomon et al. (2003),

Hermanowska-Szpakowicz et al. (2006) beschreiben das Auftreten von WNV-IgM-AK bei einem Patienten mit einer akut fieberhaften Infektion und führen in diesem Zusammenhang an, dass es sich bei diesem Patienten um den ersten mit einer autochthon erworbenen Infektion mit dem Virus in Polen handeln könnte.

Bernabeu-Wittel et al. postulierten 2007, dass es in der Vergangenheit durchaus Infektionen mit WNV in Spanien gegeben haben könnte. In ihrer Studie waren Probanden auf das Vorhandensein von WNV-spezifischen Antikörpern getestet worden. Bei 0,6 % aller Untersuchten konnte mittels PRNT ein stattgehabter Kontakt eindeutig nachgewiesen werden. Es handelte sich hierbei vorwiegend um ältere, in ländlichen Gebieten Südspaniens lebende Personen. Bei keiner, der ebenfalls in dieser Studie untersuchten Personen, bei denen in jüngerer Vergangenheit eine Infektion vergesellschaftet mit einem positiven WNV-AK-ELISA aufgetreten war, konnte dieser Befund mittels PRNT bestätigt werden. Die Einschleppung des Virus nach Spanien erfolgt, so vermuten López et al. (2008), über Zugvögel, welche in den Endemiegebieten Afrikas überwintern.

Koppelman et al. (2006) untersuchten im Jahr 2004 insgesamt über 60.000 Blutspenden in den Niederlanden auf das Vorhandensein von WNV-RNA. Hierbei ergaben sich keinerlei Hinweise auf eine akute Zirkulation des Virus in der Bevölkerung. In Portugal gelang Esteves et al. (2005) im Gegensatz hierzu eindeutig der Nachweis von WNV-RNA in Stechmücken, welche in südlichen Regionen Portugals gefangen worden waren. Die Autoren konnten ebenfalls aufzeigen, dass der in Portugal vorkommende Virustyp eng mit denen verwandt ist, welche 1998 in Italien bzw. 2000 in Frankreich aufgetreten waren.

Die Hinweise aus dem Jahr 1999 (Hubálek et Halouzka, 1999 b) auf das Zirkulieren des WNV in der Tschechischen Republik sind in den Folgejahren kontrovers diskutiert worden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass zum Zeitpunkt des Studienbeginns keine gesicherten epidemiologischen Daten, insbesondere zum Auftreten humaner Fälle, in Europa vorlagen.

### 1.2.2.2 Afghanistan

Dobler et al. untersuchten 2006 140 Seren von Einwohnern im Norden Afghanistans bezüglich der Prävalenz von Antikörpern gegen Arboviren. Bezüglich Flaviviren ergaben sich die folgenden Ergebnisse:

- West-Nil-Virus	31/140	(22,1 %)
- Japan-B-Enzephalitis	0/140	(0 %)
- Dengue Virus	5/140	(3,6 %)
- FSME-Virus	0/140	(0 %)

Bei allen Testungen wurde ein kommerzieller ELISA-Test (WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN) zum Screening eingesetzt. Bei im ELISA positiv bezüglich Antikörpern gegen WNV getesteten Seren erfolgte die Bestätigung kombiniert mittels Immunfluoreszenz (IFT) und Neutralisations-Test (NT). Für den IFT wurde zum Einen ein kommerzieller Test (WNV: FI 2662-1005 G EUROIMMUN) angewendet, zum Anderen ein selbst produzierter. Der eingesetzte NT war ebenfalls selbst entwickelt.

### 1.2.2.3 USA

Seit 1999 breitet sich das West-Nil-Virus kontinuierlich über die Vereinigten Staaten von Amerika aus (Farnon, 2006). Die Ausbreitung über den gesamten nordamerikanischen Kontinent wird in den Abbildungen 7 bis 16 schematisch dargestellt, wobei die Bezirke mit nicht beim Menschen aufgetretenen Fällen hellblau markiert sind und rot dargestellte Bezirke humane Fälle aufwiesen.



Abb. 7: Verbreitung WNV 1999 USA



Abb. 8: Verbreitung WNV 2000 USA

- WNV-Aktivität, jedoch keine humanen Fälle
- Humane WNV-Erkrankungen

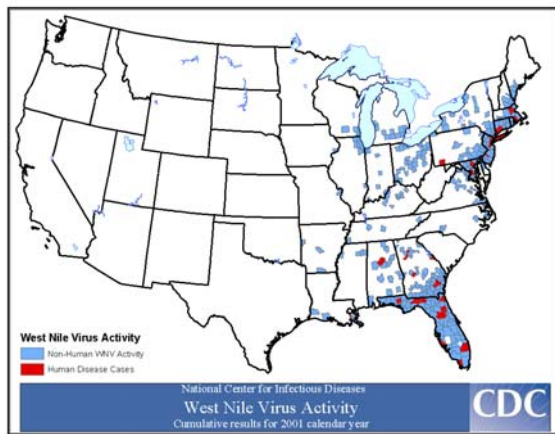


Abb. 9: Verbreitung WNV 2001 USA

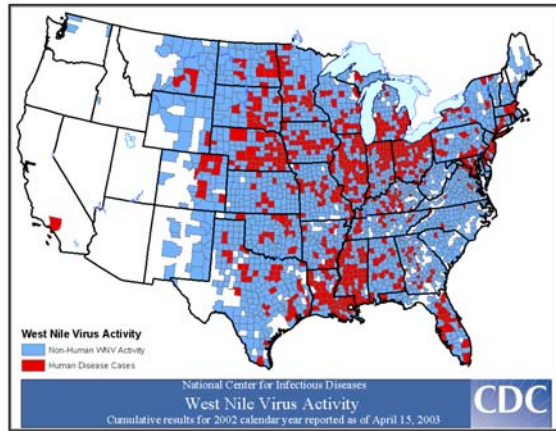


Abb. 10: Verbreitung WNV 2002 USA

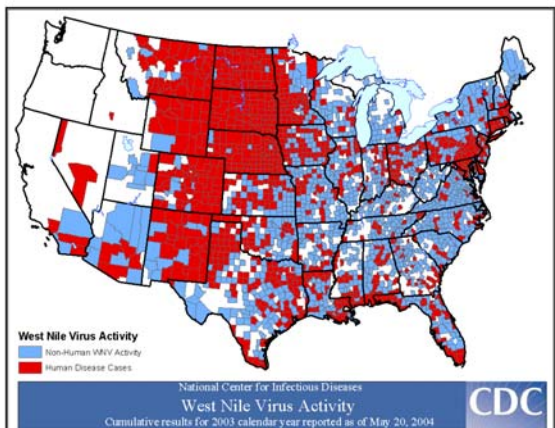


Abb. 11: Verbreitung WNV 2003 USA

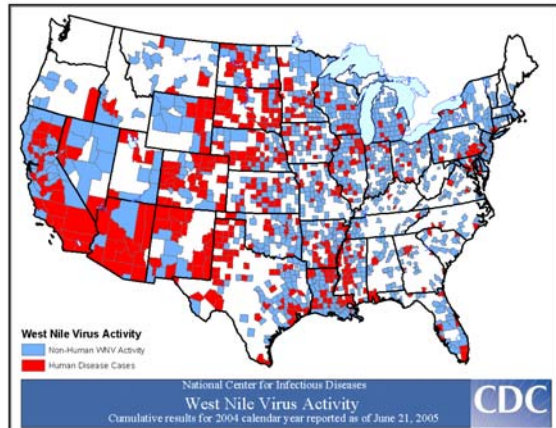


Abb. 12: Verbreitung WNV 2004 USA

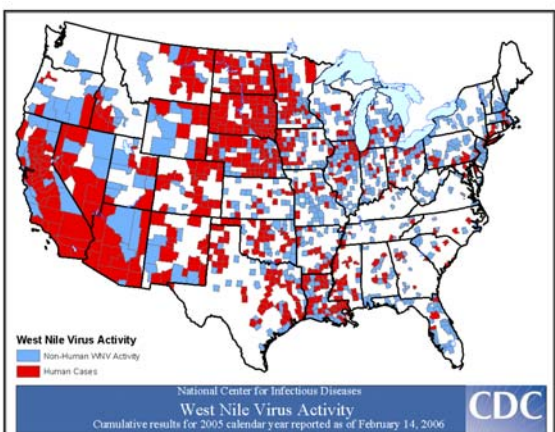


Abb. 13: Verbreitung WNV 2005 USA

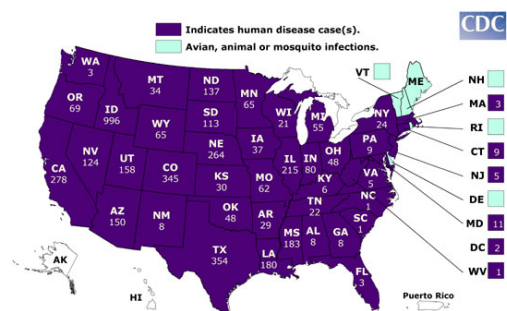


Abb. 14: Verbreitung WNV 2006 USA  
 violett: Humane Fälle, hellblau: Vögel, Säuger/Stechmücken positiv getestet

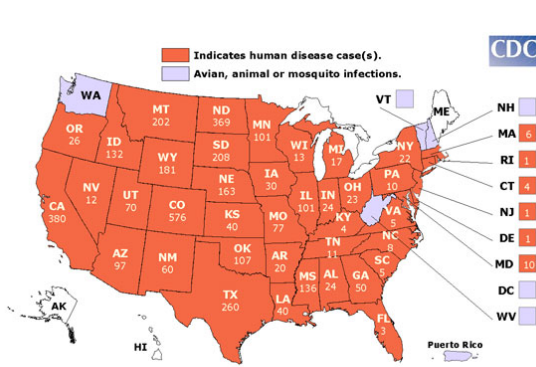


Abb. 15: Verbreitung WNV 2007 USA  
orange: Humane Fälle, blaugrau: Vögel,  
Säugeter oder Stechmücken positiv getestet

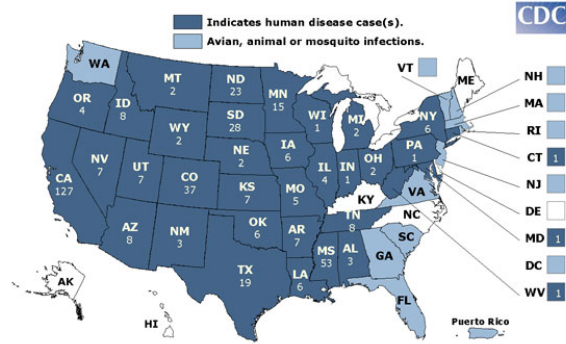


Abb. 16: Verbreitung WNV 2008 USA  
Stand: 02.09.2008, dunkelblau: humane  
Fälle, hellblau: Vögel, Säugter oder  
Stechmücken positiv getestet

AK	Alaska	IL	Illinois	NC	North Carolina	SC	South Carolina
AL	Alabama	IN	Indiana	ND	North Dakota	SD	South Dakota
AR	Arkansas	KS	Kansas	NE	Nebraska	TN	Tennessee
AZ	Arizona	KY	Kentucky	NH	New Hampshire	TX	Texas
CA	Kalifornien	LA	Louisiana	NJ	New Jersey	UT	Utah
CO	Colorado	MA	Massachusetts	NM	New Mexico	VA	Virginia
CT	Connecticut	MD	Maryland	NV	Nevada	VT	Vermont
DE	Delaware	ME	Maine	NY	New York	WA	Washington
FL	Florida	MI	Michigan	OH	Ohio	WI	Wisconsin
GA	Georgia	MN	Minnesota	OK	Oklahoma	WV	West Virginia
HI	Hawaii	MO	Missouri	OR	Oregon	WY	Wyoming
IA	Iowa	MS	Mississippi	PA	Pennsylvania		
ID	Idaho	MT	Montana	RI	Rhode Island		

Insgesamt wurden im Jahr 2006 gemäß CDC 4269 humane Fälle aus 44 Staaten der USA gemeldet, wobei 177 Patienten im Rahmen der Erkrankung verstarben (4,15 %). Im Jahr 2007 wurden 3630 Fälle aus 43 Staaten gemeldet, 124 Patienten verstarben (3,42 %). Bis zum Stichtag 02. September 2008 waren insgesamt nur 413 Fälle in 34 Staaten angezeigt worden mit einer Mortalitätsrate von 1,21 % (5 Patienten). Insgesamt zeigen diese Daten, dass die WNV-Endemie in den Vereinigten Staaten den Höhepunkt überschritten hat.

### 1.2.2.4 Kanada

Für Kanada stellt sich die Situation ähnlich dar, wobei gesicherte Daten über klinische Infektionen seit dem Jahr 2002 und über asymptomatische Infektionen seit dem Jahr

2003 vorliegen (Public Health Agency of Canada, 2007). Analog zu den Vereinigten Staaten von Amerika hat die Ausbreitung in Ost-West-Richtung stattgefunden. Die Abbildungen 17 und 18 zeigen beispielhaft die Verbreitung im Jahr 2002 und im Jahr 2006. Die aktuelle Datenlage mit Stand 30. August 2008 zeigt, dass auch in Kanada die Erkrankungsrate deutlich rückläufig ist, wobei in der Region Manitoba weiterhin die meisten Fälle auftreten (Public Health Agency of Canada, 2008). Von fünfzehn bis zum Stichtag gemeldeten Neuinfektionen waren acht in Territorium Manitoba protokolliert worden.

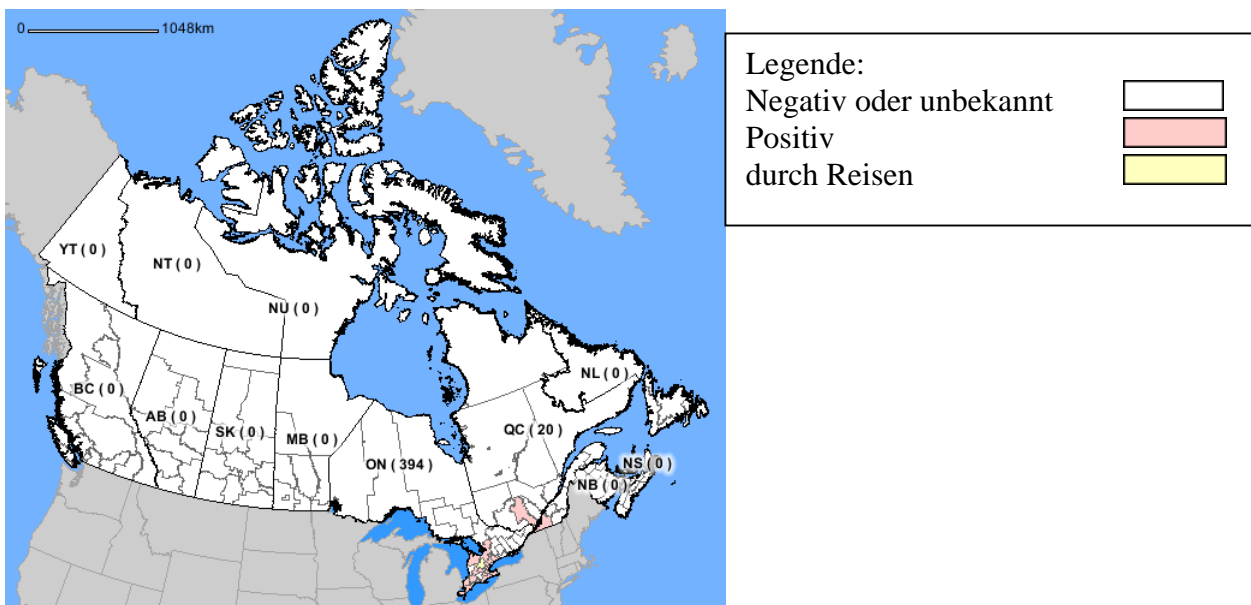


Abb. 17: WNV-Infektionen bei Menschen in Kanada 2002,

NL - Newfoundland/Labrador , PE - Prince Edward Island, NB - New Brunswick, NS - Nova Scotia, QC - Quebec, ON - Ontario, MB - Manitoba, SK - Saskatchewan, AB - Alberta, BC - British Columbia, YT – Yukon, NT - Northwest Territories, NU - Nunavut

Im Jahr 2006 sind insgesamt 151 Fälle aus 13 Provinzen gemeldet worden, wobei die Mehrzahl der Fälle ohne neurologische Symptomatik geblieben war, drei Fälle waren Zufallsbefunde ohne klinische Symptomatik.



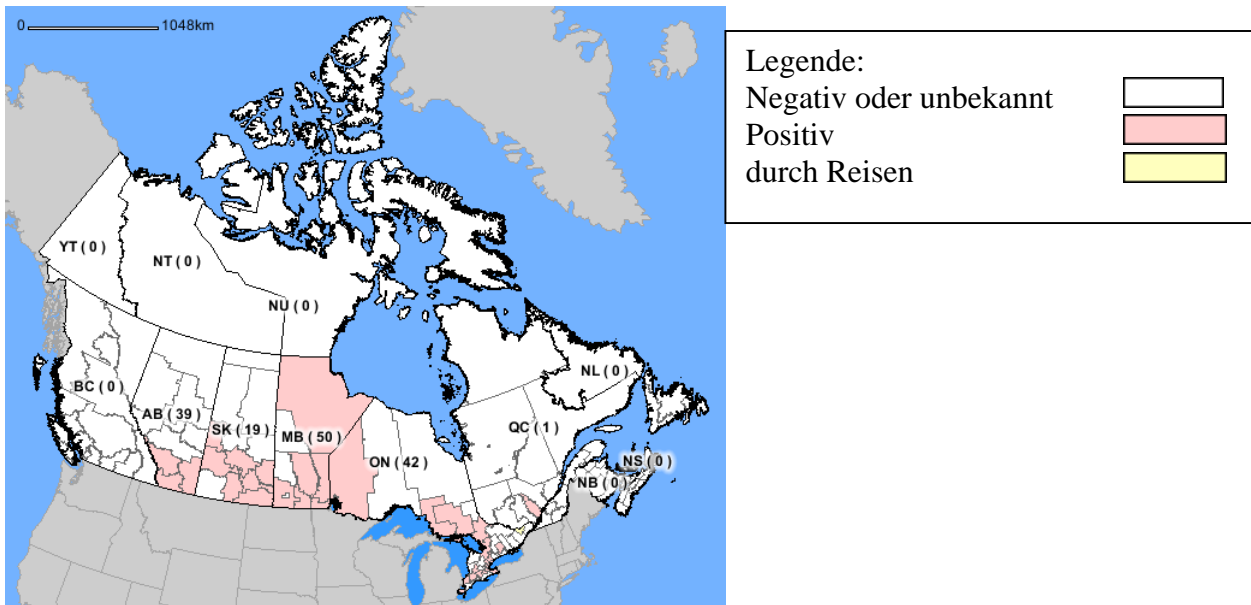


Abb. 18: WNV-Infektionen bei Menschen in Kanada 2006

NL - Newfoundland/Labrador , PE - Prince Edward Island, NB - New Brunswick, NS - Nova Scotia, QC - Quebec, ON - Ontario, MB - Manitoba, SK - Saskatchewan, AB - Alberta, BC - British Columbia, YT - Yukon, NT - Northwest Territories, NU - Nunavut

### 1.3 Andere Flaviviren

Auf Grund der zu erwartenden Kreuzreagibilität innerhalb der Flaviviren, werden die beiden häufigsten Infektionen nachfolgend dargestellt.

#### 1.3.1 FSME-Virus

Das Früh-Sommer-Meningo-Enzephalitis-Virus (FSME) wurde in Deutschland erstmals im Jahr 1959 isoliert (Süss et al., 1992). Es handelt sich hierbei um ein neurotropes RNA-Virus, von welchem drei Subtypen existieren (Hollbach et Oehme, 2002):

- Zentral-europäischer Subtyp
- Fernöstlicher Subtyp
- Sibirischer Subtyp

Sowohl nach einer Impfung, als auch nach durchgemachter Infektion besteht eine Kreuzimmunität innerhalb der vorgenannten Subtypen. Der Durchmesser der Flaviviruspartikel beträgt ca. 50 nm. Das einzelsträngige RNS-Molekül (ca. 10 kb) wird von einem Kapsid umhüllt, das wiederum von einer Hüllmembran, die zwei Oberflächenproteine, M und E, trägt, umschlossen ist. Das E-Protein scheint entscheidend für die Virulenz zu sein (Beasley et al., 2004)

Die Übertragung erfolgt durch Schildzecken, in Mittel- und Westeuropa, hauptsächlich *Ixodes ricinus* (Gemeiner Holzbock, Abbildung 19). In Osteuropa und Asien tritt *Ixodes ricinus* nicht auf, so dass hier *Ixodes persulcatus* als Hauptüberträger gilt. Als Reservoir dienen kleine Nagetiere aus der Familie der Langschwanz- oder Echte Mäuse (Muridae), hauptsächlich der Gattung *Apodemus* (Sumilo et al., 2007). Abbildung 20 zeigt die Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*). Als weiteres Reservoir kommen Igel in Frage (Gern et Falco, 2000).



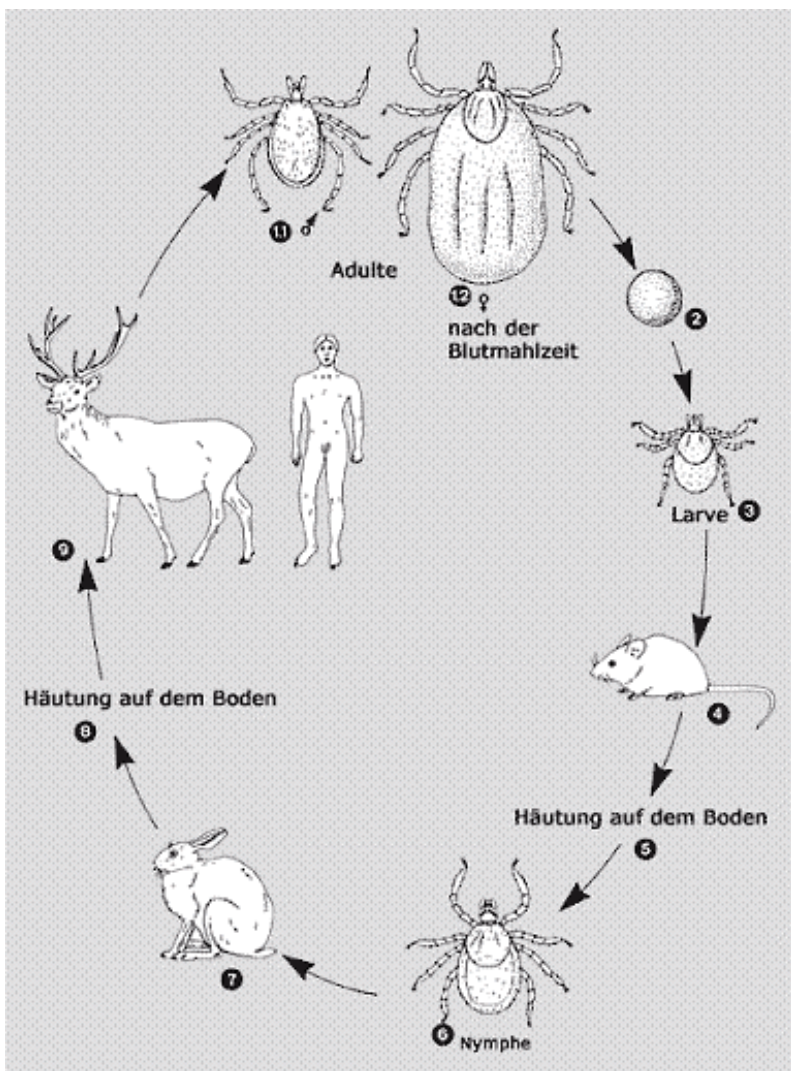
Abb. 19: *Ixodes ricinus*,  
Gemeiner Holzbock (Occi, 2006)  
Hauptüberträger der FSME in Europa



Abb. 20: *Apodemus sylvaticus*,  
Waldmaus (Schwegemann, 2007)  
Reservoir der FSME in Europa

Zecken nehmen jeweils nur eine Blutmahlzeit pro Entwicklungsstadium - Larve, Nymphe und adulte Zecke - auf (Sumilo et al., 2007). In Abbildung 21 wird der Lebenszyklus der Schildzecke dargestellt.

Nach der Blutmahlzeit legt das adulte Zeckenweibchen (1.2) innerhalb eines Monats ca. 2000 Eier ab (2), aus denen nach ca. drei Wochen in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur die Larven schlüpfen (3). Diese nehmen ihre Blutmalzeit vorwiegend an Kleinsäugern (4). Die Häutung zur achtbeinigen Nymphe (6) erfolgt am Boden innerhalb von zwei Monaten (5). Die Nymphe befällt größere Säugetiere (7) als die sechsbeinige Larve. Nach einer Blutmahlzeit von zwei bis sieben Tagen Dauer erfolgt die Häutung und Entwicklung zur adulten Zecke innerhalb von zwei bis acht Monaten (8). Die adulte Zecke sucht als Wirt auch größere Säugetiere auf. Die Weibchen saugen zwischen fünf und vierzehn Tagen (9). Nach der Paarung mit einem Männchen (1.1) kommt es zur Eiablage.



- (1.2) nach Blutmahlzeit legt adultes Zeckenweibchen innerhalb eines Monats Eier ab (2).
- (3) Larve schlüpft nach ca. 3 Wochen, Blutmalzeit vorwiegend an Kleinsäugetern (4).
- (5) Entwicklung zur Nymphe (6)
- (7) Nymphe befällt größere Säugetiere, nach einer Blutmahlzeit von zwei bis sieben Tagen Häutung und Entwicklung zur adulten Zecke in zwei bis acht Monaten (8).
- (9) adulte Zecke sucht als Wirt ebenfalls größere Säugetiere auf, Weibchen saugen zwischen fünf und vierzehn Tagen.
- Nach Paarung mit einem Männchen (1.1) kommt es zur Eiablage.

Abb. 21: 3-Wirte-Lebenszyklus von *Ixodes ricinus*, Hauptvektor FSME in Europa (nach Mehlhorn), schematische Darstellung

Nach dem Stich einer infizierten Zecke kommt nach einer im Mittel zehn Tage dauernden Inkubationszeit (Spannbreite 5 bis 28 Tage) zu einer fieberhaften Erkrankung mit grippeähnlichen Symptomen sowie Kopfschmerzen, katarrhalischer und/oder gastrointestinaler Symptomatik. Es wird jedoch angenommen, dass maximal 30 % aller Personen, die von einer virustragenden Zecke gestochen werden, überhaupt Symptome zeigen (Süss et al., 2004). Bei 70 % aller symptomatischen Patienten kommt es nach einer vorübergehenden Besserung von ca. einer Woche zur Beteiligung des Zentralnervensystems (Kaiser, 2004). Diese zweite Krankheitsphase beginnt mit plötzlich einsetzenden hohem Fieber, Übelkeit bis hin zum Erbrechen und Myalgien. Bezüglich des ZNS kann sowohl eine Meningitis als auch eine Enzephalitis oder eine Myelitis auftreten. Kombinationen sind ebenfalls möglich (Kaiser, 2002). Das Risiko eine ZNS-Beteiligung zu erleben steigt mit zunehmendem Lebensalter an. Auch unterscheiden sich die Verlaufsformen, Kinder und Jugendliche entwickeln in 65 % der Fälle eine Meningitis, nur 35 % eine Meningo-Enzephalitis. Bei den Erwachsenen fand sich hingegen bei 48 % eine isolierte Meningitis, bei 40 % eine Meningo-Enzephalitis und bei 12 % eine Enzephalomyelitis. Auch hinsichtlich der Langzeitprognose gibt es signifikante Unterschiede, so kommt es nur bei 2 % aller erkrankten Kinder, jedoch bei bis zu 40 % aller erkrankten Erwachsenen zu Langzeitschäden. Die Letalität in Zentraleuropa liegt insgesamt bei 1 % (Kaiser, 2004).

Folgende Symptome traten im Rahmen einer Enzephalitis auf (Kaiser, 2004):

- Quantitative und qualitative Bewusstseinstörungen
- Fokale und generalisierte Krampfanfälle
- Gesichtslähmung
- Gleichgewichts- und Hörstörungen
- Sprech-, Schluck- und Atemstörungen

Im Rahmen einer Enzephalomyelitis konnten zusätzlich Mono-, Para- und Tetraparesen der Extremitäten beobachtet werden.

Die Diagnostik der Erkrankung stützt sich im wesentlichen auf fünf Pfeiler:

- Exposition im Risikogebiet

- ggf. erinnerlicher Zeckenstich in der vorausgehenden ein bis vier Wochen vor Beginn der Symptomatik
- klinische Symptomatik
- entzündlicher Liquorbefund
- positiver Nachweis von spezifischen FSME-IgG- und IgM-Antikörpern im Serum.

Der alleinige Nachweis von IgM-Antikörpern sichert jedoch nicht die Diagnose. Erst durch den Anstieg der Serumkonzentration der IgM-Ak bzw. durch das in der Nachkontrolle simultane Auftreten von IgM- und IgG-AK kann die Diagnose als gesichert angesehen werden (Kaiser, 2004).

Zur Prävention steht eine aktive Immunisierung sowohl für Kinder als auch für Erwachsene zur Verfügung, eine passive Immunisierung ist seit der Einstellung der Produktion im Jahr 2003 nicht mehr erhältlich. Die Ständige Impfkommision der Bundesrepublik Deutschland empfiehlt eine Impfung gegen FSME für Personen, die in den angegebenen FSME-Risikogebieten (Abbildung 22) zeckenexponiert sind, in Baden-Württemberg wurde durch die zuständige Landesbehörde auf Grund der teilweise hohen Durchseuchungsrate der Zecken und der nahezu landesweiten Ausbreitung eine öffentliche Impfempfehlung ohne regionale Einschränkungen ausgesprochen (RKI, 2007).

Derzeit liegen die Risikogebiete in Deutschland in erster Linie in Bayern und Baden-Württemberg, aber auch in Rheinland-Pfalz, Hessen und Thüringen. 90 % aller symptomatischen Infektionen wurden in einem Risikogebiet akquiriert. Insgesamt wurden im Jahr 2006 546 Erkrankungen gemeldet und 129 Kreise wurden als Risikogebiete ausgewiesen. Die namentliche Meldepflicht besteht nach Infektionsschutzgesetz seit 2001 für den direkten oder indirekten Nachweis des Erregers, sofern der Nachweis auf eine akute Infektion hinweist (IfSG, 2006).

Ein Kreis wird gemäß RKI (2007) als FSME-Risikogebiet definiert, wenn die Anzahl der übermittelten autochthonen FSME-Erkrankungen im Zeitraum von 2002 bis 2006 im Kreis oder in der Kreisregion (Kreisregion = betreffender Kreis zuzüglich aller

angrenzenden Kreise) signifikant höher liegt als dies bei einer Inzidenz von einer Erkrankung pro 100.000 Einwohner zu erwarten wäre ( $p < 0,05$ ).

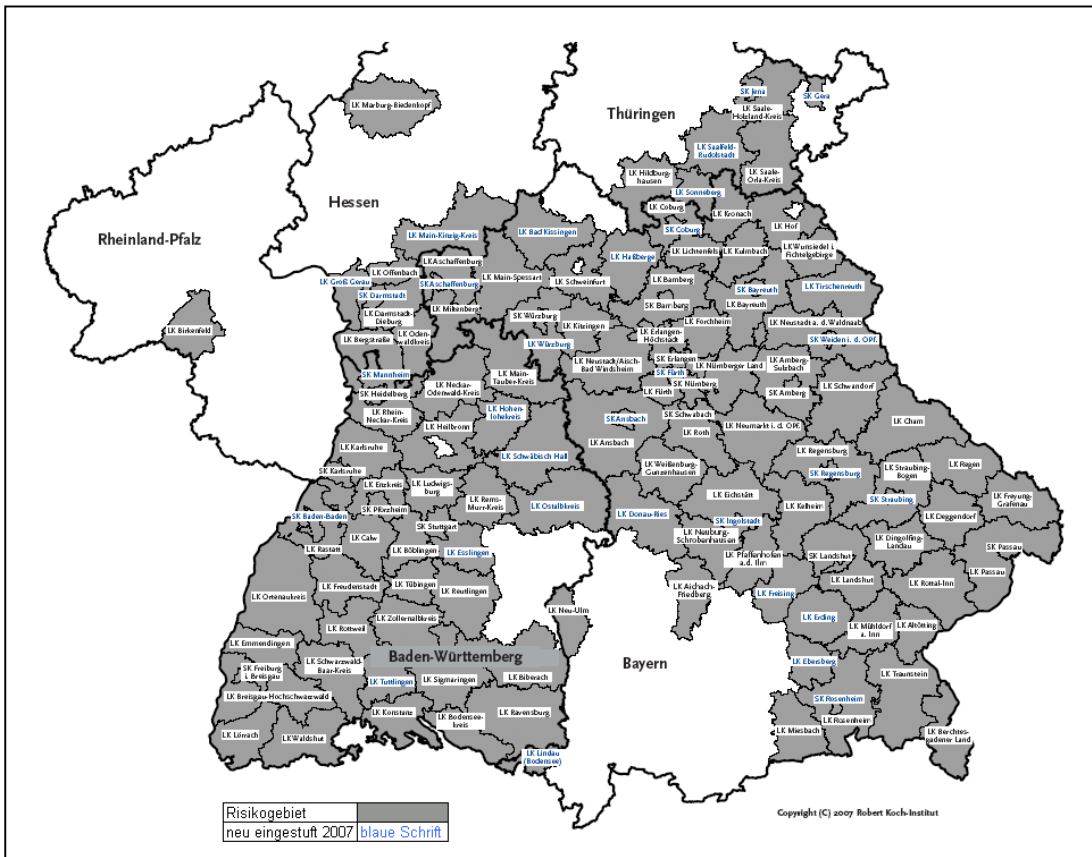


Abb. 22: FSME Risikogebiete in Deutschland (RKI, 2007); grau = Risikogebiet, blaue Schrift = neu eingestuft 2007

Wesentlichen Einfluss auf die FSME-Infektionsrate haben die klimatischen Bedingungen. Zum einen führen warme und trockene Sommer zu einer geringeren Aktivität bei den Vektor-Zecken, zum anderen sinkt in feuchten Sommern die Expositionsrate durch das den Wetterbedingungen angepasste Freizeitverhalten (Süss et al., 2004). Milde Winter mit wenigen Frosttagen begünstigen jedoch nicht nur eine hohe Zeckenzahl, sondern das Überleben der Reserviertiere, hier in erster Linie der Mäuse (Hoc, 2006). Des Weiteren schwankt die Durchseuchungsrate von adulten weiblichen *Ixodes ricinus* zwischen 0 % und 20,6 % bei Zecken, die im Rahmen einer ärztlichen Konsultation von Patienten entfernt worden waren (Süss et al., 2006).

### 1.3.2 Dengue-Virus

Das Dengue-Virus wird vorwiegend über *Aedes* spp., hier hauptsächlich *Aedes aegypti* und gelegentlich *Aedes albopictus* (Abbildung 23), auf den Menschen übertragen. Als Reservoir kommen in erster Linie, neben dem Menschen selbst, Affen in Frage.



Abb. 23: *Aedes aegypti* (links) und *Aedes albopictus* (rechts) (FMEL, 1999) Überträger des Dengue-Virus

Voraussetzung für eine epidemische Verbreitung ist eine hohe Mückendichte und eine mittlere Temperatur von mindestens 15 Grad (Meta et Raettig, 1998). Es handelt sich hierbei um eine meist gutartig verlaufende Erkrankung, welche durch biphasisches Fieber, Myalgien, Arthralgien, Lymphadenopathie, Exanthem und Leukopenie gekennzeichnet ist. Schwerste Verlaufsformen im Sinne eines Dengue-hämorrhagisches Fieber (DHF) oder Dengue-Schock-Syndroms (DSS) kommen jedoch vor. Vom Dengue-Virus sind vier Serotypen (DEN 1 - 4) bekannt. Eine Infektion führt zu einer lebenslangen Immunität, die allerdings nur den jeweils akquirierten Subtyp umfasst (Chaturvedi, 2006). Das Risiko, an einer schweren Verlaufsform zu erkranken, ist gemäß dem Autor insbesondere dann erhöht, wenn es nach einer Erstinfektion mit DEN 1 zu einer weiteren Infektion mit DEN 2 oder DEN 3 kommt. Bei dem Subtyp DEN 4 scheint dies nicht der Fall zu sein.

*Aedes aegypti* ist die Spezies, die in der Lage ist, die höchste Anzahl von humanpathogenen Erregern bzw. Parasiten wie Arboviren, Nematoden und Plasmodien zu übertragen (Mourya und Yadav, 2006). Sie gilt wegen ihrer hohen Suszeptibilität, ihrem urbanen Vorkommen und ihrem anthrophilen Verhalten als Hauptvektor für urbanes Dengue-, Gelb- und Chikungunya-Fieber und ist von hoher epidemiologischer Relevanz.

Das Virus kam ursprünglich in Südostasien vor, ist aber derzeit auf allen Kontinenten außer der Antarktis (Krauss et al., 1997) verbreitet (Abbildung 24).

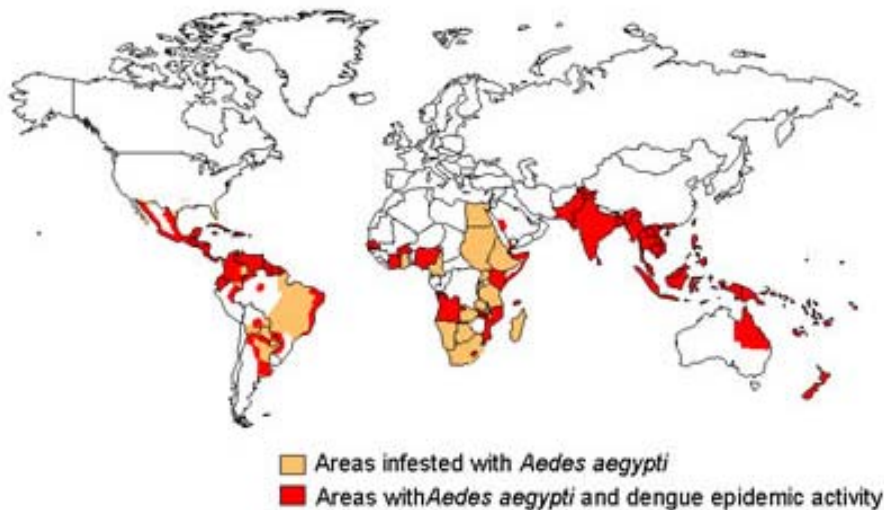


Abb. 24: Verbreitung Dengue weltweit 2005 (CDC, 2005)

orange: Verbreitungsgebiet *Aedes aegypti*, rot: Verbreitungsgebiet *Aedes aegypti* und Dengue-Virus Aktivität

Noch im Jahr 1928 erkrankten ca. 650.000 Einwohner der Städte Athen und Piräus an Dengue-Fieber, von denen 1.061 starben (Halstead et Papaevangelou, 1980). Rosen zeigte 1986, dass die hohe Inzidenz von hämorrhagischen Verläufen mit teilweise letalem Verlauf bei diesem letzten großen Ausbruch innerhalb Europas, nicht darauf zurück zu führen war, dass es nach einer Erstinfektion mit DEN 1 zu einer Reinfektion mit DEN 2 gekommen war, sondern insgesamt den schlechten Ernährungs- und Hygienebedingungen geschuldet war.



Die deutliche Verbesserung der hygienischen Bedingungen, der Ernährungslage und der medizinischen Versorgung führte in der Vergangenheit ebenso wie die systematische Vektorenbekämpfung – direkt wie indirekt – zu einer deutlichen Reduktion der Dengue-Fieber-Erkrankungen in Mitteleuropa, so dass derzeit Infektionen mit Dengue-Viren in Deutschland ausschließlich als reiseassoziiert gelten können. Wichmann et al. zeigten 2005, dass die Rate der importierten Dengue-Virusinfektionen in den Jahren von 1996 bis 2004 kontinuierlich ansteigend war, wobei die höchste Prävalenz für Antikörper gegen das Dengue-Virus bei Reisenden aus dem asiatischen Raum nachgewiesen werden konnte. Allerdings muss mit Blick auf die Ausbreitung von *Aedes albopictus* in Südeuropa, respektive Italien, nicht nur die Verbreitung von Chikungunya-Viren (Vazeille et al., 2007), sondern auch die Rückkehr des Dengue-Virus diskutiert werden. Letztendlich war es vollkommen unerwartet zum Auftreten von Chikungunya-Virusinfektionen in einer nicht-tropischen Region gekommen (Rezza et al., 2007).

Vor diesem Hintergrund muss die in den letzten Jahrzehnten beobachtete erhebliche Ausweitung des Dengue-Virus bewertet werden. So findet sich das hämorrhagische Dengue-Fieber unter den häufigsten Todesursachen bei Kindern im Raum zwischen Sri-Lanka, China und Indonesien (Bösel et Rothkopf-Hirschbeck, 2000). In erster Linie tritt die Infektion im städtischen Raum, in der jüngeren Vergangenheit aber auch in ländlichen Gebieten auf (Chaturvedi, 2006), wobei in dicht besiedelten urbanen Gebieten der Mensch den Hauptwirt darstellt.

