

Experimentelle Studien von EBLVs in verschiedenen Wirten – ein Überblick unter besonderer Berücksichtigung der Fledermäuse

Von THOMAS MÜLLER, Wusterhausen, BERND OHLENDORF, Roßla, BÄRBEL POTT-DÖRFER, Hannover, AD VOS, LARISSA NEUBERT, Dessau-Roßlau, und CONRAD M. FREULING, Wusterhausen

Abstract

Experimental studies of EBLVs in different hosts – an overview with special emphasis on bats

European bat lyssaviruses (EBLVs) cause fatal infectious diseases in bats but also sporadically in other species including humans. The transmission of EBLV-1 and -2 and the underlying mechanisms are poorly understood. To evaluate the risk to humans and animals in Germany and Europe, a number of experimental infections in reservoir and non-reservoir hosts were performed. These experimental studies provided evidence that EBLVs probably have a lower pathogenicity and virulence for both bats and other animal species than the classical rabies virus.

Zusammenfassung

Die in Europa vorkommenden Fledermaustollwutviren (EBLVs) rufen tödlich verlaufende Infektionskrankheiten bei Fledermäusen aber auch sporadisch bei Fehlwirten, unter anderem auch dem Menschen, hervor. Die der Übertragung von EBLV-1 und -2 zugrunde liegenden Mechanismen sind dabei nur unzureichend bekannt. Um das Risiko für Mensch und Tier in Deutschland und Europa abzuschätzen, wurde eine Reihe von Infektionsversuchen in Fehlwirten sowie in Fledermausarten, die als natürliches Reservoir dienen, durchgeführt. Diese experimentellen Studien gaben Hinweise darauf, dass EBLVs eine vermutlich geringere Pathogenität und Virulenz sowohl für Fledermäuse als auch für andere Tierarten aufweisen als das klassische Tollwutvirus.

Keywords

Bats, lyssavirus, infection, experimental studies.

1 Einleitung

Die klassische Tollwut wie auch Infektionen mit fledermausassoziierten Lyssaviren sind stets tödlich verlaufende Infektionskrankheiten (JACKSON 2002). Es ist bekannt, dass alle fledermausassoziierten Lyssaviren die Artbarriere von ihren natürlichen Wirten zu anderen terrestrischen Tierarten (Fehlwirte)

und den Menschen überspringen können (auch als Spillover bezeichnet) (BROOKES et al. 2007). Die ersten Fälle eines Wirtswechsels von europäischen Fledermaustollwutviren (EBLVs) auf Haustiere wurden 1998 und 2002 aus Dänemark berichtet, wo Schafe eine Tollwuterkrankung infolge Infektion mit EBLV-1 entwickelten (RONSHOLT 2002). Aus dem Jahr 2001 stammt der bislang einzige dokumentierte Spillover von EBLV-1 auf Wildtiere, bei dem aus einem unter tollwuttypischen Symptomen erkrankten Steinmarder aus Sachsen-Anhalt ebenfalls EBLV-1 isoliert wurde (MÜLLER et al. 2004). Auch jüngere Nachweise von EBLV-1 Spillover-Infektionen in Hauskatzen in Frankreich aus den Jahren 2003 und 2007 unterstreichen die veterinär- und gesundheitspolitische Bedeutung der Fledermaustollwut in Europa (DACHEUX et al. 2009).

