

Für Dora

DANKE!

Meine Eltern ermöglichten mir mit großer Geduld und unter beträchtlichen finanziellen Opfern ein sorgenfreies Studium, dafür möchte ich ihnen an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Ein Dankeschön schulde ich auch meinem Dissertationsvater Univ.-Prof. Dr. H. Aspöck für seine teilnahmevolle und umfassende Betreuung. Ohne seine umsichtige Förderung wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Den organisatorischen Rückhalt verdanke ich dem Hygiene-Institut der Universität Wien unter dem Vorstand Univ.-Prof. Dr. H. Flamm. Für die methodische Unterstützung während der Arbeit danke ich Frl. H. Dippe aus dem Virologischen Institut der Universität Wien (Vorstand: Univ.-Prof. Dr. C. Kunz).

Zu Dank verpflichtet bin ich Hofrat Dr. F. Sauerzopf sowie allen Angestellten des Forschungsinstitutes der Burgenländischen Landesregierung für die Möglichkeit wissenschaftlicher Untersuchungen auf dem Gelände der Station. Weiters bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Vogelwarte Radolfzell für ornithologische Beratung.

Nicht zuletzt gebührt mein Dank den Damen und Herren der Abteilung für Parasitologie für ihre Geduld und Toleranz. Besonders Herrn Dr. Picher danke ich für die Einführung in die serologische Arbeitsweise.

Für die freundschaftliche Zusammenarbeit möchte ich mich auch noch bei meinem Kollegen J. Wojta bedanken. Die Durchführung dieser Arbeit wäre ohne ihn nicht möglich gewesen.

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung	6
1. Einleitung	9
2. Problemstellung	11
3. Grundlagen	13
3.1 Arboviren und Zecken	13
3.2 Immunreaktionen der Vögel	17
3.3 Lebensalter und Generationsfolge von Kleinvögeln	19
3.4 Vogelzug	21
3.5 Durch Zecken übertragene Arboviren in Europa	23
4. Material und Methoden	25
4.1 Vogel-Programm	26
4.1.1 Vogelfang	26
4.1.2 Artbestimmung, Punktion und Ausfälle	28
4.1.3 Aufbewahrung des Materials	29
4.2 Kleinsäuger-Programm	30
4.3 Sentineltiere	31
4.3.1 Methodik	31
4.3.2 Punktionsdaten	32
4.3.3 Auswertung	32
4.4 Untersuchungen von Gänse- und Entensera	34
4.5 Wildsera	34
4.6 Virusisolierungsversuche	35
4.7 Serologie	37
4.7.1 Grundlagen	37
4.7.2 Antigencharakterisierung	39
4.7.3 Kontrollsera	40
4.7.4 Der Hämagglutinationshemmungstest	41
4.7.4.1 Prinzip	41
4.7.4.2 Technik	41
4.7.4.3 Hämagglutinationstest und Hämagglutinationshemmungstest	42

4.7.5 Die Komplementbindungsreaktion	44
4.7.5.1 Prinzip	44
4.7.5.2 Reagenzien	46
4.7.5.3 Vorversuche	47
4.7.5.4 Diagnostische Reaktion	48
5. Ergebnisse	50
5.1 Vogel-Programm	50
5.1.1 Virusisolierungsversuche	55
5.1.2 Serologische Ergebnisse	55
5.2 Kleinsäuger-Programm	60
5.3 Sentineltiere, Gänse- und Entensera	61
5.4 Wildsera	61
6. Diskussion	62
6.1 Zeckenabundanz im Untersuchungsgebiet	62
6.2 Bionomie der untersuchten Arboviren	67
6.2.1 Frühsommer-Meningoenzephalitis	67
6.2.2 Uukuniemi	70
6.2.3 Bhanja	74
6.2.4 Bahig/Matruh	77
6.2.5 Crimean-Congo Hemorrhagic Fever	82
6.3 Biogeographie und Verschleppung von Arboviren	86
7. Literaturverzeichnis	90
8. Anhänge, im Jahre 2018 zugefügt	105
8.1 Abbildungsverzeichnis	105
8.2 Bilderverzeichnis	105
8.3 Tabellenverzeichnis	106
8.4 Fachbegriff-Verzeichnis	107
9. Curriculum vitae	108

ZUSAMMENFASSUNG

Die gewaltige Anzahl an Vögeln, die jährlich eine beschwerliche Reise über Kontinente unternimmt, wirft die Frage auf, welche - möglicherweise auch für den Menschen gefährliche - Krankheitserreger durch diese Zugbewegung verschleppt werden können. Eine wichtige Erregergruppe sind die Arboviren, die eine Reihe tödlicher Erkrankungen des Menschen hervorrufen können. Die Fragestellung dieser Arbeit lautet darum: Welche durch Zecken übertragenen Arboviren können in oder nach Österreich verschleppt werden und wie groß ist ihre Chance, hier einen Zyklus durchlaufen zu können? Die Gefahr der Einschleppung gefährlicher Arboviren und der zeitlich begrenzten Etablierung von Zyklen in Europa ist grundsätzlich vorhanden und kann, wie die Geschichte des lokalen Gelbfiebers im 18. und 19. Jahrhundert beweist, verheerende Folgen haben.