Dobler et al. (1996) berichten von zwei Patienten, bei denen die Erkrankung nach einer Infektion in Indien einen schweren Verlauf genommen hatte:

- Patient 1 hatte sich im Rahmen einer Urlaubsreise für fünf Wochen im nördlichen Indien aufgehalten, sechs Tage nach der Rückkehr nach Deutschland traten Schüttelfrost, Schwindel und Kreislaufbeschwerden auf, weswegen sich der Patient ambulant in einem Krankenhaus vorstellt. Nach dem Ausschluss einer Malariaerkrankung wurde er an den Hausarzt verwiesen. Zwei Tage später kam es zur erneuten Vorstellung, wobei eine deutliche Kreislaufinstabilität bestand, im Blutbild zeigte sich eine Leukozytopenie und eine Thrombozytopenie. Die

Thrombozytenzahl bei Aufnahme betrug 19.000/ $\mu$ l und fiel am Folgetag auf 15.000/ $\mu$ l ab, Leber- und Pankreasenzyme waren erhöht, der Hämatokrit war ebenfalls erhöht. Die klinische Untersuchung zeigte petechiale Blutungen am Rumpf und den unteren Extremitäten. Die serologischen Tests ergaben einen Anstieg der Antikörpertiter gegen Dengue-, West-Nil-, Gelbfieber- und FSME-Viren. Mittels indirekter Immunfluoreszenz konnten spezifische IgM-Antikörper gegen Dengue-Virus nachgewiesen werden, so dass hiermit die Diagnose-sicherung bei unspezifischen Testreaktionen bezüglich mehrere Viren der Flavigruppe gelang. Der Patient konnte nach siebentägiger symptomatischer Therapie aus der stationären Behandlung entlassen werden. Die Symptomatik mit Hämokonzentration und Thrombozytopenie kennzeichnet das Krankheitsbild als Dengue-hämorrhagisches Fieber (DHF) Grad II. Man geht davon aus, dass diese Verlaufsform in erster Linie im Rahmen einer Zweitinfektion mit Dengue-Viren auftritt, wobei der Patient auf Rückfrage angab, schon Jahre zuvor einmal an „Bali-Fieber“ erkrankt gewesen zu sein, wobei es sich wohl um die Erstinfektion mit Dengue-Viren gehandelt hat.

- Patient 2 stellte sich nach Rückkehr von einem mehrwöchigen Aufenthalt in der Region Delhi mit Fieber, Gelenkschmerzen und einem Exanthem vor. In der klinisch-chemische Laboruntersuchung zeigten sich auch hier erhöhte Leberenzymwerte, so dass in erster Linie eine Virushepatitis als Differentialdiagnose diskutiert wurde, die serologische Untersuchung ergab dann jedoch neben Antikörpertitern gegen verschiedene Flaviviren spezifische IgM-Antikörper gegen Dengue-Viren, so dass die Diagnose eines klassischen Dengue-Fiebers mit Begleithepatitis als gesichert angesehen werden konnte.

Karakus et al. (2007) beschreiben anhand eines Fallbeispiels die Vollaussprägung des Dengue-Schock-Syndroms (DSS). Bei einem 66 Jahre alten Patienten mit bekannter Hypertonie und vorbestehendem nicht-insulinpflichtigen Diabetes mellitus kam es im Rahmen einer Dengue-Infektion zu Fieber, Atemnot, Tachykardie und einer Rhabdomyolyse (Kreatininkinaseanstieg bis maximal 156.900 U/l). Der Patient wurde im Verlauf der Erkrankung beatmungspflichtig, es kam zu septischen Schock und letztendlich verstarb der Patient nach 47 Behandlungstagen im Multiorganversagen. Die

Autoren differenzieren drei Ausprägungsformen einer Dengue-Infektion, wobei der Großteil der Infektionen nur eine so geringe Symptomatik im Sinne einer leichten fieberhaften Erkrankung verursacht, dass sie von den Erkrankten nicht oder nur mäßig wahrgenommen werden. Retrospektiv können auch vollkommen asymptomatische Verläufe vorkommen.

Verlaufsformen der Dengue-Virusinfektion nach Karakus et al. (2007):

1. Dengue-Fieber (DF)

- Fieber für fünf bis sieben Tage, teilweise biphasisch oder ondulierend
- Frontal betonter Kopfschmerz, retrobulbäre Schmerzen, Myalgien, Arthralgien, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe, makulo-papulöses oder diffus erythematöses Exanthem
- Teilweise Leukopenie und leichte Thrombozytopenie
- Geringe hämorrhagische Manifestation mit Petechien, Epistaxis, gingivalen Blutungen normalerweise drei bis vier Tage nach dem Beginn des Fiebers
- Gute Prognose mit vollständiger Wiederherstellung der Gesundheit nach sieben bis zehn Tagen

2. Dengue-hämorrhagisches Fieber (DHF)

- Akute fieberhafte Erkrankung ähnlich DF
- Thrombozytopenie  $<60.000/l$
- Erhöhte vaskuläre Permeabilität mit Ödembildung, Hämokonzentration, Hypoalbuminämie, seröse Ergüsse

3. Dengue-Schock-Syndrom (DSS)

- DHF mit Kreislaufversagen mit Tachykardien, Hypotension, Kaltschweißigkeit und Unruhe

Muzaffa et al. (2006) zeigen an einem Fallbeispiel, dass das Dengue-Virus in seltenen Fällen ebenfalls eine neurologische Symptomatik hervorrufen kann. Es handelte sich um einen 13-jährigen Patienten, welcher initial mit Ataxie, Fieber sowie Kopf- und

Muskelschmerzen zur Aufnahme kam. In der Magnetresonanztomographie (NMR) des Schädels zeigten bilateral-symmetrische Ödeme der temporalen, cingulaten und am Äquadukt gelegenen Gyri. Unter konservativer Behandlung besserte sich die Symptomatik innerhalb von wenigen Tagen, so dass der Patient nach zwei Wochen stationärer Behandlung entlassen werden konnte, eine Nachuntersuchung ergab keine Hinweise auf eine bleibende Behinderung. Aus dieser Fallbeschreibung schließen die Autoren, dass eine Dengue-Enzephalitis als Differentialdiagnose bei akuten viralen Enzephalitiden im Endemiegebiet immer in Betracht gezogen werden muss. Eine Metaanalyse von 178 Fällen ergab, dass bei Dengue-Enzephalitis die Mortalität bis zu 50 % erreichen kann.

Torres und Castro (2007) weisen darauf hin, dass Dengue-Infektionen eines der wesentlichen gesundheitlichen Probleme in den Regionen der Welt darstellt, die über limitierte Ressourcen verfügen. Insbesondere in Südamerika kam es in den vergangenen Jahren seit der ersten großen Epidemie in Kuba 1981 immer wieder zu Dengue-Epidemien mit dem bis dato in Lateinamerika unbekanntem Vollbild des DHF. Hierbei spielt das wachsende Verbreitungsgebiet von *Aedes aegypti* eine wesentliche Rolle (Abbildung 25).

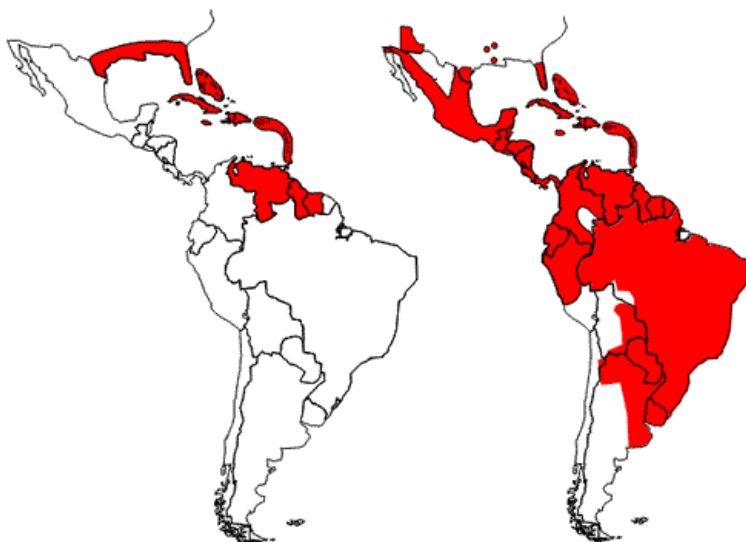


Abb. 25 : Verbreitung *Aedes aegypti* 1970 (links) und 2002 (rechts) als Hauptüberträger des Dengue-Virus (CDC, 2005) in Süd- und Mittelamerika

So konnten im Jahr 2005 in Süd- und Mittelamerika 427.627 Infektionen nachgewiesen werden, in 14.557 Fällen kam es zum DHF (=3,4 % der Fälle), 159 Patienten verstarben (1,09 % bezogen auf DHF-Patienten, 0,04 % bezogen auf die Gesamtzahl). Es konnten alle vier Serotypen nachgewiesen werden, wobei nur in Guatemala, Peru, Venezuela und Französisch Guyana alle Serotypen gleichzeitig auftraten. Der volkswirtschaftliche Schaden, der durch Dengue-Infektionen hervorgerufen wird, ist gemäß den Autoren immens, auch wenn im Vergleich zu anderen durch Stechmücken übertragenen Erkrankungen wie z.B. Gelbfieber, Leishmaniasis oder Malaria die Kosten pro DALY (disability adjusted life year) niedrig waren. Dennoch ergaben Berechnungen, dass die Kosten-Nutzen-Relation des in Venezuela durchgeführten Dengue-Kontroll-Programms im positiven Bereich lagen (0,46 \$ Investition pro eingespartem Dollar).

Im Gegensatz zu anderen südostasiatischen Staaten zeigt sich in Singapur die höchste Infektionsrate nicht bei Kindern, sondern bei jungen Erwachsenen (Low et al., 2006). Bis Anfang der neunziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts kam es zu einem kontinuierlichen Rückgang der Infektionen mit Dengue-Viren im Stadtstaat Singapur, welcher auf ein suffizientes Vektor-Kontrollprogramm zurückzuführen war. Seit dem Jahr 1990 stieg die Anzahl der Infektionen erneut an, im Jahr 2005 wurde der bisherige Höhepunkt mit 335 Fällen pro 100.000 Einwohner verzeichnet. Vor diesem Hintergrund untersuchten die Autoren, wie sich eine Infektion mit Dengue-Viren bei Erwachsenen von der bei Kindern, auf der bis dato der Fokus gelegen hatte, unterscheidet. Es wird angenommen, dass bei Erwachsenen das Risiko, eine schwere Verlaufsform im Sinne eines DHF zu erleiden, zwar geringer ist, im Gegensatz hierzu jedoch Erwachsene länger unter der Infektion leiden und inapparente Infektionen insgesamt seltener sind. Es wird darauf hingewiesen, dass der volkswirtschaftliche Schaden durch Dengue-Infektionen bisher unterschätzt worden war.

#### **1.4 Vektoren für WNV**

Zu den Vektoren, welche Arboviren übertragen, gehören, unter anderen, hauptsächlich Stechmücken und Zecken. Stechmücken infizieren Menschen mit verschiedensten

Arboviren während sie ihre Blutmahlzeit nehmen, in dem das Virus mit dem Speichel der Mücke in den Menschen gelangt. Es wird angenommen, dass die im Speichel enthaltenen Proteinkomponenten zur Verhinderung der Blutgerinnung, der Entzündungshemmung und zur Unterdrückung der Immunantwort eine Rolle bei Infektion spielen, da sie eine frühe Zerstörung der eindringenden Viren verhindern (Schneider et al., 2006).

Die Ordnung Diptera (Zweiflügler), Unterordnung Nematocera (Mücken) unterteilt sich in die medizinisch relevanten folgenden Familien:

- Psychodidae (Schmetterlingsmücken), hier die Unterfamilie Phlebotominae (Sandmücken)
- Culicidae (Stechmücken)
- Ceratopogonidae (Gnitzen)
- Simuliidae (Kriebelmücken)

Die Familie Culicidae unterteilt sich in die folgenden medizinisch relevanten Stechmückengattungen:

- Culex
- Aedes
- Anopheles
- Mansonia
- Culiseta

Bei allen Gattungen saugen die Weibchen mit Hilfe ihres Stechrüssels (Proboscis) etwa alle drei bis vier Tage Blut bei den entsprechenden Wirten, wobei die meisten Arten bei der Wahl des Wirtes wenig spezialisiert sind (Fuchs et Faulde, 1997). Es kann zwischen oligophagen Gattungen – sich von einigen verschiedenen Wirten ernährend – und polyphagen Gattungen – sich von vielen Wirten ernährenden – unterschieden werden. In allen Fällen wird die Blutmahlzeit obligat zur Entwicklung der Eier benötigt. Die Männchen sind nicht hämophag, sondern ernähren sich von zuckerhaltigen Pflanzensäften. Innerhalb der Gattungen Culex und Aedes sind allerdings nur wenige Arten zur Übertragung von Arboviren befähigt (Mehlhorn et Piekarski, 2002).

Goddard et al. untersuchten 2002 die Vektorkompetenz verschiedener Spezies in Kalifornien. Folgende Spezies wurden getestet:

- *Culex tarsalis*
- *Cx. pipiens quinquefasciatus*
- *Cx. pipiens pipiens*
- *Cx. stigmatosoma*
- *Cx. erythrothorax*
- *Ochlerotatus dorsalis*
- *Oc. melanimon*
- *Oc. sierrensis*
- *Aedes vexans*
- *Culiseta inorata*

Alle getesteten Spezies konnten als mögliche Vektoren für das WNV identifiziert werden, allerdings variierten die Infektionsraten nach Spezies, Infektionsdosis und Inkubationszeit.

### **1.4.1 Culex**

Bei den Stechmücken der Gattung *Culex* handelt es sich in der adulten Form um etwa 5 mm große bräunlich-grau Mücken (Abbildung 26), *Culiseta*-Arten sind mit 7-9 mm deutlich größer (Mehlhorn, 1996). Beide Arten gehören zu den Hausmücken, welche vornehmlich nachts und in der Dämmerung anfliegen. Blut saugend sind nur die Weibchen, welche nach Blutmahlzeiten alle zwei bis drei Tage Gelege von 150 bis 3000 Eiern auf die Wasseroberfläche von stehenden Gewässern ablegen. Die hieraus schlüpfenden Larven entwickeln sich innerhalb von 2 bis 3 Wochen zur Puppe, dann nach wenigen Tagen zur adulten Mücke. Der Lebenszyklus ist in Abbildung 27 schematisch dargestellt.

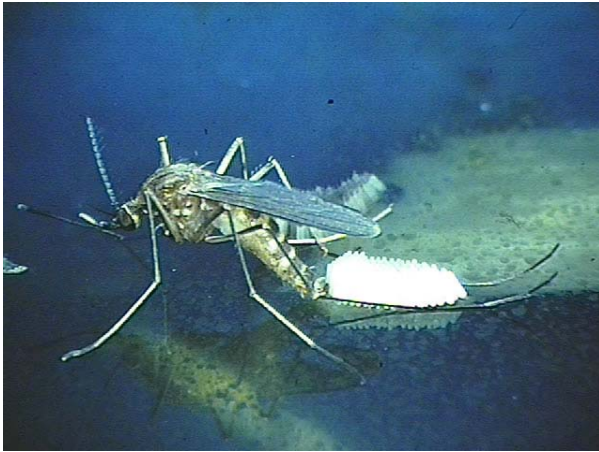


Abb. 26: Culex bei der Eiablage (CDC, 2005), Vektor für WNV

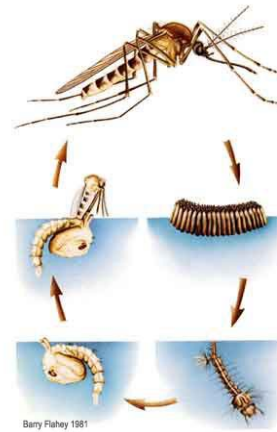


Abb. 27: Culex Lebenszyklus, schematisch dargestellt

Die Stechmückenarten *Culex pipiens* und *Culex restuans* konnten in mehreren Studien als wesentliche Vektoren für das West-Nil-Virus charakterisiert werden. So zeigten Mans et al. (2004), dass 92 % aller von ihnen positiv auf das Virus getesteten Mücken im nördlichen Ohio diesen beiden Spezies angehörten. Nasci et al. stellten 2001 dar, dass das Virus in New York in entsprechend infizierten *Culex*-Spezies überwintern konnte. Allerdings wird davon ausgegangen, dass dies kein entscheidender Faktor für die Persistenz des Virus in der Umwelt darstellt. Im Gegensatz hierzu beschreiben Anderson und Main (2006) die vertikale transovarielle Übertragung des Virus von einer infizierten *Culex pipiens* nach deren Überwinterung auf die F1-Generation. Eine der vertikal infizierten *Culex* übertrug im Anschluss das Virus auf einen Hamster, welcher acht Tage danach an der Infektion verstarb.

Kulasekera et al. stellten 2001 den Zusammenhang zwischen der Anzahl toter Vögel, der minimalen Infektionsrate (MIR) bei Mücken und menschlichen Infektionen mit WNV dar. Die minimale Infektionsrate gibt an, wie groß der Prozentsatz infizierter Mücken in einer untersuchten Testpopulation ist. Es wurde festgestellt, dass den humanen Fällen im Jahr 2000 eine minimale Infektionsrate von 8 –14 pro 1000 Mücken bei *Cx. pipiens* vorausgegangen war. Ein Anstieg der MIR kann als ein weiterer Indikator neben dem gehäuften Auftreten toter Vögel für einen anstehenden Ausbruch von WNV bei Menschen gewertet werden. Insbesondere *Culex pipiens pipiens* gilt als Hauptvektor, da diese in erster Linie ihre Blutmahlzeiten an Vögeln einnehmen (Bernard et al., 2001).



Reddy et al. untersuchten in ihrer Studie (2007), zu welchen Tageszeiten *Culex* spp. aktivitätsbedingt nach ihren Blutwirten - in erster Linie Säugetiere inklusive dem Menschen (anthropophag), aber teilweise auch Vögel, Amphibien und Reptilien - suchen und wann der bevorzugte Zeitpunkt der Eiablage ist. Es konnte aufgezeigt werden, dass die Eiablage bevorzugt zwei Stunden nach dem astronomischen Sonnenuntergang stattfand. Die Hauptzeit der Blutmahlzeiten lag ebenso ca. zwei Stunden nach Sonnenuntergang, so dass die Autoren daraus folgern, dass eine Bekämpfung mit aerosolisierten Insektiziden den größten Effekt zu diesem Zeitpunkt erzielt.

Reisen et al. verglichen 2006 die Vektorkompetenz verschiedener *Culex*-Spezies und zeigten auf, dass *Culiseta incidens* zwar weniger suszeptibel als *Culex quinquefasciatus* war, dafür aber das Virus wesentlich häufiger übertrug. Auch *Cx. thriambus*, *Cx. tarsalis* und *Cx. stigmatosoma* kamen als potenzielle Überträger in Frage.

Insgesamt ist *Culex pipiens* einerseits als der wesentliche Vektor bei der Übertragung des Virus unter Vögeln, andererseits auch als der wesentliche Brückenvektor bei der Übertragung auf den Menschen an zu sehen (Kilpatrick et al., 2006). Dies gilt insbesondere unter dem Aspekt, dass *Culex pipiens* scheinbar jahreszeitlich abhängig entweder Vögel (Frühling und Frühsommer) oder Menschen (Spätsommer und Herbst) als Wirt bevorzugt. Turell et al. (2006) identifizierten ebenfalls *Culex pipiens pipiens* in der Alten Welt als den hochkompetenten Vektor, mit einer unter Laborbedingungen erreichten maximalen Infektionsrate der Mücken zwischen 81 und 96 %. Ca. 75 % aller Mücken, die eine Blutmahlzeit an einem erkrankten Wirt genommen hatten, waren in der Lage, das Virus bei einer erneuten Blutmahlzeit zu übertragen. Selbst nach 16 bis 25 Tagen konnten 60 % der untersuchten Mücken bei einer zweiten Blutmahlzeit das Virus erneut übertragen.

Godsey et al. (2005) führten eine Studie in Louisiana durch, wobei hier die folgenden Infektionsraten nachgewiesen wurden (Infektionsrate pro 1000 Mücken):

- *Cx. salinarius*: 10,91
- *Cx. quinquefasciatus*: 2,31 bis 3,41

### 1.4.2 Aedes

Bei den Wald- und Wiesenmücken der Gattung *Aedes* handelt es sich um ca. 5 mm lange, graubraune Mücken, welche tagsüber und in der Dämmerung aktiv sind (Mehlhorn, 1996). Die Eiablage erfolgt vornehmlich in stehenden Gewässern, z.B. Auenlandschaften, wobei die Überwinterung in der Eiform in Bodenmulden, welche im Frühjahr überflutet werden, erfolgt. Sowohl Kulasekera et al. (2001) als auch Bernard et al. (2001) fanden bei ihren Untersuchungen heraus, dass *Aedes*-Spezies als Vektoren für das WNV kompetent sind, wobei diese Spezies meist erst später als *Culex* in den Übertragungszyklus involviert werden und in erster Linie bei der Übertragung des Virus auf Pferde eine wesentliche Rolle spielen. Auch Turell et al. (2000) zeigen auf, dass *Aedes vexans* zwar mäßig suszeptibel für das Virus ist, aber durchaus als Vektor in Frage kommen kann. Dies gilt ebenso für *Aedes sollicitans* und *Aedes taeniorhynchus*.

Meece et al. untersuchten im Jahr 2002 im südlichen Wisconsin vorkommende Mücken bezüglich der ihrer Vektorkompetenz. In der entsprechenden Veröffentlichung 2003 stellte *Aedes vexans* (Abbildung 28) mit 42,53 % die größte Gruppe dar, danach folgten zahlenmäßig *Ochlerotatus trivittatus*, *Culex tarsalis*, *Coquilleltidia perturbans*, *Ochlerotatus canadensis*, *Culex erraticus* und *Ochlerotatus triseriatus*. Alle genannten Spezies sind gemäß den Autoren als mögliche Vektoren für WNV zu bewerten.



Abb. 28: *Aedes vexans*, weiblich (SDSU, 2007), möglicher Vektor für WNV

Als weitere WNV-sukzeptible Spezies konnte die sich derzeit global ausbreitenden *Aedes albopictus* ausgemacht werden, der Nachweis des Virus in Mücken dieser Spezies gelang bisher nicht (Godsey et al., 2005).

### **1.4.3 Anopheles**

Bei *Anopheles*-Arten handelt es sich in erster Linie um dämmerungs- und nachtaktive Mücken, die für die Eiablage im Gegensatz zu den *Culex*-Arten saubere, gelegentlich sogar fließende Gewässer bevorzugen (Mehlhorn, 1996). Eine Übertragung von WNV durch *Anopheles*-Arten ist derzeit nicht beschrieben. Allerdings konnten Mans et al. (2004) in einer männlichen Mücke der Spezies *Anopheles punctipennis* (Abbildung 29) das Virus nachweisen, was auf eine transovarielle Übertragung des WNV hinweist.



Abbildung 29: *Anopheles punctipennis*, weiblich (SDSU, 2007), möglicher Vektor für WNV

## **1.5 WNV-Reservoir**

### **1.5.1 Pferde**

In Süd- und Osteuropa sind Infektionen, welche durch Arboviren bei Pferden hervorgerufen werden, beschrieben. Wintzer et al. vermuteten 1999, dass hierbei die in

Südfrankreich (Camargue) nachgewiesenen Infektionen mit dem West-Nil-Virus an Bedeutung gewinnen könnten.

Castillo-Olivares und Wood (2004) beschreiben, dass in den meisten Fällen eine Infektion mit WNV bei Pferden, ebenso wie beim Menschen, subklinisch verläuft. Allerdings wurde bei den jüngeren Ausbrüchen eine erhöhte Anzahl von apparenten neurologischen Verläufen beschrieben, so dass davon ausgegangen wird, dass ca. 10 % der infizierten Pferde und 1 % der infizierten Menschen neurologische Symptomatik zeigen. Neben der neurologischen Symptomatik wird Fieber bei Pferden ebenfalls beschrieben, ist jedoch nicht bei allen Ausbrüchen aufgetreten. Bei den neurologischen Ausfallserscheinungen wird in erster Linie Ataxie und Paresen, vornehmlich der Hinterläufe, genannt. Faszikulationen, Tremor und allgemeine Muskelsteifigkeit können ebenfalls auftreten. Die Dauer der virämischen Phase ist hierbei deutlich kürzer als z.B. bei infizierten Vögeln. So gelingt der Virusnachweis im peripheren Blut nach dem Auftreten neurologischer Symptome häufig nicht mehr. Die Viruslast im peripheren Blut ist ebenfalls gering. Für einen Virusnachweis wird daher die Liquorgewinnung eindeutig bevorzugt.

Als Differentialdiagnosen müssen nach Abutarbush et al. (2004) bei Pferden folgende Erkrankungen in Betracht gezogen werden:

- durch Protozoen ausgelöste Myeloenzephalitis,
- Western Equine Enzephalomyelitis (WEE)
- Tollwut,
- Equines Herpes-Virus (EHV1) und
- Lebererkrankungen mit Hepatoenzephalopathie

Zur Diagnostik einer kürzlich erfolgten WNV-Infektion dient in erster Linie der Nachweis von WNV-IgM mittels ELISA.

Trock et al. berichten 2001 über allein 23 Fälle von equinen West-Nil-Infektionen im Staat New York im Jahr 2000. Bereits 1999 waren nach dem erstmaligen Auftreten von WNV in der Neuen Welt 20 Pferde auf Long Island erkrankt; vier davon verstarben. Die

23 Fälle im Folgejahr wurden mittels IgM-Nachweis und Neutralisationstests bestätigt, teilweise konnte der direkte Nachweis über PCR geführt werden. In erster Linie trat bei den betroffenen Pferden eine Ataxie (95,7 %), vornehmlich an den Hinterläufen (90,5 %), auf. Muskelfazikulationen und Zittern kam in 55 % der Fälle vor, insgesamt kam es in 90,5% der Fälle zu akuten Krampfanfällen. Allerdings konnte nur in 32 % der Fälle Fieber als Symptom ausgemacht werden. Von den erkrankten Pferden verstarben acht oder mussten eingeschläfert werden. Zusammenfassend wird durch die Autoren dargestellt, dass WNV-Infektionen bei Pferden eine akute, schwer verlaufende neurologische Erkrankung auslösen können, aber auch subklinische Verläufe möglich sind. Ataxie, allgemeine Schwäche und Koordinationsstörungen an den Hinterläufen werden als Krankheitszeichen beschrieben, das Auftreten von Fieber wird als nicht signifikantes Krankheitszeichen genannt, da es in der Hälfte aller Fälle nicht nachweisbar war. Bei den leichteren Verläufen wurde keine Behandlung durchgeführt, die betroffenen Pferde erholten sich innerhalb von zwei bis sieben Tagen vollständig. Bei den schweren Verläufen erfolgte die Behandlung rein symptomatisch. Bei den Epidemien in den Jahren 1999 und 2000 traten die Infektionen bei Pferden nach den ersten humanen Fällen und den Erkrankungen bei Vögeln auf, so dass daraus geschlossen wurde, dass equine Erkrankungen als Warnzeichen für eine anstehende WNV-Epidemie eher als unwahrscheinlich zu betrachten sind (Trock et al., 2001).

Einen weiteren Aspekt beleuchtet die Studie von Bunning et al. (2002). Es wurden insgesamt zwölf Pferde verschiedenster Herkunft und Alters experimentell mit WNV infiziert. Die Infektion erfolgte über virustragende Mücken der Spezies *Aedes albopictus* (Abbildung 30 zeigt die adulte Mücke und Abbildung 31 das Larvenstadium). Es wurden zwei verschiedene Virusisolate verwendet, zum einen aus dem Gehirn eines Pferdes (BC787), zum anderen aus dem Gehirn einer Krähe (NY99-6625), wobei es sich in beiden Fällen um Virusisolate des Subtyps NY99 handelte. Nach erfolgter Infektion wurde sowohl die auftretenden Antikörpertiter gemessen, als auch WNV-freie *Aedes albopictus* auf die entsprechenden Pferde angesetzt. Nur eines der infizierten Pferde entwickelte eine klinische sichtbare Enzephalomyelitis, bei den anderen verlief die Infektion subklinisch. Die Virämierate wurde ebenfalls gemessen. Bei keiner Stechmücke, die bei einem infizierten Pferd eine Blutmahlzeit aufgenommen hatte,

konnte das Virus nachgewiesen werden. Insgesamt schließen die Autoren aus den Ergebnissen, dass Pferde im Rahmen einer WNV-Infektion nur geringe Virämieraten entwickeln und dies auch nur für einen kurzen Zeitraum von wenigen Tagen. Die höchste Virämie wurde am fünften postexpositionellen Tag erreicht. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass infizierte Pferde als Wirt für die Verbreitung des West-Nil-Virus in der Natur eher nicht in Frage kommen.



Abb. 30: *Aedes albopictus*, adult (Ellis, 2005), möglicher Vektor für WNV (experimentell nachgewiesen)



Abb. 31: *Aedes albopictus*, Larve

### 1.5.2 Andere Säugetiere als Naturreservoir für WNV

Neben Pferden sind auch bei anderen Säugetieren Infektionen mit WNV beschrieben worden, so berichten Kiupel et al. (2003) von drei Fällen einer WNV-Infektion bei nordamerikanischen Fuchshörnchen (*Sciurus niger*, Abbildung 32). Es handelte sich dabei um ein ausgewachsenes Exemplar und zwei Jungtiere, wobei das adulte Eichhörnchen tot aufgefunden worden war. Die Jungtiere zeigten verschiedenste Anzeichen einer neurologischen Erkrankung wie z.B. allgemeine Schwäche, Krämpfe, unkoordinierte Bewegungsabläufe, Tremor und Verhaltensstörungen. Auf Grund der Schwere der Erkrankung mussten die Jungtiere eingeschläfert werden. Die nachfolgende Obduktion der drei Tiere zeigte in allen Fällen eine Nephritis, nur bei dem ausgewachsenen Exemplar konnten Läsionen im Gehirn, am Herz, an der Leber und an der Lunge nachgewiesen werden. Mikroskopisch zeigte sich eine multifokale, nekrotisierende Myokarditis und eine diffuse Meningo-Enzephalitis. Bei zwei der drei

Tiere konnte mittels RT-PCR das West-Nil Virus, bei allen drei immunhistochemisch Antikörper nachgewiesen werden.

Platt untersuchte 2007, in wie weit bei einer Infektion mit WNV Streifen-Backenhörnchen (*Tamias striatus*, Abbildung 33) eine ausreichende Virämie erleben, um als Reservoir in Frage zu kommen. Die Ergebnisse zeigen, dass bis zu vier Tage eine ausreichend hohe Anzahl von Viren zirkuliert, so dass eine Infektion von *Culex pipiens* bzw. *Aedes triseriatus* und *Aedes vexans* bei einer Blutmahlzeit möglich ist. Des Weiteren war der Nachweis von WNV teilweise auch im Urin, Speichel und in den Fäces der infizierten Streifenhörnchen möglich. Der Autor geht daher davon aus, dass *Tamias striatus* unter Umständen eine Rolle sowohl im zoonotischen WNV-Zyklus, als auch bei der Übertragung auf Menschen spielen kann.



Abb. 32: *Sciurus niger*,  
Nordamerikanisches Fuchshörnchen,  
Reservoir für das West-Nil-Virus auf dem  
nordamerikanischen Kontinent



Abb. 33: *Tamias striatus*,  
Streifen-Backenhörnchen,  
Reservoir für das West-Nil-Virus auf dem  
nordamerikanischen Kontinent

### 1.5.3 Vögel als WNV-Reservoir

Aus den Erfahrungen des Erstausbruchs von WNV in der Stadt New York heraus diskutieren Eidson et al. (2001), ob ein Meldesystem für tote Vögel als Frühwarnsystem für den Ausbruch einer WNV-Epidemie tauglich ist. Anhand der Daten aus dem Jahr 1999 war hierzu keine klare Aussage möglich, allerdings war die Sichtung von toten Krähen der Auslöser dafür, dass nach Virusaktivitäten auch bei anderen Spezies gesucht wurde. Anhand der Daten aus dem Jahr 2000 wird durch die Autoren dargestellt, dass ein Surveillance-System bezüglich der Sichtung toter Vögel, in erster Linie Krähen, hilfreich sein kann, um einen Hinweis auf entsprechende Virusaktivität in der Vogelpopulation zu bekommen. In den meisten Regionen wurden die ersten positiven Testungen auf WNV bei Vögeln vor den ersten humanen Fällen gemeldet. Allerdings war der zeitliche Abstand zu gering, als dass auf Grund des Nachweises von WNV bei toten Vögeln spezifische Maßnahmen zum Schutz vor Übertragung auf den Menschen getroffen werden konnten. Als wesentliche Grundlagen für ein funktionierendes Warnsystem werden die öffentliche Aufmerksamkeit und die Meldemoral gesehen. Hier sind umfassende Aufklärungskampagnen notwendig, um eine ausreichende Sensibilisierung der Bevölkerung zu erreichen. Nur so kann sichergestellt werden, dass tote Vögel den zuständigen Behörden gemeldet und zeitgerecht einer Untersuchung zugeführt werden können.

Im Rahmen der oben beschriebenen Überwachung konnten die folgenden Vogelarten als mögliche Wirte für WNV ausgemacht werden:

- Amerikanische Krähe (*Corvus brachyrhynchos*), mit bis zu 79% aller betroffenen Vögel – Abbildung 34
- Blauhäher (*Cyanocitta cristata*) – Abbildung 35
- Fischkrähe (*Corvus ossifragus*)
- Amerikanisches Rotkehlchen (*Turdus migratorius*)
- Hausperling (*Passer domesticus*)

Nach LaDeau et al. (2007) hat die Gesamtpopulation der Amerikanischen Krähe in den USA seit der Einschleppung des Virus eine Reduktion von bis zu 45 % erfahren.





Abb. 34: *Corvus brachyrhynchos*,  
Amerikanische Krähe (USGS, 2006),  
Reservoir für das West-Nil-Virus



Abb. 35: *Cyanocitta cristata*,  
Blauhäher (USGS, 2006),  
Reservoir für das West-Nil-Virus

Gancz et al. publizierten in 2006 eine Studie, in der auch Eulen als Reservoir für WNV detektiert wurden. Insgesamt waren 82 Eulen untersucht worden, wobei elf nordamerikanische und eine Altwelteule an der Infektion verstorben waren. Die Spannweite der Symptome war groß. Es waren im Erkrankungsfall mehrere Organe betroffen, als dies bisher für Eulen bekannt war. Zwei Muster der Antigenverteilung konnten festgestellt werden: Eines betraf das Blut und alle großen Organe; beim zweiten war das Antigen nur spärlich, d.h. lokalisiert und nicht im Blut zu finden. Das erste Muster trat bei Spezies aus dem nördlichen Verbreitungsbereich auf, während das zweite Muster bei Eulen aus der südlicheren Zone beobachtet wurde. Letzteres schien mit einem protrahierten Krankheitsverlauf verbunden zu sein.

Bereits 2004 wiesen Gancz et al. darauf hin, dass eine Verbindung zwischen dem Brutgebiet und der Empfänglichkeit für das West-Nil-Virus bei Neuwelteulen besteht. Der in dieser Studie verwendete ELISA-Test für anti-WNV IgG zeigte eine gut Spezifität, der Korrelationskoeffizient zwischen positivem ELISA und positivem Neutralisationstest lag bei  $\kappa=0,875$ . Nemeth et al. benennen 2007 die Amerikanische Krähe als den wesentlichen Indikator für eine kursierende Infektion mit WNV unter Vögeln.

Ward et al. veröffentlichten 2006 eine Studie, welche die Meldemoral der Bevölkerung bezüglich toter Vögel überprüfen sollte. Hierzu wurden Krähenkadaver sowohl im ländlichen als auch im städtischen Bereich ausgebracht. Im städtischen Bereich wurden ca. 60 % der Köder entdeckt, und knapp 30 % gemeldet. Im ländlichen Bereich wurden 30 % der Kadaver entdeckt und nur 10 % überhaupt gemeldet. Insgesamt ist somit die Meldemoral in dieser Studie als nicht ausreichend zu bewerten und stellt den Sinn dieses Meldesystems in Frage.

Dennoch zeigt die Studie von Guptill et al. (2003), dass früh in der Übertragungssaison auftretende und tödlich verlaufende Infektionen bei Wild- und Nutzvögeln als Indikator für ein größeres Übertragungsrisiko des Virus auf Menschen genutzt werden kann. Je mehr Vögel im Frühling bzw. Frühsommer in den analysierten Gebieten tot aufgefunden worden waren, desto größer war auch die Wahrscheinlichkeit, dass eine humane Infektion stattfand.

Reed et al. untersuchten in einer großen Studie (2003) die Zusammenhänge zwischen Vogelpopulation, Vogelwanderung und dem Ausbruch verschiedener Zoonosen. Wildvögel stellen den zentralen Faktor im Übertragungszyklus des WNV dar. In den Vereinigten Staaten konnten über 110 Vogelspezies als mögliche Wirte identifiziert werden, wobei Krähen, Häher und Elstern eine besondere Rolle spielen, da sie an einer Infektion schwer erkranken und eine hohe Mortalitätsrate aufweisen. Dadurch kann eine erhöhte Mortalität in diesen Speziespopulationen als Indikator für die aktuelle Virusaktivität dienen. Andere Vogelspezies erkranken zwar ebenfalls, überwinden die Infektion jedoch nach wenigen Tagen und behalten eine lebenslange Immunität. Als Hauptvektor bei Vögeln identifizierten die Autoren *Culex* spp., allerdings konnte auch eine große Anzahl anderer Stechmückenarten als mögliche Vektoren ausgemacht werden. Insgesamt wird angenommen, dass das Virus im Jahr 1999 durch infizierte Vögel in die Vereinigten Staaten eingeschleppt wurde. Die Einschleppung über bereits infizierte Stechmücken oder gar über Säugetiere wird nahezu ausgeschlossen. Die rapide Ausbreitung der Infektion über den gesamten nordamerikanischen Kontinent innerhalb von drei Jahren ist wahrscheinlich auf Vogelwanderung zurückzuführen. Da in vielen Gebieten die notwendigen Parameter für eine Epidemie existieren – dicht besiedelte Regionen mit einer großen Anzahl empfänglicher Vogelspezies und

entsprechender Feuchtgebiete als Brutstätten für Stechmücken – kam es in der Folge zu zahlreichen humanen Ausbrüchen.

Komar et al. (2005) benennen, teilweise im Gegensatz hierzu, die folgenden Spezies als Hauptwirte – in Klammern die jeweilige Mortalitätsrate:

- Blauhäher (75 %) - *Cyanocitta cristata*
- Nördlicher Kardinal (22 %) - *Cardinalis cardinalis*
- Nördliche Spottdrossel (0 %) - *Mimus polyglottos*
- Haussperling (50 %) - *Passer domesticus*

Auf Grund der hohen Mortalität wird der Blauhäher als geeignetster Indikator für eine hohe Viruszirkulation erachtet. Spottdrossel und Kardinal können im Rahmen von gezielten Untersuchungen wegen der hohen Empfänglichkeit für das Virus ebenfalls als Indikator herangezogen werden. Die im Rahmen dieser Studie untersuchten Haushühner zeigten sich häufig empfänglich für eine Infektion, so dass sie als effektiver Wächter (Sentinel) im Rahmen der Tierhaltung dienen können. Insgesamt wird festgestellt, dass über den Sommer ansässige Zugvögel eine wesentliche Rolle in der Verbreitung des West-Nil-Virus spielen.

Hlinak et al. (2006) untersuchten in den Jahren 2001 und 2002 diverse Wildvögelspezies in Europa bezüglich verschiedener Viren. Insgesamt wurden 465 Schreitvögel (19 Spezies) und 165 andere Vögel untersucht. Es konnten 42 verschiedene Viren nachgewiesen werden, wobei sich keinerlei Hinweis auf das Vorhandensein von WNV ergab. Im Gegensatz hierzu konnten Jourdain et al. (2008) zeigen, dass von 271 in der Camargue gefangenen Elstern 29 Antikörper gegen das West-Nil-Virus besaßen.

## 1.6 Iatrogene Übertragung

### 1.6.1 Bluttransfusion

Wie bei vielen anderen Infektionskrankheiten auch, besteht bei West-Nil-Fieber die Möglichkeit, dieses über Blutspenden zu übertragen (Alter et al., 2007). Erstmals wurde im Jahr 2002 eine Übertragung von WNV durch eine Bluttransfusion beschrieben. Daraufhin wurde in den Vereinigten Staaten von Amerika sehr schnell ein Screening der Spenden auf Virus-RNA eingeführt, wobei die Proben von jeweils 16 Spendern gepoolt wurden. Seitens der Blutspendedienste wurde zur größeren Sicherheit häufig sogar eine Einzeltestung durchgeführt (CDC, 2007). Dies führte in der Rückschau dazu, dass 1425 Spenden in den Jahren zwischen 2003 und 2005 in 41 Staaten der USA als potentiell infektiös verworfen werden mussten und das Infektionsrisiko durch Blutspenden deutlich minimiert werden konnte. Vor der Einführung des Screenings kam 2002 zu 23 bestätigten Fällen, 2003 zu sechs betätigten Übertragungen bei initial 36 gemeldeten Fällen (Montgomery et al., 2006) und im Jahr 2004 nur noch zu einem Fall (CDC, 2007). Montgomery et al. (2006) schließen daraus, dass das Screening (Darstellung der Ergebnisse in den Abbildungen 36 bis 41) zwar erfolgreich die weitere Übertragung von WNV durch Blutspenden minimiert hat, allerdings weiterhin ein Restrisiko bei geringer Virämie im Spenderblut besteht. Insbesondere vor diesem Hintergrund wird hier ein Pooling der Proben deutlich abgelehnt.