Interessanterweise ist die Rate der Spillover-Infektionen von fledermausassoziierten Lyssaviren auf andere terrestrische Tierarten und den Menschen in Nord- und Südamerika wesentlich höher im Vergleich zu fledermausassoziierten Lyssaviren in anderen Teilen der Welt, insbesondere den EBLVs (KUZMIN & RUPPRECHT 2007). Während zwischen 1950 und 2007 in Kanada und den USA 61 Menschen an Infektionen durch fledermausassoziierte Tollwutviren (RABV) verstarben, wurden im selben Zeitraum nur jeweils 2 Fälle von EBLV-1 und -2 beim Menschen in Europa berichtet (DE SERRES et al. 2008, FOOKS et al. 2003). Ein weiterer, diagnostisch aber nicht bestätigter, Fall soll sich 2005 in der Ukraine ereignet haben (BOTVINKIN et al. 2005). Geht man davon aus, dass das Niveau der Tollwutsurveillance in Fledermäusen in Nordamerika

und Europa in etwa vergleichbar ist, so ist dies ein beachtlicher Unterschied. Daraus ergibt sich die Frage, ob diese Beobachtung aus einer höheren Abundanz einheimischer Fledermausarten, Unterschieden im Infektionsstatus einzelner Populationen, den daraus folgenden Kontaktraten zwischen Fledermäusen und Tieren einschließlich des Menschen oder unterschiedlicher Besonderheiten bzw. Eigenschaften der vorherrschenden Lyssaviren resultiert? Im Gegensatz zur klassischen Tollwut sind die der Übertragung von EBLV-1 und -2 zugrunde liegenden Mechanismen nur unzureichend bekannt. Um das Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier auf der einen und die aus den EBLV-Infektionen resultierenden Auswirkungen auf den Fledermausschutz in Deutschland und Europa auf der anderen Seite abzuschätzen, bedürfen viele Sachverhalte und Fragen einer dringenden Klärung. Dabei bieten Infektionsversuche die einmalige und mitunter einzige Möglichkeit tiefere Einblicke in die Pathogenese und den Infektionsverlauf von fledermausassoziierten Lyssaviren zu bekommen. In den letzten Jahren ist eine Reihe von experimentellen Studien mit EBLVs sowohl in Fehlwirten als auch Reservoirspezies durchgeführt worden, die geholfen haben, unsere Kenntnis über diese europäischen Lyssaviren grundlegend zu verbessern.

2 Infektionsversuche mit terrestrischen Tierarten

Aufgrund des Schutzstatus europäischer Fledermausarten und den daraus resultierenden Beschränkungen konzentrierten sich die Forschungsaktivitäten anfänglich auf Studien zur Empfänglichkeit von terrestrischen Tierarten gegenüber Infektionen mit EBLVs. Dabei standen zunächst Tierarten im Vordergrund, bei denen entweder natürliche Spillover-Infektionen mit EBLV-1 in Europa bereits nachgewiesen wurden oder die potenzielle Reservoir für die klassische Tollwut in Europa darstellen. Nach entsprechender sorgfältiger behördlicher Prüfung und Genehmigung wurden Tiere (Mäuse, Frettchen, Füchse, Schafe) in sogenannten Empfänglichkeitsstudien auf verschiedenen Infektionswegen (in-