Es wurden im Neusiedlerseegebiet in Ostösterreich über den Zeitraum von eineinhalb Jahren, von März 1979 bis November 1980, mit Netzen 5 300 Vögel aus 64 Spezies zum Zwecke der Blutabnahme gefangen. Gleichzeitig konnte auch aus der lokalen Kleinsäugerpopulation, aus Sentineltieren, Hühnern und Kaninchen, und aus Hausgänsen und Enten eine Anzahl von Blutproben gewonnen werden. Die Versuche zur Virusisolierung aus den Blutkuchen der Proben verliefen erfolglos; die Chance, bei der Punktion genau den Zeitpunkt der Virämie zu treffen, ist nur gering.

Aus der breiten Palette in Europa isolierter, durch Zecken übertragener Arboviren wurden jene mit der höchsten Affinität zu Vögeln und der höchsten Wahrscheinlichkeit eines mitteleuropäischen Auftretens zur serologischen Untersuchung ausgewählt: Fröhsommer-Meningoenzephalitis, Bhanja, Uukuniemi, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Bahig und Matruh.

Die Ergebnisse bestätigen die Tatsache, daß das wichtigste heimische Arbovirus, das Virus der Fröhsommer-Meningoenzephalitis, in Vögeln nur einen Nebenzyklus ohne praktische Bedeutung durchläuft. Bhanja, ein mit Schafen und Ziegen assoziiertes Virus, hat in Ostösterreich sowie dessen unmittelbarer Nachbarschaft offenbar kein Vorkommen;

möglicherweise hängt dies mit der mitteleuropäischen Form der Landwirtschaft zusammen. Das Virus muß aber im zentralen und südlichen Teil Afrikas ein weit größeres als das heute bekannte Verbreitungsareal haben. Diese Behauptung kann man aus den serologischen Ergebnissen dieser Studie folgern. Das in Nordeuropa mit Vögeln eng verbundene Uukuniemi-Virus scheint in Mitteleuropa ähnliche Biotope wie das das Virus der Frühsommer-Meningoenzephalitis zu bevorzugen, und hier eher in Kleinsäugetern zu finden sein als in Vögel. Diese stellen in Zentraleuropa auch die vordringlichen Wirte des Uukuniemi-Virus-Vektors, *Ixodes ricinus*, dar. Es ist möglich, daß das Schwergewicht des Viruszyklus in Zentraleuropa in der vertikalen Übertragung liegt; das Virus wäre dann vom Vertebratenwirt mehr oder minder unabhängig. Im Neusiedlerseegebiet findet man dieses Virus aber nicht.

Für das Auftreten der in dieser Studie mittels der Serologie nicht unterscheidbaren Viren Bahig und Matruh im Untersuchungsgebiet gibt es gewichtige Anhaltspunkte. Es gelang, unbestreitbare Hinweise auf ein Vorkommen dieser Arboviren oder eines verwandten Virus im Untersuchungsgebiet zu finden. Die Existenz eines Zyklus im Seegebiet, an dem auch Kleinsäugeter beteiligt sein könnten, wird daher angenommen. Gegen das äußerst humanpathogene Crimean-Congo Hemorrhagic Fever-Virus scheinen sich Vögel refraktär zu verhalten. In dieser Untersuchung fand sich, entsprechend auch den meisten Literaturangaben, nicht der geringste Hinweis auf eine Antikörperbildung bei Vögeln gegen Antigene des Crimean-Congo Hemorrhagic Fever-Virus.

Zudem ergab sich, daß die in dieser Untersuchung hauptsächlich gefangenen, im Schilf lebenden Vögel eine geringe Affinität zu durch Zecken übertragenen Arboviren aufwiesen. Dies ist aus der ökologischen Untauglichkeit des Schilfgürtels als Lebensraum für Zecken erklärbar. Auch eingeschleppte Zecken finden hier kaum Überlebenschancen, sodaß die Etablierung eines Zyklus eines nicht-heimischen durch Zecken übertragenen Virus schwierig erscheint. Aus diesem Grund ist die Einschleppung eines durch Zecken übertragenen Arbovirus durch die untersuchte Vogelpopulation sehr unwahrscheinlich.

1. EINLEITUNG

„Arboviren (arthropod-borne viruses) sind Viren, die in der Natur immer oder zumindest fast immer zwischen einem empfänglichen Vertebratenwirt und einem blutsaugenden Arthropoden zirkulieren. Sie vermehren sich im Vertebraten und produzieren in diesem eine Virämie, sie vermehren sich aber auch in den Zellen des Arthropoden. Arboviren werden durch den Stich des blutsaugenden Arthropoden auf neue Vertebratenwirte übertragen“ [156].