Nach den vorliegenden Daten stellen sich, rückwirkend betrachtet, die Ergebnisse des eingeführten Screenings wie folgt dar (CDC, 2007 und 2008):

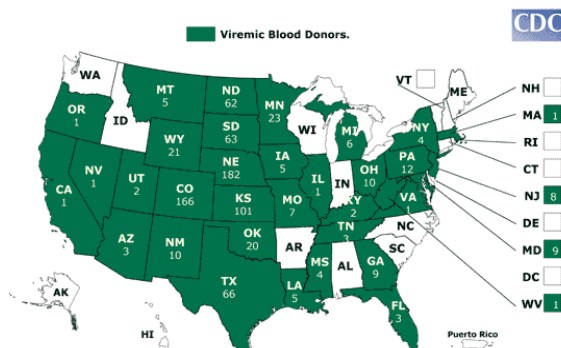


Abb. 36: Virämische Blutspender 2003

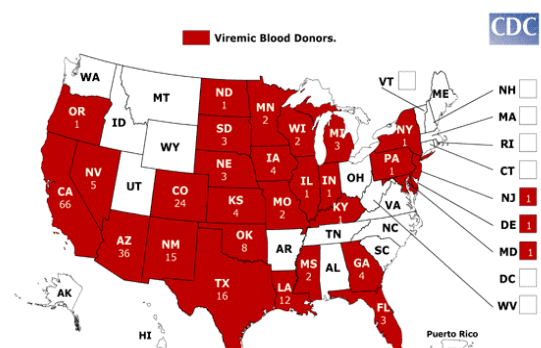


Abb. 37: Virämische Blutspender 2004

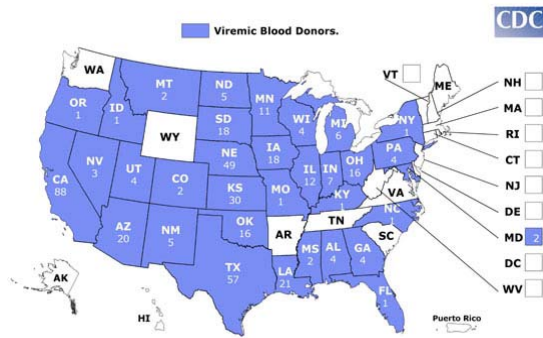


Abb. 38: Virämische Blutspender 2005

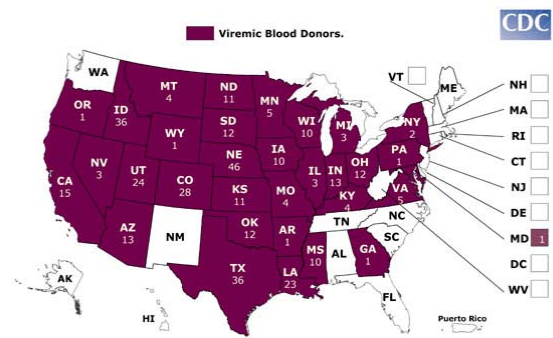


Abb. 39: Virämische Blutspender 2006

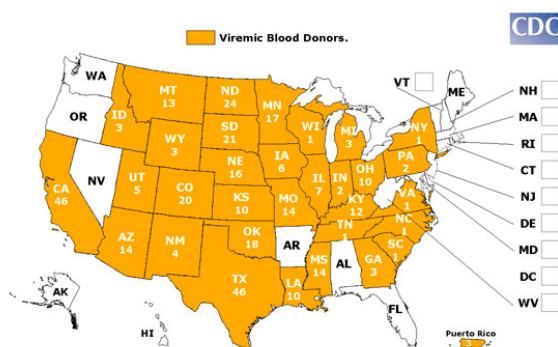


Abb. 40: Virämische Blutspender 2006

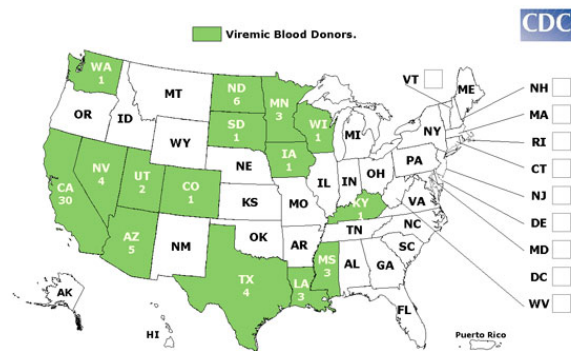


Abb. 41: Virämische Blutspender 2008  
Stand: 02.09.2008

AK	Alaska	IL	Illinois	NC	North Carolina	SC	South Carolina
AL	Alabama	IN	Indiana	ND	North Dakota	SD	South Dakota
AR	Arkansas	KS	Kansas	NE	Nebraska	TN	Tennessee
AZ	Arizona	KY	Kentucky	NH	New Hampshire	TX	Texas
CA	Kalifornien	LA	Louisiana	NJ	New Jersey	UT	Utah
CO	Colorado	MA	Massachusetts	NM	New Mexico	VA	Virginia
CT	Connecticut	MD	Maryland	NV	Nevada	VT	Vermont
DE	Delaware	ME	Maine	NY	New York	WA	Washington
FL	Florida	MI	Michigan	OH	Ohio	WI	Wisconsin
GA	Georgia	MN	Minnesota	OK	Oklahoma	WV	West Virginia
HI	Hawaii	MO	Missouri	OR	Oregon	WY	Wyoming
IA	Iowa	MS	Mississippi	PA	Pennsylvania		
ID	Idaho	MT	Montana	RI	Rhode Island		

MacLennan und Williamson diskutieren 2006 die Möglichkeit, dass WNV auch durch Thrombozytenspenden und die Gabe von FFP übertragen werden kann, wobei das Risiko hierfür jedoch als sehr gering eingeschätzt wird.

Dies wird durch eine Studie von Sánchez-Guerrero et al. (2006) bestätigt, die in Mexiko insgesamt 3856 Spenden und 3741 FFP-Präparate aus nahezu allen Landesteilen

hinsichtlich IgM-Antikörpern auf WNV und auf WNV-RNA untersucht hatten. Insgesamt konnten in einer der 3856 Spenden (entspricht 0,03 %) sowohl Antikörper als auch WNV-RNA nachgewiesen werden, was für eine kürzlich erfolgte Infektion des Spender, der keinerlei Symptomatik gezeigt hatte, sprach. In den FFP-Präparaten konnte in keinem Fall WNV-RNA nachgewiesen werden.

In Europa wurde eine vergleichbare Studie durch Koppelman et al. (2006) veröffentlicht, in welcher im Jahr 2004 in 61.992 Blutspenden aus Holland der Nachweis von WNV-RNA versucht wurde. Allerdings waren hier Proben aus je acht Spenden gepoolt worden, so dass insgesamt 7749 Proben mittels eines industriellen Testverfahrens untersucht worden waren. In keiner Probe konnte WNV-RNA nachgewiesen werden, so dass die Autoren hieraus schlossen, dass im Jahr 2004 das Virus in Holland nicht zirkulierte. Es wird jedoch angemerkt, dass hieraus nicht der Schluss gezogen werden kann, dass eine Testung bezüglich WNV auch in Zukunft unterlassen werden kann, da eine Vorhersage der Verbreitung durch den komplexen Übertragungszyklus extrem schwierig ist. Letztendlich müssen diese Ergebnisse dahingehend diskutiert werden, dass hierbei Spenden gepoolt worden waren und so bei einer geringen Virämie ein Nachweis auf Grund des Verdünnungsfaktors womöglich gescheitert ist. Von diagnostischem Vorteil in den Niederlanden ist hierbei, dass das FSME-Virus dort nicht endemisch ist, so dass Kreuzreaktionen dort bei der Nutzung kommerzieller Testverfahren zum AK-Nachweis nicht oder deutlich seltener auftreten dürften, z.B. nach FSME-Impfung.

Zusammenfassend wird durch Couissiner-Paris (2006) angemerkt, dass durch die unerwartete Ausbreitung des West-Nil-Virus in den USA der Fokus auf bisher unerwartete Übertragungswege gerichtet wurde, hauptsächlich durch Blutspenden oder Organtransplantation, aber auch die intrauterine Übertragung oder die sporadische Übertragung durch das Stillen.

### **1.6.1.1 Blutspendedienst der Bundeswehr**

Die Bundeswehr verfügt bereits seit über 40 Jahren über einen eigenen Blutspendedienst, welcher vom Zentralen Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr in Koblenz betrieben wird (Müller-Pfaff, 2006). Die flächendeckend in allen Kasernen in Deutschland und teilweise auch im benachbarten EU-Ausland gewonnenen Vollblutspenden von Soldaten und zivilen Mitarbeitern werden im Institut selbst zu leukozytenarmem Erythrozytenkonzentrat (Erythrozytenkonzentrat LD PAGGS-M Blutspendedienst der Bundeswehr, Deutsche Bundeswehr, Sanitätsamt der Bundeswehr, PEI.H.03172.01.101.12.2004) und Fresh Frozen Plasma (Gefrorenes Frischplasma LD Blutspendedienst der Bundeswehr, Deutsche Bundeswehr, Sanitätsamt der Bundeswehr PEI.H.03037.01.130.04.2004) weiter verarbeitet. Alle notwendigen Untersuchungen im Rahmen der Qualitätssicherung werden ebenfalls durch das Institut gewährleistet. In erster Linie deckt die Bundeswehr aus diesen Spenden den Eigenbedarf an Blutprodukten für die laufenden Auslandseinsätze und die Bundeswehrkrankenhäuser. Besteht kein entsprechender Eigenbedarf, so werden insbesondere Erythrozytenkonzentrate im Rahmen der zivilmilitärischen Zusammenarbeit an andere Spendedienste oder zivile Krankenhäuser entgeltlich abgegeben.

Im Jahr 2006 wurden bei insgesamt 256 Blutspendeterminen 38.355 Vollblutspenden gewonnen (Tätigkeitsbericht Blutspendedienst Bundeswehr, 2006), wobei 1.738 Spenden bereits im Rahmen der Gewinnung verworfen werden mussten (4,53 %). Die Verluste bei der weiteren Verarbeitung und die hierfür ausschlaggebenden Gründe, sind der Tabelle 1 zu entnehmen. So mussten bei der Produktion von Erythrozytenkonzentraten von 36.617 Spenden 2.429 (6,63 %) wegen auffälligen Laborbefunden verworfen werden, 2.267 (6,19 %) wurden nach der abschließenden Qualitätskontrolle nicht für die Verabreichung an Patienten frei gegeben. Produktionsmängel wiesen 655 Präparate auf (1,79 %). Bei der Plasmaproduktion wurden insgesamt 2590 Spenden wegen auffälliger Laborbefunde verworfen (7,36 %), 530 wiesen Produktionsmängel auf (1,51 %) und 829 (2,36 %) durchliefen die abschließende Qualitätskontrolle mit einem negativen Ergebnis.

Tabelle 1: Leistungsbilanz Blutspendedienst Bundeswehr im Jahr 2006,  
(absolute Zahlen)

<b>Blutspenden gesamt</b>	38.355	<b>gefrorenes Frischplasma</b>	
Verlust bei Gewinnung	1.738	Verlust bei Produktion gesamt	53
verbliebene Spenden	36.617	durch auffällige Laborbefunde	39
		durch Produktionsmängel	1
		nach Qualitätskontrolle	13
		freigegebene Produkte	747
<b>Erythrozytenkonzentrate</b>		<b>gefrorenes Industrieplasma</b>	
Verlust bei Produktion gesamt	5.351	Verlust bei Produktion gesamt	3.896
durch auffällige Laborbefunde	2.429	durch auffällige Laborbefunde	2.551
durch Produktionsmängel	655	durch Produktionsmängel	529
nach Qualitätskontrolle	2.267	nach Qualitätskontrolle	816
freigegebene Produkte	31.266	freigegebene Produkte	31.295

Initial werden alle zur weiteren Verarbeitung vorgesehenen Blutspenden mittels Automaten-ELISA bzw. klinisch-chemischem Automatentest untersucht. Bei positiven Testergebnissen wird eine manuelle Kontrolle durchgeführt. Tabelle 2 enthält eine Aufstellung der entsprechenden Laborleistungen.

Tabelle 2: erbrachte Laborleistungen des Blutspendedienst Bundeswehr im Jahr 2006 zur Testung der gewonnenen Blutspenden

Lues mittels Automaten-ELISA	37.907
Kontrolle bei positivem Ersttest	3.155
	8,32 %
Anti-HIV-1+2 mittels Automaten-ELISA	37.907
Kontrolle bei positivem Ersttest	3.349
	8,83 %
Anti-HBc-Screening mittels Automaten-ELISA	37.907
Kontrolle bei positivem Ersttest	3.643
	9,61 %
HB <sub>s</sub> AG-Screening mittels Automaten-ELISA	37.907
Kontrolle bei positivem Ersttest	3.592
	9,48 %
Anti-HCV mittels Automaten-ELISA	37.907
Kontrolle bei positivem Ersttest	2.890
	7,62 %
GPT-Bestimmung mittels klin.-chem. Automatentest	37.907
Kontrolle bei GPT > 50 U/l	1.288
	3,40 %



### **1.6.2 Organtransplantation**

Viele Zoonosen, wie z.B. die West-Nil-Virusinfektion, Chagas-Krankheit, Toxoplasmose und Tollwut, können im Rahmen einer Organtransplantation bzw. der Übertragung von Stammzellen vom Spender auf den Empfänger transferiert werden (Kotton, 2007). Hier muss gemäß Sweny (2006) kontinuierlich weiter geforscht werden.

Smith und McDonald verweisen 2006 ebenfalls auf das potentielle Risiko, im Rahmen einer Organspende eine aktive WNV-Infektion auf den Empfänger zu übertragen.

Bereits 2005 sieht Hoekstra in der Ausbreitung des West-Nil-Virus eine neue Herausforderung für Transplantationsprogramme. In seiner retrospektiven Studie beschreibt er, dass die Morbidität und Mortalität im Zusammenhang mit WNV-Infektionen bei Transplantatempfängern alarmierend hoch ist und Behandlungsmöglichkeiten auf Grund der mangelnden Erfahrung mit der Virusübertragung nur im geringen Maße vorhanden sind.

Unter anderen berichten Armali et al. (2003) von einem Fall in Israel, bei dem es im Rahmen einer Nierentransplantation zur einer Infektion mit WNV über das Spenderorgan kam. Der Patient zeigte Meningitissymptomatik, welche unter einer Kombinationstherapie, u.a. mit Aciclovir, deutlich rückläufig war. Es kam nicht zu einer Abstoßungsreaktion; die Infektion heilte folgenlos aus.

Im August 2002 erkrankten vier Empfänger verschiedener Organe eines Spenders an WNV (Iwamoto et al., 2003). Der Erreger konnte sowohl bei dem Spender als auch bei allen Empfängern nachgewiesen werden. Drei der Empfänger erkrankten an einer Enzephalitis, bei einem trat lediglich Fieber auf. Bei drei Empfängern traten im Verlauf IgM-Antikörper auf. Bei einem Empfänger konnte Virus-RNA im Hirngewebe post mortem nachgewiesen werden. Die Blutuntersuchung beim Spender hatte im Vorfeld keinerlei Hinweise auf eine WNV-Infektion ergeben, weder bei der Aufnahme noch unmittelbar nachdem der spätere Organspender insgesamt Bluttransfusionen von 63 Spendern erhalten hatte. Die zur Zeit der letztendlichen Organentnahme gewonnenen Blutproben wurden getestet und waren positiv auf Virus-RNA. Im Rahmen einer

Nachuntersuchung konnte einer dieser Blutspender als Quelle identifiziert werden. Zur Zeit der Spende war er bereits mit WNV infiziert, innerhalb von zwei Monaten nach der Spende fand die Serokonversion statt, IgM-Antikörper konnten nachgewiesen werden. Die Autoren schließen aus diesem Fallbericht, dass Organempfänger, insbesondere unter der Berücksichtigung der Immunsuppression, unter gewissen Umständen ein hohes Risiko für eine WNV-Infektion tragen, wobei im hier beschriebenen Fall die Infektionsquelle für den Organspender bei einer Bluttransfusion lag.

Im September 2005 wurden durch das CDC drei Infektionen von Organempfängern durch einen Spender mit WNV bestätigt. Der Organspender stammte aus New York und hatte auf Grund eines Traumas eine epidurale Blutung entwickelt. Im Rahmen der chirurgischen Intervention wurde eine Einheit Erythrozytenkonzentrat infundiert. Drei Tage nach dem Eingriff wurde der Patient für hirntot erklärt und Leber, ein Lungenflügel sowie beide Nieren explantiert. Die Leber und beide Nieren wurden im Staat New York in drei Patienten implantiert, die Lunge ging an einen Patienten in Pittsburgh. Nachdem zwei der Empfänger neurologische Symptome entwickelt hatten, wurde eine Untersuchung begonnen, wobei folgende Erkenntnisse gewonnen wurden:

- Der Spender lebte in einem Gebiet, in dem kurz vor seinem Tod das West-Nil-Virus in Stechmücken nachgewiesen werden konnte
- In einer post mortem entnommenen Blutprobe des Spenders konnten Antikörper der Klassen IgM und IgG gegen WNV nachgewiesen werden, der Nachweis von Virus-RNA mittels PCR gelang nicht.
- Das im Rahmen der Behandlung transfundierte Erythrozytenkonzentrat war frei von WNV

Bezüglich der Empfänger wird der folgende Verlauf beschrieben:

- a) Leber: akute Enzephalitis 18 Tage nach Transplantation, Therapieversuch mit spezifischen Immunglobulinen aus Israel, komatöser Verlauf. Alle im Rahmen der Transplantation erhaltenen Blutprodukte konnten als Infektionsquelle ausgeschlossen werden.
- b) Lunge: akute Enzephalitis 16 Tage nach Transplantation, Therapieversuch mit spezifischen Immunglobulinen aus Israel, komatöser Verlauf.

- c) Niere 1: keine Symptomatik, IgG-AK positiv, IgM-AK negativ bezüglich WNV, was für eine vormals stattgehabte Flavivirusinfektion spricht, dennoch wurde aus forensischen Gründen eine Therapie mit spezifischen Immunglobulinen eingeleitet.
- d) Niere 2: keine Symptomatik, kein Nachweis von Antikörpern gegen WNV, aus forensischen Gründen eine Therapie mit spezifischen Immunglobulinen.

Zusammenfassend wird festgestellt, dass Organempfänger gegenüber der Normalbevölkerung ein 40-fach höheres Risiko tragen, nach einer Infektion mit West-Nil-Virus eine Enzephalitis zu entwickeln (Kumar et al., 2004). Infizierte Organempfänger und Patienten, welche aus anderen Gründen einer immunsuppressiven Therapie unterliegen, zeigen eine verlängerte Inkubationszeit, in der eine Virämie nachgewiesen werden kann (Pealer et al., 2003).

Hong et al. (2003) und Reddy et al. (2004) beschreiben jeweils Fälle, in denen eine West-Nil-Infektion im Rahmen der Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen übertragen worden war. Alle beschriebenen Fälle verliefen tödlich, wobei die vor der Transplantation stattgehabte Chemotherapie bzw. Immunsuppression das Auftreten von schwersten neurologischen Erkrankungsbildern eindeutig begünstigt hat.

### ***1.7 Monitoring von Meningitiden in Deutschland***

Gemäß dem Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (IfSG) bestehen in der derzeit gültigen Fassung vom 31.01.2006 folgende Meldepflichten:

- Namentliche Meldung bei Verdacht, Erkrankung oder Tod an einer durch Meningokokken hervorgerufenen Meningitis (nach § 6 IfSG).
- Namentliche Meldung bei direktem oder indirektem Nachweis des FSME-Virus, soweit der Nachweis auf eine akute Infektion hinweist (nach § 7 IfSG).

Eine Meldepflicht für Infektionen mit dem West-Nil-Virus besteht ausdrücklich nicht, bezüglich Dengue und anderer Flaviviren ergibt sich eine Meldepflicht nur dann, wenn ein hämorrhagisches Fieber auftritt (nach § 6 IfSG). Im Rahmen der Diagnostik einer Meningitis wird daher in erster Linie geprüft, ob eine bakterielle Meningitis vorliegt. Kann diese ausgeschlossen werden, so ist im nächsten Schritt eine Infektion mit FSME auszuschließen bzw. zu bestätigen. Im Falle eines negativen FSME-Nachweises wird keine weiterführende Diagnostik bei isolierter Meningitis/Enzephalitis durch die gesetzlichen Bestimmungen gefordert, so dass diese aus Kostengründen in vielen Fällen unterbleibt. Auf Grund der bisher fehlenden Therapieoptionen im breiten Spektrum der viralen Meningitiden ist der genaue Erregernachweis allenfalls von akademischen Interesse. Einzig bei einer durch Herpesviren bedingten Enzephalitis ist eine spezifische Therapie mit antiviralen Substanzen, wie z.B. Aciclovir, möglich. Letztendlich ist eine Vielzahl von Viren in der Lage, entweder eine Meningitis oder eine Menigo-Enzephalitis aus zu lösen, wobei die rein meningitische Form wesentlich häufiger auftritt. Noch Ende der 80er Jahre kam es auf Grund fehlender valider Testsysteme dazu, dass die endgültige Diagnose mittels Viruskultur erst dann vorlag, wenn der Patient wieder symptomfrei war (Chonmaitree et al., 1989). Dieser Sachverhalt und die mangelnden, über die rein symptomatische Therapie hinaus gehenden Therapieoptionen haben dazu geführt, dass eine weiterführende Diagnostik bei serösen/nicht-eitrigen und somit viralen Meningitiden unterblieb. An diesem Status quo hat sich auch mit der Einführung valider und schnell verfügbarer serologischer Testsysteme nichts Wesentliches geändert. Noch heute wird bei 70 % aller viralen Meningitiden kein Erregernachweis geführt (Nationale Kommission für die Polioeradikation in der Bundesrepublik Deutschland, 2006).

Folgende Viren bzw. durch Viren verursachte Erkrankungen können zu Meningitiden bzw. Menigo-Enzephalitiden führen:

- Enteroviren (wie z.B. Polio, Coxsackie, Echoviren)
- Reoviren
- Herpesviren
- Togaviren
- Bunyaviren

- Flaviviren
- HIV
- CMV
- EBV
- Lymphatische Chorionmeningitis
- Masern
- Röteln
- Tollwut
- Mumps

Die zur Gruppe der Enteroviren gehörenden Erreger sind für 85 bis 95 % der Erkrankungen verantwortlich (Beaman et Wesselingh, 2002), wobei in den letzten Jahren in erster Linie Infektionen mit Echoviren beschrieben wurden (Böttner et al., 2002). Insbesondere bei Gruppenerkrankungen, welche gehäuft in den Sommermonaten auftraten, konnten Echoviren als auslösendes Agens identifiziert werden (Hauri et al., 2005). Es bleibt zu diskutieren, ob eine weitergehende Diagnostik auch bei viralen Meningitiden zukünftig durchgeführt werden sollte, da neue Studien darauf hinweisen, dass bei WNV-Infektionen eine Therapieoption besteht. Lewis und Amden (2007) beschreiben einen erfolgreichen Therapieversuch mit Interferon alpha-2 bei einem 83-jährigen Patienten. Zur Therapie mit Ribavirin liegen derzeit noch keine gesicherten Daten vor. Im Tierversuch war die alleinige Gabe von Ribavirin nicht Erfolg versprechend (Morrey et al., 2004).

### **1.7.1 Monitoring von Meningitiden und Enzephalitiden bei der Bundeswehr**

Im Rahmen der Erfassung aller Erkrankungen, die zu einer Befreiung von Dienstpflichten bei der Bundeswehr führen (gemäß ZDv 45/2 „Gesundheitsberichte“), ist retrospektiv eine Auswertung bezüglich der gestellten Diagnosen möglich. Die Ergebnisse dieser Auswertung für die Jahre 2000 bis 2006 können der Tabelle 3 entnommen werden. Es muss hierbei allerdings in Betracht gezogen werden, dass hierbei auch nicht-infektiöse Erkrankungen als Meningitis/Enzephalitis erfasst werden können, so wird die Enzephalitis disseminata ebenfalls in dieser Rubrik erfasst. Eine

Heranziehung der Krankenkarten, in denen sowohl die Diagnoseschlüsselnummer als auch die Diagnose als Klartext angegeben wird, ermöglicht eine detailliertere Datenbetrachtung.

Tabelle 3: Krankenzugang von Soldaten der Bundeswehr insgesamt und nach ausgewählten Obergruppen und Diagnosen (ICD 10) von 2000 bis 2006 (WehrMedStatInst, 2007) hier: bestimmte infektiöse/parasitäre Erkrankungen, davon Krankheiten des Nervensystems, darunter Meningitis/Enzephalitis. Inzidenz angegeben in Promille bezüglich der jeweiligen Ist-Stärke

Merkmale	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006*
	- Anzahl -						
Krankenzugang insgesamt	167 664	176 413	149 873	143 168	131 693	125 666	121 200
Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten	18 576	21 270	21 542	19 994	21 087	16 307	17 970
Krankheiten des Nervensystems	1 208	1 342	117	1 160	1 022	1 023	1 025
Meningitis/Enzephalitis	50	40	37	34	42	29	18
	- auf 1 000 Soldaten der Ist-Stärke (‰ d.I.) -						
Krankenzugang insgesamt	528,0	573,5	502,8	504,9	488,2	496,1	486,3
Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten	58,5	69,1	72,3	70,5	78,2	64,4	72,1
Krankheiten des Nervensystems	3,8	4,4	3,9	4,1	3,8	4,0	4,4
Meningitis/Enzephalitis	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1

\*Zahlen sind vorläufig

Nach Auswertung der vorliegenden Krankenkarten ergeben sich folgende bereinigten Daten zu Enzephalitis und Meningitis ohne Enzephalitis disseminata, Meningokokken-Meningitis, Myelitis und sonstige meningiale Reizungen, die in Tabelle 3a dargestellt werden.

Tabelle 3a: Bereinigte Meldedaten zu Tabelle 3

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006*
Meningitis/Enzephalitis	27	27	20	17	27	18	10
auf 1000 der Ist-Stärke	0,09	0,09	0,07	0,06	0,10	0,07	0,04

\*Zahlen sind vorläufig

## **1.8 Immunreaktion**

Bei der Immunabwehr kann zwischen einer unspezifischen, angeborenen und einer spezifischen, erworbenen oder adaptiven Immunabwehr unterschieden werden. In den Körper eindringende Fremdstoffe, so auch Viren, stellen Antigene dar, auf die das Abwehrsystem mittels Aktivierung und Vermehrung monospezifischer T- und B-Lymphozyten reagiert. Die B-Lymphozyten differenzieren hierbei zu Plasmazellen, welche Antikörper (= Immunglobuline) der Unterklassen IgA, IgD, IgE, IgM und IgG produzieren (spezifische humorale Immunabwehr). Die produzierten Antikörper neutralisieren die Antigene, opsonisieren diese und aktivieren das Komplementsystem. Im Rahmen einer viralen Erstinfektion wird zunächst Immunglobulin M, in der Folge auch Immunglobulin G synthetisiert, wobei diese spezifische Immunreaktion mit einer Zeitverzögerung nach der Infektion in Gang kommt (Primärantwort). Im Rahmen einer Zweitinfektion setzt die Antikörperproduktion, hier in erster Linie IgG, schlagartig ein, man spricht von der Sekundärantwort (Silbernagel et Lang, 1998).

Eigenschaften der Immunglobuline (Riede et Wehner, 1989):

### 1. IgG

- ⇒ Zeigt von allen Immunglobulinen im Allgemeinen die höchste Konzentration im Serum auf
- ⇒ Neutralisierende AK im bei bakterieller Abwehr
- ⇒ Lösen bei der humoralen Immunreaktion die zunächst auftretenden IgM-AK ab
- ⇒ Hauptantikörper der Sekundärantwort
- ⇒ In Körperflüssigkeiten
- ⇒ Antigen-spezifisch

### 2. IgA

- ⇒ Polymere und monomere Form
- ⇒ In der polymeren Form Hauptimmunglobulin in Körpersekreten (sIgA) des Respirations- und Verdauungstraktes
- ⇒ Aktivierung Komplementsystem

### 3. IgM

- ⇒ Erste spezifische AK bei der humoralen Immunreaktion
- ⇒ Aktivierung Komplementsystem
- ⇒ Beteiligung an zytotoxischen und zytolytischen Reaktionen

### 4. IgD

- ⇒ Membrangebundener Rezeptor der B-Lymphozyten
- ⇒ Rascher Abbau im Serum

### 5. IgE

- ⇒ Hauptsächlich im lymphatischen Gewebe des Respirations- und Verdauungstraktes
- ⇒ in erster Linie bei parasitären Infektionen
- ⇒ Anbindung an Mastzellen

Im Rahmen einer Infektion mit WNV werden Antikörper der Klassen IgM, IgA und IgG gebildet. Prince et al. (2005) zeigten in ihrer Studie, dass frühestens am dritten Infektionstag Antikörper der Klassen IgM und IgA im Serum nachweisbar waren. Spätestens am neunten Infektionstag konnten bei allen getesteten Patienten WNV-spezifisches IgM und IgA nachgewiesen werden. Antikörper der Klasse IgG traten frühestens am vierten Infektionstag auf, spätestens am sechzehnten Tag waren alle Seren positiv getestet. In durchgeführten Folgeuntersuchungen konnten die Autoren aufzeigen, dass im Gegensatz zu anderen Infektionen mit Flaviviren, bei einer Infektion mit WNV bis zu sechs Monaten nach Infektion sowohl Antikörper der Klasse IgM als auch der Klasse IgA im Serum nachweisbar blieben.

Nixon und Prince (2006) konnten nachweisen, dass zur Diagnostik einer WNV-Infektion der Nachweis von IgA im Liquor äquivalent zum Nachweis von WNV-IgM im Liquor ist, das Gleiche gilt auch für den Nachweis im Serum, unabhängig davon, ob im Rahmen der akuten Infektion bereits Antikörper der Klasse IgG gebildet wurden. Die Entwicklung von Antikörpern der Klasse IgM im Liquor ist in Abbildung 42 im Bezug zur Virämie und dem Auftreten klinischer Symptome dargestellt.



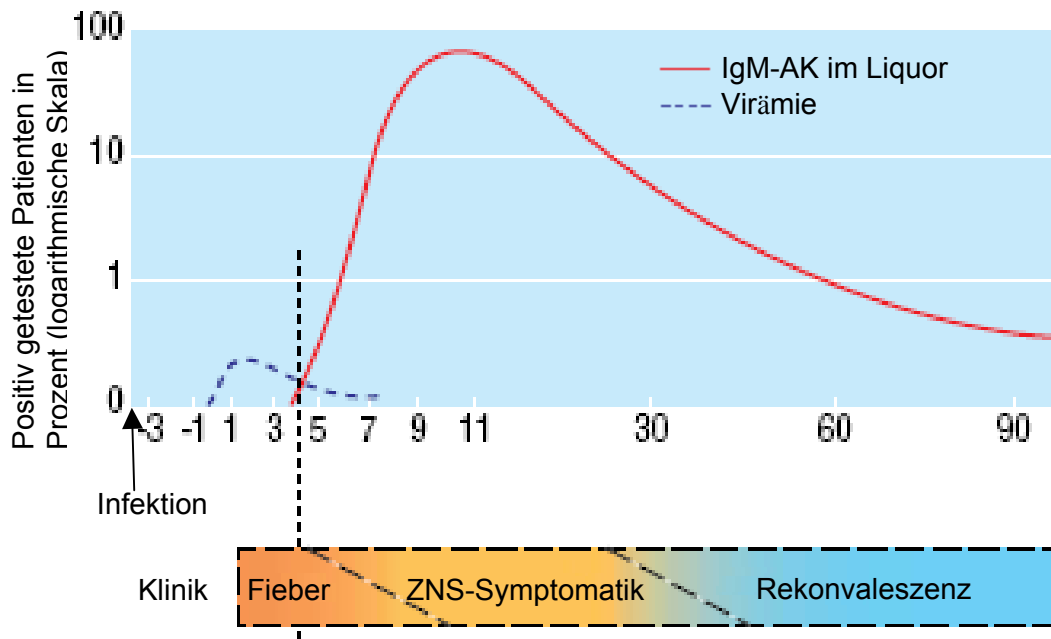


Abb. 42: Klinischer Verlauf WNV-Enzephalitis: Virämie und AK-Entwicklung nach Infektion (Solomon et al., 2003); blaue Kurve zeitlicher Verlauf der Virämie, rote Kurve zeitlicher Verlauf der IgM-AK im Liquor, jeweils im Bezug zur klinischen Symptomatik; Y-Achse: Anzahl der jeweils positiv getesteten Patienten in Prozent (logarithmische Skala)

## 1.9 Impfwesen

### 1.9.1 Impfpflichtung des Robert Koch-Institutes

Das Robert Koch-Institut veröffentlicht in regelmäßigen Abständen die Impfpflichtung der STIKO. Derzeit gelten für Deutschland die folgenden Impfpflichtungen, welche der Tabelle 4 zu entnehmen sind (Stand 21.06.07).

Tabelle 4: allgemeine Impfpfhlung der STIKO (2007) ohne Indikationsimpfungen

	Tetanus	Diphtherie	Pertussis	Haemophilus influenza	Polio (IPV)	MMR	Hepatitis B	Pneumokokken	Meningokokken Meningitis	Varizellen	Human papilloma Virus	Influenza
Säuglinge	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
Kinder und Jugendliche	✓	✓	✓		✓		✓			✓	✓ <sup>2</sup>	
Erwachsene	✓	✓						✓ <sup>1</sup>				✓ <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Erwachsene ab dem sechzigsten Lebensjahr

<sup>2</sup> Mädchen im Alter von 12 bis 17 Jahren

Alle anderen Impfungen gelten als Indikationsimpfungen für entsprechend exponierte Personen oder als Reiseimpfungen. Für die durch die STIKO empfohlenen Impfungen können die Kostenträger durch das Bundesministerium für Gesundheit verpflichtet werden, die hierfür anfallenden Kosten zu übernehmen (IfSG, 2006). Die obersten Landesgesundheitsbehörden werden angehalten, die Empfehlungen der STIKO umzusetzen. Sie sind in diesem Zusammenhang jedoch berechtigt, diese entsprechend der örtlichen Gegebenheiten ab zu ändern oder zu erweitern.

In § 60, Abs. 1 des Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz / IfSG) ist bezüglich Impfschäden nachstehend festgelegt:

- (1) Wer durch eine Schutzimpfung oder durch eine andere Maßnahme der spezifischen Prophylaxe, die
1. von einer zuständigen Landesbehörde öffentlich empfohlen und in ihrem Bereich vorgenommen wurde,
  2. auf Grund dieses Gesetzes angeordnet wurde,
  3. gesetzlich vorgeschrieben war oder
  4. auf Grund der Verordnungen zur Ausführung der Internationalen Gesundheitsvorschriften durchgeführt worden ist, eine

gesundheitliche Schädigung erlitten hat, erhält nach der Schutzimpfung wegen des Impfschadens im Sinne des § 2 Nr. 11 oder in dessen entsprechender Anwendung bei einer anderen Maßnahme wegen der gesundheitlichen und wirtschaftlichen Folgen der Schädigung auf Antrag Versorgung in entsprechender Anwendung der Vorschriften des Bundesversorgungsgesetzes, soweit dieses Gesetz nichts Abweichendes bestimmt.

Bezüglich der FSME-Impfung sind folgende Empfehlungen aktuell gültig (RKI, 2007):

- FSME-Impfung für Personen, die in den auf der Grundlage der epidemiologischen Daten definierten FSME-Risikogebieten zeckenexponiert sind.
- für bestimmte Personen, z. B. solche, die auf Grund von beruflichen oder bestimmten freizeitbedingten Tätigkeiten einer besonders intensiven Zeckenexposition ausgesetzt sind, auch in Gebieten ohne erhöhte FSME-Inzidenz, aber mit sporadischen FSME-Einzelerkrankungen. Hierbei muss aber beachtet werden, dass die Naturherde der FSME in solchen Kreisen unter Umständen örtlich sehr begrenzt sind, so dass die Mitarbeiter der zuständigen Gesundheitsämter sehr differenzierte Risikoeinschätzungen vornehmen müssen. Eine Beratung durch das örtliche Gesundheitsamt wird daher empfohlen.

Die Landessozialbehörde des Landes Baden-Württemberg hat von ihrem Recht der Erweiterung der Impfempfehlung Gebrauch gemacht und folgende Festlegung getroffen (GABI, 2001):

- Die FSME-Impfung wird ohne geographische Einschränkung empfohlen. Im Übrigen finden die Empfehlungen der STIKO Anwendung.

### **1.9.2 Impfwesen der Bundeswehr**

Im Rahmen der derzeit durch die Bundeswehr unterstützten internationalen Friedensmissionen bzw. UN-Missionen werden alle daran teilnehmenden Soldaten prophylaktisch, sofern keine Kontraindikationen bestehen, gemäß nachstehender Tabelle geimpft. Das Basisimpfschema ist für alle Einsatzkräfte der Bundeswehr vorgesehen. Treten in Folge einer Impfung nachteilige gesundheitliche Folgen auf, so

haftet hierfür der Dienstherr. Eine komplette Übersicht über alle derzeit implementierten Impfschemata ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Impfschemata der Bundeswehr (BMVg, 2006) für Auslandseinsätze

	Basisimpfschema	Bosnien-Herzegowina	Kosovo	Mazedonien	Afghanistan	Usbekistan	Horn von Afrika	Georgien	Sudan	Nato Response Force
Tetanus	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Diphtherie	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Polio (IPV)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
MMR	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hepatitis A	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hepatitis B	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Meningokokken Meningitis					✓	✓	✓		✓	✓
Typhus					✓	✓	✓	✓	✓	✓
FSME		✓ <sup>1</sup>	✓ <sup>1</sup>	✓ <sup>1</sup>				✓ <sup>1</sup>		✓
Tollwut					✓	✓ <sup>5</sup>		✓	✓	✓
Influenza	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Japanische Enzephalitis										✓
Gelbfieber							✓		✓	✓
Malaria-Prophylaxe					✓ <sup>2</sup>	✓ <sup>3</sup>	✓ <sup>4</sup>	✓ <sup>3</sup>	(✓) <sup>4</sup>	(✓) <sup>4</sup>

<sup>1</sup> nur für exponiertes Personal, saisonal

<sup>2</sup> Expositions- und ggf. Chemoprophylaxe nach Maßgabe Fachamt

<sup>3</sup> Expositionsprophylaxe

<sup>4</sup> Expositions- und/oder Chemoprophylaxe je nach Einsatzgebiet nach Maßgabe Fachamt

<sup>5</sup> nur ggf. exponiertes Personal

Erfolgte Impfungen werden sowohl in den Gesundheitsunterlagen der Soldaten sowie im Impfausweis „Internationale Bescheinigung über Impfungen und Impfbuch“ (VMBI, 2003) dokumentiert. Eine Kontrolle der Impftiter erfolgt nur in besonderen Ausnahmefällen, wie z.B. im Rahmen arbeitsmedizinischer Vorsorgeuntersuchungen.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Material**

#### **2.1.1 Blutgruppenbestimmung der Bundeswehr**

Im Rahmen der erweiterten Einstellungsuntersuchung wird bei jedem Soldaten der Bundeswehr, unabhängig davon, ob es sich um Wehrpflichtige oder Soldaten auf Zeit handelt, eine Blutabnahme zur Bestimmung der Blutgruppe durchgeführt. Der Blutspendedienst der Bundeswehr verfügt für diese Aufgabe über vier Blutentnahmetrupps, wobei jeder Trupp für eine bestimmte Region zuständig ist. Die Bestimmung der Blutgruppe erfolgt im Zentralen Institut der Bundeswehr in München.

In Zusammenarbeit mit den Blutentnahmetrupps Ost, Süd und West wurden in den Jahren 2005 und 2006 insgesamt 2447 Proben von freiwilligen Teilnehmern im Rahmen der Blutgruppenbestimmung gewonnen. Die Proben wurden im Zentralen Institut München abgesert, tiefgefroren und bis zur Antikörperbestimmung im Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr in München eingelagert. Von den vorgenannten 2447 Proben mussten initial 222 verworfen werden. Gründe hierfür waren entweder eine zu starke Verunreinigung der Seren durch stattgefundenen Hämolyse, oder die aus rechtlicher Sicht nicht eindeutig gegebene Einwilligung der Probanden wegen fehlender Unterschrift auf dem kombinierten Einwilligungs- und Fragebogen.

#### **2.1.2 Fragebogen**

Im Rahmen der Einwilligungserklärung wurde nach deren Bewertung und Genehmigung durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn folgende Parameter (Nr. 166/04 vom 22.09.04) abgefragt:

Impfungen in den vergangenen zwölf Monaten:

- FSME
- Gelbfieber
- Japanische Enzephalitis
- Meningokokken-Menigitis

Auslandsaufenthalte in den vergangenen drei Jahren und wenn ja, welche Länder wurden bereist.

Symptomatiken in den vergangene drei Jahren, hier explizit folgende Symptome bzw. Erkrankungen:

- Grippe oder grippaler Infekt
- Hautausschlag
- Hirn-/Hirnhautentzündung

Zur Bestimmung des Heimatregion wurden die ersten drei Ziffern der Postleitzahl erfasst, nachstehend eine verkleinerte Abbildung des Fragebogens (Abb. 43), in Originalgröße als Anlage 1.