tracerebral – i. c.: intramuskulär – i. m.) mit unterschiedlichen Infektionsdosen definierter Isolate von EBLV-1 und -2 experimentell infiziert und für mehr als 90 Tage hinsichtlich der Entwicklung klinischer Symptome beobachtet. Entgegen allgemeiner Annahmen ergaben die experimentellen Studien, dass im Gegensatz zur i. c. Inokulation eine periphere bzw. parenterale (i. m.) Inokulation mit EBLV-1 und -2 in den verschiedenen Tierarten nicht notwendigerweise einen tödlichen Infektionsverlauf nehmen müssen (BALTAZAR 1988, VOS et al. 2004a, VOS et al. 2004b, BROOKES et al. 2007, PICARD-MEYER et al. 2008). Dabei stellte man fest, dass die Mortalität (Sterberate) bei EBLV-1 infizierten Tieren deutlich dosisabhängig ist. Während die Mortalität bei Frettchen und Mäusen, die eine hohe Infektionsdosis erhielten, 100 % betrug (Tab. 1), verstarben nur wenige Tiere infolge einer niedrigen EBLV-1 Inokulationsdosis (VOS et al. 2004b). Interessanterweise entwickelten sämtliche mit einer hohen Dosis von EBLV-1 i. m. infizierten Füchse (*Vulpes vulpes*) klinisch manifeste, durch einen oder mehrere Rückfälle geprägte, neurologische Störungen, bildeten nach einigen Tagen eine hohe spezifische Immunantwort aus und überlebten anschließend die Infektion. Bei Tieren, die aufgrund der Schwere der klinischen Symptome eingeschläfert wurden, konnten post mortem zwar histologische Korrelate für eine mäßige bis schwere Enzephalomyelitis, aber kein Virus im Gehirn nachgewiesen werden. Wahrscheinlich hatte die spezifische Immunantwort zu einer Eliminierung des Virus im Gehirn der Füchse geführt (VOS et al. 2004a). In einer ähnlichen Studie mit Füchsen führten dagegen niedrige Dosen von EBLV-1 über dieselbe Infektionsroute zu Mortalität, während eine Inokulation mit hohen Dosen keinen Effekt hatte (PICARD-MEYER et al. 2008). Dies verdeutlicht, dass einzelne Ergebnisse einzelner Infektionsversuche grundsätzlich nicht verallgemeinert werden können. Trotz dieser widersprüchlichen Ergebnisse bei Füchsen spricht dennoch vieles für eine verminderte Virulenz von EBLV-1 bei anderen Tierarten im Vergleich zu anderen fledermausassoziierten Lyssaviren, insbesondere RABV, LBV und MOKV. Auch

Tabelle 1. Ergebnisse experimenteller Studien mit EBLVs in *Chiroptera* (FRANKA et al. 2008, JOHNSON et al. 2008, FREULING et al. 2009)

EBLV-typ	Fledermaus Art Infektions- route	Dosis (MLD lg 10)	Mortalität	Inkubations- zeit in Tagen	IFT (pos.)	Virusiso- lierung	Anti- körper
EBLV-1	<i>Eptesicus fuscus</i>						
	i. c.	3,2	4 / 7	9-12	4	1	2
	i. m.	3,2	3 / 7	12-33	2	1	2
	i. m.	2,2	4 / 7	21-58	6	1	4
	i. n.	3,2	0 / 7		3	-	-
	p. o.	3,2	0 / 7	-	0	-	-
	<i>Eptesicus serotinus</i>						
	i. c.	3,2	5 / 5	7-13	5	-	-
	i. m.	3,2	1 / 7	26	1	-	-
	s. c.	3,2	5 / 7	17-20	3	1	-
i. n.	3,2	2 / 7	108/116	-	-	-	
EBLV-2	<i>Myotis daubentonii</i>						
	i. c.	3,2	7 / 7	13-15	4	-	-
	i. m.	3,2	0 / 7	-	-	-	-
	s. c.	3,2	2 / 7	32-118	1	1	-
	i. n.	3,2	3 / 7	99-101	-	-	-

Erklärung der Abkürzungen:

i. c. – intracranial; i. m. – intramuscular; i. n. – intranasal; p. o. – per os; s. c. - subcutan

bei Schafen waren hohe Dosen von EBLV-1 notwendig, um eine klinische Infektion unter experimentellen Bedingungen auszulösen, während alle Tiere mit einer niedrigen Dosis die Infektion überlebten und Antikörper ausbildeten (BROOKES et al. 2007).

Interessanterweise überlebten sämtliche Füchse, Frettchen und Schafe, die mit unterschiedlich hohen oder niedrigen Infektionsdosen von EBLV-2 parental infiziert wurden, die Infektion (VOS et al. 2004a, BROOKES et al. 2006, PICARD-MEYER et al. 2008). All diese Studien deuten darauf hin, dass eine Übertragung von EBLVs von Fledermäusen auf andere terrestrische Tierarten sehr begrenzt ist und nicht immer tödlich enden muss. Einer Übertragung dieser Schlussfolgerungen sowie eine Verharmlosung des zoonotischen Potenzials auf den Menschen muss jedoch mit äußerster Vorsicht begegnet werden, wie die 5 Fälle von tödlichen EBLV-1 und -2 beim Menschen in Europa beweisen.