Diese Definition der WHO umfaßt eine Gruppe systematisch sehr heterogener Viren, die nach rein ökologischen Gesichtspunkten zusammengefaßt werden. Ihr „Überleben“ ist an das Vorkommen von blutsaugenden Arthropoden und empfänglichen Wirbeltieren gebunden.

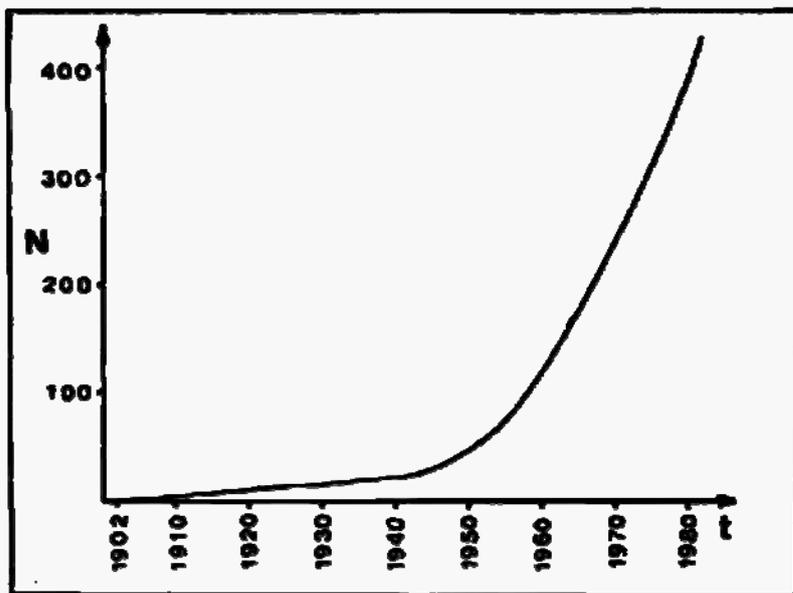


Abb. 1 Zahl der weltweit bekannten Arboviren

Die Erforschung einer tödlichen Erkrankung, des Gelbfiebers, führte zur Entdeckung des ersten Arbovirus im Jahre 1902 [06]. Durch die Entwicklung verbesserter Untersuchungstechniken kam es seit 1950 zu einem gewaltigen Anstieg der Zahl der weltweit bekannten Arboviren (Abb. 1).

Gegenwärtig, d.h. 1980, sind bereits mehr als 400 Viren beschrieben, deren Übertragung durch Arthropoden bewiesen ist oder gefolgert werden kann. Unter ihnen befin-

den sich auch eine Anzahl mehr oder minder humanpathogener Erreger, die Erkrankungen von leichten Fiebern und Exanthenen bis zu tödlich verlaufenden Enzephalitiden oder Hämorrhagien verursachen können [94]. Die Erforschung der Arbovirosen ist somit auch und vor allem ein Anliegen im Interesse der menschlichen Gesundheit.

2. PROBLEMSTELLUNG

Die disjunkte Verbreitung und ständige Arealveränderung einiger Arboviren legen den Verdacht nahe, daß diese Erreger laufend durch sehr bewegliche Tiere verschleppt werden [07]. Dafür kommen auf Grund ihrer Zahl und Mobilität vor allem Vögel, speziell Zugvögel in Frage. Im Zyklus einiger Viren spielen Vögel eine erhebliche Rolle, etwa in dem des südeuropäisch-afrikanisch-asiatischen West-Nile Virus. Es erhebt sich daher die Frage, ob und wenn ja, welche Agentien mehr oder minder regelmäßig eingeschleppt werden, und in welchem Ausmaß hier in Österreich passende Biotope zur Aufrechterhaltung eines Kreislaufs zur Verfügung stehen. Aus zeitlichen Gründen mußte die Frage des Auftretens von Vektoren aus dieser Arbeit ausgeklammert werden. Eine Untersuchung über den Befall von Zugvögeln mit Zecken, die im selben Areal durchgeführt wurde, findet sich in der Dissertation Fr. BACHMAYER-SCHAGERL [11].

Folgende konkrete Fragen sollten in dieser Studie, die auf der serologischen Untersuchung von Wirten von Arboviren basiert, abgeklärt werden:

01. Bei welchen nicht-mittleuropäischen durch Zecken übertragenen Viren ist eine Einschleppung möglich oder sogar wahrscheinlich?
02. Welche dieser Viren könnten sich in Österreich etablieren und in anderen Wirtsgruppen, z.B. in Kleinsäugetieren, einen Zyklus durchlaufen?
03. Gibt es autochthone Arboviren, die eine Affinität zu Vögeln aufweisen?
04. Welche Vogelarten haben im Arboviruskreislauf eine Wirtsfunktion, und mit welcher Häufigkeit treten seropositive Tiere auf?
05. Aus der Artzusammensetzung ergeben sich Fragen nach den Überwinterungsquartieren und den Zugrouten, sowie der Abundanz von Arboviren in tropischen und subtropischen Gebieten.
06. Welche Rolle spielen Strich- und Standvögel im Arboviruskreislauf?