Ident-Number:

#### Information für Probanden

Im Rahmen der Studie „West Nil Virusgefährdung bei Blutspendern der Bundeswehr und autochtones Vorkommen in Deutschland“ bittet der Sanitätsdienst der Bundeswehr Sie um Ihre Mithilfe. Durch die in den letzten Jahren in Mitteleuropa aufgetretenen Veränderungen bei Klima und Erregerausbreitung besteht der begründete Verdacht, dass sich ein derzeit global ausbreitendes Virus, welches unter dem Namen „West-Nil-Virus“ (WNV) bekannt ist, auch in Deutschland durch Stechmücken Verbreitung findet. Um diese potentielle Gefahrensituation zu be- oder widerlegen, müssen u.a. Bluttests durchgeführt werden. Da die Erkrankung, die dieses Virus auslöst, oft mit nur geringen Symptomen einhergeht, ist es durchaus möglich, dass man sich ansteckt, aber davon nicht viel bemerkt. Allerdings kann das Virus für Personen mit Vorerkrankungen, Kindern und ältere Menschen gefährlich werden. Es ist daher auch von großem militärmedizinischen Interesse, zu erfahren, ob eine Ausbreitung bereits stattgefunden hat. Sie können uns bei dieser Untersuchung helfen, in dem Sie hiermit Ihr Einverständnis geben, Ihr Blut auf Hinweise auf einen Kontakt mit dem Virus zu untersuchen und den unten stehenden Fragen beantworten.

#### Einverständniserklärung

Ich erkläre, dass ich damit einverstanden bin, dass Blut, welches entnommen wird und nicht für die Routineuntersuchung nötig ist, für die o. g. wissenschaftliche Untersuchung genutzt werden kann.

Ich bin damit einverstanden, dass die im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchung über mich erhobenen Krankheitsdaten sowie meine sonstigen mit dieser Untersuchung zusammenhängenden personenbezogenen Daten aufgezeichnet werden. Es wird gewährleistet, dass meine personenbezogenen Daten nicht an Dritte weitergegeben werden. Bei der Veröffentlichung in einer wissenschaftlichen Zeitung wird aus den Daten nicht hervorgehen, wer an dieser Untersuchung teilgenommen hat. Meine persönlichen Daten unterliegen dem Datenschutzgesetz.

Dr. T. T. M. M.

#### Fragebogen

Wurden Sie in den letzten 12 Monaten gegen eine der folgenden Erkrankungen geimpft?:

Gelbfieber     FSME     Meningitis     Japanische Enzephalitis

Waren Sie in den letzten 3 Jahren im Ausland?

nein     ja wo?: \_\_\_\_\_

Litten Sie in den letzten 3 Jahren an einer der folgenden Erkrankungen?:

Hirn-/Hirnhautentzündung  
 „Grippe“  
 Hautausschlag

Erste drei Ziffern Postleitzahl Heimatwohnort: \_\_\_\_\_

Abb. 43: Fragebogen (verkleinert) zur Datenerhebung bei den Probanden

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 ELISA**

Seit seiner Einführung Anfang der 70er Jahre des vorigen Jahrhunderts (Engvall und Perlman, 1971) hat sich das als Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bezeichnete immunologische Nachweisverfahren (Assay), welches im Gegensatz zum Radioimmunoassay (RIA) nicht auf einer Radioaktivitätsmessung, sondern auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert, als Standardnachweisverfahren für Antigene etabliert. Es handelt sich hierbei um ein einfaches und in der Regel ausreichend sensitives Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Antikörpern (Engvall et Perlman, 1972).

Bei der Durchführung wird meist die Sandwich-Technik (Abbildung 44 als Schema) benutzt, wobei folgende vier Reaktionsschritte, jeweils durch Waschschriffe zur Entfernung überschüssiger Reaktionspartner getrennt, durchgeführt werden (Neumeister, 2003):

1. unmarkiertes Antigen an Träger anbinden
2. Serumprobe mit dem vermuteten Antikörper zugeben
3. zweiten, gegen den ersten Antikörper gerichteten enzymmarkierten Antikörper zugeben
4. farbloses Substrat für das Enzym zugeben

War der vermutete Antikörper in der Serumprobe enthalten, so kommt es zu einem Farbumschlag, wobei die Farbintensität proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Antikörpers im Serum ist.

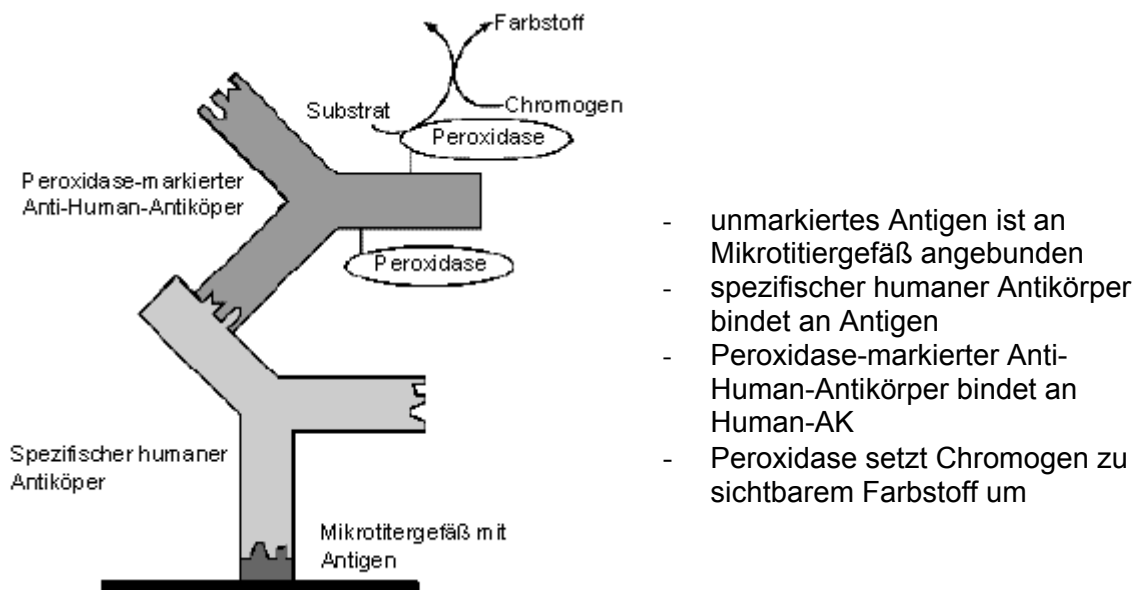


Abb. 44: Schematische Darstellung der Sandwich-Technik für den ELISA

Im Rahmen der Studie wurden ausschließlich kommerziell erhältliche Test-Kits verwendet, so dass die Anbindung an den Trägerkunststoff Polysteren bereits werkseitig erfolgte. Kenny und Duns Moor wiesen bereits 1983 darauf hin, dass die Auswahl des Trägerkunststoffes entscheidende Auswirkungen auf die Validität der Testergebnisse haben kann.

Als „Goldstandard“ für die Diagnosestellung einer WNV-Erkrankung gilt immer noch der Plaque Reduction Neutralization Test (CDC, 2004), wobei sowohl auf Grund der hierbei benötigten Sicherheitsstandards zur Virusanzucht unter BL-3-Bedingungen, der hohen Kosten als auch der Testdauer der PRNT keinen Stellenwert in der Routinediagnostik hat. Jacobsen et al. konnten 2005 zeigen, dass bei der Diagnostik von stattgehabten WNV-Infektionen bei Alligatoren der ELISA eine ähnlich gute Sensitivität und Spezifität wie der PRNT aufwies. Für den Einsatz eines indirekten, Immunglobulin G nachweisenden ELISA zum Antikörpernachweis bei Vögeln hatten Ebel et al. bereits 2002 darauf hingewiesen, dass der ELISA hierbei einen positiven prädiktiven Wert von 70 % und einen negativen prädiktiven Wert von 100 % erreicht und somit als Screening-Methode insbesondere vor dem Hintergrund der Komplexität und Kostenintensität des PRNT, eindeutig allen anderen Testverfahren vor zu ziehen ist. Johnson et al.



untersuchten 2003 den Nutzen eines IgM-capture-ELISA zum Nachweis einer frischen WNV-Infektion bei Hühnern. Hierbei kam es nur in wenigen Fällen zu einer Kreuzreaktion mit Antikörpern gegen die St. Louis-Enzephalitis, so dass hiermit ein auch im Vergleich mit dem PRNT ausreichend valides Testsystem zur Detektion von Sentinel-Infektionen - zumindest in den Vereinigten Staaten - zur Verfügung steht.

#### **2.2.1.1. WNV-IgG-ELISA USA**

Bei dem WNV IgG ELISA (WNV IgG DxSelect™) der Firma Focus Diagnostics handelt es sich um den qualitativen Nachweis von IgG Antikörpern gegen das West-Nil-Virus in menschlichem Serum. Die Reaktionskammern aus Polystyren sind mit einem rekombinanten West-Nil-Virus-Antigen werksseitig beschichtet

Testdurchführung:

- Verdünnen der Proben 1:101 mit Probenverdünner (PBS)
- Rehydratation der Polystyren-Reaktionskammern mit Waschpuffer (Tensid in PBS mit nicht-saurem Konservierungsmittel), Inkubationszeit 5 Minuten, dekantieren
- 100 µL verdünnte Probe je Reaktionskammer für 60 min bei Raumtemperatur inkubieren, dekantieren
- 3 x waschen
- 100 µL Konjugat (affinitätsgereinigtes, Peroxidase-gekoppeltes Ziege-Anti-Human-IgG, Fc-Fragment spezifisch) zufügen, 30 min inkubieren, dekantieren
- 3 x waschen
- 100 µL Substratreagenz (Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid in Puffer) zufügen, 10 min inkubieren
- 100 µL Stoppreagenz (einmolare Schwefelsäure) zufügen, Messung bei  $\lambda = 450$  nm

Sämtliche Testschritte können bei Raumtemperatur durchgeführt werden, eine Inkubation bei 37° C ist nicht notwendig. Die Messung der optischen Dichte (OD) erfolgte gemäß Herstellerangaben mittels Spektrophotometer (DigiScan, ASYSHightech,

Eugendorf, Österreich) bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge zwischen 620 und 650 nm. Zu den folgenden Berechnungen sowie der Datenspeicherung wurde das Programm MikroWin<sup>®</sup> in der Version 4.22 genutzt. Die Kalibrierung der Messwerte erfolgte durch Subtraktion des Leerwertes (nur Probenverdünner). Der Indexwert wurde wie folgt bestimmt:

$$Index = \frac{OD_{Probe}}{(OD_{Cal1} + OD_{Cal2} + OD_{Cal3} + OD_{Cal4}) / 4}$$

Die Belegung der Testkammern erfolgt grundsätzlich nach einem einheitlichen Schema (Abbildung 45).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Cal <sub>1</sub>											
B	Cal <sub>2</sub>											
C	Cal <sub>3</sub>											
D	Cal <sub>4</sub>											
E	leer											
F	pos											
G	neg											
H												






	Cutoff Calibrator		Serumproben
	Leerwert		
	Positiv-Kontrolle		
	Negativ-Kontrolle		

Abb. 45: Belegung Antigenreaktionskammern (schematisch) für den ELISA

Firmenseitig ist festgelegt, dass der Mittelwert der Cutoff-Kalibratorenkammern innerhalb von 0,100 bis 0,700 OD Einheiten liegen muss, alle wiederholten Cutoff-Kalibrator ODs sollten innerhalb von 0,10 Absorptionseinheiten des Mittelwertes liegen. Der Indexwert für die positive Kontrolle muss zwischen 1,5 und 3,5 liegen, der Indexwert für die positive Kontrolle muss niedriger als 0,8 sein. Liegen die Ergebnisse für den Kalibrator bzw. die Kontrollen außerhalb der vorgegebenen Parameter, so sind die Testergebnisse zu verwerfen.

Beurteilung der IgG-Ergebnisse:

- IgG Index  $\geq 1,50$ : IgG positiv
- IgG Index  $< 1,50$  und  $\geq 1,30$ : grenzwertig, nicht eindeutig
- IgG Index  $< 1,30$ : IgG negativ

Seitens des Herstellers wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass bei Proben, die Antikörper gegen das Cytomegalievirus enthalten, Kreuzreaktionen festgestellt worden sind. Weiterhin können bei Personen, die gegen andere Flaviviren geimpft sind bzw. mit einem anderen Flavivirus infiziert sind oder waren, ebenfalls falsch positive Testergebnisse auftreten.

Die Prävalenz spezifischer Antikörper gegen das ubiquitär vorkommende Cytomegalievirus weist zwar eine große Variationsbreite in Abhängigkeit vom sozioökonomischen Standard eines Landes auf, bewegt sich in den Industrienationen jedoch auf einem vergleichbaren Niveau (RKI, 2000). Staras et al. zeigten 2006, dass die Seroprävalenzrate von Cytomegalie-Antikörper in den Vereinigten Staaten bei Personen älter als sechs Jahre bei 58,9 % lag.

#### **2.2.1.2. WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN**

Bei dem zur Kontrolle der initial positiv getesteten Seren verwendeten industriell gefertigten Mikrotiter-ELISA-IgG handelt es sich um ein Produkt der Firma EUROIMMUN AG Lübeck, Deutschland (Katalog-Nummer 2662-9601 G). Der technische Ablauf umfasst die oben beschriebenen Schritte, wobei die Inkubationsschritte 1 und 2 bei einer Temperatur von 37° C erfolgen, die Inkubationszeit mit dem Enzymkonjugat (Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG vom Kaninchen) beträgt 60 Minuten. Die Substratinkubation erfolgt bei Raumtemperatur, als Stoppreagenz dient 0,5-molare Schwefelsäure, als Antigen das Zell-Lysat von mit WNV, Stamm „New York“ infizierten Zellen.

Als Antigen-haltige Festphase werden Polystyrol-Mikrotiterstreifen mit aufgereinigten, biochemisch charakterisierten Antigenen verwendet. Im ersten Inkubationsschritt binden sich bei positiven Proben die nach zuweisenden Antikörper aus dem verdünnten

Patientenserum an die Festphasen-gebundenen Antigene. Im zweiten Inkubationsschritt werden diese Antikörper mit Peroxidase-markierten Anti-Human-Antikörpern nachgewiesen. Im dritten Inkubationsschritt werden die gebundenen Antikörper durch eine Farbreaktion mit einer Chromogen-/Substratlösung (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dargestellt. Die Extinktion der entstehenden Farblösung ist proportional zur Antikörper-Konzentration im Patientenserum. Der vorliegende Testsatz kann zur semiquantitativen oder quantitativen Bestimmung humaner Antikörper genutzt werden. Werksseitig wird eine Sensitivität von 100 % bei einer Spezifität von 97,5 % ausgegangen, wobei eine Kreuzreaktivität mit anderen Flaviviren, insbesondere FSME und Dengue beobachtet worden waren. Hämolytische, lipämische und ikterische Proben sollten bis zu einer Konzentration von 10mg/ml für Hämoglobin, von 20 mg/ml für Triglyzeride und von 0,4 mg/ml Bilirubin keine Interferenzen erzeugen.

Grenzwerte WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN:

- IgG Index  $\geq 1,1$ : IgG positiv
- IgG Index  $< 1,1$  und  $\geq 0,8$ : grenzwertig, nicht eindeutig
- IgG Index  $< 0,8$ : IgG negativ

Zur semiquantitativen Bestimmung wird pro Mikrotiterplatte nur ein Kalibrator mitgeführt, so dass die Ratio wie folgt berechnet wird.

$$Ratio = \frac{Extinktion_{Probe}}{Extinktion_{Kalibrator}}$$

Abbildung 46 zeigt nochmals, schematisch veranschaulicht, die Durchführung einer Testsequenz, wie sie der Hersteller EUROIMMUN vorgibt.

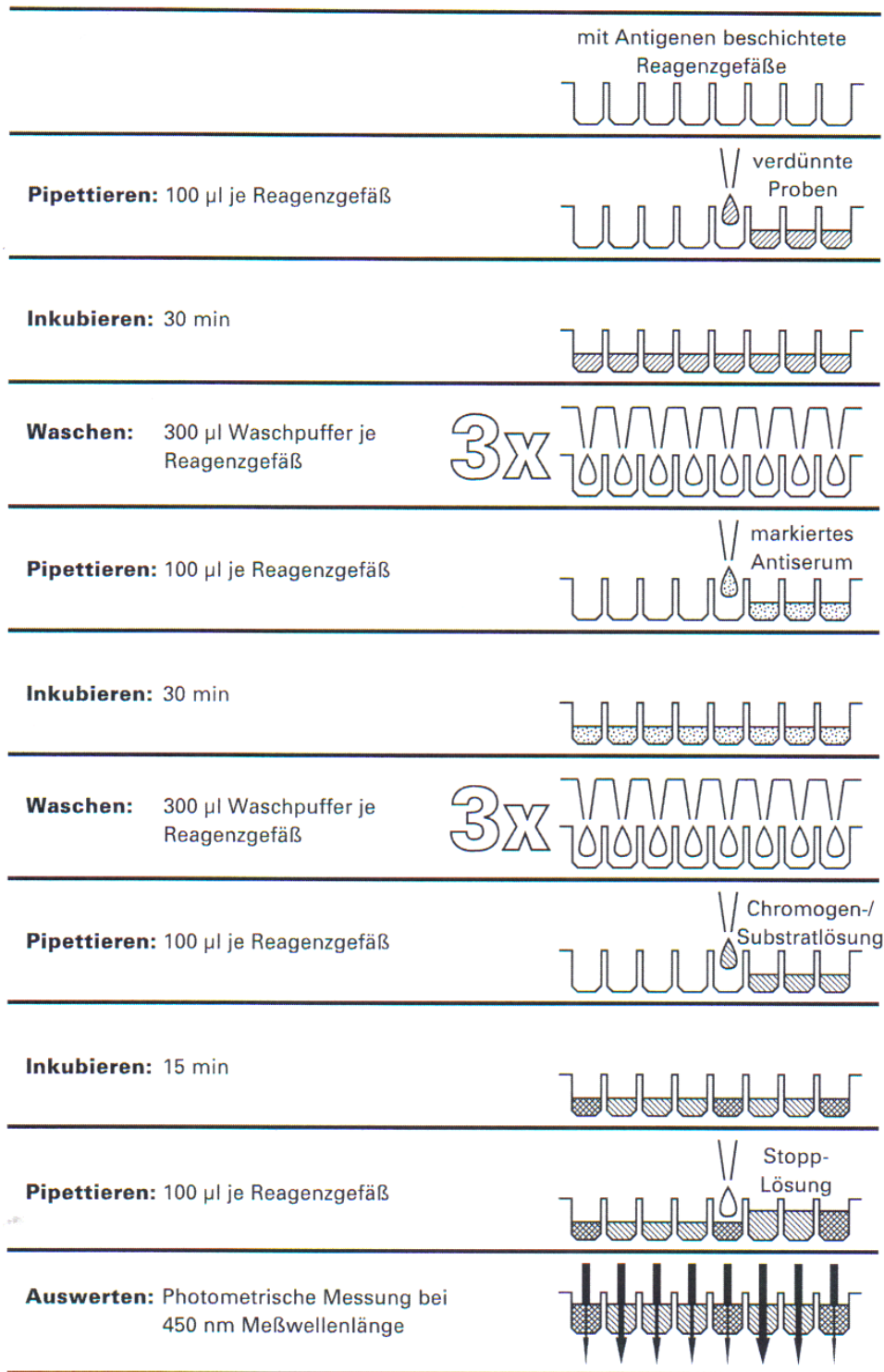


Abb. 46: Schematische Darstellung Durchführung ELISA-Test (nach EUROIMMUN) mit den einzelnen Arbeitsschritten in der zeitlichen Abfolge

### 2.2.1.3 Aviditätstest

Mit dem EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA zum Nachweis niedrig-avider Antikörper steht ein industriell standardisiertes alternatives Prinzip zur serologischen Diagnostik frischer Infektionen für verschiedenen Erkrankungen zur Verfügung (Katalog-Nummer 2662-9601-1 G). Das menschliche Immunsystem reagiert im Rahmen einer Infektion zunächst mit der Bildung von relativ unspezifischen, niedrig-aviden Antikörpern. Mit fortschreitender Krankheitsdauer nimmt die Avidität zu, d.h. es wird ein immer genauer an das jeweilige Antigen angepasstes IgG sezerniert. Wenn im zu testenden Serum kein hoch-avides IgG vorliegt, handelt es sich wahrscheinlich um eine Infektion im frühen Stadium. Zur Identifikation niedrig-avider Antikörper wird parallel zum konventionellen IgG-ELISA auf einer zweiten Mikrotiterplatte ein zweiter ELISA angesetzt, bei dem nach der Inkubation mit dem zu testenden Patientenserum und vor der Zugabe des Anti-Human-IgG eine Harnstoffbehandlung durchgeführt wird. Durch die Harnstoffbehandlung lösen sich die niedrig-aviden Antikörper vom Antigen. Nach erfolgter Inkubation mit dem Substratreagenz und der Beendigung der Reaktion mittels Stopp-Reagenz, wird jeweils die Extinktion bei beiden Testsystemen im Spektrophotometer gemessen. Wird die Extinktion durch die Harnstoffbehandlung wesentlich verringert, so liegen niedrig-avide Antikörper vor. Zur Objektivierung wird aus beiden Messwerten der relative Aviditätsindex (RAI) wie folgt berechnet.

$$RAI = \frac{E_{\text{mitHarnstoff}}}{E_{\text{ohneHarnstoff}}} \quad E = \text{Extinktion}$$

Fox et al. verglichen in ihrer Studie 2006 die Ergebnisse eines industriell gefertigten WNV-Aviditäts-IgG-ELISA (Panbio Ltd.) mit denen der Vergleichsbestimmung von IgG und IgM Antikörpern im Serum. Sie konnten zeigen, dass die Bestimmung des Aviditätsindex eine Differenzierung zwischen einer akuten und einer länger zurückliegenden Infektion ermöglicht, insbesondere vor dem Hintergrund, dass nach einer Infektion mit WNV bis zu einem Jahr Antikörper der Klasse IgM im Serum nachweisbar bleiben können und somit das Vorliegen von Anti-WNV-IgM kein sicherer Hinweis auf einen erst kürzlich erfolgte Viruskontakt darstellt.

Folgende Grenzwerte wurden festgelegt:

- Aviditätsindex kleiner 0,4 und IgM positiv  $\Rightarrow$  primäre Infektion < 20 Tage
- Aviditätsindex zwischen 0,4 und 0,6  $\Rightarrow$  primäre Infektion 30 bis 60 Tage
- Aviditätsindex größer 0,6  $\Rightarrow$  Infektion älter als 40 Tage

Levett et al. verglichen 2005 die Ergebnisse verschiedener kommerzieller Testsystem zum Nachweis frischer bzw. stattgehabter WNV-Infektionen miteinander. Hierbei wurden die folgenden Testverfahren angewendet:

- WNV-IgM-ELISA, Focus Diagnostics (Cypress, Kalifornien)
- WNV-IgG-Aviditäts-iIFT, EUROIMMUN (Lübeck, Deutschland)
- WNV-IgG-Aviditäts-ELISA, EUROIMMUN (Lübeck, Deutschland)
- WNV-IgG-ELISA, Focus Diagnostics (Cypress, Kalifornien)
- Hämagglutinationshemmtest
- PRNT

Es konnte bei den getesteten Seren aus der Region Saskatchewan, Kanada, gezeigt werden, dass die Sensitivität des WNV-IgG-Aviditäts-ELISA in der Frühphase einer Infektion nicht ganz die des WNV-IgG-Aviditäts-iIFT erreicht. Bei länger zurückliegender Infektion, bestätigt mittels PRNT, war jedoch bei allen positiven Seren eine IgG-Seroprävalenz mit beiden Testverfahren nachweisbar. Bei allen akut infizierten Patienten konnten Antikörper der Klasse IgM nachgewiesen werden. Dies gelang jedoch auch bei allen Patienten, bei denen die Infektion bereits mehr als sechs Monate zurück lag, womit eine Unterscheidung zwischen akuter und stattgehabter Infektion mittels IgM-Nachweis nicht möglich war.

Prince et al. (2005) untersuchten den Wert eines WNV-IgG-Aviditäts-ELISA (hier Focus Diagnostics) zur Differenzierung von akuten und stattgehabten Infektionen im Rahmen der Blutspende. Bei dieser Untersuchung war auffallend, dass selbst bei einer Infektion, die weniger als 90 Tage zurück lag, in einem Drittel ein hoher Aviditätsindex erreicht wurde, wobei die Höhe des Aviditätsindex abhängig von der Molarität des verwendeten Harnstoffs war. Insgesamt bewerten die Autoren den Aviditätstest als durchaus geeignetes Testverfahren zur Differenzierung zwischen akuter und länger

zurückliegender WNV-Infektion, insbesondere dann, wenn der Aviditätsindex unterhalb 0,4 liegt und somit sicher von einer akuten Infektion - bei dem Vorliegen einer entsprechenden Klinik - ausgegangen werden kann.

#### **2.2.1.4 WNV-IgM-ELISA EUROIMMUN**

Bei einem Aviditätsindex von kleiner 0,50 wurde eine Testung bezüglich des Vorliegens von Anti-WNV-AK der Klasse IgM durchgeführt. Hierfür wurde der EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA-IgM (Katalognummer EI 2662-9601 M) verwendet. Hierbei dient ebenfalls das Zell-Lysat von mit WNV-Stamm „New York“ infizierten Zellen als Antigen. Die Probenaufbereitung und Testdurchführung wurde entsprechend den Herstellerangaben durchgeführt, wobei der Ablauf demjenigen des IgG-ELISA gleicht. Zur Vorbereitung der Bestimmung spezifischer Antikörper der Klasse IgM müssen vorher eventuell in der Probe vorhandene Antikörper der Klasse IgG entfernt werden, um zu verhindern, dass eventuell vorhandene Rheumafaktoren der Klasse IgM mit spezifisch gebundenem IgG reagieren und so zu falsch positiven Testergebnissen führen oder dass spezifisches IgG das IgM vom Antigen verdrängt und so zu falsch negativen Ergebnissen führt. Hierfür wird werksseitig ein Probenpuffer zur Probenverdünnung bereitgestellt, der Antikörper von der Ziege enthält, welche gegen humanes IgG gerichtet sind. Dadurch wird in der Serumprobe enthaltenes IgG hochspezifisch gebunden und präzipitiert, eventuell vorhandene Rheumafaktoren werden vom IgG/Anti-Human-IgG-Komplex absorbiert.

#### **2.2.1.5 FSME-IgG-ELISA EUROIMMUN**

Zum Ausschluss bzw. dem Nachweis von kreuzreagierenden Antikörper wurden jeweils industriell gefertigte Mikrotiter-ELISA der Firma EUROIMMUN eingesetzt. Als Antigen dient für den IgG-Nachweis bezüglich FSME der Stamm „K23“ des FSME-Virus (Katalog-Nummer: EI 2661-9601 G).



Technische Durchführung gemäß Herstellerangaben:

- Proben-Inkubation und Konjugat-Inkubation jeweils 30 Minuten bei Raumtemperatur, Substrat-Inkubation 15 Minuten bei Raumtemperatur
- Enzymkonjugat: Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG vom Kaninchen
- Chromogen/Substrat-Lösung: TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Stopp-Lösung: 0,5-molare Schwefelsäure
- Semiquantitative Analyse
- Spezifität: 100 %, Sensitivität: 100 %

Grenzwerte FSME-IgG-ELISA EUROIMMUN

- IgG Index  $\geq 1,1$ : IgG positiv
- IgG Index  $< 1,1$  und  $\geq 0,8$ : grenzwertig, nicht eindeutig
- IgG Index  $< 0,8$ : IgG negative

#### **2.2.1.6 Dengue-IgG-ELISA EUROIMMUN**

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das Dengue-Virus dient eine hochgereinigte Präparation von Dengue-Viruspartikeln Typ Dengue 2 als Antigen (Katalog-Nummer: EI 266b-9601 G).

Technische Durchführung gemäß Herstellerangaben:

- Proben-Inkubation und Konjugat-Inkubation jeweils 30 Minuten bei Raumtemperatur, Substrat-Inkubation 15 Minuten bei Raumtemperatur
- Enzymkonjugat: Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG vom Kaninchen
- Chromogen/Substrat-Lösung: TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Stopp-Lösung: 0,5-molare Schwefelsäure
- Semiquantitative Analyse
- Spezifität: 100 %, Sensitivität: 100 %

Grenzwerte Dengue-IgG-ELISA EUROIMMUN:

- IgG Index  $\geq 1,1$ : IgG positiv
- IgG Index  $< 1,1$  und  $\geq 0,8$ : grenzwertig, nicht eindeutig

- IgG Index < 0,8: IgG negative

### **2.2.2 Immunfluoreszenztest**

Die Anbindung von Antikörper an verschiedene Fluorochrome erfolgt ohne nennenswerte Beeinträchtigung ihrer immunologischen Eigenschaften. Diese Tatsache und die Möglichkeit der Sichtbarmachung dieser Farbstoffe im Fluoreszenzmikroskop mittels UV-Anregung macht man sich beim Immunfluoreszenztest (IFT) zu Nutze, wobei auch hier zwischen dem direkten IFT zum Antigennachweis in Gewebeschnitten, Zellpräparationen oder mikrobiologischen Präparaten und dem indirekten IFT zum Nachweis von Antikörpern im Patientenserum unterscheidet (Neumeister, 2003). Bei letzterem wird das entsprechende Antigen auf einem Objektträger fixiert, im Patientenserum vorhandene Antikörper binden an und werden mittels Fluoreszenzfarbstoff-markierter Anti-Human-AK im Fluoreszenzmikroskop sichtbar (Schematische Darstellung in Abbildung 47). Positive Proben können stufenweise austitriert werden.

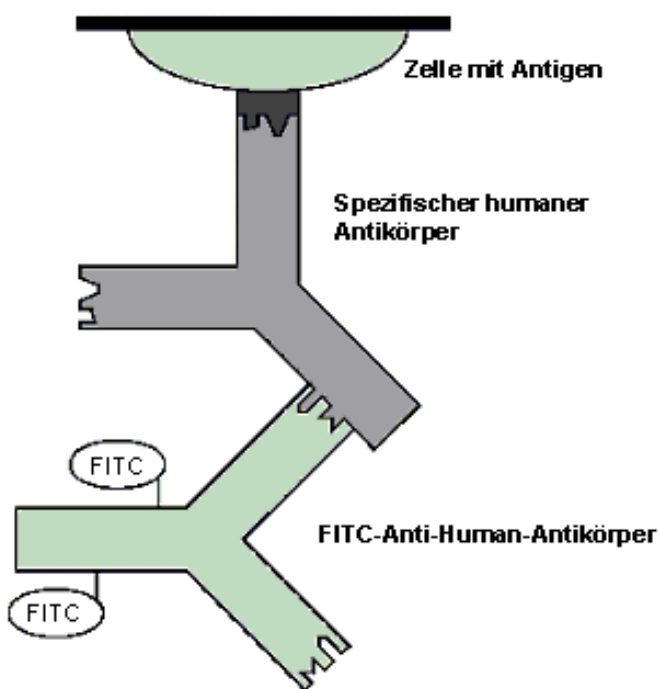
Zum Einsatz kam jeweils Testsätze zum Nachweis von Antikörpern der Klasse IgG der Firma EUROIMMUN, Lübeck, mit den folgenden Katalog-Nummern:

- WNV: FI 2662-1005 G
- Dengue: FI 266a-1005 G
- FSME: FI 2661-1005 G

Die Durchführung erfolgte gemäß den Herstellervorgaben unter Beachtung der jeweiligen Testprotokolle (Abbildung 48 zeigt schematisch dargestellt den firmenseitig vorgegebenen Testablauf). Die Serumproben wurden zunächst verdünnt und 25 µl des verdünnten Serums je Reaktionsfeld pipettiert. Positive und negative Kontrollen wurden jeweils mitgeführt. Nach der entsprechenden Inkubationszeit (30 Minuten bei Raumtemperatur) und Waschung der Objektträger für 5 Minuten mit mitgeliefertem Phosphatpuffer (PBS-Tween) wurde jeweils 20 µl markiertes Anti-Human-IgG von der Ziege aufgetragen. Nach erneuter Inkubation (30 Minuten bei Raumtemperatur) und Waschung erfolgte die Auswertung mittels Fluoreszenzmikroskop (Axiostar plus, Fa. Zeiss, Jena).

Technische Daten Fluoreszenzmikroskop:

- Objektiv 40-fache Vergrößerung
- Anregungsfilter: 488 nm
- Farbteiler: 510 nm
- Sperrfilter: 520 nm
- Lichtquelle: Quecksilberdampfampe, 100 Watt



- Unmarkierte Zelle mit Antigen ist an Objektträger angebunden
- spezifischer humaner Antikörper bindet an Antigen
- FITC-markierter Anti-Human-Antikörper bindet an Human-AK

Abb. 47: Schematische Darstellung IFT (FITC = Fluorescein als Farbstoff)

Bereits 1996 wiesen Darwish et al. nach, dass der IFT, gegenüber dem ELISA, bei der Diagnostik einer WNV-Infektion eine höhere Spezifität aufweist. Bezüglich der Sensitivität zeigte sich der ELISA überlegen, wobei der positive prädiktive Wert (Wahrscheinlichkeit, dass einem positiven Testergebnis tatsächlich ein positiver Serostatus zu Grunde liegt) bei beiden Testarten über 80 % lag. Der negative prädiktive Wert (Wahrscheinlichkeit, dass einem negativen Testergebnis tatsächlich ein negativer Serostatus zu Grunde liegt) differierte deutlich. Er betrug für den ELISA 66,7 % und für den IFT 37 %.

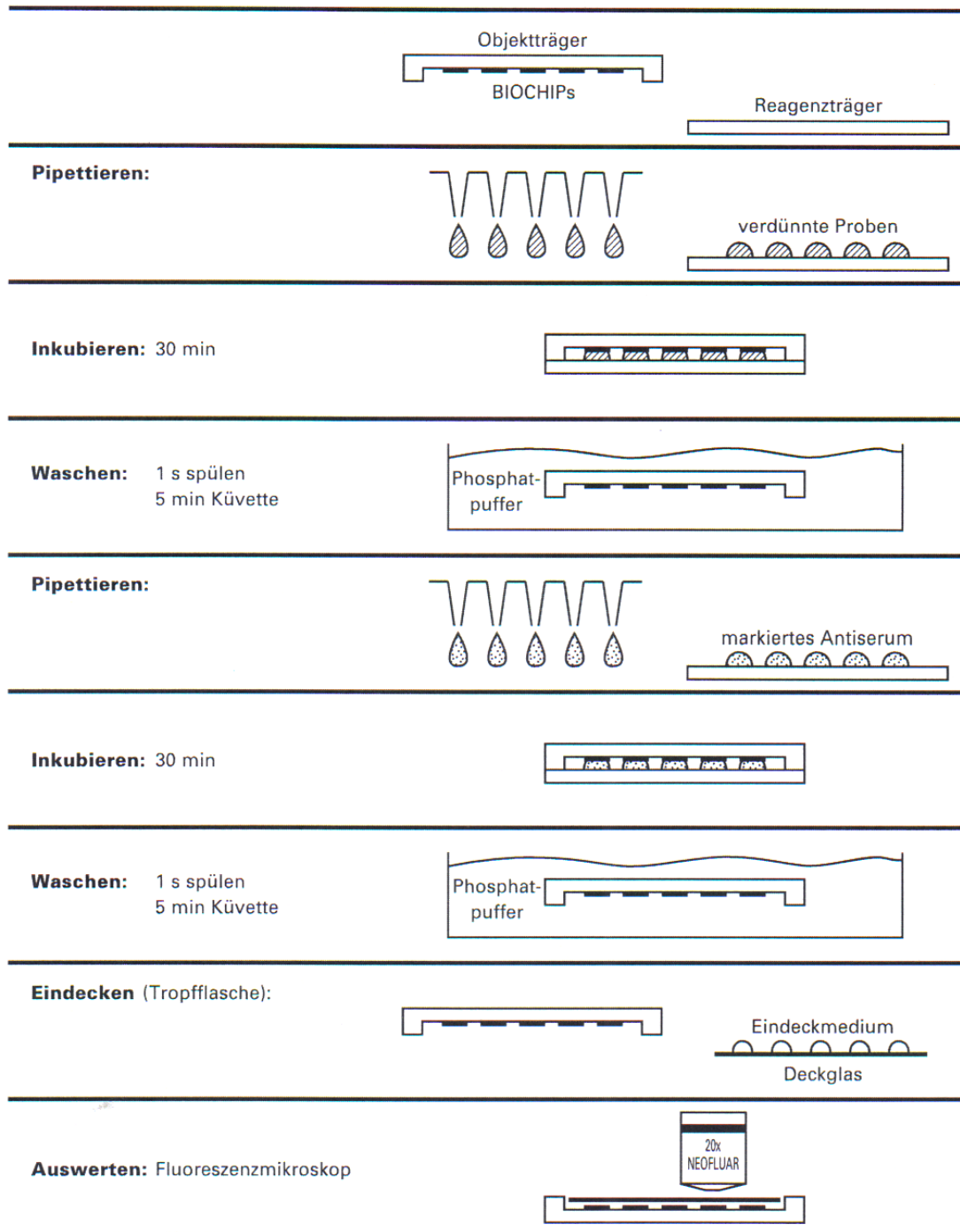


Abb. 48: Schematische Darstellung Durchführung iIFT (nach EUROIMMUN) mit den einzelnen Arbeitsschritten in der zeitlichen Abfolge

### 2.2.3 Plaque-Reduktions-Neutralisations-Test (Plaque Reduction Neutralization Test, PRNT)

Bei dem PRNT handelt es sich um eine immunologische Methode zum quantitativen Nachweis von Antikörpern (Pschyrembel, 2002). Masri legte in einem Vortrag 2005 beim Virginia Department of Health dar, dass die Durchführung eines PRNT nur bei einem Nachweis von Antikörpern der Klasse IgM oder IgG sinnvoll ist. Insbesondere vor dem Hintergrund, dass der PRNT hohe Kosten bei langer Testdauer und hohen Sicherheitsstandards verursacht, ist diese Methodik nur zur wissenschaftlichen Bestätigung der Diagnose durchzuführen.

Der WNV-Neutralisationstest (WNV-NT) wurde mit verfügbaren WNV-Zellkulturen unter BL-3-Bedingungen nach dem am Institut für Mikrobiologie in München evaluierten Verfahren in den dortigen Laboratorien nach Dobler et al. (2007) durchgeführt.

## 2.3. Berechnungsgrundlagen

Die Bewertung der verwendeten Test-Sets erfolgte mittels folgender, standardisierter Methoden:

Vierfelder-Test

		Krankheit	
		krank	gesund
Test	positiv	a	b
	negativ	c	d

### 2.3.1 Spezifität

Anteil der Test-negativen unter den gesunden Probanden als von der Prävalenz unabhängiges Maß.

$$\text{Spezifität} = \frac{d}{b+d}$$

### 2.3.2 Positiver prädiktiver Wert (Relevanz)

Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven Testergebnis auch tatsächlich erkrankt zu sein, wobei hier eine Abhängigkeit von der Prävalenz besteht und somit nur eine Berechnung auf Basis des Gesamtprobenumfangs zulässig ist.

$$P(+) = \frac{a}{a+b}$$

### 2.3.3 Positiver Likelihood-Quotient

Wahrscheinlichkeit eines positiven Testergebnisses bei einem Probanden, der tatsächlich erkrankt war, im Verhältnis zur Wahrscheinlichkeit eines positiven Testergebnisses bei einem nicht betroffenen Probanden.

$$LQ(+) = \frac{\frac{a}{(a+c)}}{\frac{b}{(b+d)}}$$

### 2.3.4 Chancen-Verhältnis (Odds Ratio, OR)

Die Odds-Ratio kann bei einer geringen Prävalenz der Erkrankung als Ersatz für das Relative Risiko angewendet werden. Das Chancen-Verhältnis ist ein Maß dafür, um wie viel größer die Chance zu erkranken in der Gruppe mit Risikofaktor ist, verglichen mit der Gruppe ohne Risikofaktor.

$$OR = \frac{a*d}{b*c}$$

### 2.3.5 Konfidenzintervall (KI)

Das Konfidenzintervall (Schätzintervall) sagt aus, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Wert innerhalb bestimmter Grenzen liegt. Beim 95 %-igen Konfidenzintervall liegt der wahre Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % innerhalb der angegebenen Grenzen. Umfasst das Intervall nicht den Wert 1, so ist davon auszugehen, dass z.B. Erkrankungswahrscheinlichkeit zweier durch das Expositionsverhalten differierenden Gruppen signifikant verschieden ist.

$$KI = OR * e^{\pm 1,96 * \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}}$$

### 2.3.6 Anzahl der notwendigen Screenvorgänge (NNS)

Die Anzahl der notwendigen Screenvorgänge (Number Needed to Screen, NNS) gibt, an wie viele Personen an einer Screening Untersuchung teilnehmen müssen, um ein unerwünschtes Ereignis zu verhindern.

$$NNS = \frac{1}{\frac{A}{A+B} - \frac{C}{C+D}}, \text{ wenn folgender Vierfeldertest als Datenbasis dient:}$$

	Zielpunkt	
	erreicht	nicht erreicht
Maßnahme 1	A	B
Maßnahme 2	C	D

## 2.4 Software

Zur Grund legenden Datenerhebung wurden sämtliche erbrachten Testergebnisse erfasst und in einer eigens angelegten Datenbank auf Basis Microsoft® Access 2002

gespeichert. Als weitere Hilfsmittel kamen Microsoft® Excel 2002 sowie Microsoft® Word 2002 zum Einsatz. Die Darstellung der Prozessketten erfolgte mittels ARIS® der Firma IDS Scheer AG.