3 Infektionsversuche mit Wirtsreservoir – Fledermäuse

Betrachtet man die Ergebnisse dieser orientierenden Infektionsversuche in Fehlwirten, so stellt sich unweigerlich die Frage, ob die Empfänglichkeit von einheimischen Fledermäusen, die als die natürlichen Reservoirspezies gelten, gegenüber EBLV-1 und -2 denen bei anderen terrestrischen Tierarten entspricht. Da alle europäischen Fledermausarten als gefährdet gelten und daher streng geschützt sind, sind nur wenige Studien in der internationalen Literatur verfügbar. Frühe Studien über die Empfänglichkeit europäischer Fledermausarten (*Myotis daubentonii*, *M. brandtii*, *Pipistrellus pipistrellus*) gegenüber einer Infektion mit EBLVs müssen vorsichtig interpretiert werden, da die experimentellen Bedingungen nicht genau definiert waren (BOTVINKIN et al. 1992, KUZMIN et al. 1994). Nachdem in einem Zoo in Dänemark Ägyptische Flughunde (*Rousettus aegyptiacus*) positiv auf EBLV-1 getestet wor-

den waren, zeigten nachfolgende Infektionsversuche, dass nach i. c. Applikation fünf von acht (63 %) Tieren Tollwut entwickelten (POEL et al. 2000).

In jüngerer Zeit wurden Versuche unternommen, EBLVs in ihren natürlichen Reservoirspezies bzw. eng verwandten Geschwisterarten zu untersuchen. In einem Vorversuch mit *Eptesicus fuscus*, einer nordamerikanischen Fledermausart, die eng mit der Breitflügelfledermaus (*Eptesicus serotinus*) verwandt ist, wurde die Empfänglichkeit gegenüber EBLV-1 getestet. Die Injektion von Viren durch die i. m. Route führte zu einer 50 %igen Mortalität unabhängig von der Dosis (FRANKA et al. 2008). Eine weitere Studie an Wasserfledermäusen (*Myotis daubentonii*) war der erste Versuch einer experimentellen Infektion mit EBLV-2 in seinem natürlichen Wirt (JOHNSON et al. 2008). In dieser Studie entwickelten erstaunlicherweise keine Tiere Krankheitssymptome nach einer i. m. Inokulation, und nur eine einzige Fledermaus (14 %) entwickelte Tollwut nach subkutaner (s. c.) Inokulation. In einer abschließenden experimentellen Studie wurde der natürliche Wirt, die Breitflügelfledermaus, experimentell mit EBLV-1 infiziert, um verschiedene Infektionswege zu initiieren. Die Studie zeigte, dass eine i. m. Inokulation nicht so effizient ist, um verschiedene Infektionswege zu imitieren. Die Studie zeigte des Weiteren, dass eine i. m. Inokulation nicht so effizient ist wie s. c. (FREULING et al. 2009). Während bei der Studie mit EBLV-1 in *E. fuscus* einige infizierte Tiere Virus-neutralisierende Antikörper entwickelten (FRANKA et al. 2008), konnte dies bei *E. serotinus* nicht festgestellt werden.