Zur Beantwortung der Fragen wurde, abgesehen von der obligatorischen Artbestimmung der untersuchten Vögel, auch eine Trennung zwischen Altvögeln und Jungvögeln durchgeführt. Als Jungvögel gelten in dieser Studie solche Tiere, die am Standort geboren wurden und diesen noch nicht verlassen haben. Sie müssen allfällige Infektionen am

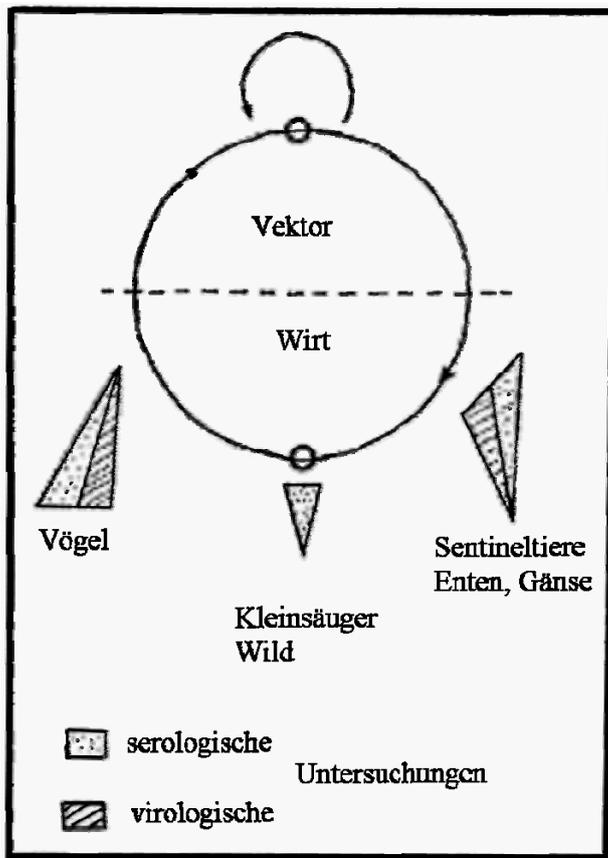


Abb. 2 Studiendesign

Untersuchungsort erworben haben, womit, indirekt, der Beweis einer Viruszirkulation vorläge. Der Winterfang, d.h. Vögel, die im Winter gefangen wurden, gab Auskunft über den serologischen Status der Strich- und Standvogelpopulationen. Zusätzlich untersuchte ich Sera von Kleinsäufern und anderen heimischen Tieren, um deren serologischen Status im Untersuchungsgebiet zu erfassen. Abb. 2 zeigt die Kernpunkte dieser Studie; der Schwerpunkt der Studie lag bei der serologischen Untersuchung der Kleinvögel.

Meine Untersuchung schließt an die in den Jahren 1972 und 1973 durchgeführte Studie von ASPÖCK et al. [10] an. Bei der Materialbeschaffung für diese Dissertation arbeitete ich eng mit meinem Kollegen Johann Wojta zusammen. Er untersuchte die durch Stechmücken übertragenen Arboviren. Der Schilfgürtel des Neusiedlersees wurde auf Grund seines Vogelreichtums als Untersuchungsgebiet gewählt, obwohl eine Untersuchung in Biotopen mit reicherer Zeckenfauna auf Grund der höheren Vektordichte eine bessere Ausbeute an Erkenntnissen durch die serologischen Ergebnissen gebracht hätte.

3. GRUNDLAGEN

3.1 ARBOVIREN UND ZECKEN

Der Kreislauf zwischen einem Arthropoden und einem Wirbeltier ist, bis auf die mutmaßlich seltenen Ausnahmen transovarieller und transstadialer Übertragung, für ein Arbovirus obligatorisch und existenzerhaltend (Abb. 3). Die bei der Blutmahlzeit in den empfänglichen Wirbeltierwirt eingebrachten Virionen befallen zuerst die primär affinen Organe, vor allem die Endothelzellen der Blutgefäße oder die Milz und auch andere