### 2.4.1 ARIS-Toolset™

Die Konzeption der Architektur integrierter Informationssysteme (ARIS) basiert auf einem Integrationskonzept, das aus einer ganzheitlichen Betrachtung von Unternehmensprozessen abgeleitet wird. Das ARIS-Toolset™ dient in erster Linie der Modellierung von Prozessen (Scheer, 2001a) um diese, insbesondere im Rahmen der Einführung von SAP R/3®, zu analysieren und bezüglich der auftretenden Kosten bzw. Zeitressourcen kritisch zu hinterfragen (Scheer, 2001b). Ein Prozess beschreibt den Ablauf eines, sich in der Regel ähnlich wiederholenden Vorgangs vom definierten Anfang bis zum definierten Ende. Dieser Ablauf wird durch eine zeitliche Abfolge von Ereignissen, die wiederum Funktionen auslösen, dokumentiert. Die Prozessmodellierung wird mit der Methode der ereignisgesteuerten Prozesskette (EPK) durchgeführt (Scheer, 2001c).

### 2.4.2 Grundelemente der Prozessmodellierung

(ML Consulting GmbH, 2005)

Die Prozessmodelle beschreiben den Ablauf bezogenen Zusammenhang von Funktionen. Folgende, in Abbildung 49 dargestellten, Grundelemente werden verwendet:

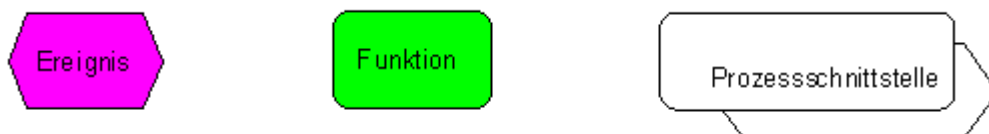


Abb. 49: verwendete Grundelemente in den Prozessmodellen (Darstellung im ARIS-Toolset™)



Es gilt grundsätzlich, dass Ereignisse Funktionen auslösen und Funktionen Ereignisse erzeugen, nachfolgend schematisch dargestellt (Abbildung 50).

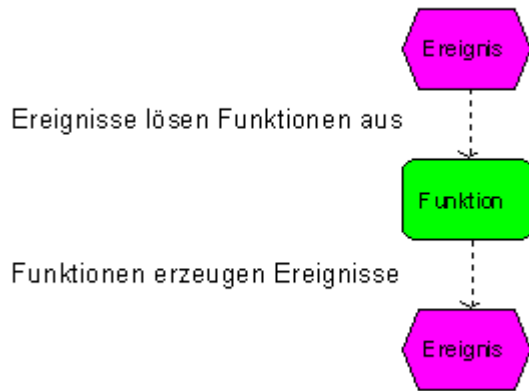


Abb. 50: Modell einer Prozesskette (Darstellung im ARIS-Toolset™)

Es können drei verschiedene Operatoren zur Verknüpfung von variablen Wegen Anwendung finden, welche in Abbildung 51 aufgeführt sind.

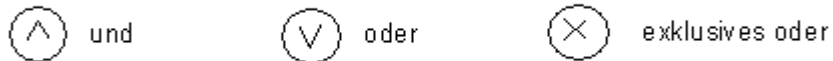


Abb. 51: verwendete Operatoren in den Prozessmodellen (Darstellung im ARIS-Toolset™)

### 3. Eigene Ergebnisse

#### 3.1 Probandenpopulation

Die erste Auswertung der Fragebogen ergab, dass 2037 (83,24 %) von 2447 abgegebenen Fragebögen zusätzlich zu den abgefragten Informationen Angaben über das Geburtsjahr der Probanden enthielten. Hieraus ergab sich ein mittleres Alter von 20,12 Jahren mit einer Spannweite von 17 bis 31 Jahren (Median 24 Jahre). Eine detaillierte Darstellung der Altersstruktur ist der Abbildung 52 zu entnehmen.

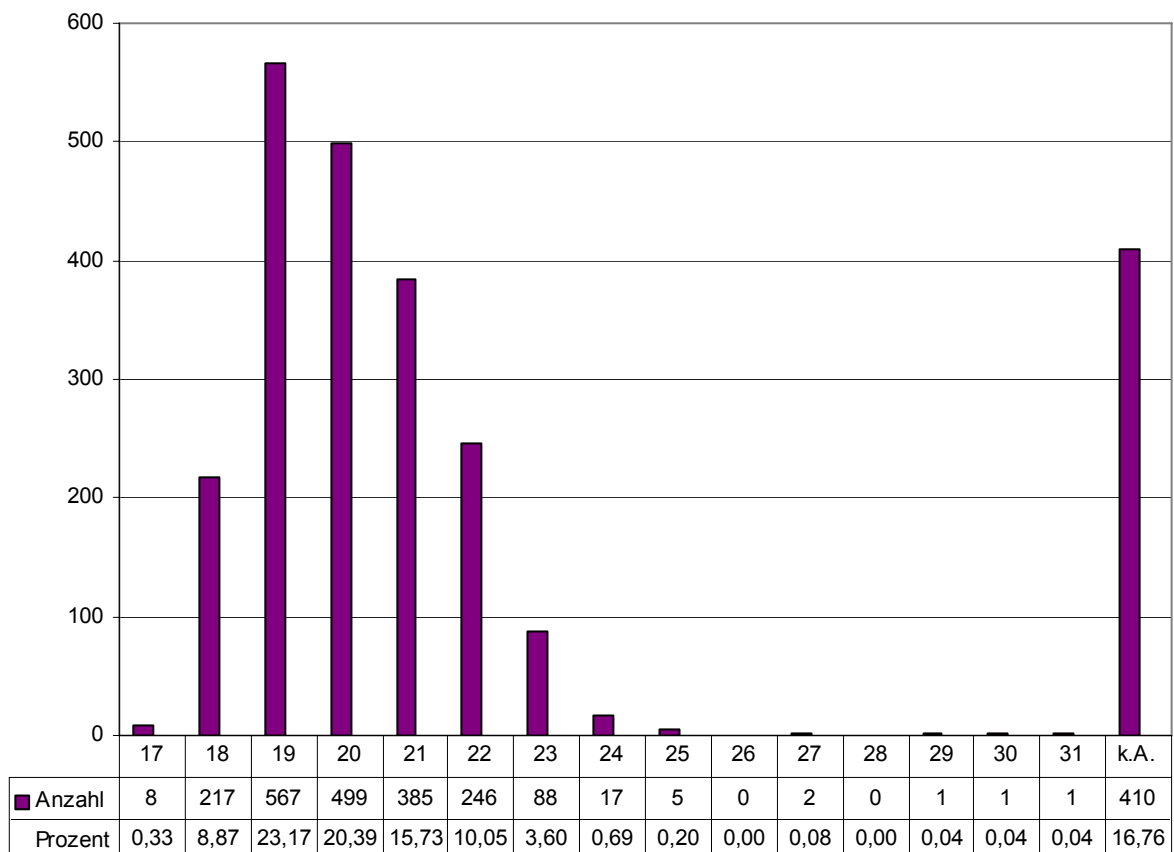


Abb. 52: Alterstruktur der Probanden, X-Achse: Alter, absolute Zahlen und Prozent

2038 (83,29 %) der 2447 abgegebenen Fragebögen enthielten Angaben über das Geschlecht der Probanden. Hieraus ergab sich folgende Verteilung (Abbildung 53):

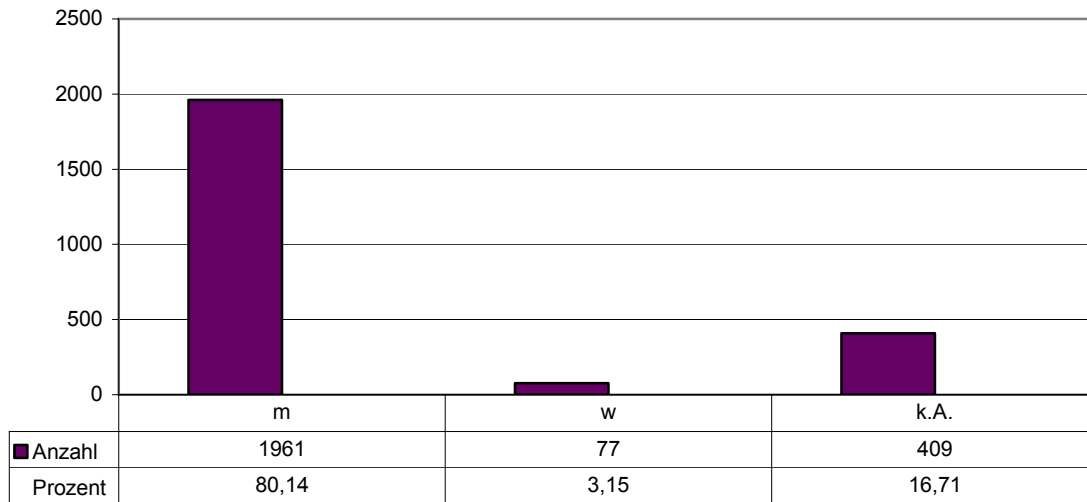
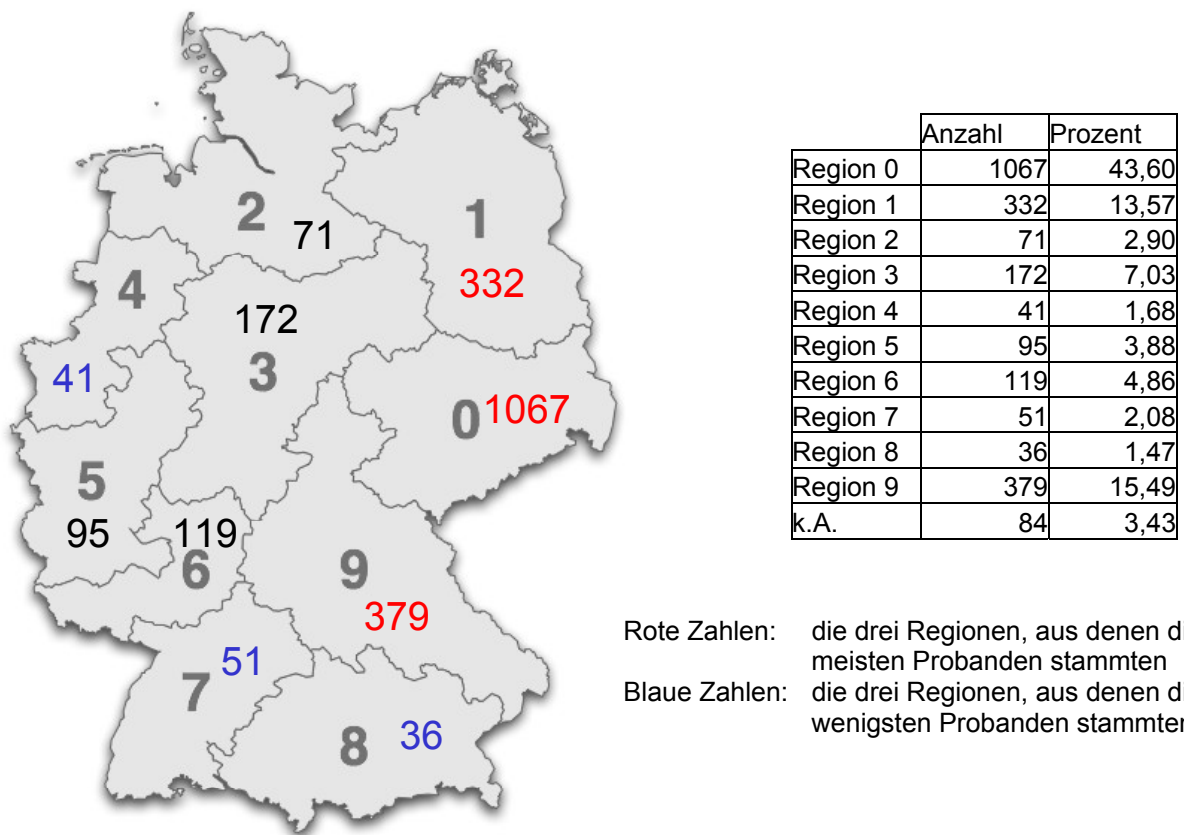


Abb. 53: Geschlechterverteilung der Probanden; absolute Zahl und in Prozent

Die Mehrzahl der Probanden hatte ihren Heimatwohrt in den Postleitzahlregionen 0, 1 und 9. Insgesamt verteilen sich die Probanden wie folgt (Abbildung 54):



Rote Zahlen: die drei Regionen, aus denen die meisten Probanden stammten  
 Blaue Zahlen: die drei Regionen, aus denen die wenigsten Probanden stammten

Abb. 54: Heimatregion der Probanden

## 3.2 Screening

### 3.2.1 West-Nil-Virus

Von den 2.447 Proben wurden in einem ersten Arbeitsschritt 2.225 mittels WNV IgG ELISA (WNV IgG DxSelect™) der Firma Focus Diagnostics einer Testung auf Antikörper der Klasse IgG unterzogen. Hierbei wurden insgesamt 511 Seren (22,97 % von 2.225) als reaktiv bewertet, davon 439 (85,91 % von 511 / 19,73 % von 2.225) gemäß der firmenseitigen Testgrenzen als positiv und 72 (14,09 % von 511 / 3,24 % von 2.225) als grenzwertig positiv. Der Mittelwert über alle positiven und grenzwertig positiven Testergebnisse lag bei 2,377 mit einem Median bei 2,133.

Alle 511 Seren wurden daraufhin einer Zweittestung mit Mikrotiter-ELISA-IgG der Firma EUROIMMUN AG Lübeck nachgetestet. Hiervon waren 167 (32,68 % von 511) ebenfalls nach den vorgegebenen Testkriterien positiv, 81 (15,85 % von 511) grenzwertig und 263 (51,47 % von 511) negativ. Der Mittelwert über alle Ergebnisse betrug 0,987 mit einem Median bei 0,769. Der Mittelwert der positiven und grenzwertigen Ergebnisse lag bei 1,576 mit dem Median bei 1,380. Die Ergebnisse beider Testreihen im Vergleich sind in Abbildung 55 dargestellt.

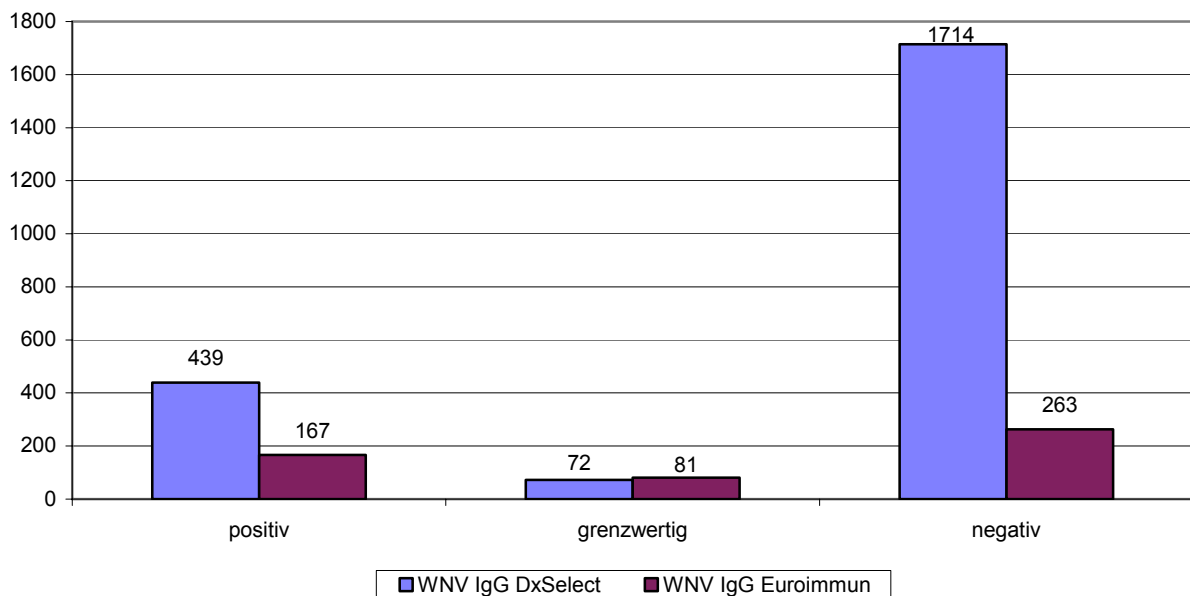


Abb. 55: Ergebnisse WNV-IgG-ELISA (positiv/negativ/grenzwertig im ersten Screening)  
blau: IgG-ELISA DxSelect, violett: IgG-ELISA EUROIMMUN AG jeweils absolute Zahlen

### 3.2.2 Frühsommer-Meningo-Enzephalitis-Viren

Alle 511 Seren, die im WNV IgG ELISA (WNV IgG DxSelect™) der Firma Focus Diagnostics entweder positiv oder grenzwertig positiv auf WNV-AK reagiert hatten, wurden auf FSME-Antikörper der Klasse IgG mittels Mikrotiter-ELISA der Firma EUROIMMUN getestet. Hierbei waren 27 Seren gemäß der vorgegebenen Kriterien grenzwertig (5,28 % von 511) und 387 (75,73 % von 511) positiv (Abbildung 56 Ergebnisse FSME-ELISA und Angabe zu Impfungen). Der Mittelwert über alle Ergebnisse betrug 2,839 mit einem Median bei 2,614. Der Mittelwert der positiven und grenzwertigen Ergebnisse lag bei 3,412 mit dem Median bei 3,010.

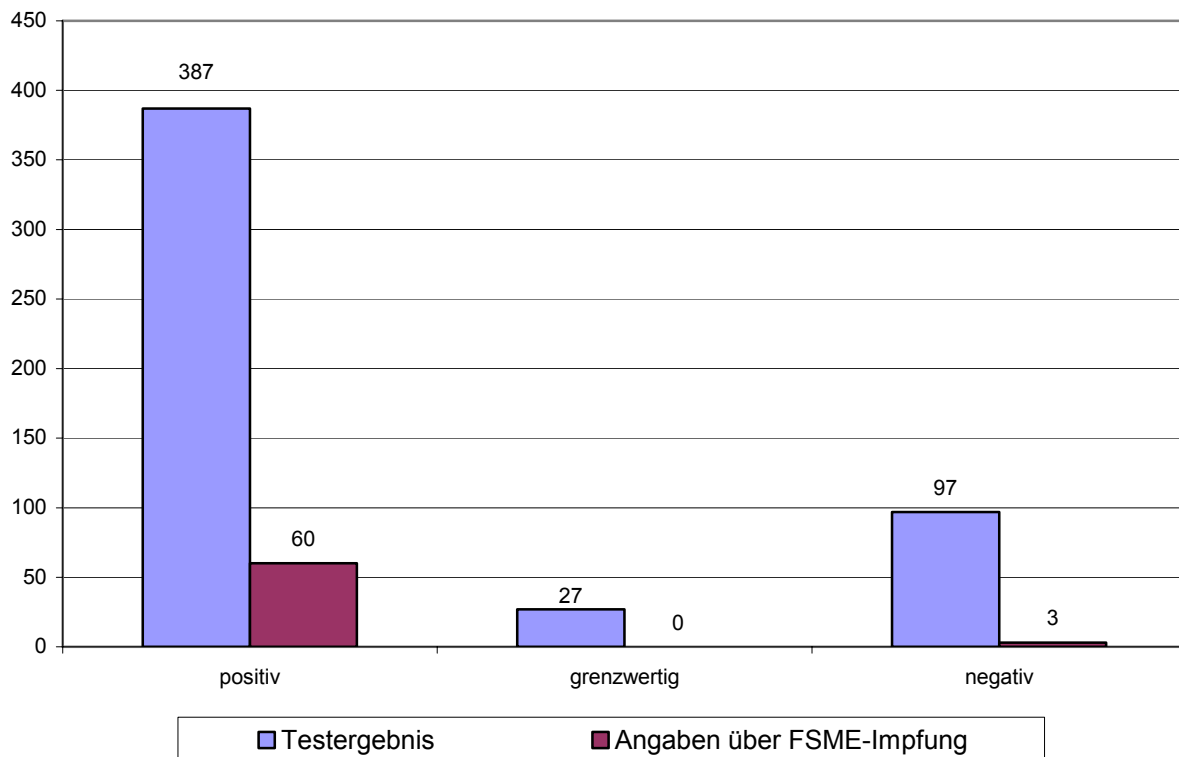
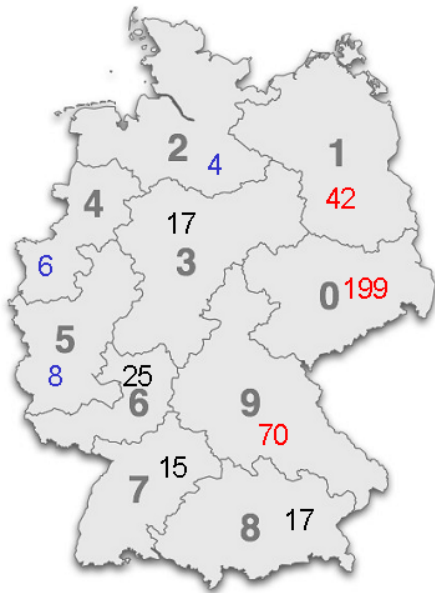


Abb. 56: Ergebnisse FSME-ELISA und Impfanamnese

blau: positives Testergebnis, violett: im Fragebogen positive Angabe zu einer Impfung

Auffallend hierbei war, dass nur 15,50 % aller positiv auf FSME-AK getesteten Probanden, insgesamt 60, eine stattgehabte Impfung in der Vergangenheit angaben. Von den grenzwertig getesteten Probanden war keinem eine Impfung erinnerlich oder diese lag länger als 12 Monate zurück. Bei drei, gemäß den gemachten Angaben im

Fragebogen gegen FSME geimpften Probanden, waren keine Antikörper der Klasse IgG gegen FSME mittels ELISA im Serum nachweisbar. In den Abbildungen 57 und 58 ist die regionale Herkunft der Probanden mit grenzwertigen bzw. positiven Testergebnissen, auch im Vergleich zur Gesamtprobandenzahl, dargestellt.



Region	positiv	grenzwertig	Gesamt
0	184	15	199
1	35	7	42
2	4	0	4
3	16	1	17
4	6	0	6
5	7	1	8
6	24	1	25
7	15	0	15
8	17	0	17
9	68	2	70
k.A.	11	0	11

Rote Zahlen: die drei Regionen, aus denen die meisten Probanden stammten  
 Blaue Zahlen: die drei Regionen, aus denen die wenigsten Probanden stammten

Abb. 57: Regionale Herkunft FSME-positiv/grenzwertig

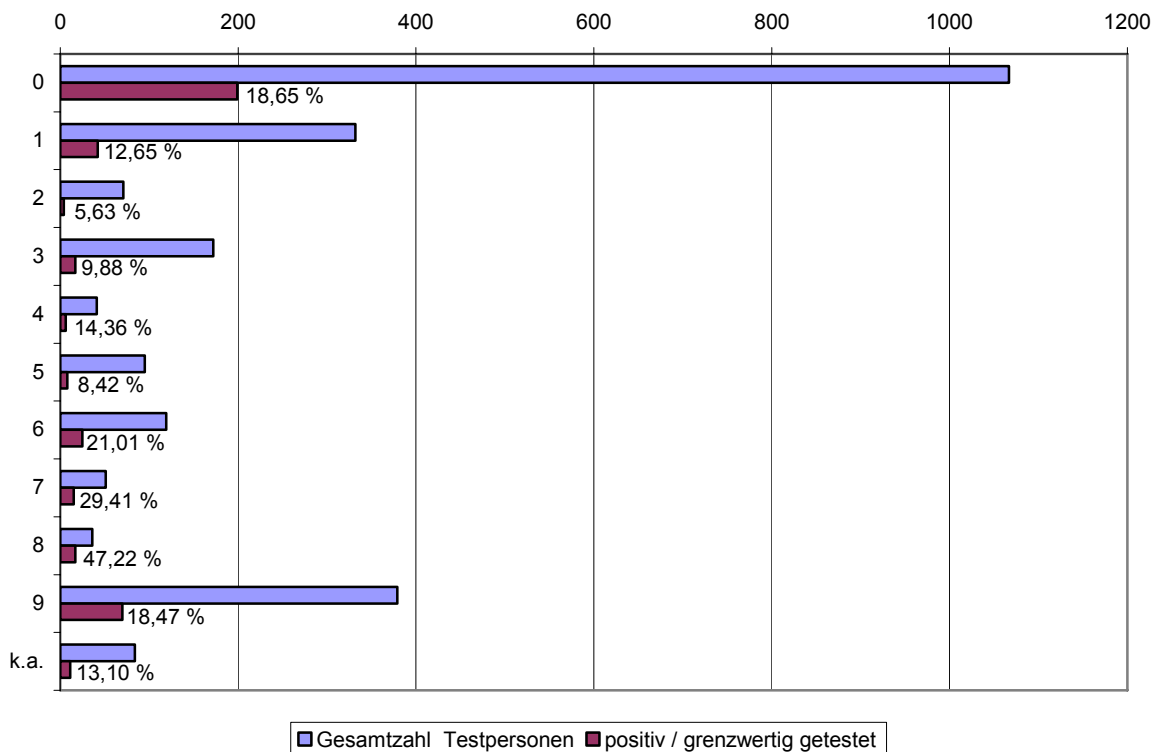


Abb. 58: Verteilung grenzwertiger / positiver FSME-ELISA bezüglich Regionen

Im Vergleich hierzu wird die regionale Herkunft derjenigen Probanden, die eine Impfung in den vergangenen 12 Monaten vor der Blutentnahme gemäß eigenen Angaben erhalten hatten, vorgestellt (Abbildung 59). Rot gekennzeichnet ist hier jeweils die Anzahl der Probanden aus Postleitzahlregionen, in denen sich Endemiegebiete mit einer Impfpflicht befinden oder zum Zeitpunkt der Impfung befanden.

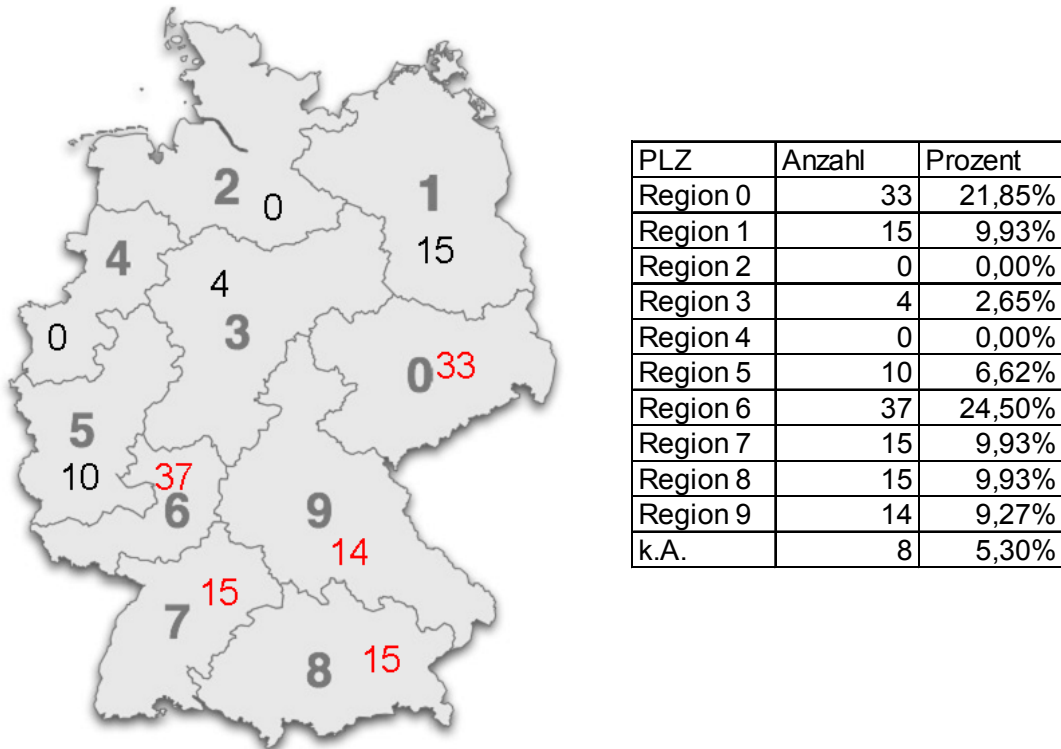


Abb. 59: Regionale Herkunft FSME-geimpfter Probanden, rot: Anzahl der Probanden aus Postleitzahlregionen, in denen sich Endemiegebiete mit einer Impfpflicht derzeit befinden oder zum Zeitpunkt der Impfung befanden

Die detaillierte Analyse bei angegebener Postleitzahl zeigte, dass von 151 geimpften Personen insgesamt nur 41 direkt in FSME-Endemiegebieten wohnhaft sind (27,15 %). 44 der 151 geimpften Probanden (29,14 %) hatten Auslandsaufenthalte in Endemiegebieten angegeben.

### 3.2.3 Dengue-Virus

Alle 511 Seren, die im WNV IgG ELISA (WNV IgG DxSelect™) der Firma Focus Diagnostics entweder positiv oder grenzwertig positiv auf WNV-AK reagiert hatten, wurden zur Ausdifferenzierung der ursächlichen Flavivirusinfektion einer Testung auf Dengue-Antikörper der Klasse IgG mittels Mikrotiter-ELISA der Firma EUROIMMUN unterzogen. Hierbei waren 66 Testseren gemäß der vorgegebenen Kriterien grenzwertig (12,92 % von 511) und 124 (24,27 % von 511) positiv. Der Mittelwert über alle Ergebnisse betrug 0,791 mit einem Median bei 0,592. Der Mittelwert der positiven und grenzwertigen Ergebnisse lag bei 1,479 mit dem Median 1,270 bei.

### 3.3. Weitergehende Testung zu Bestätigung des für die Serokonversion verantwortlichen Flavivirus

Nach Auswertung der unter 3.1. aufgezeigten Screeningergebnisse (Abbildung 60) wurden weitergehende Testreihen zur Differenzierung der Ergebnisse durchgeführt.

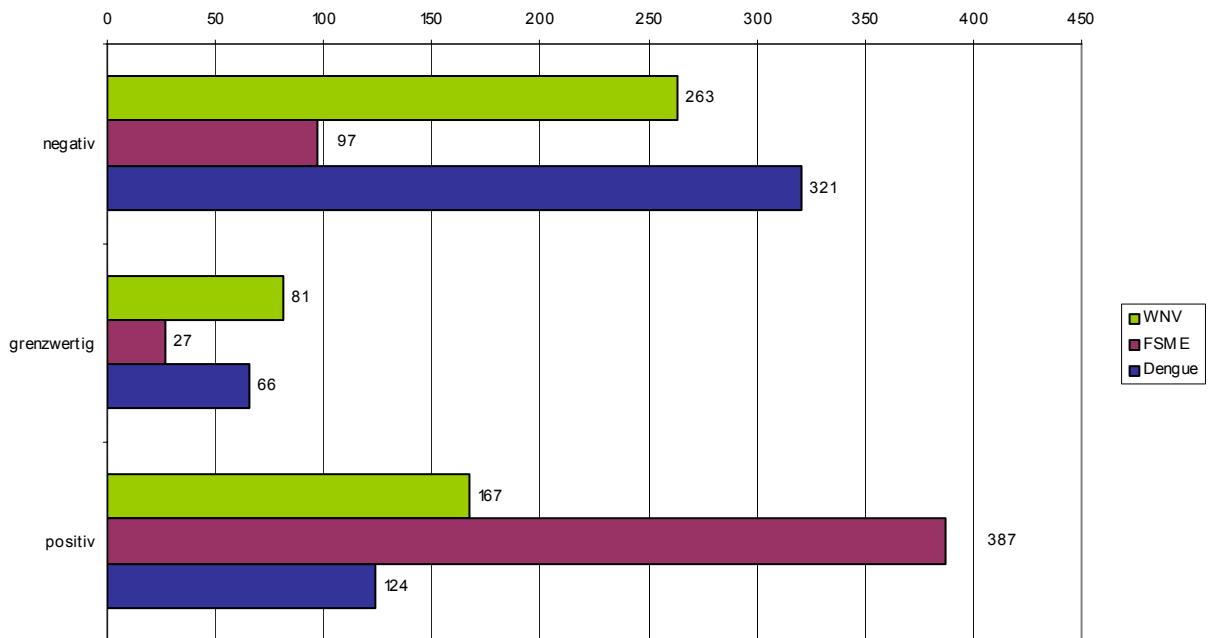


Abb. 60: Gesamtübersicht der Screeningergebnisse bezüglich WNV (grün), FSME- (violette) und Dengue-Virus (blau) mittels IgG-ELISA EUROIMMUN jeweils Anzahl Ergebnisse negativ, grenzwertig oder positiv



Einer kompletten Testung wurden diejenigen Proben unterzogen, bei denen der gemessene Extinktionswert des WNV-ELISA größer als der beim FSME-ELISA war und mindestens ein Extinktionswert größer 0,8 – demnach positiv oder grenzwertig – war. Letztgenannte Kriterien trafen für insgesamt 26 Probandenseren zu. Bei der Konstellation vice versa wurde davon ausgegangen, dass es sich bei der Reaktion im WNV-ELISA um eine Kreuzreaktion mit den im Serum vorhandenen Antikörpern gegen FSME handelt. Ein Extinktionswert beim Dengue-ELISA, welcher den gemessenen Wert des WNV-ELISA überschritt, wurde nicht als Ausschlusskriterium für die Anwendung des IFT gewertet (Immunfluoreszenz-Serie 1). Ebenfalls in die zweite Teststufe wurden diejenigen Seren aufgenommen, bei denen der Extinktionswert im FSME-ELISA den Wert 10,00 überstieg, was bei insgesamt 9 Probanden der Fall war (Immunfluoreszenz-Serie 2).

### 3.3.2 Ergebnisse Immunfluoreszenzserie 1

Bei der vollständigen Testung der 26 Probenseren, bei denen auf Grund der Extinktionswert-Konstellation weiterhin der Verdacht auf einen Kontakt mit West-Nil-Virus bestand, ergab der Immunfluoreszenztest die folgenden Ergebnisse (Übersicht Abbildung 61, Detail Tabelle 6).

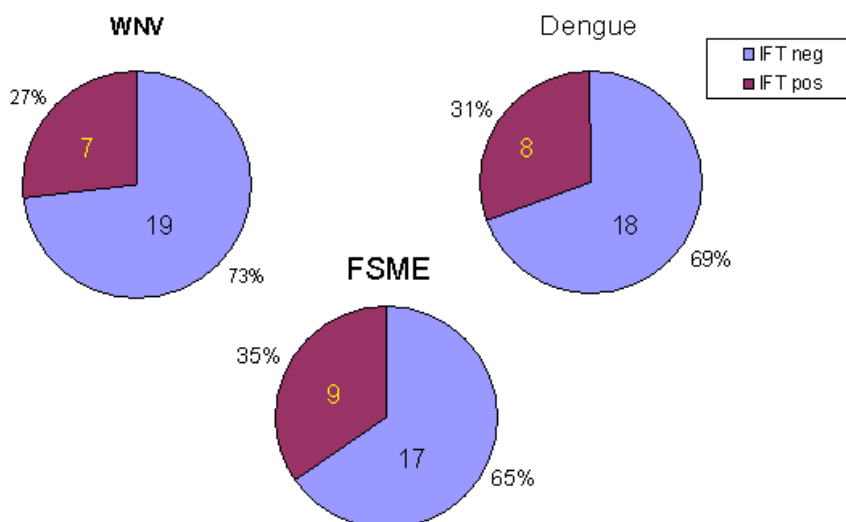


Abb. 61: Prozentualer Anteil positiver IFT im Bezug auf die 26 Probanden, bei denen weiterhin der Verdacht auf einen Kontakt mit West-Nil-Virus bestand,

Tabelle 6: Ergebniskonstellationen Immunfluoreszenzserie 1 im Bezug zu Ergebnissen WNV-, FSME- und Dengue-IgG-ELISA

Ergebnis IFT	gesamt	IgG WNV ELISA			IgG FSME ELISA			IgG Dengue ELISA	
		pos	gw	neg	pos	gw	neg	pos	neg
WNV / FSME/ Dengue negativ:	17	11	4	2	1	4	12	1	16
nur FSME positiv:	1	0	1	0	0	1	0	0	1
FSME und Dengue positiv:	1	1	0	0	0	1	0	1	0
WNV / FSME/ Dengue positiv:	7	7	0	0	4	0	3	6	1

Alle 7 Seren, bei denen mindestens ein positiver oder grenzwertiger Titer im WNV-IFT vorlag, wurden im letzten Analyseschritt einem WNV-PRNT unterzogen. Ebenso wurde bei allen 8 positiven Dengue-Virus-IFTs ein Dengue-Virus-PRNT durchgeführt. Hierbei waren bei keinem der Probanden spezifische Antikörper gegen das West-Nil-Virus nachweisbar.

Bei zwei Probanden konnte der positive Nachweis einer stattgehabten Dengue-Virus-Infektion erbracht werden. In beiden Fällen waren die ELISA bezüglich WNV und Dengue positiv, wobei der Extinktionswert im Dengue-ELISA denjenigen im WNV-ELISA überstieg. In einem Fall ergab der FSME-ELISA ebenfalls ein positives Ergebnis, der Wert lag jedoch unterhalb dem des Dengue-Tests. Im anderen Fall war der FSME-ELISA nur grenzwertig positiv.

Fall 1:

Männlich, 1985 geboren, wohnhaft im Raum Schwerin/Mecklenburg-Vorpommern. Auslandsaufenthalte in Großbritannien, Ägypten, Polen und der Türkei. Keine Impfungen oder fieberhafte Erkrankungen erinnerlich.

Titerkonstellation im IFT: WNV negativ      FSME 1:20      Dengue 1:80

Fall 2:

Keine Angaben zu Alter oder Geschlecht, wohnhaft im Großraum Wesel/Nordrhein-Westfalen. Auslandsaufenthalt in Benin. Gelbfieberimpfung erinnerlich, jedoch keine fieberhafte Erkrankung.

Titerkonstellation im IFT: WNV 1:640                      FSME 1:640                      Dengue > 1:1280

Eine Testung mittels PRNT bezüglich FSME erfolgte nicht, da eine Unterscheidung, ob es sich hierbei um Kontakte mit dem Wildvirus oder um eine stattgehabte Impfung - entweder vom Probanden angegeben oder als „nicht erinnerlich“ vermerkt – handelt, nicht möglich ist und daher als nicht sinnvoll erschien.

### **3.3.3 Ergebnisse Immunfluoreszenzserie 2**

Von allen neun Probanden, die einen Extinktionswert größer 10 im FSME-ELISA aufwiesen, war keinem eine entsprechende Impfung in den vergangenen 12 Monaten erinnerlich. Von vier Probanden, welche die Frage nach grippeähnlichen Symptomen positiv beantwortet hatten, wurde von keinem die Frage nach einer Beteiligung des zentralen Nervensystem im Sinne einer Enzephalitis oder Meningitis bejaht.

Drei der neun betroffenen Probanden leben in Hochrisikogebieten bzw. angrenzenden Landkreisen in Deutschland (Postleitzahl in der Tabelle rot markiert), zwei im Bereich Landkreis Hildburghausen und einer im Saale-Holzland-Kreis. Die detaillierte Ergebniskonstellation ist der Tabelle 7 zu entnehmen, inklusive der Ergebnisse des hierbei ebenfalls durchgeführten WNV-Aviditätstest mittels EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA.

Tabelle 7: Ergebniskonstellationen Immunfluoreszenzserie 2, rot: PLZ aus Hochrisikogebieten bzw. angrenzenden Landkreisen

Lfd.Nr.	Aviditätsindex in Prozent	FSME Titer	WNV ELISA	WNV Titer	Dengue ELISA	Dengue Titer	fiieberhafte Erkrankung	Wohnort PLZ	Auslandsaufenthalte (FSME-Gebiete)
1	93,8	> 1:160	gw	1:80	gw	1:80	ja	373XX	Österreich
2	94,7	> 1:2560	pos	1:160	pos	1:1280	nein	985XX	nein
3	96,5	> 1:160	pos	1:80	pos	1:160	ja	985XX	Österreich
4	72,3	> 1:160	pos	1:80	pos	1:160	nein	044XX	nein
5	87,2	> 1:2560	pos	1:80	pos	1:640	nein	083XX	Polen, Tschechien
6	110	> 1:2560	pos	1:1280	pos	1:640	ja	096XX	Ungarn
7	91,6	> 1:2560	pos	1:2560	pos	1:640	ja	091XX	Polen
8	82,5	> 1:2560	pos	1:80	pos	1:320	nein	077XX	nein
9	81,4	> 1:2560	pos	1:1280	pos	1:1280	nein	017XX	Ungarn, Tschechien

Die Bestimmung der Aviditätsindices der WNV-IgG-AK ergab in keinem Fall einen Hinweis auf eine akute Infektion. In diesem Zusammenhang wurde bei insgesamt 52 Serumproben einem WNV-IgG-Aviditäts-ELISA durchgeführt. Hier wies bei insgesamt drei Proben der Aviditätsindex auf niedrig-avide Antikörper gegen WNV hin.

Tabelle 8 (Ausschnitt): Ergebnisse Aviditätstest mittels EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA (vollständige Auflistung auf der Folgeseite Tab. 8a), rot: Aviditätsindex < 50 %

Lfd.Nr.	Aviditätsindex in Prozent	FSME ELISA	WNV ELISA	Dengue ELISA
38	49,6	0,352	0,737	0,093
44	53,3	2,612	0,921	0,577
45	38,7	1,758	0,991	0,502

In den beiden Fällen, in denen der Aviditätsindex unter 50 % lag (rot markiert), wurde sowohl mittels ELISA als auch mittels iIFT auf das Vorhandensein von Antikörpern der Klasse IgM gegen WNV getestet. Die Ergebnis waren jeweils negativ.