Zusammenfassend ergaben experimentelle Studien Hinweise, dass EBLVs eine vermutlich geringere Pathogenität und Virulenz sowohl für Fledermäuse als auch andere Tierarten aufweisen als das klassische Tollwutvirus. Bislang ist ungeklärt, unter welchen Umständen EBLVs zu einer tödlichen oder abortiven Infektion führen oder ob der Ausgang der Infektion von anderen Parametern wie der Virusdosis, dem Infektionsort bzw. vom Zustand

des betreffenden Tieres bzw. Menschen abhängt. Trotz hoher Virusdosen konnte in experimentell infizierten Fledermäusen nur eine begrenzte Virusausscheidung und Serokonversion nachgewiesen werden. Felddaten zeigen, dass eine Fledermauskolonie durch die Präsenz von Fledermaustollwut nicht ausgerottet wird. Dies scheint auf eine längere Ko-Evolution zwischen Virus und Wirtsabwehr hinzudeuten. Leider ist über das Immunsystem von Fledermäusen, das sich möglicherweise von dem anderer Säugetiere unterscheidet, fast nichts bekannt. Weitergehende Untersuchungen müssen hier durchgeführt werden, um die Besonderheiten der Fledermause zu entschlüsseln.

Schrifttum

- BALTAZAR, R. S. (1988): Study of rabies virus isolated from an european bat "*Eptesicus serotinus*" – Virulence for sheep and fox. *Revue Med. Vet.* **139**(7), 615-621.
- BOTVINKIN, A. D., KUZMIN, I., & CHERNOV, S. M. (1992): Experimental infection of bats with Lyssaviruses serotype-1 and serotype-4. *Voprosy Virusologii* **37**, 215-218.
- , SELNIKOVA, O. P., ANTONOVA, L. A., MOISEEVA, A. B., & NESTERENKO, E. Y. (2005): Human rabies case caused from a bat bite in Ukraine. *Rabies Bulletin Europe* **29**, 5-7.
- BROOKES, S. M., KLOPFLEISCH, R., MÜLLER, T., HEALY, D. M., TEIFKE, J. P., LANGE, E., KLIEMT, J., JOHNSON, N., JOHNSON, L., KADEN, V., VOS, A., & FOOKS, A. R. (2007): Susceptibility of sheep to European bat lyssavirus type-1 und -2 infection: A clinical pathogenesis study. *Veterinary Microbiology* **125**(3-4), 210-223.
- DACHEUX, L., LARROUS, F., MAILLES, A., BOISSELEAU, D., DELMAS, O., BIRON, C., BOURCHIER, C., ILARI, F., LEFRANC, T., RAFFI, F., GOUDAL, M., & BOURHY, H. (2009): European bat lyssavirus transmission among cats, Europe. *Emerging infectious diseases* **15**(2), 280-284.
- DE SERRES, G., DALLAIRE, F., COTE, M., & SKOWRONSKI, D. M. (2008): Bat rabies in the United States and Canada from 1950 through 2007: human cases with and without bat contact. *Clinical Infectious Diseases* **46**(9), 1329-1337.
- FOOKS, A. R., BROOKES, S. M., JOHNSON, N., McELHINNEY, L. M., & HUTSON, A. M. (2003): European bat lyssaviruses: an emerging zoonosis. *Epidemiology and Infection* **131**(3), 1029-1039.
- FRANKA, R., JOHNSON, N., MÜLLER, T., VOS, A., NEUBERT, L., FREULING, C., RUPPRECHT, C. E., & FOOKS, A. R. (2008): Susceptibility of North American big brown bat (*Eptesicus fuscus*) to infection with