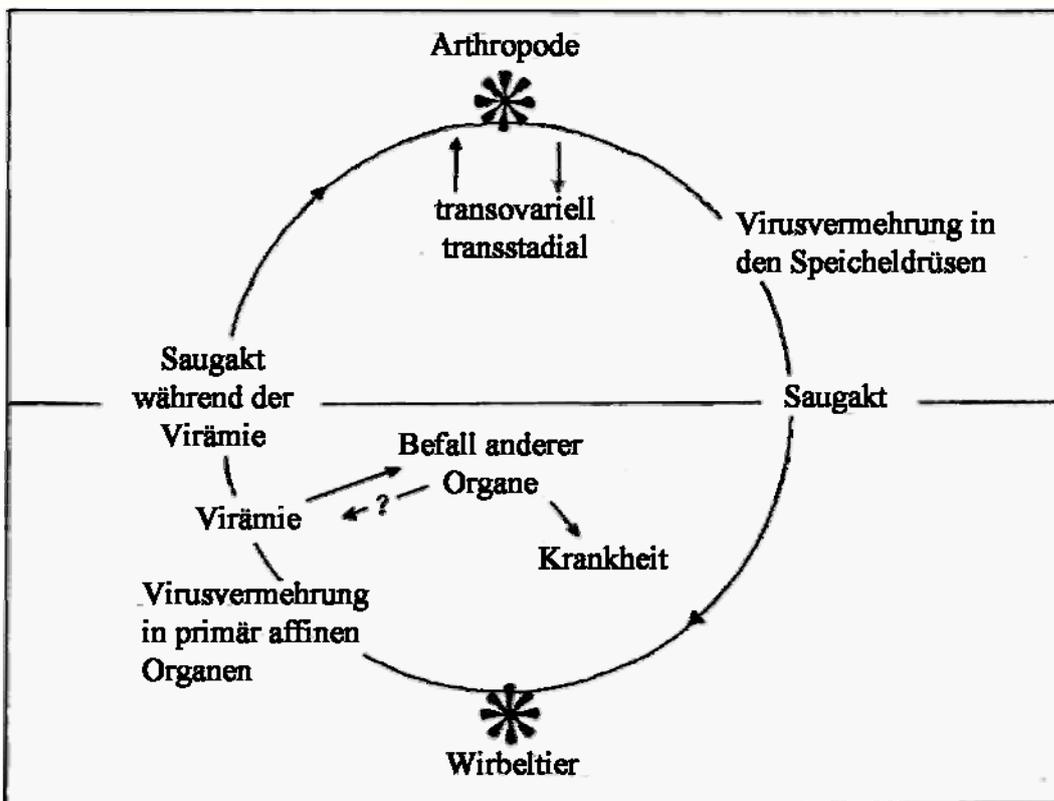


Abb. 3 Arboviruskreislauf nach ASPÖCK [06]

Organe des RES und vermehren sich dort. In dieser Zeit, der Inkubationszeit, ist kein Virus im Blut nachweisbar. Dann zerstören die neugebildeten Virus-Partikeln ihre Wirtszellen und treten in die Blutbahn ein. Diesen Zustand nennt man Virämie. Jetzt setzen immunologische Vorgänge ein, die zur Eliminierung der Virionen führen (siehe Kap. Immunreaktionen); oder aber die Erreger befallen andere Organe und verursachen schwere Schäden oder den Tod des Wirtes.

Sowohl die Inaktivierung als auch der Tod des Wirtes leiten das Ende des Erregers ein. Deshalb muß noch vor dem Eintritt dieser Ereignisse eine Übertragung auf einen neuen, empfänglichen Wirt gesichert werden. Während des meist einige Tage dauernden Zeitraums der Virämie müssen Viruspartikeln von einem blutsaugenden Arthropoden aufgenommen werden. Sie durchbrechen in diesem die Darmschranke und wandern in die Speicheldrüsen ein, wo sie sich vermehren und bei der nächsten Blutmahlzeit mit dem Speichel in die Wunde des Opfers eingespült werden. Die Arthropoden erleiden, im Gegensatz zum Vertebraten, meist keine Beeinträchtigung ihrer Lebensfunktionen.

Die Isolierung von Arboviren gelang bisher aus Arthropoden verschiedenster systematischer Gruppen: Aus Stechmücken (Culicidae), Zecken (Ixodida), Sandfliegen (Phlebotomidae), Gnitzen (Ceratopogonidae), Bremsen (Tabanidae) und Milben (Acaridae). Die Rolle als Überträger der beiden letzten Gruppen ist allerdings noch ungeklärt. Während die flugfähigen Überträger frei beweglich und daher gute Verbreiter einer Arbovirose sind, ist die Lokomotionsmöglichkeit einer Zecke aus körperbaubedingten Gründen sehr gering. Sie kann also nicht aktiv zur Verbreitung des Virus im Raum beitragen.

Durch die einen längeren Zeitraum in Anspruch nehmende Blutmahlzeit einer Zecke, die bis 13 Tage dauern kann [38] und die jedes Entwicklungsstadium einer Zecke mindestens einmal aufnehmen muß, können Zecken aber passiv weite Strecken transportiert werden, z.B. durch wandernde Großsäuger oder ziehende Vögel.

Die besondere Stabilität der Kreisläufe durch Zecken übertragener Arboviren liegt sowohl in der relativ geringen Inaktivierungsrate der Virus-Partikeln, als auch in der Möglichkeit einer „vertikalen“ Virusübertragung auf einander folgende Zeckengenerationen. Innerhalb anderer Vektorengruppen findet man diese Erscheinung nur sehr selten. Viren, die sich in der Hämolymphe einer Zecke befinden, können die Hüllmembran der Zeckenovarien durchdringen und die Eier infizieren (transovarielle Übertragung). Aus diesen Eiern schlüpfen Larven, die bereits bei ihrer ersten Blutmahlzeit infektiös sein können und Virusausscheider während aller ihrer Lebensstadien bleiben (transstadiale Übertragung) [130].