Insgesamt waren von den 52 Seren, bei denen die Differenzierung zwischen niedrig- und hoch-aviden Antikörpern vorgenommen wurde, 31 im WNV-ELISA negativ (59,62 %), 8 grenzwertig positiv (15,38 %) und 13 eindeutig positiv (25,0 %).

Tabelle 8a: Vollständige Ergebnisse Aviditätstest mittels EUROIMMUN-Mikrotiter-ELISA

Lfd.Nr.	Aviditätsindex in Prozent	FSME ELISA Extinktionswert	WNV ELISA Extinktionswert	Dengue ELISA Extinktionswert
10	98,2	0,509	0,111	0,103
11	89,3	1,412	0,139	0,097
12	147,5	0,333	0,144	0,179
13	93,3	0,679	0,149	0,115
14	93,0	0,897	0,164	0,145
15	88,9	0,600	0,189	0,127
16	93,5	8,455	0,198	0,347
17	100,0	0,352	0,217	0,206
18	85,5	0,697	0,232	0,123
19	93,0	2,982	0,257	0,260
20	87,7	5,709	0,282	0,456
21	70,4	1,533	0,297	0,212
22	104,7	1,042	0,328	0,163
23	90,4	6,467	0,455	0,462
24	86,8	4,964	0,461	0,437
25	84,4	1,885	0,471	0,222
26	82,0	7,727	0,477	0,365
27	65,6	5,261	0,502	0,504
28	87,6	6,230	0,502	0,720
29	96,0	3,121	0,545	0,681
30	95,0	8,624	0,573	0,796
31	66,8	8,527	0,574	0,327
32	88,2	5,255	0,582	0,575
33	62,7	3,673	0,585	0,474
34	76,8	6,121	0,604	0,567
35	79,2	0,812	0,607	0,635
36	82,3	5,642	0,693	0,563
37	72,8	2,776	0,715	0,419
38	49,6	0,352	0,737	0,093
39	68,9	1,067	0,740	0,206
40	72,7	7,830	0,755	0,873
41	93,0	9,067	0,809	0,887
42	100,0	7,321	0,848	0,579
43	86,7	5,903	0,848	0,790
44	53,3	2,612	0,921	0,577
45	38,7	1,758	0,991	0,502
46	79,4	9,691	0,994	1,177
47	70,7	9,382	1,006	0,911
48	87,5	9,770	1,232	1,359
49	76,9	9,836	1,263	1,425
50	74,8	4,430	1,350	1,052
51	89,1	9,139	1,415	1,008
52	76,9	7,964	1,542	0,879

### 3.3.3 Statistische Auswertung

Nach Abschluss aller Testserien ergaben sich folgende Werte für die jeweils verwendeten standardisierten Produkte, wobei eine Sensitivität von 100 % gemäß Herstellerangaben den Berechnungen zu Grunde gelegt wurde.

Tabelle 9: Statistische Auswertung

Test	Spezifität	Positiver prädiktiver Wert	Positiver Likelihood-Quotient
WNV IgG DxSelect™	0,770		
WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN	0,889		
Dengue-IgG-ELISA EUROIMMUN	0,915	0,011	11,824
WNV-IFT EUROIMMUN	0,731		
Dengue-IFT EUROIMMUN	0,692	0,200	3,250

In den folgenden Tabellen sind die Einzelwerte in der Vierfeldertafel im Detail dargestellt. Eine statistische Auswertung kann auf Grund der Nicht-Differenzierbarkeit zwischen stattgehabter Impfung und durchgemachter Erkrankung bei den FSME-Tests nicht erfolgen.

Tabelle 9a: WNV-IgG-ELISA DxSelect™

		Krankheit		gesamt
		krank	gesund	
Test	positiv	0	511	511
	negativ	0	1714	1714
gesamt		0	2225	2225

Tabelle 9b: WNV-IgG-ELISA EUROIMMUN

		Krankheit		gesamt
		krank	gesund	
Test	positiv	0	248	248
	negativ	0	1977	1977
gesamt		0	2225	2225

Tabelle 9c: Dengue-IgG-ELISA EUROIMMUN

		Krankheit		gesamt
		krank	gesund	
Test	positiv	2	188	190
	negativ	0	2035	2035
gesamt		2	2223	2225

Tabelle 9d: WNV-IFT EUROIMMUN

		Krankheit		gesamt
		krank	gesund	
Test	positiv	0	7	7
	negativ	0	19	19
gesamt		0	26	26

Tabelle 9e: Dengue-IFT EUROIMMUN

		Krankheit		gesamt
		krank	gesund	
Test	positiv	2	8	10
	negativ	0	18	18
gesamt		2	26	28

### 3.3.4 Auswertung Reiseanamnese

Von 2447 Teilnehmern, die den Fragebogen im Rahmen der Studie beantwortet hatten, waren 1530 (62,53 %) in den drei Jahren vor der Blutentnahme im Ausland gewesen. So hatten z.B. 292 Probanden einen oder mehrere Aufenthalte in Italien angegeben. In nachfolgender Tabelle 10 sind die Top-20-Reiseziele dargestellt. Vor dem Hintergrund zweier nachgewiesener Dengue-Infektionen wurden die Reisegebiete auch dahingehend beurteilt, ob es sich gemäß Center for Disease Control and Prevention in Atlanta um Dengue-Endemiegebiete bzw. um Verbreitungsgebiete des Hauptüberträgers *Aedes aegypti* handelt. Die entsprechende Verteilung kann der Tabelle 10 a entnommen werden.

Tabelle 10: Top-20-Reiseziele im Probandenkollektiv (absolute Zahlen)

	Land	Anzahl		Land	Anzahl
1	Italien	292	11	Kroatien	87
2	Spanien	289	12	Benelux-Staaten	73
3	Tschechien	225	13	Griechenland	54
4	Österreich	180	14	Tunesien	52
5	Türkei	151	15	Ägypten	48
6	Polen	129	16	Bulgarien	46
7	Ungarn	118	17	USA und Kanada	49
8	Frankreich	107	18	Schweiz	25
9	Skandinavien	94	19	Dominikanische Rep.	14
10	Großbritannien und Irland	87	20	Portugal	11

Als weitere Reiseziele außerhalb Europas wurden genannt:

- Mittel- und Südamerika inklusive Karibik:
  - Bolivien, Brasilien, Haiti, Kuba, Mexiko
- Asien und arabische Halbinsel:
  - Singapur, China, Philippinen, Vietnam, Indonesien, Malediven, Thailand, Sri Lanka, Vereinigte Arabische Emirate
- Afrika:
  - Libyen, Marokko, Sambia, Benin, Seychellen, Südafrika

Des Weiteren waren Rumänien, alle baltischen Staaten, sowie Russland und Kasachstan mindestens jeweils einmal als Reiseziel angegeben worden.

Tabelle 10 a: Verteilung der Reisenden hinsichtlich Dengue-Endemiegebiete/Reisen ins Verbreitungsgebiet *Aedes aegypti*

	Anzahl
Verbreitungsgebiet <i>Aedes aegypti</i>	47
Dengue-Endemiegebiet	52

Insgesamt hatten somit 4,45 % aller Probanden potentielle Dengue-Verbreitungsgebiete bereist.



## **4. Diskussion**

### **4.1 West-Nil-Virus**

Trotz zahlreicher Publikationen, in denen gezeigt werden konnte, dass das West-Nil-Virus zumindest in Teilen Europas endemisch ist, konnte - obwohl hierbei erstmalig auf geografische Regionen mit erhöhter bzw. vermuteter WNV-Aktivität fokussiert wurde - kein positiver Nachweis einer in Deutschland erworbenen Infektion bei den untersuchten Blutproben nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis der Studie deckt sich mit den zwischenzeitlich in einer Pressemitteilung des Robert-Koch-Institutes (2007) in Zusammenarbeit mit dem Paul-Ehrlich-Institut und dem Bernhard-Nocht-Institut veröffentlichten Erkenntnissen. Allerdings waren die Probandenseren der dieser Meldung zu Grunde liegenden Studie (Pfleiderer et al., 2008) durch den Blutspendedienst Hessen (Hauptsitz Frankfurt/Main) gewonnen worden. Somit stammte die überwiegenden Mehrzahl der Spender aus Regionen, in denen die Wahrscheinlichkeit einer Einschleppung des West-Nil-Virus erheblich geringer anzunehmen ist als in geografischer Nähe zu bestätigten oder vermuteten Endemieregionen.

Im Gegensatz hierzu wurden die Seren in der eigenen Studie bei überwiegend bei Probanden gewonnen, die in Regionen Deutschlands leben, die an vermutete oder gesicherte Endemiegebiete des West-Nil-Virus angrenzen oder eine Einschleppung durch Vektorenwanderung am wahrscheinlichsten ist. Abbildung 62 zeigt in einer Übersicht die durch Hubálek und Halouzka (1999b) angeführten Fälle. In der Abbildung sind sowohl direkte Virusnachweise in Stechmücken, Wirbeltieren oder Menschen aufgeführt (schwarzer Punkt), als auch Erkrankungsfälle bei Pferden oder Menschen, die labortechnisch bestätigt worden waren (schwarze Vierecke). Die schraffierten Flächen und die Kreise markieren Gebiete, in denen Antikörper gegen das Virus in Wirbeltieren nachgewiesen werden konnte.



Abb. 62: vermutete oder gesicherte Endemiegebiete des West-Nil-Virus, schwarzer Punkt: direkte Virusnachweise in Stechmücken, Wirbeltieren oder Menschen, schwarzes Viereck: labortechnisch bestätigte Erkrankungsfälle bei Pferden oder Menschen, Kreise und schraffierte Flächen: Auftreten von Antikörpern gegen WNV in Wirbeltieren

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse in Verbindung mit den neuesten Untersuchungsergebnissen des RKI (Pfleiderer et al., 2008) ist in Deutschland nicht mit der Zirkulation des WNV und daher mit autochthonen WNV-Erkrankungen zu rechnen. Klimatische Untersuchungen zur WNV Epidemiologie in der Region Volgograd, Russland (Platonov, 2006), in der 1999 überraschend eine Epidemie mit 326 bestätigten Erkrankungs- und vierzehn Todesfällen stattfand, gehen von Mindestdurchschnittstemperaturen von größer/gleich 3 °C in den Wintermonaten Dezember bis März und größer/gleich 22 °C in den Sommermonaten Juni bis September als klimatische Grundvoraussetzungen für eine mögliche WNV-Epidemie aus. Neben kontinuierlicher WNV-Aktivität in den entsprechend warmen europäischen Mittelmeerregionen z.B. Südfrankreich und Italien ist eine gesicherte WNV-Zirkulation in Mitteleuropa nur im

südlichen Ungarn bei Gänsen nachgewiesen worden (Glavits et al., 2005). Demnach wäre eine Erklärung, wonach eine Endemisierung des WNV in Deutschland nicht zu erwarten ist, die mitteleuropäischen klimatischen Bedingungen. In wie weit die postulierte globale Klimaerwärmung in einigen Regionen Mitteleuropas künftig eine Ausbreitung des WNV nach Deutschland ermöglichen wird, ist bislang unklar. Im Gegensatz zur Theorie von Platonov (2006) muss allerdings berücksichtigt werden, dass die von ihm angeführten Mindesttemperaturen zumindest in den Wintermonaten in zahlreichen Verbreitungsgebieten auf dem nordamerikanischen Kontinent in keiner Weise erreicht werden. So sinken z.B. in der Region Manitoba in Kanada, in der mit die meisten Erkrankungsfälle aufgetreten waren, die Temperatur in den Wintermonaten deutlich unter  $-10\text{ °C}$  und übersteigen auch in den Sommermonaten nicht grundsätzlich über den gesamten Zeitraum die hier postulierte Grenze von größer/gleich  $22\text{ °C}$  (World Book, 2008). Insgesamt kann zumindest angenommen werden, dass allein die Klimabedingungen kein Hindernis für ein mögliches endemisches Auftreten des West-Nil-Virus darstellen.

Die während der Oder-Flutkatastrophe im Jahr 1999 nachgewiesenen Infektionen konnten retrospektiv – insbesondere weil bei der Elbe-Donau-Flut 2002 keine Aktivität aufgezeigt wurde (Hubálek et al., 2005) – als Rabensburg-Virus identifiziert werden. Es wird diskutiert, ob es sich bei dem Rabensburg-Virus um ein neues Flavivirus oder eine neue WNV-Linie handelt (Bakonyi et al., 2005). Nach diesen Erkenntnissen ist davon aus zu gehen, dass während der Oderflut in der Tschechischen Republik nicht das bisher bekannte humanpathogene WNV, sondern das Rabensburg-Virus zirkulierte.

Vor dem Hintergrund der weiterhin zunehmenden Reisetätigkeit und dem ebenso diskutierten Klimawandel müssen jedoch auch nach Meinung des Robert-Koch-Institutes die Möglichkeiten für eine effektive Surveillance, insbesondere für die Sicherheit von Bluttransfusionen und Organtransplantationen, entwickelt werden.

Der erstmalige Ausbruch von Chikungunya-Fieber (Angelini et al., 2007) in Norditalien beweist, dass neben den zuvor schon heimischen potentiellen Vektoren in Europa die 1990 nach Europa eingeschleppte multiresistente Variante der Tigermücke (*Aedes*

albopictus / *Stegomyia albopicta*) den Ausbruch von Vektor assoziierten Erkrankungen begünstigen kann.

Nach einer Meldung der Süddeutschen Zeitung (Budde, 2007) konnte bei Rastatt am Oberrhein im September 2007 erstmals ein Gelege von *Aedes albopictus* nachgewiesen werden. In Abbildung 63 sind die derzeit gesicherten Verbreitungsgebiete dargestellt. Dunkelblau gekennzeichnet sind die ursprünglichen Verbreitungsgebiete, grünblau die Regionen, in welche die Einschleppung in den vergangenen 30 Jahren stattgefunden hat.

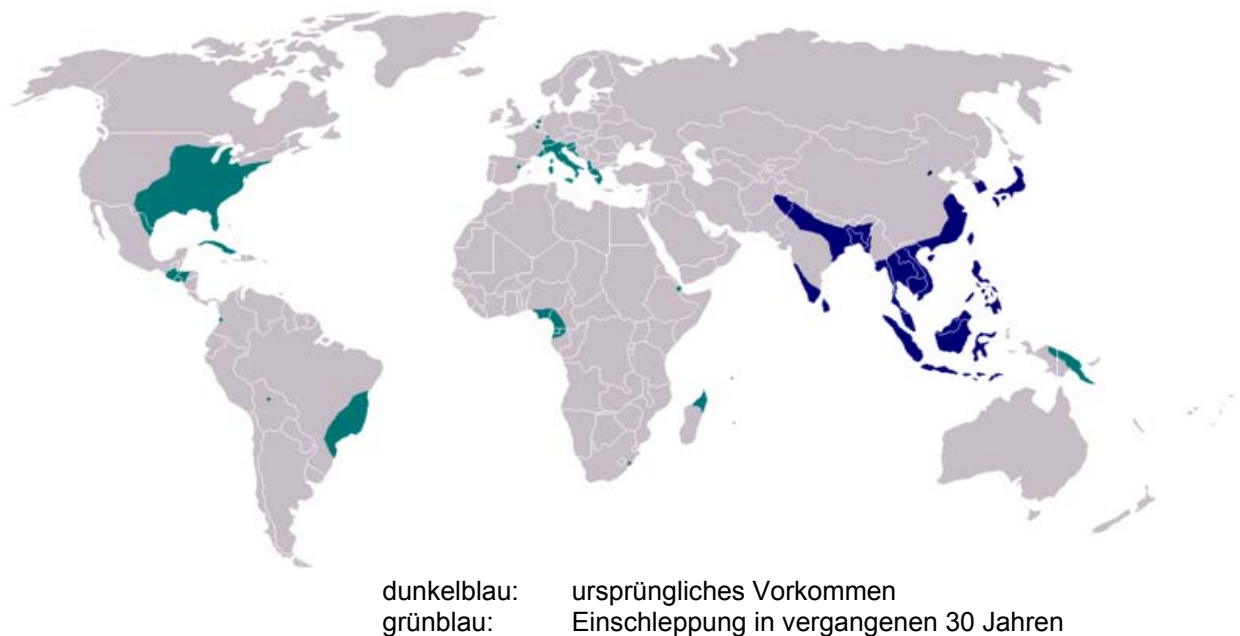


Abb. 63: Verbreitungsgebiete *Aedes albopictus* (Gancho, 2007) als möglicher Vektor verschiedener humanpathogener Viren, u.a. des WNV

Marr und Calisher legten 2003 in einer Veröffentlichung dar, dass der Tod von Alexander dem Großen im Jahr 322 vor Christi Geburt möglicherweise auf eine Infektion mit dem West-Nil-Virus zurück zu führen sein könnte. Letztendlich ist diese Todesursache rein spekulativ, jedoch zeigen die Autoren auf, dass es sich hier um einen für diese Zeit relativ gut dokumentierten Fall einer „Reisekrankheit“ bzw. um eine Erkrankung, die sich ein Soldat im Auslandseinsatz erworben hat, handelt. Diese

Problematik hat an Aktualität nichts verloren, da sich Angehörige der Bundeswehr im Rahmen ihres neuen, weltweiten Aufgabenspektrums in teilweise hochendemischen WNV-Regionen aufhalten. So konnte in der Region Kunduz, im Norden Afghanistans gelegen, kürzlich eine WNV-Seroprävalenz von 22,1 % nachgewiesen werden (Dobler et al., 2006). Obwohl im derzeitigen Einsatzraum Djibouti 2005 mehr als zehn Fälle und 2007 fünf Fälle von WNV-Erkrankungen bei französischen Soldaten und deren Angehörigen nachgewiesen werden konnten (persönliche Mitteilung Dr. Jacques Bougère, Hôpital Bouffard, Djibouti Ville, Djibouti), sind aktuelle Seroprävalenzdaten wegen fehlender Studien derzeit nicht verfügbar.

Im Vergleich mit den im Jahr 2000 bekannten Verbreitungsgebieten verschiedenster Flaviviren (Abbildung 64) und den unter 3.3.4 ermittelten und dargestellten Reisezielen der Probanden wird deutlich, dass ein entsprechender Kontakt mit dem West-Nil-Virus sowohl bei innereuropäischen wie bei außereuropäischen Reisezielen möglich gewesen wäre. Die trifft insbesondere, vor dem Hintergrund der zunehmenden Verbreitung, auf die Vereinigten Staaten von Amerika und in Kanada zu, welche auf nachstehender Abbildung noch nicht erfasst ist.

Die Darstellung macht auch deutlich, dass Pfeleiderer et al. (2008) im Rahmen ihrer Probengewinnung durch die bestehenden Beschränkungen für das Blutspendewesen einen großen Teil derjenigen Reisenden, welche potentielle Endemiegebiete verschiedenster Flaviviren besucht hatten, ausschlossen. Allerdings unterliegt ein Teil der in der Abbildung 64 ausgewiesenen Endemiegebiete keinerlei Beschränkungen für das Blutspendewesen. Von den getesteten Probanden war weiterhin keine detaillierte Reiseanamnese erfasst worden, so dass bei einer möglichen nachgewiesenen Infektion mit dem West-Nil-Virus nur sehr schwer eine Infektion an einem außerhalb der Bundesrepublik Deutschland gelegenen Ort hätte eindeutig ausgeschlossen werden können.

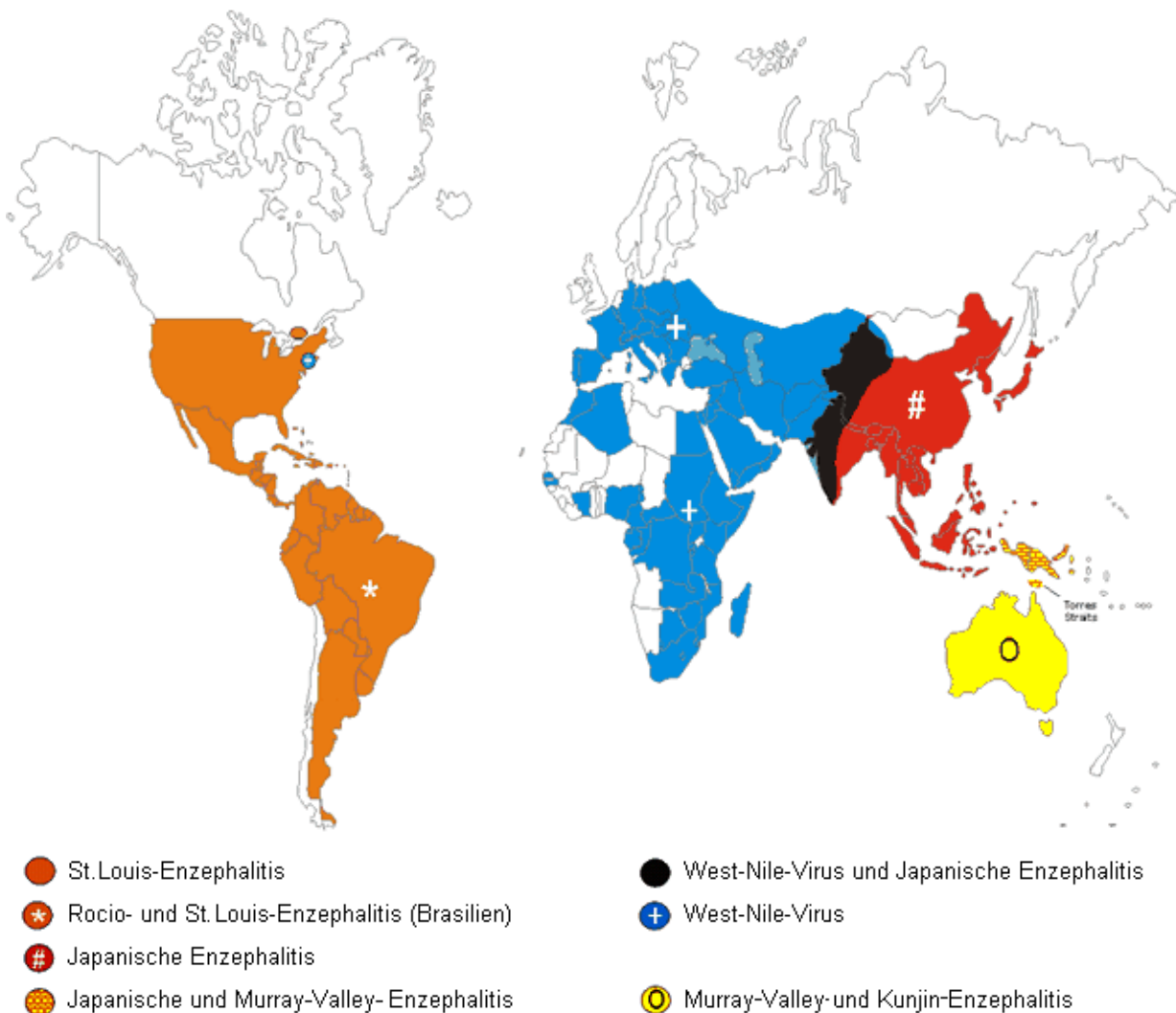


Abb. 64: Verbreitungsgebiete verschiedener Flaviviren ohne FSME und Dengue- Fieber, Stand 2000 (CDC, 2005)

Vor dem Hintergrund der gesicherten Verbreitung des West-Nil-Virus in Teilen Afrikas und Asiens sowie dem gesamten nordamerikanischen Kontinent ist durch den Ausschluss von Personen mit einer entsprechenden Reiseanamnese und/oder einer akut fieberhaften Erkrankung von einer Blutspende nach derzeitigem Sachstand eine ausreichende Sicherheit von Blutprodukten gegeben. Zwar wird das West-Nil-Virus explizit nur bezüglich Aufenthalt in Endemiegebieten, als Beispiel werden der nordamerikanischen Kontinent und Mexiko angeführt, genannt. Ein Großteil des Verbreitungsgebietes außerhalb Europas wird jedoch zusätzlich durch den

Sperrvermerk bezüglich Malaria-Endemiegebiete abgedeckt. In Abbildung 65 ist der derzeitige Sachstand der Malaria-Ausbreitung dargestellt.

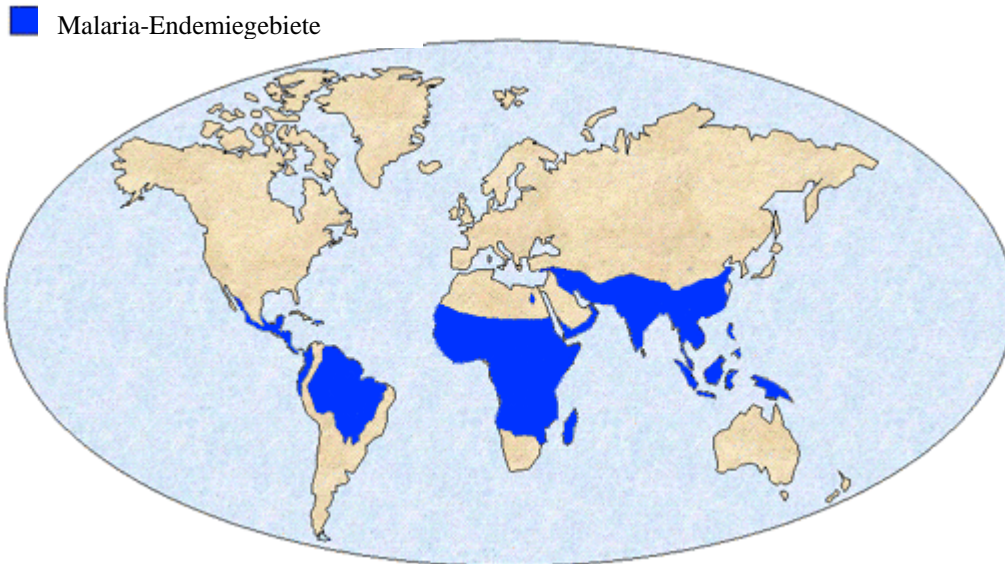


Abb. 65: Verbreitungsgebiete der Malaria (CDC, 2004) blau gekennzeichnet

Derzeit gelten die folgenden Ausschlusskriterien bezüglich Auslandsaufenthalten (Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr, 2007):

- nach Besuch eines Malaria-Endemiegebietes für **mindestens 6 Monate**
- Personen, die in einem Malaria-Endemiegebieten geboren oder aufgewachsen sind oder die zeitweilig ihren Lebensmittelpunkt dort hatten für **4 Jahre** nach Verlassen der Region. Vor Aufnahme der Spendetätigkeit muss die Infektiosität mittels eines validierten immunologischen oder Nukleinsäure-Nachweistests ausgeschlossen werden
- Personen, die aus einem Gebiet eingereist sind, in dem sie ihrem zeitweiligen Lebensmittelpunkt hatten, und in dem sich HBV-, HCV-, HIV- oder HTLV-I/-II-Infektionen vergleichsweise stark ausgebreitet haben für **4 Monate** nach dem letzten Aufenthalt; Zulassung zur Spende im Falle kürzerer Aufenthalte kann nach ärztlicher Beurteilung erfolgen.
- bei besonderen epidemiologischen Situationen angepasst an die entsprechende Situation (z.B. Personen, die sich in den letzten 4 Wochen in einem SARS-Endemiegebiet aufgehalten haben)

- nach Verlassen eines Gebietes mit saisonal fortlaufender Übertragung des Westnil-Virus auf Menschen für **4 Wochen**, sofern keine Genomtestung durchgeführt wird (z.B. **nordamerikanischer Kontinent** und **Mexiko** jeweils in der Zeit vom 1. Juni bis 30. November)
- nach **Aufenthalt in einem Chikungunya- Endemiegebiet** in den letzten zwei Wochen: alle afrikanischen Staaten südlich der Sahara, sowie der gesamte ostasiatische Raum u. die Inseln Mauritius, Seychellen und La Reunion **für 2 Wochen**

Hieraus ergibt sich ein Restrisiko bezüglich Auslandsaufenthalten in europäischen Ländern mit einem sporadischen Auftreten des WNV, sowie in vorder- und zentralasiatischen Staaten. Auf Grund der vielfach beschriebenen inapparenten Verläufe kann es hier zumindest theoretisch zu einer Übertragung im Rahmen einer Bluttransfusion kommen. Ein sicherer Ausschluss wäre derzeit nur möglich, wenn alle gewonnenen Spende einem direkten Nachweis von eventuell im Spenderblut enthaltener Virus-RNA unterzogen werden würde. Bei den hierfür an zu setzenden mittleren Gesamtkosten von € 40,90 gemäß „Einheitlicher Bewertungsmaßstab“, kurz EBM, (KBV, 2008), ist dies aus betriebswirtschaftlicher Sicht ab zu lehnen. Es muss allerdings hierbei berücksichtigt werden, dass eine Umstellung der Blutspendentestung auf pathogene Viren auf eine vollautomatisierte fünffach PCR mit gepoolten Proben geplant ist. Eine Erweiterung dieses Verfahrens, welches derzeit für die nachfolgend aufgeführten Viren getestet wird, um die West-Nil-Virus-PCR, ist mit relativ geringem technischen Aufwand möglich, so dass hieraus nur eine geringe Kostensteigerung im Centbereich zu erwarten ist.

Derzeit routinemäßig durchgeführte PCR in Blutspenden (Hourfar et al., 2005):

- HCV
- HBV
- HIV-1
- HAV
- Parvovirus B 19

Korves et al. konnten bereits 2006 mittels einer Kosten-Effektivitäts-Analyse zeigen, dass eine extrem restriktive Anwendung von gentechnischen Testverfahren zum



Nachweis von WNV-RNA in Blutspenden bei gleichzeitig vorgeschaltetem standardisierten Fragebogen allen anderen Vorgehensweisen gegenüber vorzuziehen ist. Nur in Gegenden mit einer hohen WNV-Inzidenz führt der Einsatz der PCR zu einer Kostenreduktion ohne gleichzeitig abnehmender Lebenserwartung der Empfänger, wobei hier die Restriktion angenommen werden muss, dass es sich bei den Transfusionsempfängern um immunkompromittierte Patienten handelt.

Zum Screening auf eine akute Infektion sind alle am Markt erhältlichen Antikörper-Testverfahren ungeeignet. Antikörper der Klasse IgG können frühestens am vierten Infektionstag nachgewiesen werden. Antikörper der Klasse IgM sind ebenfalls erst mit einem Zeitverzug von mindestens drei Tagen nach dem Infektionszeitpunkt im Patientenserum nachweisbar. Außerdem haben sich beide in der Studie angewendeten ELISA-Tests als extrem anfällig bezüglich Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen andere Flaviviren gezeigt.

Auch Niedrig et al. konnten 2007 darstellen, dass es sowohl bei den ELISA-Testsätzen als auch bei den vorgefertigten iIFT-Testsätzen zum Nachweis von Antikörpern gegen das West-Nil-Virus des Herstellers EUROIMMUN (Lübeck) zu Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen andere Flaviviren kommt. So zeigten diejenigen Seren, die bekanntermaßen Antikörper gegen das Dengue-Virus enthielten, im WNV-IgG-ELISA in allen Fällen eine positive Reaktion, der entsprechende WNV-IgG-iIFT war immerhin noch in 90,9 % der Fälle positiv. Grundsätzlich waren die Kreuzreaktionen beim Nachweis von spezifischen Antikörpern der Klasse IgM deutlich seltener, dennoch kam es bei bis zu 10,5 % der getesteten Seren im ELISA und bis 15,8 % im iIFT zu falsch positiven Testergebnissen.

Insbesondere das Produkt der Firma Focus Diagnostics (WNV IgG DxSelect™) ist auf Grund der hohen Kreuzreagibilität mit Antikörpern gegen FSME-Viren für einen Einsatz in Europa nicht geeignet (Spezifität 0,770). Der aus deutscher Produktion stammende ELISA-Test der Firma EUROIMMUN wies zwar eine deutlich höhere Spezifität auf (0,899). Unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten ist der Einsatz zur Surveillance bezüglich des grundsätzlichen Vorkommens des West-Nil-Virus in Europa jedoch allein

wegen der Kosten, der aus einem wahrscheinlichkeitsbedingt falsch positiven Ergebnis resultierenden Folgeuntersuchungen, abzulehnen.

Die Anzahl der zu erwartenden falsch positiven Ergebnisse im Rahmen eines WNV-Screenings auf Grund von Kreuzreaktionen mit FSME-Antikörpern ist im hohen Maße davon abhängig, in welcher Region Deutschlands die entsprechenden Probanden wohnhaft sind. Zum Einen wird in Nicht-Endemiegebieten eine stattgehabte FSME-Infektion nur sehr selten, nämlich wenn bei einem vorangegangenen Aufenthalt in einem Endemiegebiet erworben, zu einer Kreuzreaktion führen. Zum Anderen besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Immunisierungsrate der Bevölkerung mittels Impfung und der Einstufung eines Landkreises als Endemiegebiet. Die Gesellschaft für Konsumgüterforschung befragte in den Jahren 2005 bis 2007 jeweils über 40.000 Menschen in den alten Bundesländern hinsichtlich einer Grundimmunisierung (GI) gegen FSME. In Tabelle 11 sind die Ergebnisse der Befragung für Hessen und Baden-Württemberg beispielhaft dargestellt. Vor dem Hintergrund der deutlich niedrigeren Durchimpfungsrate in Hessen war in der Studie von Pfeleiderer et al. (2008) von einer niedrigeren Kreuzreaktionsrate auszugehen, als wenn die Studie z.B. in Baden-Württemberg durchgeführt worden wäre.

Tabelle 11: Grundimmunisierungsrate gegen FSME in Hessen und Baden-Württemberg, Gesellschaft für Konsumgüterforschung (2008)

	Hessen		Baden-Württemberg	
	vollständige GI	unvollständige GI	vollständige GI	unvollständige GI
2005	9,0 %	8,0 %	17,0 %	11,0 %
2006	12,0 %	8,0 %	19,0 %	13,0 %
2007	13,7 %	12,6 %	21,8 %	17,7 %
Mittelwert	11,6 %	9,5 %	19,3 %	13,9 %

Bei den eigenen Untersuchungen auf Antikörper gegen FSME waren 29,41 % aller Probanden, die aus der Postleitzahlregion 7 (Baden-Württemberg) stammten, positiv getestet worden. Diese Ergebnisse decken sich mit der in der Befragung erhobenen Daten, sofern man hierbei zu Grunde legt, dass auch eine unvollständige

Grundimmunisierung zu einer Antikörperbildung führt. Für Sachsen gilt dies nahezu analog, laut GfK geben in einer Befragung dort 12,5 aller Befragten an, dass sie eine vollständige Grundimmunisierung gegen FSME erhalten hatten. In den eigenen Untersuchungen waren 16,55 % aller Teilnehmer aus Sachsen positiv bezüglich FSME-AK. Die Differenz von 4 % ist durchaus dadurch erklärbar, dass bei der Befragung durch die GfK explizit die Daten einer vollständigen Grundimmunisierung erhoben worden waren.

## **4.2 Dengue-Virus**

Im Rahmen der durchgeführten Studie konnten in zwei der 2225 untersuchten Serumproben eindeutig Antikörper gegen das Dengue-Virus mittels PRNT nachgewiesen werden, womit eine stattgehabte Dengue-Virus-Infektion bei den jeweiligen Probanden als gesichert anzusehen ist. Bei keinem der beiden Probanden war eindeutig eine positive Reiseanamnese gegeben, beide Probanden hatten sich jedoch gemäß den gemachten Angaben in einem Verbreitungsgebiet des Hauptvektors aufgehalten. Nach den vorliegenden Daten des Centers for Disease Control and Prevention wird weder Ägypten noch Benin derzeit als Endemiegebiet eingestuft. In den Abbildungen 66 a und b sind die aktuell und offiziell anerkannten Endemiegebiete nochmals dargestellt. Nicht auszuschließen ist, dass die Angaben der Probanden nicht umfassend waren bzw. die Reisen und somit unter Umständen auch die Infektionen länger als drei Jahre zurück lagen. Eine fieberhafte Erkrankung innerhalb der vergangenen drei Jahre wurde von beiden Probanden ebenfalls verneint.

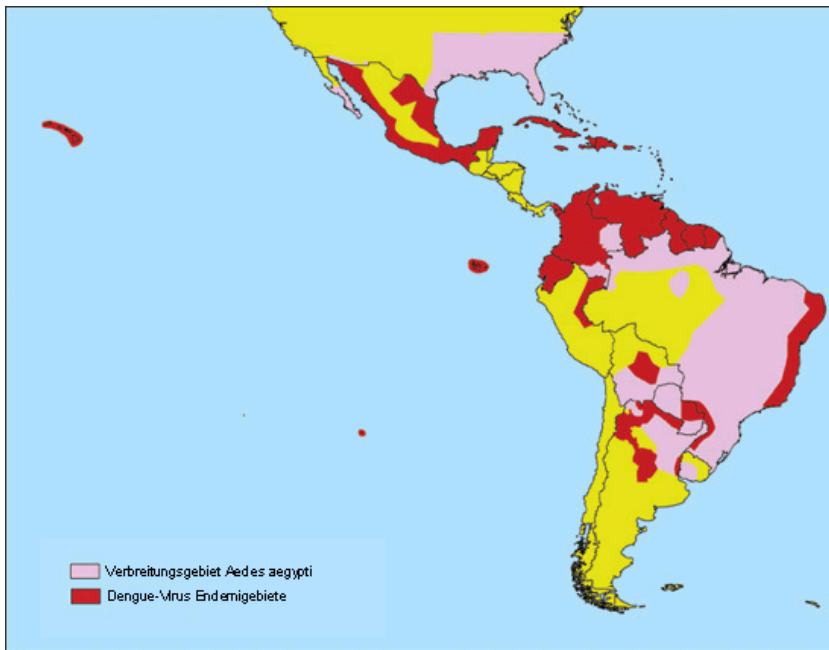


Abb. 66 a: Dengue-Endemiegebiete westliche Hemisphäre (CDC, 2008)  
rot: Dengue-Virus-Endemiegebiet  
rosa: Verbreitungsgebiet des Hauptvektors Aedes aegypti

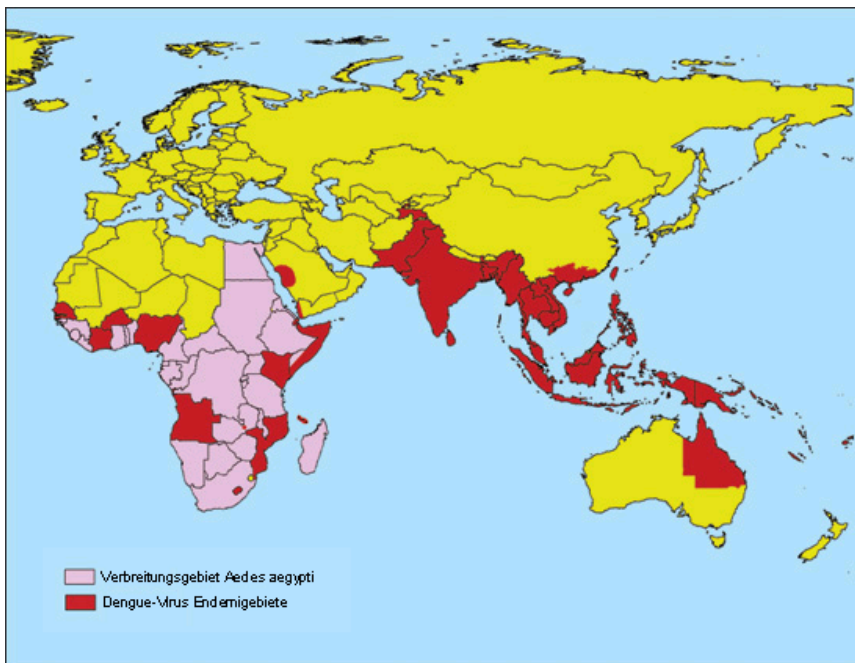


Abb. 66 b: Dengue-Endemiegebiete östliche Hemisphäre (CDC, 2008)  
rot: Dengue-Virus-Endemiegebiet  
rosa: Verbreitungsgebiet des Hauptvektors Aedes aegypti

Eisenhut et al. zeigten jedoch 1999 bei einer Untersuchung von Entwicklungshelfern, welche in tropischen Gebieten in Afrika oder Asien tätig waren, dass 14,8 % aller in Benin eingesetzten Helfer Antikörper gegen das Dengue-Virus aufwiesen (zum Vergleich 19,4 % nach Einsatz in Thailand, 9,2 % nach Einsatz in Burkina Faso). Vor diesem Hintergrund und dem definitiven Auftreten von Dengue-Erkrankungen in den Nachbarstaaten Nigeria und Burkina Faso, kann von einer Verbreitung auch in Benin ausgegangen werden. So weist auch das Center for Disease Control and Prevention darauf hin, dass trotz fehlender Erkrankungsmeldungen durchaus davon auszugehen ist, dass im gesamten westafrikanischen Raum eine Übertragung des Dengue-Virus möglich ist, zumal die Qualität der Meldungen insgesamt kritisch beurteilt werden muss. Somit ergibt sich die nachfolgende Vierfeldertafel (Tabelle 12):

Tabelle 12: Vierfeldertafel Dengue-Erkrankungen

	krank	gesund	gesamt
exponiert	1	52	53
nicht exponiert	1	2171	2172
gesamt	2	2223	2225

Für die Odds Ratio ergibt sich somit folgende Berechnung:

$$OR = \frac{1 * 2171}{1 * 52} = 41,75$$

Das 95 %-ige Konfidenzintervall beträgt demnach [2,56; 676,66]. Da dieses Schätzintervall den Wert 1 nicht überdeckt, kann davon ausgegangen werden, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen Reisen in eindeutige Endemiegebiete und Infektion besteht.