- European bat lyssavirus type 1. *Journ. General Virology* **89**, 1998-2010.
- FREULING, C., VOS, A., JOHNSON, N., KAIPF, I., DENZINGER, A., NEUBERT, L., MANSFIELD, K., HICKS, D., NUNEZ, A., TORDO, N., RUPPRECHT, C., FOOKS, A., & MÜLLER, T. (2009): Experimental infection of serotine bats (*Eptesicus serotinus*) with European bat lyssavirus type 1a. *Ibid.* **90**(10), 2493-2502.
- JACKSON, A. C. (2002): Rabies pathogenesis. *Journ. Neurovirology* **8**(4), 267-269.
- JOHNSON, N., VOS, A., NEUBERT, L., FREULING, C., MANSFIELD, K., KAIPF, I., DENZINGER, A., HICKS, D., NUNEZ, A., FRANKA, R., RUPPRECHT, C., MÜLLER, T., FOOKS, A. (2008): Experimental study of European bat lyssavirus type-2 infection in Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*). *Journ. General Virology* **89**(11), 2662-2672.
- KUZMIN, I. V., BOTVINKIN, A. D., & SHAIMARDANOV, R. T. (1994): Experimental Rabies and Rabies-Related Infections in Bats. *Voprosy Virusologii* **39**(1), 17-21.
- , & RUPPRECHT, C. E. (2007): Bat rabies. In: JACKSON, A. C., & WUNNER, W. (eds.): Rabies. Vol. **2**, 259-307. Academic Press. New York.
- MÜLLER, T., COX, J., PETER, W., SCHÄFER, R., JOHNSON, N., McELHINNEY, L. M., GEUE, J. L., TJORNEHOJ, K., & FOOKS, A. R. (2004): Spill-over of European bat lyssavirus type 1 into stone marten (*Martes foina*) in Germany. *Journ. Veterinary Medicine Ser. B* **51**(2), 49-54.
- PICARD-MEYER, E., BROOKES, S. M., BARRAT, J., LITAIZE, E., PATRON, C., BIARNAIS, M., HEALY, D. M., JOHNSON, L., FOOKS, A. R., & CLIQUET, F. (2008): Experimental infection of foxes with European bat lyssaviruses type-1 and -2. *Dev. Biol. (Basel)* **131**, 339-345.
- POEL, W. H. M. v. D., VAN DER HEIDE, R., VAN AMERONGEN, G., VAN KEULEN, L. J., WELLENBERG, G. J., BOURHY, H., SCHAFTENAAR, W., GROEN, J., & OSTERHAUS, A. D. (2000): Characterisation of a recently isolated lyssavirus in frugivorous zoo bats. *Arch. Virology* **145**(9), 1919-1931.
- RONSHOLT, L. (2002): A New Case of European Bat Lyssavirus (EBL) infection in Danish Sheep. *Rabies Bull. Europe* **26**(2), 15-25.
- VOS, A., MÜLLER, T., NEUBERT, L., ZURBRIGGEN, A., BOTTERON, C., POHLE, D., SCHOON, H., HAAS, L., & JACKSON, A. C. (2004a): Rabies in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) Experimentally Infected with European Bat Lyssavirus Type 1. *Jorn. Veterinary Medicine Ser. B* **51**(7), 327-332.
- , COX, J., NEUBERT, L., & FOOKS, A. R. (2004b): Susceptibility of ferrets (*Mustela putorius furo*) to experimentally induced rabies with European Bat Lyssaviruses (EBLV). *Ibid. Ser. B* **51**(2), 55-60.

Dr. THOMAS MÜLLER, Dr. CONRAD M. FREULING, Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Epidemiologie, Nationales Referenzlabor für Tollwut, Seestraße 55, D-16868 Wusterhausen

BERND OHLENDORF, Landesreferenzstelle für Fledermausschutz Sachsen-Anhalt im Biosphärenreservat „Karstlandschaft Südharz“, Hallesche Straße 68, D-06536 Roßla

BÄRBEL POTT-DÖRFER, Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz/ AB Tier- und Pflanzenartenschutz, Göttinger Chaussee 76, D-30453 Hannover

Dr. AD VOS & LARISSA NEUBERT, IDT Biologika GmbH, Am Pharmapark, D-06861 Dessau-Roßlau

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Nyctalus – Internationale Fledermaus-Fachzeitschrift](#)

Jahr/Year: 2011

Band/Volume: [NF_16](#)

Autor(en)/Author(s): Müller Thomas, Ohlendorf Bernd, diverse

Artikel/Article: [Experimentelle Studien von EBLVs in verschiedenen Wirten - ein Überblick unter besonderer Berücksichtigung der Fledermäuse 207-211](#)