Damit ist der normale Vektor-Wirt Kreislauf „kurzgeschlossen“, und eine Zeckenpopulation kann als Reservoir für ein oder mehrere Arboviren fungieren. Diese Übertragungsmöglichkeiten legen, gemeinsam mit dem hohen phylogenetischen Alter der Zecken, ca. 350 Millionen Jahre [38], den Verdacht nahe, daß Arboviren und Zecken das Stadium

eines sehr alten und damit bereits weit entwickelten und aneinander gut angepaßten Wirt-Parasiten-Verhältnisses erreicht haben.

Der Kreislauf Zecke -- Kleinsäuger -- Zecke ist besonders stabil durch die hohen Populationsdichten und Reproduktionsraten des Vektors und des Wirtes. Gekoppelt mit vertikaler Übertragung ist dies der bestmögliche Weg des „Überlebens“ eines Arbovirus. Die komplexen biologischen Zusammenhänge zeigt Abb. 4 auf Seite 16.

Erwähnenswert ist noch, daß infizierte Zecken einige Arboviren auch mit ihren Fäkalien und der Coxalflüssigkeit ausscheiden können; doch ist der daraus resultierende Modus der Übertragung ohne epidemiologische Bedeutung [74].

- - - - -

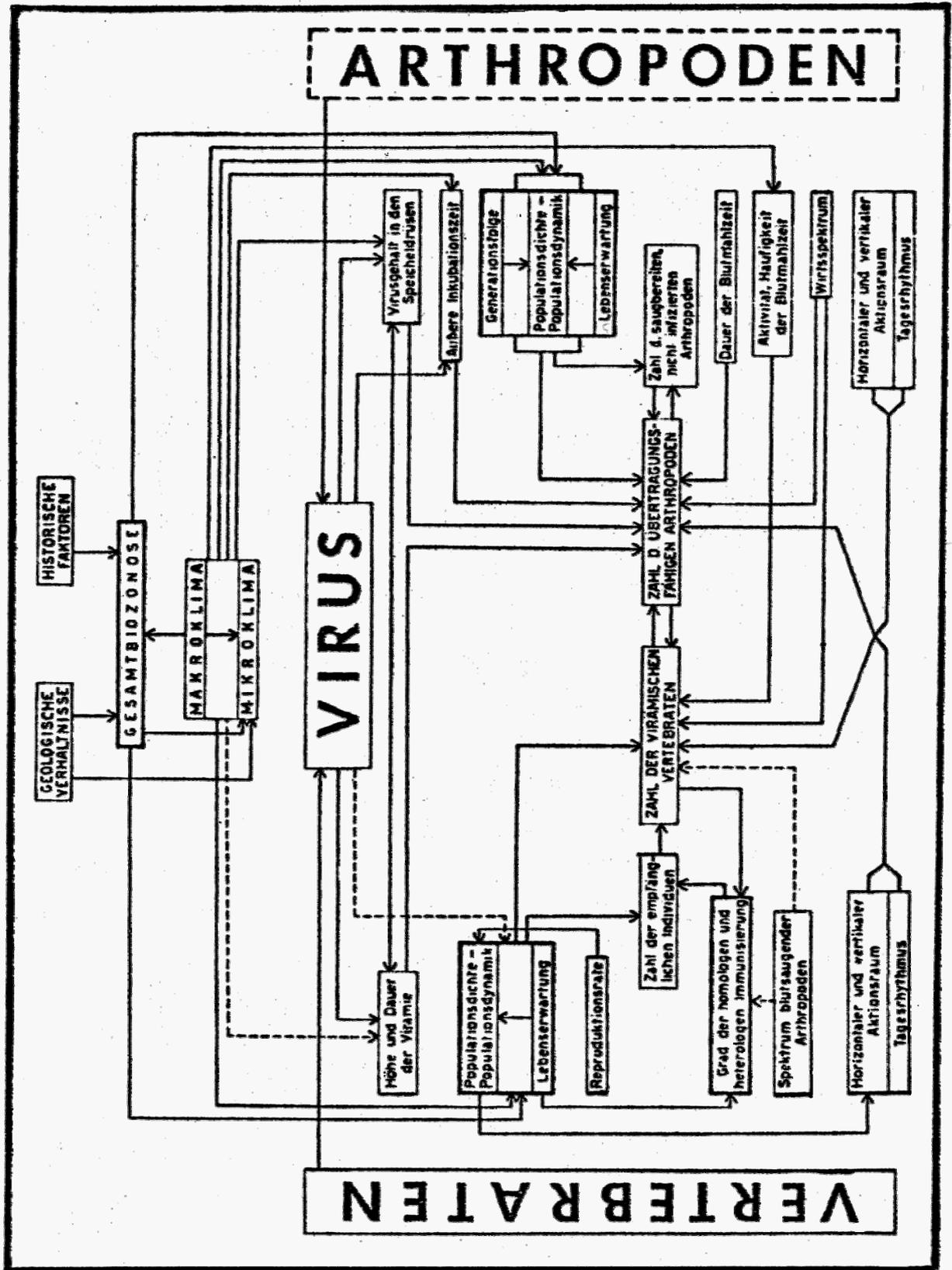


Abb. 4 Das synökologische Beziehungsgefüge von Arboviren [05].