In den Jahren 2001 bis 2006 wurden durchschnittlich 140 Dengue-Fieber-Erkrankungen in Deutschland gemeldet, wovon bis auf eine nosokomial erworbene Infektion alle Erkrankungen im außereuropäischen Ausland akquiriert worden (RKI, 2007) waren. Insgesamt ist das Dengue-Infektionsrisiko stark von zeitlich und räumlich begrenzten

Epidemien in den jeweiligen Reiseländern beeinflusst, insbesondere, wenn hiervon Touristengebiete betroffen sind. Der größte Teil der Infektionen war über Jahre hinweg in Asien, respektive in Thailand, erworben worden. Es muss jedoch davon ausgegangen werden, dass ein nicht unbeträchtlicher Anteil der durchgemachten Infektionen trotz der bestehenden Meldepflicht nicht erfasst werden.

Hierfür werden seitens des Robert Koch-Institutes die folgenden Gründe genannt:

1. Es handelt sich um eine Infektion mit einer kurzen Inkubationszeit (3 bis 12 Tage), so dass die Infektion häufig während der Reise stattfindet.
2. Die Infektion verläuft in mehr als der Hälfte der Fälle ohne oder mit nur milden grippeähnlichen Symptomen, so dass es in diesen Fällen nicht zur Arztkonsultation kommt.
3. Dengue-Patienten stellen sich in der akuten Fieberphase vor, die in der Regel 3 bis 6 Tage dauert. In dieser Phase haben sich noch keine IgM-Antikörper gebildet, so dass ein serologischer Test noch negativ ist. Eine Testung mittels PCR ist kostspielig und kann nur an wenigen Zentren in Deutschland durchgeführt werden. Daher ist eine Wiedervorstellung nach der Fieberphase empfehlenswert, bei der man ansteigende Antikörper gegen das Dengue-Virus nachweisen kann. Da sich die Patienten jedoch zu diesem Zeitpunkt wieder besser fühlen, unterbleibt oft die Wiedervorstellung.
4. Niedergelassene Ärzte ohne tropenmedizinische Grundkenntnisse können Hinweise auf eine Dengue-Infektion übersehen und somit nicht bzw. zu früh eine Diagnostik einleiten.
5. Die Diagnose einer Dengue-Infektion wird in einem diagnostischen Labor gestellt, aber aus Unwissenheit wird der Fall nicht an das zuständige Gesundheitsamt gemeldet (es handelt sich um eine Labormeldepflicht).

Für die Bundeswehr ergeben sich für die Jahre 2000 bis 2006 die in Tabelle 13 erfassten Erkrankungen. Insgesamt konnten bei den hier insgesamt aufgeführten zehn gemeldeten Fällen bei sechs Patienten eine Dengue-Infektion sicher nachgewiesen

werden. Dies entspricht über den Betrachtungszeitraum bei einer Gesamtstärke von 300.000 Soldaten einer durchschnittlichen Inzidenz pro 100.000 Personen von 0,33.

Tabelle 13: Krankenzugang von Soldaten der Bundeswehr insgesamt und nach ausgewählten Obergruppen und Diagnosen (ICD 10) 2000 bis 2006 (WehrMedStatInst, 2008),

bestimmte infektiöse/parasitäre Erkrankungen, davon durch Arthropoden übertragene Viruserkrankungen,

Inzidenz angegeben in Promille bezüglich der jeweiligen Ist-Stärke

Merkmale	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Ist-Stärke G	317526	307619	298073	283553	269754	253306	249245
- Anzahl -							
Krankenzugang insgesamt	167 664	176 413	149 873	143 168	131 693	125 666	121 127
Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten	18 576	21 270	21 542	19 994	21 087	16 307	17 803
d.Arthropoden üb. Viruskrankh.u.v. hämorrhag.Fieber	2	2	2	1	1	-	2
- auf 1 000 Soldaten der Ist-Stärke ( ‰ d.I.) -							
Krankenzugang insgesamt	528,0	573,5	502,8	504,9	488,2	496,1	486,0
Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten	58,5	69,1	72,3	70,5	78,2	64,4	71,4
d.Arthropoden üb. Viruskrankh.u.v. hämorrhag.Fieber	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,0

Die Bundeswehr interne Inzidenzrate von 0,33 und ist vergleichbar mit den Inzidenzraten in der Gesamtbevölkerung. Zum Vergleich die verfügbaren Daten für die BRD (Tabelle 14).

Tabelle 14: Gemeldete Dengue-Erkrankungen 01/2001 – 05/2008 (RKI, 2008) in Deutschland

Jahr	Anzahl	Inzidenz*
2001	60	0,07
2002	213	0,29
2003	131	0,16
2004	121	0,15
2005	144	0,17
2006	175	0,21
2007	264	0,32
2008	97	0,12

\*=Fälle pro 100.000 Einwohner

Der milde Verlauf der Erstinfektion kann aber in letzter Konsequenz dazu führen, dass das Hauptrisiko für einen schweren Verlauf einer Dengue-Infektion, nämlich die Zweitinfektion mit einem anderen Subtyp, von dem betroffenen Personenkreis unwissentlich in Kauf genommen wird. Vaughn et al. zeigten in einer Studie im Jahr 2000, dass im Vergleich Patienten, die an einer Infektion mit dem Subtyp DEN 2 litten, im Durchschnitt schwerere Erkrankungssymptome zeigten als diejenigen, die mit anderen Subtypen infiziert waren. Bei 81 % der Patienten handelte es sich um Zweitinfektionen, die ebenfalls mit einem schwereren Erkrankungsverlauf assoziiert war. Es konnte auch nachgewiesen werden, dass die Höhe der Virämierate mit der schwere der Krankheitssymptome eindeutig korreliert.

Vor diesem Hintergrund ist zu diskutieren, in wie fern bei Reisenden, die sich in einem bekannten Endemiegebiet aufgehalten hatten, auch bei negativer Anamnese routinemäßig ein Testung auf freiwilliger Basis angeboten werden sollte. Falls die Reisen aus beruflichen Gründen durchgeführt wurden, muss sogar erörtert werden, ob dies im Sinne der berufsgenossenschaftlichen Haftung bei Erkrankungen nicht sogar zwingend zu fordern ist. Für die Bundeswehr wird diese Frage im Rahmen der Rückkehrerbegutachtung aus entsprechenden Einsatzländern zu diskutieren sein. Dies gilt besonders vor dem Hintergrund, dass Dobler et al. (2006) in ihrer Studie nachweisen konnten, dass bei Testpersonen im Norden Afghanistans Antikörper gegen das Dengue-



Virus nachweisbar waren, obwohl es sich bei dieser Region nicht um ein ausgewiesenes Endemiegebiet handelt.

Es muss derzeit davon ausgegangen werden, dass die Infektionen in den südöstlichen Landesteilen akquiriert worden sind. Insbesondere in der Region Kandahar ist das Vorkommen des Hauptvektors *Aedes aegypti* bekannt, in den Nordregionen konnten bisher nur nachstehend genannte Spezies nachgewiesen werden (Kadamov, 2006):

- *Anopheles pulcherrimus*,
- *An. algeriensis*,
- *An. hyrcanus*,
- *An. claviger*,
- *An. superpictus*,
- *Culex pipiens* und
- *Aedes caspius*

Meynard et al. wiesen 2006 ebenfalls darauf hin, dass zwei vermeintliche Infektionen mit dem Dengue-Virus, eine in Nordafghanistan und eine im Raum Kabul, im Rahmen einer serologischen Nachtestung nicht bestätigt werden konnten. In einem Fall handelte es sich um eine länger zurückliegende Infektion, im anderen Fall waren keine spezifischen Antikörper gegen das Virus nachweisbar, so dass von einer Kreuzreaktion bei den initial durchgeführten Schnelltesten ausgegangen werden muss.

Wagner et al. beschreiben 2004 die in der oben angeführten Statistik des Robert-Koch-Institutes genannte nosokomiale Infektion mit dem Dengue-Virus. Hier kam es durch eine Nadelstichverletzung zu einer Übertragung des Dengue-Virus von einer akut an Dengue-Fieber erkrankten Patientin auf eine Krankenschwester. Es handelte sich hierbei um den vierten Fall einer nosokomialen Übertragung. Im gleichen Jahr schildern Chen und Wilson ebenfalls eine stattgehabte nosokomiale Infektion, wobei hier die Übertragung durch Schleimhautkontakt mit dem Blut eines akut erkrankten Patienten erfolgte. In beiden Fällen handelte es sich um symptomatisch erkrankte Patienten, bei denen Fieber bestand. Es wird davon ausgegangen, dass eine Übertragung des

Dengue-Virus durch Blutkontakt nur dann möglich ist, wenn eine akute, symptomatische Dengue-Infektion mit Fieber besteht.

Grundsätzlich gehen Alter et al. (2007) davon aus, dass eine Übertragung des Dengue-Virus auch über Bluttransfusionen möglich ist. Da jedoch die Virämierate mit der Schwere der gezeigten Symptomatik eindeutig korreliert, kann davon ausgegangen werden, dass Rückstellung von potentiellen Spendern:

- die eine Körpertemperatur größer 37,5 °C aufweisen oder
- sich nicht gesund fühlen oder
- in den vergangenen vier Wochen vor der Blutspende Zeichen einer Infektionserkrankung aufwiesen

einen ausreichenden Schutz gegen eine mögliche Übertragung des Virus durch eine Blutspende bietet.

### **4.3 FSME-Virus**

Die Ergebnisse des Screenings bezüglich der Verbreitung des FSME-Virus zeigen die folgenden Auffälligkeiten:

- Die Angaben den Probanden bezüglich stattgehabter Impfungen müssen genau hinterfragt werden, da vielen eine entsprechende Impfung nicht mehr erinnerlich ist.
- Bei drei, gemäß den gemachten Angaben im Fragebogen gegen FSME geimpften Probanden, waren keine Antikörper der Klasse IgG gegen FSME mittels ELISA im Serum nachweisbar.

Insbesondere der letztgenannte Umstand muss zukünftig zu weiteren Untersuchungen führen, da hier vordergründig davon auszugehen ist, dass entweder die Impfung nicht im Sinne der seitens der Hersteller empfohlenen Impfschemata durchgeführt wurde oder es sich hier um immunologische „Non-Responder“ handelt. Als weitere mögliche Ursache muss subsummiert werden, dass der bei diesen Probanden verwendete Impfstoff nicht

ordnungsgemäß zwischen +2 und +8 °C gelagert worden war und somit ein Verlust der Wirksamkeit aufgetreten ist. Nach den publizierten Fachinformationen (Rote Liste® online, 2008) ist nach drei lege artis durchgeführten Impfungen von einer Serokonversionsrate von nahezu 100 % (99 %) auszugehen. Dies gilt für beide derzeit im Handel befindlichen Impfstoffe. Allerdings konnten Wittermann et al. (2008) zumindest für die beiden in Deutschland zugelassenen Impfstoffe für Kinder einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Immunogenität nachweisen. In wie weit dies für den Erwachsenen-Impfstoff ebenfalls zutrifft, ist derzeit nicht bekannt.

Bezüglich der Übertragbarkeit einer FSME-Infektion über eine Blutspende wird in der Literatur derzeit davon ausgegangen, dass dies eher unwahrscheinlich ist. Zumindest ist bislang kein Fall einer entsprechenden Übertragung publiziert.

#### ***4.4 Bewertung der verwendeten Testsysteme***

##### **4.4.1 Bewertung aus Kostensicht**

Abschließend wird festgestellt, dass alle in der Studie verwendeten Testsysteme grundsätzlich nur zur Diagnostik bei akuter Erkrankung, zur Kontrolle des Impferfolges bei FSME-Impfung oder als Screening-Methode im Rahmen von Rückkehreruntersuchungen aus Dengue-Endemiegebieten geeignet sind. Die hierbei anfallenden Kosten müssen in Relation zum Nutzen betrachtet werden. In Tabelle 15 werden die reinen mittleren Materialkosten sowie die mittleren Gesamtkosten gemäß „Einheitlicher Bewertungsmaßstab“ zur Übersicht zusammengefasst. Eine isolierte Erfassung der Materialkosten für die selbst produzierten PRNT war auf Grund der kameralistischen Buchführungsgestaltung nicht möglich, die Bewertung der Gesamtkosten erfolgte analog zu der der anderen Testsystem nach dem EBM.

Tabelle 15: Material- und Gesamtkosten der Testsysteme

Testverfahren	mittlere Materialkosten	mittlere Gesamtkosten nach EBM
WNV IgG ELISA Focus Diagnostics	€ 2,81	€ 12,30
WNV IgG ELISA EUROIMMUN	€ 2,15	€ 12,30
FSME IgG ELISA EUROIMMUN	€ 2,15	€ 12,80
Dengue IgG ELISA EUROIMMUN	€ 2,15	€ 12,30
WNV IgG iIFT EUROIMMUN	€ 2,90	€ 12,30
FSME IgG iIFT EUROIMMUN	€ 2,90	€ 12,80
Dengue IgG iIFT EUROIMMUN	€ 8,50	€ 12,30
WNV-Aviditätstest EUROIMMUN	€ 5,56	€ 12,30
WNV IgM ELISA EUROIMMUN	€ 2,37	€ 12,30
WNV IgM iIFT EUROIMMUN	€ 2,90	€ 12,30
WNV-PRNT		€ 17,90
Dengue-PRNT		€ 17,90

Der initial gewählte Testaufbau der Studie lässt sich in drei Prozesse aufgliedern, die in den nachstehenden Abbildungen in Form von Prozessketten dargestellt wurden:

1. Screening (Abbildung 67)
2. Immunfluoreszenzserie 1 (Abbildung 68)
3. Immunfluoreszenzserie 2 (Abbildung 69)

Zur besseren Übersicht wurden jeweils die mittleren Materialkosten und die mittleren Gesamtkosten den Prozessschritten zugeordnet. Links neben dem jeweiligen Prozessschritt sind die mittleren Materialkosten aufgeführt, an der linken unteren Ecke sind die Gesamtkosten aufgetragen. Teilweise konnte eine Bewertung der Materialkosten nicht durchgeführt werden, da es sich bei den in diesen Prozessschritten verwendeten Materialien um Eigenproduktionen handelte, eine detaillierte Zuordnung der Materialkosten aus den Gesamtmaterialkosten des Labors war, wie bereits ausgeführt, in der Kameralistik nicht möglich.

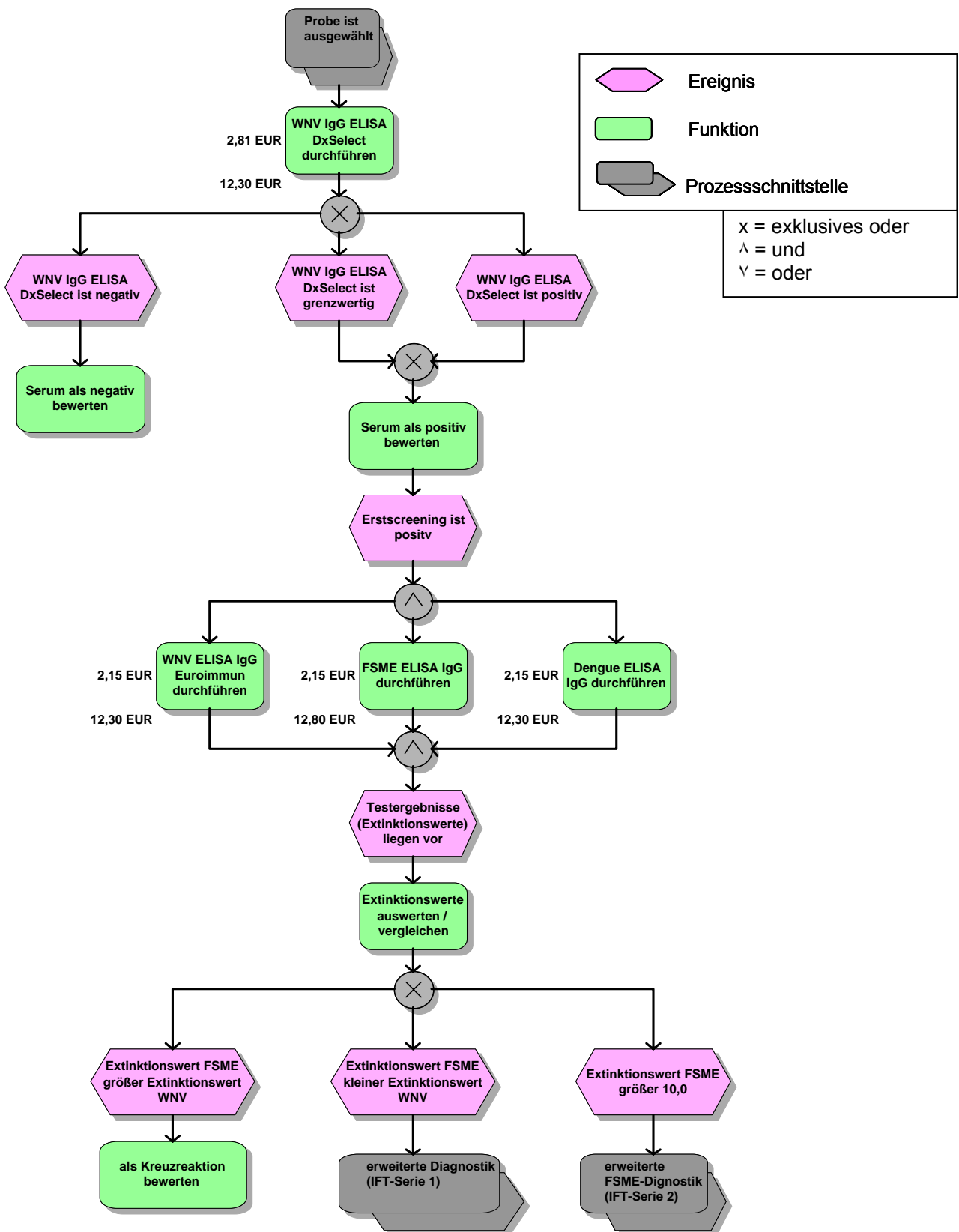


Abbildung 67: Prozesskette Screening in der Übersicht inklusive der mittleren Gesamt- (Unten links) und Materialkosten (Mitte links)

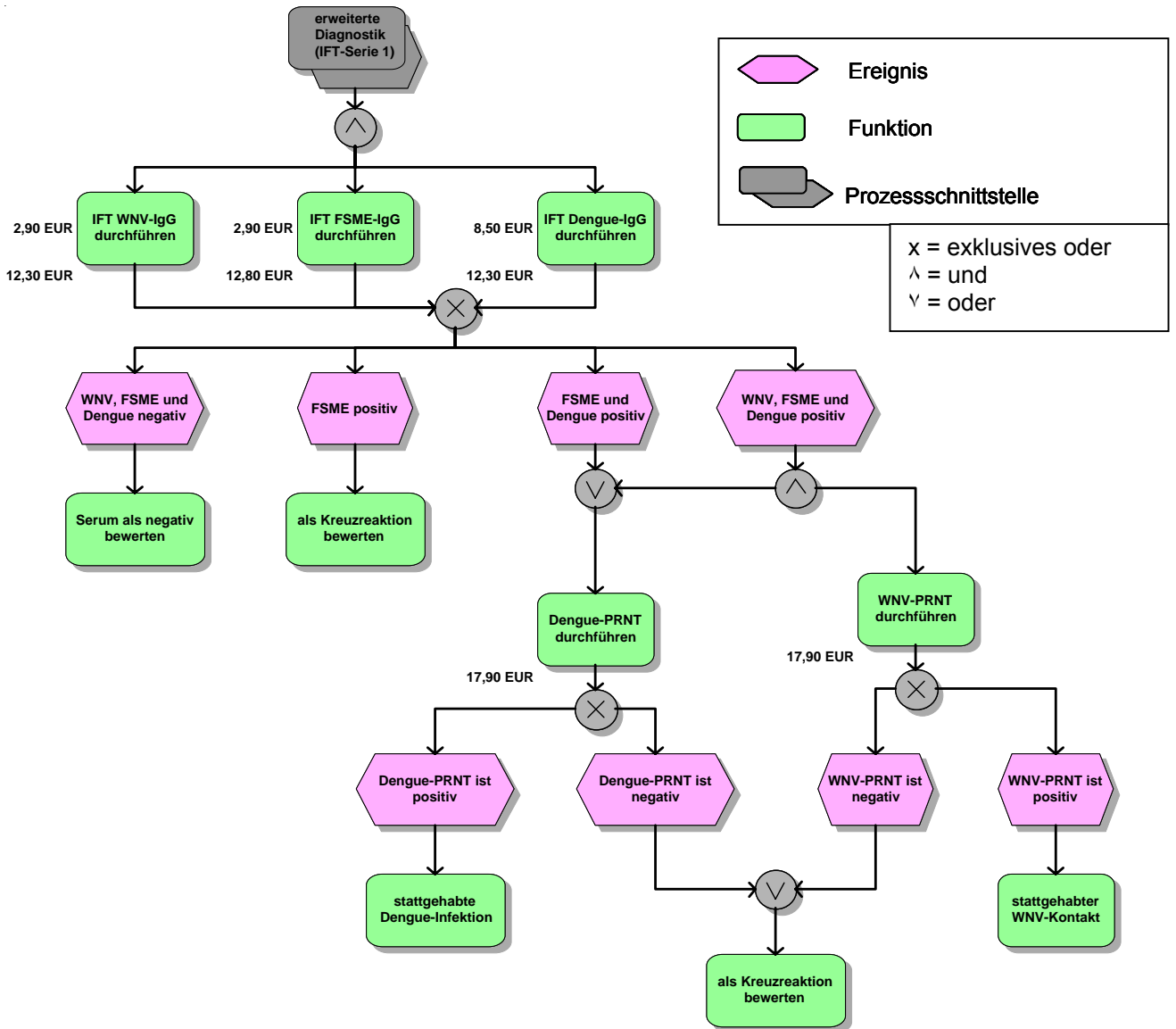


Abbildung 68: Prozesskette Immunfluoreszenzserie 1 in der Übersicht inklusive der mittleren Gesamt- (Unten links) und Materialkosten (Mitte links)

Bei den jeweiligen Arbeitsschritten wurden die mittleren Materialkosten und die mittleren Gesamtkosten nach EBM, die bei einer Fremdvergabe an ein externes Labor abrechenbar wären, nochmals dargestellt.

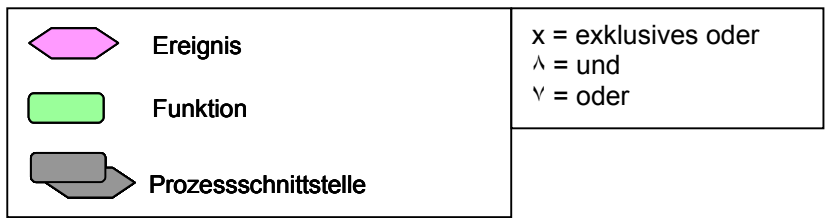
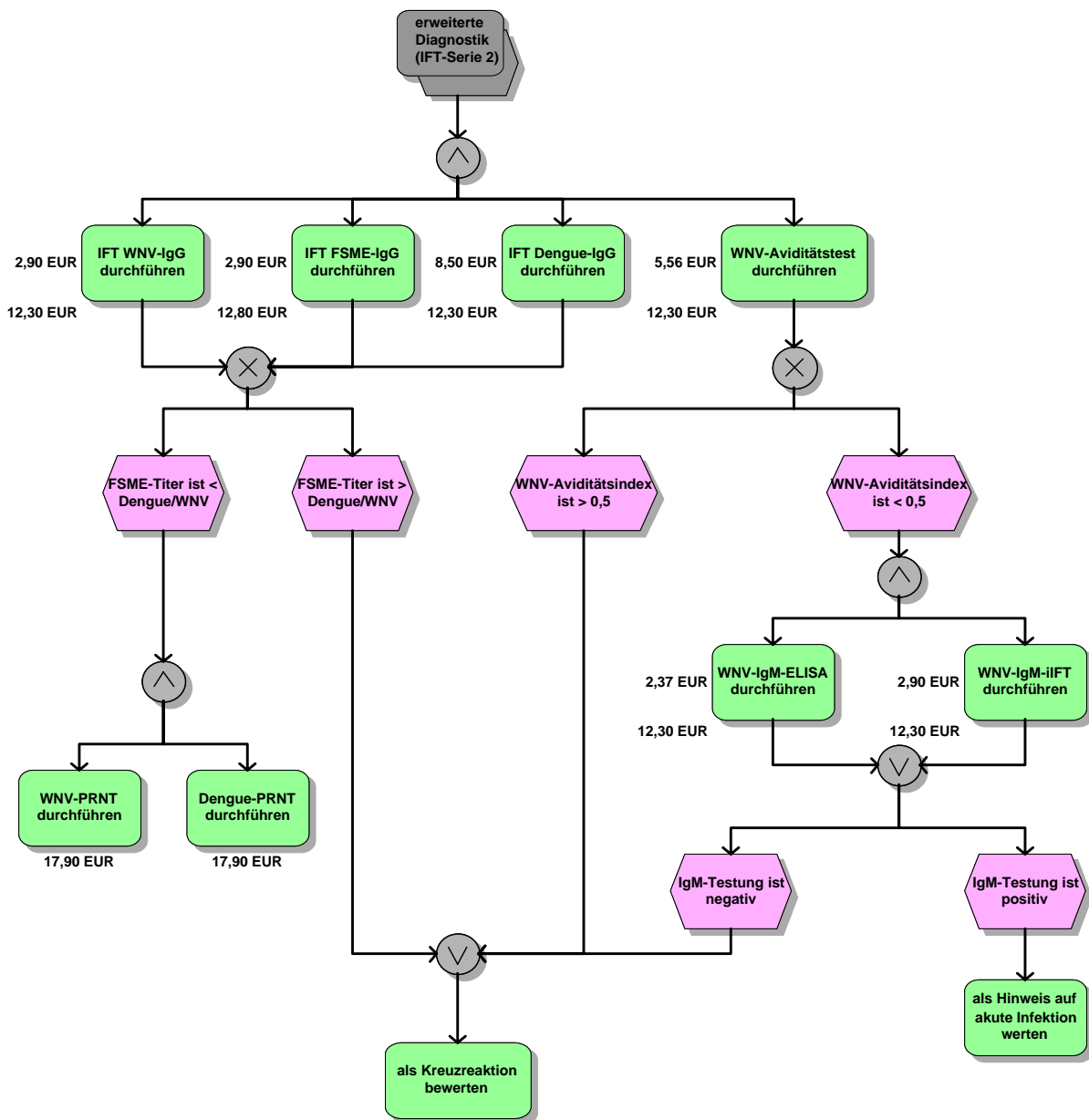


Abbildung 69: Prozesskette Immunfluoreszenzserie 2 in der Übersicht inklusive der mittleren Gesamt- (Unten links bzw. unten) und Materialkosten (Mitte links)

#### 4.4.2 Bewertung aus epidemiologischer Sicht

Insgesamt ist eine Betrachtung der Anzahl der notwendigen Screenvorgänge (number needed to screen, NNS) nur für folgende Fragestellung sinnvoll:

- Wie viele Personen, die eine FSME-Impfung erhalten haben, müssen getestet werden, um eine Person zu identifizieren, bei welcher der Impferfolg nicht gegeben ist?

Tabelle 15: Vierfeldertafel FSME-Impferfolg

	Zielpunkt	
	Impferfolg	Impfversagen
Nicht testen	511	0
testen	414	3

Bei 511 Probanden wurde der Test auf FSME-IgG-Antikörper durchgeführt, 414 zeigten ein positiv zu bewertendes Ergebnis. Drei Probanden gaben an, dass sie geimpft worden waren, der Antikörpertest war jedoch negativ. Hieraus ergibt sich folgende NNS:

$$NNS = \frac{1}{\frac{511}{511+0} - \frac{414}{414+3}} = \frac{1}{1 - \frac{414}{417}} = \frac{1}{1 - 0,99280576} = 139$$

Es müssen demnach 139 Personen getestet werden, um einen negativen Impferfolg nachzuweisen. Hieraus ergibt sich, dass bei Verwendung des preisgünstigsten derzeit am Markt befindlichen Testsystems die reinen Materialkosten zur Vermeidung eines unerwünschten Ereignisses – hier der negative Impferfolg – 298,85 € betragen.



## 5. Zusammenfassung

Ein Nachweis für das autochthone Vorkommen des West-Nil-Virus in Deutschland konnte auch unter besonderer Berücksichtigung geografisch bevorzugter Eintrittspforten (tschechische und polnische Grenze, Oberrheintal) nicht erbracht werden.

Insgesamt zeigten die dargestellte Studie und Testserien ähnliche Ergebnisse, wie die zeitgleich unter der Federführung des Blutspendedienstes Hessen in Zusammenarbeit mit dem Paul-Ehrlich-Institut durchgeführten Testreihen. Allerdings wird angemerkt, dass im dort gewählten Kollektiv viel weniger mit dem Nachweis des West-Nil-Virus gerechnet werden konnte, da Hessen weder Grenzgebiet zu bekannten oder vermuteten Endemiegebieten darstellt, noch ein Einfallstor für neue Vektoren ist. Die hohe Rate der Kreuzreaktionen werden von Pfeleiderer et al. (2008) in ähnlicher Weise beschrieben, wobei die Spezifität des WNV IgG ELISA der Firma EUROIMMUN, wie auch in den eigenen Ergebnissen gezeigt, die höchste von allen angewendeten Testsätzen war. Vor dem Hintergrund der derzeit geringen Verbreitung des FSME-Virus in Hessen war in diesem Kollektiv eine geringere Kreuzreaktionsrate zu erwarten, da die Impfbereitschaft der Bevölkerung in direkter Relation zur Gefährdungslage steht. So sind in Hessen nur acht von sechszwanzig Landkreisen bzw. kreisfreien Städten betroffen. Zum Vergleich gelten in Baden-Württemberg 39 von 44 Landkreisen bzw. kreisfreien Städten als Endemiegebiet; eine Impfempfehlung besteht für das gesamte Bundesland. Dennoch wurde auch in der Studie des Blutspendedienstes Hessen festgestellt, dass alle verwendeten serologischen Testverfahren für eine flächendeckende Surveillance auf Grund der hohen Anzahl an falsch positiven Ergebnissen nicht anwendbar sind.

Das Risiko, eine WNV-Infektion im Rahmen eines Auslandseinsatzes der Bundeswehr zu erwerben, ist zwar bekannt, hat aber nicht zu einem routinemäßigen Screening der Rückkehrer geführt. Nur im Rahmen der Blutspende werden Soldaten nach Einsätzen in Usbekistan, Afghanistan und Djibouti grundsätzlich für sechs Monate zurück gestellt.

Eine Infektion mit dem Dengue-Virus bei Auslandsreisen ist durchaus möglich, eine Gefährdung von Blutempfängern wird derzeit hieraus resultierend nicht gesehen. Wohl

aber besteht der Diskussionsbedarf, in wie weit Reisende über die Gefahren einer Zweitinfektion mit einem anderen Dengue-Virus-Subtyp im Rahmen reisemedizinischer Beratungen aufgeklärt werden müssen bzw. welche Konsequenzen sich durch eine, auf einer beruflichen Reise erworbenen, Dengue-Infektion auch aus rechtlicher Sicht ergeben.

Eine stattgehabte Vakzination gegen das FSME-Virus führte offensichtlich nicht in allen Fällen zu einer entsprechenden Serokonversion. Hier sind die Ursachen zukünftig zu beleuchten. In erster Linie ist zu vermuten, dass der angewendete Impfstoff bis zu seiner Verabreichung nicht ordnungsgemäß gelagert worden war.

## 6. Anlagen

### Anlage 1: Einverständniserklärung und Fragebogen

Ident-Number:

#### Information für Probanden

Im Rahmen der Studie „West Nil Virusgefährdung bei Blutspendern der Bundeswehr und autochtones Vorkommen in Deutschland“ bittet der Sanitätsdienst der Bundeswehr Sie um Ihre Mithilfe. Durch die in den letzten Jahren in Mitteleuropa aufgetretenen Veränderungen bei Klima und Erregerausbreitung besteht der begründete Verdacht, dass sich ein derzeit global ausbreitendes Virus, welches unter dem Namen „West-Nil-Virus“ (WNV) bekannt ist, auch in Deutschland durch Stechmücken Verbreitung findet. Um diese potentielle Gefahrensituation zu be- oder widerlegen, müssen u.a. Bluttests durchgeführt werden. Da die Erkrankung, die dieses Virus auslöst, oft mit nur geringen Symptomen einhergeht, ist es durchaus möglich, dass man sich ansteckt, aber davon nicht viel bemerkt. Allerdings kann das Virus für Personen mit Vorerkrankungen, Kindern und ältere Menschen gefährlich werden. Es ist daher auch von großem militärmedizinischen Interesse, zu erfahren, ob eine Ausbreitung bereits stattgefunden hat. Sie können uns bei dieser Untersuchung helfen, in dem Sie hiermit Ihr Einverständnis geben, Ihr Blut auf Hinweise auf einen Kontakt mit dem Virus zu untersuchen und den unten stehenden Fragen beantworten.

#### Einverständniserklärung

Ich erkläre, dass ich damit einverstanden bin, dass Blut, welches entnommen wird und nicht für die Routineuntersuchung nötig ist, für die o. g. wissenschaftliche Untersuchung genutzt werden kann.

**Ich bin damit einverstanden, dass die im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchung über mich erhobenen Krankheitsdaten sowie meine sonstigen mit dieser Untersuchung zusammenhängenden personenbezogenen Daten aufgezeichnet werden. Es wird gewährleistet, dass meine personenbezogenen Daten nicht an Dritte weitergegeben werden. Bei der Veröffentlichung in einer wissenschaftlichen Zeitung wird aus den Daten nicht hervorgehen, wer an dieser Untersuchung teilgenommen hat. Meine persönlichen Daten unterliegen dem Datenschutzgesetz.**

Ort

Datum

Unterschrift

#### Fragebogen

Wurden Sie in den letzten 12 Monaten gegen eine der folgenden Erkrankungen geimpft?:

Gelbfieber       FSME       Meningitis       Japanische Enzephalitis

Waren Sie in den letzten 3 Jahren im Ausland?

nein       ja wo?: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Litten Sie in den letzten 3 Jahren an einer der folgenden Erkrankungen?:

Hirn-/Hirnhautentzündung  
 „Grippe“  
 Hautausschlag

Erste drei Ziffern Postleitzahl Heimatwohnort:

## Anlage 2: Erklärung zur Rechtschreibung/Grammatik

Im vorstehenden Text wurden zur besseren Lesbarkeit grundsätzlich keine weiblichen Formen von Substantiven verwendet, wenn diese in weiblicher und männlicher Form vorkommen, so dass z.B. der Begriff „Patient“ keinen Rückschluss auf das Geschlecht zulässt.

## 7. Literaturverzeichnis

Abutarbush SM, O'Connor BP, Clark C, Sampieri F, Naylor JM. Clinical West Nile virus infection in 2 horses in western Canada. *Can Vet J* 2004; 45: 315-317

Alter HJ, Stramer SL, Dodd RY. Emerging infectious diseases that threaten the blood supply. *Semin Hematol.* 2007; 44: 32-41

Anderson JF, Main AJ. Importance of vertical and horizontal transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* in the northeastern United States. *J Infect Dis.* 2006; 194: 1577-1579

Angelini R, Finarelli AC, Angelici P, Po C, Petropulacos K, Macini P, Fiorentini C, Fortuna C, Venturi G, Romi R, Majori G, Nicoletti L, Rezza G, Cassone A. An outbreak of chikungunya fever in the province of Ravenna, Italy. *Euro Surveill.* 2007; 12: E070906.1. <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070906.asp#1>, Zugriffsdatum: 23.01.2008

Armali Z, Ramadan R, Chlebowski A, Azzam ZS. West Nile meningo-encephalitis infection in a kidney transplant recipient. *Transplant Proc.* 2003; 35 (8): 2935-2936

Bakonyi T, Hubálek Z, Rudolf I, Nowotny N. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 225-231

Bakonyi T, Ivanics E, Erdélyi K, Ursu K, Ferenczi E, Weissenböck H, Nowotny N. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12: 618-623

Beaman MH, Wesselingh SL. Acute community-acquired meningitis and encephalitis. *Med J Aust.* 2002; 176: 389-396

Beasley DW, Davis CT, Whiteman M, Granwehr B, Kinney RM, Barrett AD. Molecular determinants of virulence of West Nile virus in North America. *Arch Virol Suppl.* 2004: 35-41

Bekanntmachung des Sozialministeriums über öffentlich empfohlene Schutzimpfungen (Auszug aus dem Gemeinsamen Amtsblatt des Landes Baden-Württemberg vom 13.11.2001 AZ: 52-5423-1.1-), 2001.  
<http://www.landesgesundheitsamt.de/servlet/PB/menu/1167547/index.html>,  
Zugriffsdatum: 21.06.2007

Bernabeu-Wittel M, Ruiz-Pérez M, del Toro MD, Aznar J, Muniain A, de Ory F, Domingo C, Pachón J. West Nile virus past infections in the general population of Southern Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25:561-565

Bernard KA, Maffei JG, Jones SA, Kauffmann EB, Ebel GD, Dupuis II AP, Ngo KA, Nicholas DC, Young DM, Shi PY, Kulasekera VL, Eidson M, White Dj, Stone WB, NY State West Nile Virus Surveillance Team, Kramer LD. West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York State, 2000. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7: 679-685

Bode AV, Sejvar JJ, Pape WJ, Campell GL, Marfin AA. West Nile virus disease: a descriptive study of 228 patients hospitalized in a 4-county region of Colorado in 2003. *Clin Infect Dis.* 2006; 42:1234-1240

Bondre VP, Jadi RS, Misrah AC, Yergolkar PN, Arnkalle VA. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J Gen Virol.* 2007; 88: 875-884

Bösel B, Rothkopf-Hirschbeck M (Hrsg). *Praktikum des Infektionsschutzes.* 13. überarb. Aufl. Berlin: Hoffmann Verlag, 2000: 124-126

Böttner A, Daneschnejad S, Handrick W, Schuster W, Liebert UG, Kiess W. A season of aseptic meningitis in Germany: epidemiologic, clinical and diagnostic aspects. *Pediatr Infect Dis J.* 2002; 21: 1126-1132

Budde, J. Tigermücke in Deutschland angekommen. *Süddeutsche Zeitung* vom 07.12.2007. <http://www.sueddeutsche.de/,ra16m1/wissen/artikel/453/147110/> Stand: 08. Dezember 2007. Zugriffsdatum: 11.03.2008

Bundesministerium der Verteidigung, 2006. Weisung einsatzbezogener Impf- und Prophylaxemaßnahmen, achte Aktualisierung (Nur für den Dienstgebrauch). Stand: 13.04.2006

Bunning ML, Bowen RA, Cropp CB, Sullivan KG, Davis BS, Komar N, Godsey MS, Baker D, Hettler DL, Holmes DA, Biggerstaff BJ, Mitchell CJ. Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8: 380-386

Carson PJ, Konweko P, Wold KS, Mariani P, Goli S, Bergloff P, Crosby RD. *Clin Infect Dis.* 2006 ; 43: 723-730

Castillo-Olivares J, Wood J. West Nile virus infection of horses. *Vet Res.* 2004; 35: 467-483

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). West Nile virus transmission through blood transfusion – South Dakota, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2007; 56: 76-79

Centers for Disease Control and Prevention, 2004. Map: Geographic Distribution of Malaria. [http://www.cdc.gov/malaria/distribution\\_epi/distribution.htm](http://www.cdc.gov/malaria/distribution_epi/distribution.htm), Stand: 23.04.2004, Zugriffsdatum: 30.01.08

Centers for Disease Control and Prevention, 2004. West Nile Virus: Clinical description. <http://0-www.cdc.gov.mill1.sjlibrary.org/ncidod/dvbid/westnile/clinicians/pdf/wnv-clinicaldescription.pdf>, Zugriffsdatum: 30.08.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2004: West Nile Virus, Entomology.  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/insects.htm>, Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2005: Map: The geographic distribution of the Japanese Encephalitis serocomplex of the family Flaviridae, 2000.  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/map.htm>, Stand: 02.07.2005, Zugriffsdatum: 16.01.2008

Centers for Disease Control and Prevention, 2005: Map: Distribution of *Aedes aegypti* in the Americas in 1970, at the end of the mosquito eradication program, and in 2002,  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/map-ae-aegypti-distribution.htm>, Zugriffsdatum: 15.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2005: Map: World distribution of dengue viruses and their mosquito vector, *Aedes aegypti*, in 2005,  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/map-distribution-2005.htm>, Zugriffsdatum: 15.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: 2003 West Nile Virus Viremic Blood Donor Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control03Maps\\_Viremic.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control03Maps_Viremic.htm), Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: 2004 West Nile Virus Viremic Blood Donor Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control04Maps\\_Viremic.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control04Maps_Viremic.htm), Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: 2005 West Nile Virus Viremic Blood Donor Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control05Maps\\_Viremic.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control05Maps_Viremic.htm), Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: 2006 West Nile Virus Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount06\\_detailed.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount06_detailed.htm), Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: 2006 West Nile Virus Viremic Blood Donor Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control06Maps\\_Viremic.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control06Maps_Viremic.htm), Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2008: 2007 West Nile Virus Viremic Blood Donor Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control07Maps\\_Viremic.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control07Maps_Viremic.htm), Zugriffsdatum: 10.09.2008

Centers for Disease Control and Prevention, 2008: 2008 West Nile Virus Viremic Blood Donor Activity in the United States.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control08Maps\\_Viremic.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsviremic/surv&control08Maps_Viremic.htm), Stand: 02.09.2008, Zugriffsdatum: 10.09.2008

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: Final 2006 West Nile Virus Activity in the United States.  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsactivity/surv&control06Maps.htm>, Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, 2008: 2007 West Nile Virus Activity in the United States.  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsactivity/surv&control07Maps.htm> Zugriffsdatum: 10.09.2008

Centers for Disease Control and Prevention, 2008: 2008 West Nile Virus Activity in the United States.  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Mapsactivity/surv&control08Maps.htm> Stand: 02.09.2008, Zugriffsdatum: 10.09.2008

Centers for Disease Control and Prevention, 2007: Flowchart: West Nile Virus Transmission Cycle. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/birds&mammals.htm>, Zugriffsdatum: 11.06.2007

Centers for Disease Control and Prevention, CDC, 2008. Health Information for International Travel 2008, Chapter 4 Prevention of Specific Infectious Diseases: MAP 4-01 Distribution of dengue, Western Hemisphere.  
<http://wwwn.cdc.gov/travel/yellowBookCh4-DengueFever.aspx>. Stand: 08.01.2008, Zugriffsdatum: 13.02.2008

Centers for Disease Control and Prevention, CDC, 2008. Health Information for International Travel 2008, Chapter 4 Prevention of Specific Infectious Diseases: MAP 4-02 Distribution of dengue, Eastern Hemisphere.  
<http://wwwn.cdc.gov/travel/yellowBookCh4-DengueFever.aspx>. Stand: 08.01.2008, Zugriffsdatum: 13.02.2008

Chaturvedi UC. The curse of dengue. *Indian J Med Res.* 2006; 124: 467-470  
Chen LH, Wilson ME. Transmission of dengue virus without a mosquito vector: nosocomial mucocutaneous transmission and other routes of transmission. *Clin Infect Dis.* 2004; 39: e56 - 60

Chin J, Ascher MS, Hrsg. *Control of Communicable Diseases Manual* (official report of the American Public Health Association). 17<sup>th</sup> Edition. Baltimore: United Book Press, 2000; 28-58

Chonmaitree T, Baldwin CD, Lucia HL. Role of the Virology Laboratory in Diagnosis and Management of Patients with Central Nervous System Disease. *Clin Microbiol Rev.* 1989; 2: 1-14



Ciota AT, Ngo KA, Lovelace AO, Payne AF, Zhou Y, Shi PY, Kramer LD. Role of the mutant spectrum in adaptation and replication of West Nile Virus. *J Gen Virol* 2007; 88: 865-874

Civen R, Villacorte F, Robles DT, Dassey DE, Croker C, Borenstein L, Harvey SM, Mascola L. West Nile virus infection in the pediatric population. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25: 75-78

Couissiner-Paris P. West Nile virus in Europe and Africa : still a minor pathogen, or potential threat to public health ? *Bull Soc Pathol Exot* 2006; 99: 348-354

Dauphine G, Zientara S. West Nile Virus: Recent trends in Diagnostic and vaccine development. *Vaccine* 2006 (Epub ahead of print)

Debiasi RL, Tyler KL. West Nile meningoencephalitis. *Nat Clin Pract Neurol*. 2006; 2: 264-275

Diamond MS, Klein RS. A genetic basis for human susceptibility to West Nile Virus. *Trends Microbiol*. 2006; 17: 287-289

Dobler G, Mauwald H, Hanus I, Löscher T. Dengue-Fieber: Zwei Erkrankungsfälle nach Rückkehr aus Indien als Beispiel für einen vergleichsweise schweren Verlauf. In: Robert Koch-Institut Hrsg. *Epid Bull* 1996, 50/96.  
[http://www.rki.de/clin\\_048/nn\\_196658/DE/Content/InfAZ/D/Dengue/dengue\\_\\_pdf,templated=raw,property=publicationFile.pdf/dengue\\_pdf.pdf](http://www.rki.de/clin_048/nn_196658/DE/Content/InfAZ/D/Dengue/dengue__pdf,templated=raw,property=publicationFile.pdf/dengue_pdf.pdf), Zugriffsdatum: 13.06.2007

Dobler, G., Faulde, M., Essbauer, S., Hast, U., Friedewald, S., Wölfel, R., Pfeffer, M. Antibody seroprevalence against arboviruses in humans in Northern Afghanistan. IMED-Kongress, Wien. 23.-25. Februar 2007.

Doggett SL, 2003 (Abb.) *Aedes albopictus* Larve in: NSW Arbovirus Surveillance & Vector Monitoring Program,  
[http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/areas/arbovirus/mosquit/photos/aedes\\_albopictus\\_larvae\\_side.jpg](http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/areas/arbovirus/mosquit/photos/aedes_albopictus_larvae_side.jpg), Zugriffsdatum: 12.06.2007

Drawish M, el-Khashaab TH, Mostafa A, Hamid TA, Shope R. A comparative study of serological techniques for detection of west nile virus antibodies. *J Egypt Puplic Health Assoc*. 1996; 71: 201-211

Ebel GD, Dupuis II AP, Nicholas D, Young D, Maffei J, Kramer LD. Detection by enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies to west nile virus in birds. *Emerg Infect Dis*. 2001; 8: 979-982

Eidness RB, Stockl F, Colleaux KM. West Nile chorioretinitis. *Can J Ophthalmol*. 2005; 40: 721-724

Eidson M, Kramer L, Stone W, Hagiwara Y, Schmit K, New York State West Nile Virus Avian Surveillance Team. Dead bird surveillance as an early warning system for West Nile virus. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7: 631-635

Eisenhut M, Schwarz TF, Hegenscheid B. Seroprevalence of dengue, chikungunya and Sindbis virus infections in German aid workers. *Infection* 1999; 27: 82-85

Ellis S, 2005: Abbildung *Aedes albopictus*,  
<http://www.invasive.org/browse/imgdown.cfm?img=1366025&res=3>, Zugriffsdatum:  
13.06.2007

Engvall E, Perlman. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry.* 1971; 8: 871-874

Engvall E, Perlman. Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa. *Journal of Immunology* 1972; 109: 129-135

Esteves A, Almeida AP, Galão RP, Parreira R, Piedade J, Rodrigues JC, Sousa CA, Novo MT. West Nile virus in Southern Portugal 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2005; 5: 410-413

EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostik AG, 2007. Indirekter Immunfluoreszenztest, durchgeführt mit der TITERPLANE®-Technik.  
[http://www.euroimmun.de/IFT\\_Inku.htm](http://www.euroimmun.de/IFT_Inku.htm), Zugriffsdatum: 26.09.07

EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostik AG, 2007. Inkubation des Mikrotiter-ELISA.  
[http://www.euroimmun.de/EL\\_Ink.htm](http://www.euroimmun.de/EL_Ink.htm), Zugriffsdatum: 29.09.07

Fachinfo-Service Rote Liste® online, 2008. FSME Immun Erwachsene.  
<http://www.fachinfo.de/viewFI?FINR=007018&RL=%3Cb%3EFSME-IMMUN%20Erwachsene%20%3C/b%3ESuspension%20zur%20i.m.%20Injektion%20in%20einer%20Fertigspritze>, Stand: Februar 2007. Zugriffsdatum: 14.02.2008

Farnon EC, 2006: Summary of West Nile Virus Activity, United States 2005. Seventh National Conference on West Nile Virus in the United States, San Francisco, California.  
[http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/conf/February\\_2006.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/conf/February_2006.htm), Zugriffsdatum:  
11.06.2007

Faulde M. West Nil Virus-Infektion: Eine neue Bedrohung für Europa und die Welt?, *Flug- und Reisemedizin* 2002; 9:23-24

Faulde M, Hoffmann G. Vorkommen und Verhütung vektorassoziierter Erkrankungen des Menschen in Deutschland unter Berücksichtigung zoonotischer Aspekte, *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 2001; 44:116-136

Flahey B, 1981 (Abb.). *Culex* life cycle. [http://www.culex.ca/Mos\\_Cycle.htm](http://www.culex.ca/Mos_Cycle.htm),  
Zugriffsdatum: 12.06.2007

Florida Medical Entomology Laboratory, University of Florida, 1999. Abbildung auf: <http://fmel.ifas.ufl.edu/EXOTIC.HTM>, Zugriffsdatum: 13.06.2007

Fox HL, Hazell SL, Tobler LH, Busch MP. Immunglobulin G avidity in differentiation between early and late antibody response to west nile virus. *Clin. Vaccine Immunol.* 2006; 13: 33-36

Fuchs MEA, Faulde M. Kompendium der Schädlingsbekämpfung. Schriftreihe Präventivmedizin – PM 6. Bonn: Bundesministerium der Verteidigung – Referat Hygiene, Arbeits-, Umweltmedizin, 1997: 63-75

Gancho. 2007 (Abb.): Verbreitungsgebiete *Aedes albopictus*. [http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:Albopictus\\_distribution\\_2007.png](http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:Albopictus_distribution_2007.png). Zugriffsdatum: 11.03.2008

Gancz AY, Barker IK, Lindsay R, Dibernardo A, McKeever K, Hunter B. West Nile virus outbreak in North American owls, Ontario, 2002. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10: 2135-2142

Gancz AY, Smith DA, Barker IK, Lindsay R, Hunter B. Pathology and tissue distribution of West Nile virus in North American owls (family: Strigidae). *Avian Pathol.* 2006; 35: 17-29

Gern L, Falco RC. Lyme disease. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 2000; 19: 121-135

Gesellschaft für Konsumgüterforschung, Nürnberg. FSME-Durchimpfungsrate in Deutschland 2005, 2006 und 2007. Zur Verfügung gestellt durch Firma Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg

Gesellschaft für Konsumgüterforschung, Nürnberg. GfK-Studien zum FSME-Schutz auf: [www.zecken.de](http://www.zecken.de), Zur Verfügung gestellt durch Firma Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, <http://www.zecken.de/index.php?id=478>, Zugriffsdatum: 15.09.2008

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz / IfSG) vom 20. Juli 2000, Bundesgesetzblatt I 2000 1045, letzte Änderung vom 31.10.2006, <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/ifsg/gesamt.pdf>, Zugriffsdatum: 18.06.2007

Goddard LB, Rooth AE, Reisen WK, Scott TW. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8: 1385-1391

Glavits R, Ferenczi E, Ivanics E, Bakonyi T, Mató T, Zarka P, Palya V. Co-occurrence of West Nile Fever and circovirus infection in a goose flock in Hungary. *Avian Pathology.* 2005; 34: 408-414

Godsey MS, Nasci R, Savage HM, Aspen S, King R, Powers AM, Burkhalter K, Colton L, Charnetzky D, Lasater S, Taylos V, Palmisano CT. West Nile virus-infected mosquitoes, Louisiana, 2002. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 1399-1404

Guptill SC, Julian KG, Campell GL, Price SD, Marfin AA. Early-season avian deaths from West Nile virus as warnings of human infection. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 483-484

Halstead SB, Papaevangelou G. Transmission of dengue 1 and 2 viruses in Greece in 1928. *Am J Trop Med Hyg.* 1980; 29: 635-637

Hauri AM, Schimmelpfennig M, Walter-Domes M, Letz A, Diedrich S, Lopez-Pila J, Schreier E. An outbreak of viral meningitis associated with a public swimming pond. *Epidemiol Infect.* 2005; 133: 291-298

Hermanowska-Szpakowicz T, Grygorczuk S, Kondrusik M, Zajkowska J, Pancewicz S. Infections caused by West Nile Virus. *Przegl Epidemiol.* 2006; 60: 93-98

Hlinak A, Mühle RU, Werner O, Globig A, Starick E, Schirrmeier H, Hoffmann B, Engelhardt A, Hübner D, conraths FJ, Wallschläger D, Kruckenberg H, Müller T. A virological survey in migrating waders and other waterfowl in one of the most important resting sites of Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2006; 53: 1005-1010

Hoc S. Frühjahrs-Meningoenzephalitis: Häufig Symptome einer „Sommergrippe“. *Dtsch Ärzteblatt* 2006; 103: A1171

Hoekstra C. West Nile virus: a Challenge for transplant programs. *Prog Transplant.* 2005; 15: 397-400

Hollbach M, Oehme R. FSME und Lyme-Borreliosis. *Fortschr Med* 2002; 120: 113-118

Hong DS, Jacobsen KL, Raad II, de Lima M, Anderlini P, Fuller GN, Ippoliti C, Cool RM, Leeds NE, Narvios A, Han XY, Padula A, Champlin RE, Hosing C. West Nile encephalitis in 2 hematopoietic stem cell transplantation recipients: case series and literature review. *Clin Infect Dis.* 2003 ; 37: 1044-1049

Hourfar MK, Schmidt M, Seifrid E, Roth WK. Evaluation of an automated high-volume extraction method for viral nucleic acids in comparison to a manual procedure with preceding enrichment. *Vox Sang.* 2005; 89: 71-76

Hubálek Z, Halouzka J, Juricova Z, Prikazsky Z, Zakova J, Sebesta O. Surveillance of mosquito-borne viruses in Breclav after the flood 1997. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 1999 a; 48: 91-96

Hubálek Z, Halouzka J. West Nile Fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis.* 1999 b; 5:643-650

Hubálek Z, Savage HM, Halouzka J, Juricova Z, Sanogo YO, Lusk S. West Nile virus investigations in South Moravia, Czechland. *Viral Immunol* 2000; 13: 427-433

Hubálek Z, Zeman P, Halouzka J, Juricova Z, Stovikova E, Balkova H, Sikutova S, Rudolf I. Antibodies against mosquito-borne viruses in human population of an area of Central Bohemia affected by the flood of 2002. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2004; 53: 112-120

Hubálek Z, Zeman P, Halouzka J, Juricova Z, Stovikova E, Balkova H, Sikutova S, Rudolf I. Mosquito-borne viruses, Czech Republic, 2002. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11:116-118

Institut für Wehrmedizinische Statistik und Berichtswesen Andernach (WehrMedStatInst), Hrsg. 2007. Krankenzugang von Soldaten der Bundeswehr insgesamt und nach ausgewählten Obergruppen und Diagnosen (ICD 10) 2000 bis 2006.

Iwamoto M, Jernigan DB, Guasch A, Trepka MJ, Blackmore CG, Hellinger WC, Pham SM, Zaki S, Lanciotti RS, Lance-Parker SE, DiazGranados CA, Winquist AG, Perlino CA, Wiersma S, Hillyer KL, Goodman JL, Marfin AA, Chamberland ME, Pertersen LR, West Nile Virus in Transplant Recipients Investigation Team. Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med.* 2003; 348: 2196-2203

Jacobsen ER, Johnson AJ, Hernandez JA, Tucker SJ, Dupuis AP, Stevens R, Carbonneau D, Stark L. Validation and use of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to west nile virus in American alligators (*alligator mississippiensis*) in Florida. *Journal of Wildlife Diseases* 2005; 41: 107-114

Johnson AJ, Langevin S, Wolff KL, Komar N. Detection of anti-west nile virus immunoglobulin M in chicken serum by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 2002-2007

Jourdain E, Gauthier-Clerc M, Sabatier P, Grège O, Greenland T, Leblond A, Lafaye M, Zeller HG. Magpies as hosts for West Nile virus, southern France. *Emerg Infect Dis.* 2008 Jan;14:158-160

Kadamov DS. The bloodsucking mosquitoes (Culicidae) of North Afghanistan. *Med Parazitol (Mosk).* 2006; 1: 59-60

Kaiser R. Frühsommermeningoenzephalitis. Prognose für Kinder und Jugendliche günstiger als für Erwachsene. *Dtsch Ärzteblatt* 2004; 101: A2260-A2264

Kaiser R. Tick-borne encephalitis (TBE) in Germany and clinical courses of the disease. *Int J Med Microbiol* 2002; 291: 58-61

Karakus A, Banga N, Voorn GP, Meinders AJ. Dengue shock syndrome and rhabdomyolysis. *Neth J Med.* 2007; 65: 78-81

Kassenärztliche Bundesvereinigung, Hrsg. 2008. Einheitlicher Bewertungsmaßstab 2008., <http://www.kbv.de/8159.html>, Zugriffsdatum: 25.01.08

Kenny GE, Dunsmoor CL. Principles, problems and strategies in the use of antigenic mixtures for the enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 17: 655-665

Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ, Marra PP, Daszak P. West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *PLoS Biol.* 2006; 4: e82

Kiupel M, Simmons HA, Fitzgerald SD, Wise A, Sikarskie JG, Cooley T, Hollamby SR, Maes R. West Nile virus infection in Eastern Fox Squirrels (*Sciurus niger*). *Vet Pathol* 2003; 460: 703-707

Komar N, Panella NA, Langevin SA, Brault AC, Amador M, Edwards E, Owen JC. Avian hosts for West Nile virus in St. Tammany Parish, Louisiana, 2002. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 73:1031-1037

Koppelman MH, Sjerps MS, de Waal M, Reesink HW, Cuypers HT. No evidence of West Nile virus infection in Dutch blood donors. *Vox Sang.* 2006; 90: 166-169

Korves CT, Goldie SJ, Murray MB. Cost-effectiveness of alternative blood-screening strategies for West Nile virus in the United States. *PLoS Medicine*, 2006; 3: 211-221

Kotton CN. Zoonoses in solid-organ and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2007 ; 44: 857-866

Krauss H, Weber A, Enders B, Schiefer HG, Slenczka W, Zahner H. Zoonosen: Von Tier zu Mensch übertragbare Infektionskrankheiten. 2. überarb. Aufl. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, 1997: 103-198

Kulasekera VL, Kramer L, Nasci RS, Mostashari F, Cherry B, Trock SC, Glaser C, Miller JR. West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses and Humans, Staten Island, New York, 2000. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7: 722-725

Kumar D, Drebot MA, Wong SJ, et al. A seroprevalence study of West Nile virus infection in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2004; 4: 1883-1888

LaDeau SL, Kilpatrick AM, Marra PP. West Nile virus emergence and large-scale declines of North American bird populations. *Nature* 2007; 447: 710-713

Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V, Kerst AJ, Murri S, Meyer R, Bowen M, McKinney N, Morill WE, Crabtree MB, Kramer LD, Roehrig JT. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology* 2002; 298: 96-105

Lásiková S, Moravcová L, Pícha D, Horová B. West Nile virus fever. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2006; 55: 59-62

Levett PN, Sonnenberg K, Sidaway F, Shead S, Niedrig M, Steinhagen K, Horsman GB, Drebot MA. Use of immunoglobulin G avidity assay for differentiation of primary from previous infections with west nile virus. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 5873-5875

Lewis M, Amsden JR. Successful treatment of West Nile virus infection after approximately 3 weeks into the disease course. *Pharmacotherapy* 2007; 27: 455-458

López G, Jiménez-Clavero MA, Tejedor CG, Soriguer R, Figuerola J. Prevalence of West Nile Virus Neutralizing Antibodies in Spain Is Related to the Behavior of Migratory Birds. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008 Apr 9. [Epub ahead of print]

Low JGH, Ooi EE, Tolfvenstam T, Leo YS, Hibberd ML, Ng LC, Lai YL, Yap GSL, Li CSC, Vasudevan SG, Ong A. Early Dengue Infection and Outcome Study (EDEN) – Study Design and Preliminary Findings. *Ann Acad Med Singapore* 2006; 35: 783-789

MacLennan S, Williamson LM. Risks of fresh frozen plasma and platelets. *J Trauma.* 2006; 60: 46-50

Mans NZ, Yurgionas SE, Garvin MC, Gary RE, Bresky JD, Galaitis AC, Ohajuruka OA. West Nile virus in mosquitos of northern Ohio, 2001-2002. *Am. J. Trop. Med. Hyf.* 2004; 70: 562 - 565

Marr JS, Calisher CH. Alexander the Great and West Nile Virus encephalitis. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 1599-1603

Masri HP, 2005. DCLS testing for arboviral diseases detection in humans.  
<http://www.vdh.virginia.gov/epidemiology/DZEE/Vectorborne/PolycomPresentations/2005/DCLS%20-%20Heather's%20Presentation%20041805.pdf>, Zugriffsdatum: 27.09.07

Meece JK, Henkel JS, Glaser L, Reed KD. Mosquito surveillance for West Nile virus in southeastern Wisconsin – 2002. *CM & R* 2003; 1: 37-42

Mehlhorn H, Mehlhorn B. Zecken, Milben, Fliegen, Schaben: Schach dem Ungeziefer. 3. überarb. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1996: 67-75

Mehlhorn H, Piekarski G. Grundriss der Parasitenkunde: Parasiten des Menschen und der Nutztiere. 6. überarb. und erw. Aufl. Heidelberg: Spektrum, Akad. Verlag, 2002: 371-446

Mehlhorn H. Abbildung: Lebenszyklus Ixodes ricinus,  
<http://www.infektionsbiologie.ch/parasitologie/seiten/modellparasiten/mp06ixod.html#Lebenszyklus>, Zugriffsdatum: 18.06.2007

Meta A, Raettig H. Infektionskrankheiten: Epidemiologie – Klinik – Immunprophylaxe. 5. überarb. Aufl. Stuttgart – New York: Georg Thieme Verlag, 1998: 112-122

Meynard JB, Summers RH, Faiulde M, Teier G, Deparis X, MacDonald P, Snow A, Tuka A, Heyl G, Duffy K, Queyriaux B, Decam C, Green AD. Epidémie de Dengue en Afghanistan : Une fausse alerte. *Med Trop (Mars)*. 2006; 66: 98-99

Ministerialblatt des Bundesministeriums der Verteidigung, Nr. 5, 2003.

[http://www.infosys.svc/Informationen/vmbl\\_org.nsf/b1075875c2ebd1d4412569dd00407d4c/47dfef9d4920343241256cae00450a11/\\$FILE/VMBl\\_2003.pdf](http://www.infosys.svc/Informationen/vmbl_org.nsf/b1075875c2ebd1d4412569dd00407d4c/47dfef9d4920343241256cae00450a11/$FILE/VMBl_2003.pdf), Zugriffsdatum: 21.06.2007

ML Consulting GmbH (o.V.); ARIS Grundlagen mit SAP R/3, 2005, S. 65-71

Montgomery SP, Brown JA, Kuehnert M, Smith TL, Crall N, Lanciotii RS, Macedo de Oliveira A, Boo T, Marfin AA. Transfusion-associated transmission of West Nile Virus, United States 2003 through 2005. *Transfusion*. 2006; 46: 2038-2046

Morrey JD, Day CW, Julander JG, Blatt LM, Smee DF, Sidwell RW. Effect of interferon-alpha and interferon-inducers on West Nile virus in mouse and hamster animal models. *Antivir Chem Chemother*. 2004; 15: 101-109

Mourya DT, Yadav P. Vector biology of dengue & chikungunya viruses. *Indian J Med Res*. 2006; 124: 475-480

Müller H, Johne R, Schusser G, Giese M, Linke S, Pauli G. West Nile Virus – causative agent of a zoonosis with increasing significance? *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2006; 113: 435-439

Müller-Pfaff R, 2006: Blut und Blutprodukte.

<http://www.zsan/01DB080000000002/CurrentBaseLink/W26NJGMH074INFODE>, Zugriffsdatum: 12.06.2007

Munz E, Schmitz H, Knobloch J. Arbovirosen und andere Viruserkrankungen. In: Lang W, Löscher T, Hrsg. *Tropenmedizin in Klinik und Praxis*. Stuttgart - New York: Georg Thieme Verlag, 2000: 328-348

Murray K, Baraniuk S, Resnick M, Arafat R, Kilborn C, Cain K, Shallenberger R, York TL, Martinez D, Hellums JS, Hellums D, Malkoff M, Elgawley N, McNeely W, Kuhwaja SA, Tesh RB. Risk factors for encephalitis and death from West Nile virus infection. *Epidemiol Infect*. 2006; 5/4: 1-8

Muzaffar J, Venkata Krishnan P, Gupt N, Kar P. Dengue encephalitis: why we need to identify this entity in an dengue-prone region. *Singapore Med J* 2006; 47: 975-977

Nasci RS, Savage HM, White DJ, Miller JR, Cropp BC, Godsey MS, Kerst AJ, Bennett P, Gottfried K, Lancioti RS. West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York city, 2000. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7: 1-3



Nationale Kommission für die Polioeradikation in der Bundesrepublik Deutschland. Enterovirus-Surveillance basierend auf der Erfassung viralen Meningitiden/Enzephalitiden. Kurzbericht 2006. [http://cdl.niedersachsen.de/blob/images/C37205160\\_L20.pdf](http://cdl.niedersachsen.de/blob/images/C37205160_L20.pdf), Zugriffsdatum:20.06.2007

Nemeth NM, Beckett S, Edwards E, Klenk K, Komar N. Avian mortality surveillance for west nile virus in colorado. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 76: 431-437

Neumeister B. Immunologische Methoden. In: Neumeister B, Besenthal I, Liebich H, Böhm BO (Hrsg.) *Klinikleitfaden Labordiagnostik.* München: Urban & Fischer Verlag, 2003: 37-41

Niedrig M, Sonnenberg K, Steinhagen K, Pawesk JT. Comparison of ELISA and immunoassays for measurment of IgG and IgM antibody to West Nile virus in human sera against virus neutralisation. *J Virol Methods.* 2007; 139:103-105

Nixon ML, Prince HE. West Nile virus immunoglobulin A (WNV IgA) detection in cerebrospinal fluid in relation to WNV IgG and IgM reactivity. *J Clin Microbiol.* 2006; 37: 174-178

Occi JL, 2006. Abbildung: *Ixodes ricinus* (Linnaeus), in: Armed Forces Pest Management Board, <http://www.afpmb.org/netpub/server.np?quickfind=animals-ticks-ixodes&catalog=catalog&site=Dossier&template=detail.np&start=490>, Zugriffsdatum: 15.06.2007

Offergeld T, Stark K, Hamouda O. Infektionen bei Blutspendern, Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 2003; 46: 775-779

Paul-Ehrlich-Institut (2003), Abwehr von Arzneimittelrisiken Anordnung des Ausschlusses von Blutspendern zur Verhinderung der möglichen Übertragung des West-Nil-Virus durch zelluläre Blutprodukte oder gefrorenes Frischplasma vom 02.September 2003, Bundesanzeiger Nr. 180 vom 25.September 2003, S. 21 665, [http://www.pei.de/cln\\_049/nn\\_155878/SharedDocs/bekanntmachungen/2003/banz-180-25-09-2003-s21665.html](http://www.pei.de/cln_049/nn_155878/SharedDocs/bekanntmachungen/2003/banz-180-25-09-2003-s21665.html), Zugriffsdatum: 27.08.2007

Paz S. The West Nile Virus Outbreak in Israel (2000) from a new perspective: the regional impact of climate change. *Int J Environ Health Res* 2006; 16: 1-13

Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, Stobierski MG, Signs K, Newman B, Kapoor H, Goodman JL, Chamberland ME. Transmission of West Nile Virus through Blood Transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med* 2003; 349:1236-1245

Penn RG, Guarner J, Sevjar JJ, Hartmann H, McComb RD, Nevins DL, Bhatnagar J, Zaki SR. Persistent neuroinvasive west nile virus infection in an immunocompromised patient. *Clin Infect Dis.* 2006 ; 42: 680-683

Pfleiderer C, Blümel J, Schmidt M, Roth WK, Houfar MK, Eckert J, Chudy M, Menichetti E, Lechner S, Nübling CM. West Nile Virus and blood product safety in Germany. *J Med Virol.* 2008; 80: 557 - 563

Platonov, AE. The influence of weather conditions on the epidemiology of vector-borne diseases by the example of West Nile fever in Russia. *Vestn Ross Akad Nauk* 2006; 2: 25-29

Platt KB. West Nile viremia in Eastern Chipmunks (*Tamias striatus*) sufficient for infecting different mosquitoes. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13: 831-837

Prince HE, Lapé-Nixon M, Busch MP, Tobler LH, Foster GA, Stramer SL. Utilization of follow-up specimens from viremic blood donors to assess the value of west nile virus immunoglobulin g avidity as an indicator of recent infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2005; 12: 1123-1126

Prince HE, Tobler LH, Lapé-Nixon M, Foster GA, Stramer SL, Busch MP. Development and persistence of West Nile virus-specific immunoglobulin M (IgM), IgA, and IgG in viremic blood donors. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 4316-4320

Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. Berlin: De Gruyter Verlag. 2002, S. 1310-1311

Public Health Agency of Canada, 2007: West Nile Virus MONITOR. <http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index.html>, Zugriffsdatum: 11.06.2007

Public Health Agency of Canada, 2008: West Nile Virus MONITOR. <http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/mon-hmnsurv-eng.php>, Stand 30.08.2008, Zugriffsdatum: 10.09.2008

Pugliese A, Beltramo T, Torre D. Emerging and re-emerging viral infections in Europe. *Cell Biochem Funct* 2006; 25: 1-13

Reddy MR, Lepore TJ, Pollack RJ, Kiszewski AE, Spielman A, Reiter P. Early evening questing and oviposition activity by the *Culex* (Diptera: Culicidae) vectors of West Nile virus in northeastern North America. *J Med Entomol.* 2007; 44: 211-214.

Reddy P, Davenport R, Ratanatharathorn V, Reynolds C, Silver S, Ayash L, Ferrara JL, Uberti JP. West Nile virus encephalitis causing fatal CNS toxicity after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33: 109-112

Reed KD, Meece JK, Henkel JS, Shukla SK. Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, Influenza A and enteropathogens. *CM & R* 2003; 1: 5-12

Reisen WK, Fang Y, Martinez VM. Vector competence of *Culiseta incidens* and *Culex thriambus* for West Nile virus. *J Am Mosq Control Assoc.* 2006; 22: 662-665

Rezza G, Nicoletti L, Angelini R, Romi R, Finarelli AC, Panning M, Cordioli P, Fortuna C, Boros S, Magurano F, Silvi G, Angelini P, Dottori M, Ciufolini MG, Majori GC, Cassone A; CHIKV study group. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet*. 2007; 370: 1840-1846

Riede UN, Wehner H. Immunpathologie. In: Riede UN, Schaefer HE, Wehner H, Hrsg. *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Stuttgart - New York: Georg Thieme Verlag, 1989: 170-206

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2003. Neu erfasste Erkrankungsfälle von besonderer Bedeutung, *Epid Bull*; 39:320,  
[http://www.rki.de/cIn\\_048/nn\\_196440/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2003/39\\_\\_03,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/39\\_03.pdf](http://www.rki.de/cIn_048/nn_196440/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2003/39__03,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/39_03.pdf), Zugriffsdatum: 13.06.2007

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2007. FSME: Risikogebiete in Deutschland, *Epid Bull* 2007; 15:129-140,  
[http://www.rki.de/cIn\\_049/nn\\_264978/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/15\\_\\_07,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/15\\_07.pdf](http://www.rki.de/cIn_049/nn_264978/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/15__07,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/15_07.pdf), Zugriffsdatum: 15.06.2007

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2007. FSME: Risikogebiete in Deutschland, *Epid Bull* 2007; 17:147-154,  
[http://www.rki.de/cIn\\_048/nn\\_264978/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/17\\_\\_07,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/17\\_07.pdf](http://www.rki.de/cIn_048/nn_264978/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/17__07,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/17_07.pdf), Zugriffsdatum: 21.06.2007

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2007. Reiseassoziiertes Dengue-Fieber in Deutschland 2001-2006, *Epid Bull*; 27: 239 - 242,  
[http://www.rki.de/cIn\\_048/nn\\_467466/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/27\\_\\_07,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/27\\_07.pdf](http://www.rki.de/cIn_048/nn_467466/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/27__07,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/27_07.pdf), Zugriffsdatum: 13.02.2008

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2000. Humanes Cytomegalovirus (HCMV), Stellungnahme des AK Blut, *Bundesgesundheitsblatt* 43, 8 (2000), 653-659 vom 03.05.2000.  
[http://www.rki.de/cIn\\_048/nn\\_205760/DE/Content/Infekt/Blut/AK\\_\\_Blut/Stellungnahmen/download/stHCMV,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/stHCMV.pdf](http://www.rki.de/cIn_048/nn_205760/DE/Content/Infekt/Blut/AK__Blut/Stellungnahmen/download/stHCMV,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/stHCMV.pdf),  
Zugriffsdatum: 05.09.2007

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2007. West-Nil-Virus-Erkrankungen durch Klimawandel? Gemeinsame Pressemitteilung des Bernhard-Nocht-Instituts, des Paul-Ehrlich-Instituts und des Robert Koch-Instituts vom 05.04.2007.  
[http://www.rki.de/nn\\_196910/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2007/06\\_\\_2007.html](http://www.rki.de/nn_196910/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2007/06__2007.html), Zugriffsdatum: 15.01.08

Robert Koch-Institut, Hrsg. 2008. *SurvStat*, <http://www3.rki.de/SurvStat>, Datenstand: 28.05.2008

Rosen L. Dengue in Greece in 1927 and 1928 and the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever: new data and a different conclusion. *Am J Trop Med Hyg*. 1986; 35: 642-653

- Sánchez-Guerrero SA, Romero-Esterella S, Rodríguez-Ruiz A, Infante-Ramírez L, Gómez A, Villanueva-Vidales E, García-Torres M, Domínguez AM, Vázquez JA, Calderón ED, Valiente-Banuet L, Linnen JM, Brouli A, Harel W, Marín Y López RA. Detection of West Nile virus in the Mexican blood supply. *Transfusion*. 2006; 46: 111-117
- Scheer, AW. ARIS-Geschäftsprozessmodellierung; in: ARIS – Modellierungs-methoden, Metamodell, Anwendungen, Springer-Verlag, 4. Auflage, 2001, (a) S. 1, (b) S. 7-20, (c) S. 125 -128
- Schneider BS, Soon L, Girard YA, Campbell G, Manson P, Higgs S. Potential of West Nile encephalitis by mosquito feeding. *Vial Immunol*. 2006; 19: 74-82
- Schwegemann A. Abbildung: *Apodemus sylvaticus* (Waldmaus), <http://www.biologie.uni-osnabrueck.de/Ethologie/forschung.htm>, Zugriffsdatum: 18.06.2007
- Silbernagel S, Lang F. Pathophysiologie. München Dt. Taschenbuchverlag, 1998.
- Smith JM, McDonald RA. Emerging viral infections in transplantation. *Pediatr Transplant*. 2006; 10: 838-843
- Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW. A neurotropic virus isolated from blood of native of Uganda. *Am J Trop Med* 1940; 20: 471-492
- Solomon T, Ooi MH, Beasley DWC, Mallewa M. West Nile encephalitis. *BMJ* 2003; 326: 865-869
- South Dakota State University, 2007 Abbildung *Aedes vexans* und *Anopheles punctipennis*, <http://biomicro.sdstate.edu/Hildrethm/Mosquito/sdmosquito.html>, Zugriffsdatum: 12.12.2007
- Ständige Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut, Impfkalender (Standardimpfungen) für Säuglinge, Kinder, Jugendliche und Erwachsene. Empfohlenes Impfalter und Mindestabstände zwischen den Impfungen. Stand: 23.03.2007. [http://www.rki.de/clin\\_048/nn\\_195844/DE/Content/Infekt/Impfen/STIKO\\_\\_Empfehlungen/Aktuelles/Impfkalender,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/Impfkalender.pdf](http://www.rki.de/clin_048/nn_195844/DE/Content/Infekt/Impfen/STIKO__Empfehlungen/Aktuelles/Impfkalender,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/Impfkalender.pdf), Zugriffsdatum: 21.06.2007
- Staras SA, Dollard SC, Radford KW, Flanders WD, Pass RF, Cannon MJ. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988 – 1994. *Clin Infect Dis*. 2006; 43: 1143-1151
- Sumilo D, Asokliene L, Bormane A, Vasilenko V, Golovljova I, Randolph SE. Climate Change Cannot Explain the Upsurge of Tick-Borne Encephalitis in the Baltics. *PLoS ONE* 2007; 6: e500
- Süss J, Klaus C, Diller R, Schrader C, Wohanka N, Abel U. TBE incidence versus virus prevalence and increased prevalence of the TBE virus in *Ixodes ricinus* removed from humans. *Int J Med Microbiol* 2006; 296: 63-68

Süss J, Schrader C, Falk U, Wodhanka N. Tick-borne encephalitis (TBE) in Germany Epidemiological data, development of risk areas and virus prevalence in field-collected ticks and ticks removed from humans. *Int J Med Microbiol* 2004; 293: 69-79

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

Sweny P. Infection and cancer following renal transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2006; 17: 397-400

Tätigkeitsbericht 2006 Blutspendedienst Bw, Abteilung Qualitätssicherung, Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr in Koblenz, S. 1-13

Teperman LW, Diflo T, Fahmy A, Morgan GR, Wetherbee RE, Ratner L, Cohen D, Ackelsberg J, Campbell M, DeBernardo E, Fine A, Lumeng E, Tavakoli NP, Dixon B, Weltman A, Tsoi B. West Nile virus infections in organ transplant recipients--New York and Pennsylvania, August-September, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2005; 54: 1021-1023

Torres JR, Castro J. The health and economic impact of dengue in Latin America. *Cad Saude Publica.* 2007; 23: 23-31

Trock SC, Meade BJ, Glaser AL, Ostlund EN, Lanciotti RS, Cropp BC, Kulasekera V, Kramer LD, Komar N. West Nile virus outbreak among horses in New York State, 1999 and 2000. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7: 745-747

Turell MJ, Mores CN, Dohm DJ, Komilov N, Paragas J, Lee JS, Shermuhemedova D, Endy TP, Kodirov A, Khodjaev S. Laboratory transmission of Japanese encephalitis and west Nile viruses by *Aedes molestus* from *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) collected in Uzbekistan in 2004. *J Med Entomol.* 2006; 43: 296-300

Turell MJ, O'Guinn M, Oliver J. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2000; 62: 413-414

United States Geological Survey, 2006: Wild Birds That Typically Host the West Nile Virus.  
[http://www.nwhc.usgs.gov/disease\\_information/west\\_nile\\_virus/wnv\\_bird\\_identification.jsp](http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/west_nile_virus/wnv_bird_identification.jsp), Zugriffsdatum: 11.06.2007

Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Endy TP, Raengsakulrach B, Rothman AL, Ennis FA, Nisalak A. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis.* 2000 ; 181: 2-9

Vazeille M, Jeannin C, Martine E, Schaffer F, Failloux AB. Cikungunya: A risk for mediterranean countries? *Acta Trop.* 2007: Oct 12 [Epub ahead of print]

Wagner D, de With K, Huzly D, Hufert F, Weidmann M, Breisiger S, Eppinger S, Kern WV, Bauer TM. Nosocomial acquisition of dengue. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10: 1872-1873

Ward MR, Stallknecht DE, Willis J, Conroy MJ, Davidson MR. Wild bird mortality and West Nile virus surveillance: bias associated with detection, reporting, and carcass persistence. *J Wildl Dis.* 2006; 42: 92-106

Wintzer HJ, Gerber H, Ludwig H. Krankheiten des Zentralnervensystems. In: Wintzer HJ, Hrsg. *Krankheiten des Pferdes.* Berlin: Parey Buchverlag, 1999: 485-507

Wittermann C, Nicolay U, Hilbert A. Long term of TBE antibodies in children 5 years after booster vaccination with Encepur Children. Poster präsentiert bei ESPID 13. – 15.06.2008 in Graz, Österreich

World Book. Inc., 2008: North American Climates: Manitoba.  
[http://www.worldbook.com/wb/Students?content\\_spotlight/climates/north\\_american\\_climate\\_manitoba](http://www.worldbook.com/wb/Students?content_spotlight/climates/north_american_climate_manitoba), Zugriffsdatum: 29.08.2008

Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr, Laborabteilung V – Blutspendedienst, Hrsg. 2007. Richtlinien für die bei den Blutspendeterminen der Bundeswehr tätigen Ärzte.

Zuckerman JN. The traveller and West Nile Virus. *Travel Med Infect Dis.* 2003; 1: 149-152

## Danksagung

Für die Unterstützung bei der Studieninitiierung:

Frau Dr. Brillat, Zentrales Institut des Sanitätsdienstes Koblenz

Für die Verteilung der Fragebögen und die Motivation der Soldaten, sich an der Studie zu beteiligen den Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der nachstehenden Sanitätsbereiche: Bad Frankenhausen, Bad Salzungen, Bruchsal, Dabel, Diez, Dornstadt, Emmerich, Erfurt, Gera, Germersheim, Gotha, Hagenow, Leipzig, Oberviechtach, Prenzlau, Rennerod, Rotenburg, Schneeberg, Schwerin, Sondershausen, Weißenfels und Wesel.

Für die Probenentnahme die Blutentnahmetrupps der Bundeswehr:

- Frau OFw Kirchner und Herr SG Gregorio, Blutgruppenbestimmungstrupp OST,
- Frau OFw Sachau-Tinney und Teammitglieder, Blutgruppenbestimmungstrupp NORD,
- Frau OFw Pelzer und Teammitglieder, Blutgruppenbestimmungstrupp SÜD,
- Herr OFw Schöp und Teammitglieder, Blutgruppenbestimmungstrupp WEST.

Für die erste Probenaufbereitung und Einlagerung:

Frau Dipl.-Med. Tucek (Leiterin Laborabteilung V) und Frau Finke (zivile MTLA) in der Außenstelle München des Blutspendedienstes der Bundeswehr am Zentralen Institut des Sanitätsdienstes Koblenz.

Für die Unterstützung bei der Durchführung der Testserien:

Dr. Gerhard Dobler, Dr. Sandra Essbauer und Oberfeldwebel Klein vom Institut für Mikrobiologie, Abteilung Virologie in München, die mir alles beibrachten und jederzeit für mich da waren.

Für Rat, Tat und viel Geduld:

Prof. Dr. Dr. Grunwald, Stellvertretender Kommandeur Sanitätskommando II in Diez

Für die jahrelange Begleitung von der ersten Idee bis hin zum fertigen Werk:

Prof. Dr. Michael Faulde, Leiter Laborgruppe Medizinische Zoologie, Zentrales Institut des Sanitätsdienstes Koblenz