3. 2 IMMUNREAKTIONEN DER VÖGEL

Ein Immunsystem ist in der Lage, zwischen körpereigenen und körperfremden Stoffen zu unterscheiden und letztere aus dem Organismus zu beseitigen.

Die Ursprungszellen des Immunsystems sind die Lymphozyten; ein Teil dieser, die in der Bursa Fabricii reifenden Plasmazellen, sezerniert lösliche Moleküle, die als Antikörper im Blut kreisen. Diese sind durch spezifische Tests qualitativ und quantitativ nachweisbar. Aus dem Vorkommen von Antikörpern im Sera von Wirbeltieren läßt sich auf einen Kontakt des Organismus mit einem Antigen rückschließen. Die Antikörper eines Wirbeltiers zerfallen in verschiedene Klassen, denen auch spezielle Aufgaben zukommen. Mit dem Menschen gemeinsam haben Vögel (Hühner) Antikörper der Klassen IgM und IgA, abweichend von den menschlichen Verhältnissen besitzen sie aber ein kleineres Immunglobulin mit einem Molekulargewicht von 170 000, das als IgY bezeichnet wird [03]. Einige Gruppen von Immunglobulinen, die IgM und aus der Klasse der IgG, benötigen zur Antigen-Antikörperreaktion noch das Komplement, ein aus neun Komponenten bestehendes Serumglobulin. Nur bei dessen Anwesenheit kann über eine komplizierte Stufenreaktion eine Antigenneutralisierung eintreten, die bei zellulären Fremdkörpern meist in einer Lyse des Antigens endet [45]; [157].

Bei Fremdstoffen mit ähnlichen Antigeneigenschaften (z.B. verwandten Viren) können die spezifischen Antikörper eines Erregers rasch auf ähnliche Antigenmuster eines anderen reagieren, eine Eigenschaft, die sich im Testsystem als Kreuzreaktion bemerkbar macht.

Obwohl normalerweise eine Virusinfektion entweder zum Tod des Infizierten oder zur Elimination des Erregers führt, besteht die Vermutung, daß einige Viren länger im Wirt persistieren können. An nordamerikanischen Wildvögeln konnte das, allerdings durch Stechmücken übertragene Virus der Western Equine Encephalitis bis zu 306 Tagen p.i. aus verschiedenen Organen nachgewiesen werden [111]. Das kann zu rekurrenden Erkrankungen führen und zu nachweisbaren Virämien am 198. und 234. Tag nach der Infektion [110]. Nach der akuten Phase der Infektion überdauert das Virus im immunen Wirt, vielleicht in der Körperhaut oder in mukosen Häuten [131]. Vermutlich wird die Infektion durch Repressormechanismen an einer klinischen Manifestation gehindert. Die besondere physische und psychische Anstrengung des Vogelzugs könnte zu einer

Depression des Immunsystems und damit zum Wiederaufflammen einer akuten Virämie führen. Ein Wirtsorganismus, der Vogel, kann also – trotz auf die Infektion folgender Immunreaktion – öfters im Leben als potentiell infektiöser Virusträger fungieren. Für diese Theorie sprechen auch immer wieder gefundene Tiere, die Antigen und Antikörper gleichzeitig im Blut kreisen hatten [104].

3.3 LEBENSALTER UND GENERATIONSFOLGE VON KLEINVÖGELN

Besonders wichtige Faktoren im System eines Arbovirkuskreislaufs sind die Populationsdichte, die Lebenserwartung und der Durchimmunisierungsgrad der Wirtspopulation. Das „Überleben“ eines Arbovirus im Vertebratenwirt hängt vor allem von der Anzahl der empfänglichen Wirte im Endemiegebiet ab.

Das Verhältnis zwischen möglichst vielen empfänglichen Wirtstieren und möglichst vielen virämischen Wirten zur gesicherten Verbreitung muß im Rahmen eines, für das Virus erfolgreichen Kreislaufs, ausgewogen sein. Um immer wieder neue, empfängliche Jungtiere nachliefern zu können, sind Wirtspopulationen mit hoher Reproduktionsrate und rascher Generationsfolge mit einem geringen individuellen Durchschnittsalter besonders geeignet. Stabile Kreisläufe bilden sich daher bevorzugt zwischen solchen Wirtspopulationen, die diese Eigenschaften besitzen, und den relativ langlebigen Zecken aus. Gerade Kleinvögel zeichnen sich durch sehr hohe Reproduktionsraten aus. Bartmeisen können z.B. in besonders guten Jahren 4 Brutnen aufziehen, 6 Eier pro Gelege sind keine Seltenheit [132]. Entsprechend niedrig ist daher die Lebenserwartung einer Bartmeise, die folglich für die geringe Anzahl nachweisbar seropositiver Wirte verantwortlich ist. Durchschnittlich lebt ein Individuum der kleinen, schilfbewohnenden Vogelarten nur ein bis eineinhalb Jahre [80]; [88]. Im Falle der Rotkehlchen erleben nur 23% eines Jahrganges das nächste Frühjahr und die durchschnittliche Lebenserwartung der Tiere beträgt nicht mehr als ein Jahr [22].

Nur Schwalben bilden eine Ausnahme, da ihre Lebensweise besonders gut vor Freßfeinden schützt. Ihre Lebenserwartung liegt daher bei 2,5 Jahren [112].

Kleinvögel gleichen mit ihren hohen Reproduktionsraten den Kleinsäugetieren, doch sind letztere für Zecken ungleich leichter erreichbar. Daher stehen zeckenübertragene Arboviren unter dem Selektionsdruck hin zur Kleinsäugetieranpassung, während die mobilen Stechmücken ein anderes und wohl breiteres Wirtstierspektrum besitzen. In Europa sind daher auch entsprechend mehr stechmückenübertragene Arboviren an Kleinvögel angepaßt als zeckenübertragene Viren (Sindbis, West-Nile, Lednice – Uukuniemi). Ausnahmen bilden die großen Brutkolonien von Seevögeln, wie, in geringem Maße, Brutkolonien ganz allgemein, die durch ihre eigene Ökologie auch eigene Parasiten

hervorgebracht haben und manchmal auch eigene Arboviren besitzen (*Ixodes uriae*, *Ixodes lividus* [92] und Clo Mor, Cape Wrath).

3. 4 VOGELZUG

Fünf Milliarden Singvögel und weitere zwei Milliarden Vögel anderer Ordnungen wandern jedes Jahr im Herbst in ihre Überwinterungsgebiete in Afrika und kehren im Frühling, wenn auch in wesentlich geringerer Zahl von nur mehr etwa 50% wieder zurück [91]. Der Antrieb für diese gewaltige Reise dürfte im Nahrungsmangel für Insektenfresser während des europäischen Winters zu suchen sein. Der Wechsel zwischen günstigen und ungünstigen Jahreszeiten als eigentliche Zugursache ist erdgeschichtlich gesehen alt. Weite Flüge gibt es, wie man an der Phylogenie der Flügelentwicklung erkennen kann, schon lange; die heutigen Zugverhältnisse sind aber eiszeitgeprägt [121].

Zumeist in breiter Front ziehend, die im Herbst wesentlich geschlossener als im Frühjahr wirkt, nehmen die Kleinvögel jede Gelegenheit wahr, um zu rasten und ihre Fettreserven wieder aufzufüllen. Ein Rastplatz von besonderer Bedeutung ist der dichte Schilfgürtel des Neusiedlersees, der auf der Flugroute nordosteuropäischer Zugvögel liegt. Der Schilfbestand selbst dient einigen Arten als Winterquartier. Dies erklärt die ungeheure Artenvielfalt des Gebietes. Im Umkreis des Sees sind 280 Vogelarten nachgewiesen worden [15].

Viele Zugvögel fliegen im Herbst eine andere Route und mit höherer Durchschnittsgeschwindigkeit als im Frühjahr. Im Laufe ihres Lebens können sie dabei große geographische Zonen durchstreifen. Auch kann sich die Zugbereitschaft im Laufe eines Individuallebens ändern: Ältere Tiere sind eher standortgebunden, jüngere Tiere mobiler.

Bei einer durchschnittlichen Zuggeschwindigkeit eines Finken von ca. 50 km/h und täglichen Flugzeiten von ca. acht Stunden ergeben sich Tagesleistungen von etwa 400 km [121]. Bei einer zugrundegelegt Dauer einer Virämie von 5 bis 7 Tagen können virämische Tiere ein Virus ohne weiteres über 2 500 km verschleppen. Nicht einbezogen sind dabei die Phänomene der Exazerbation oder des Verschleppens von Überträgern, die an wenig Zeitbeschränkung gebunden sind. Für derartige gewaltige körperliche Leistungen ist auch ein entsprechender Preis zu entrichten: Kleinvögel können während des Zuges bis zu 50% ihres Körpergewichtes täglich verlieren [121]! Dieser Abbau von

Fettreserven zeigt die körperliche Anstrengung und die Streßsituation, unter der die Tiere während des Zuges leiden. Diese Tatsache läßt den Wiederausbruch überwundener Erkrankungen möglich erscheinen.

An der Verschleppung infektiöser Keime können aber auch Stand- und Strichvögel beteiligt sein. Ihnen kommt Transporterfunktion von lokalen Herden zu den nächstgelegenen ähnlichen Biotopen zu. Sie können damit sehr wesentlich zur Verbreitung einer Virose innerhalb von Kontinenten beitragen.

Die durch Zecken übertragenen Arboviren Europas sind biologisch äußerst heterogen und gehören verschiedenen Familien an. Die Familien Togaviridae und Bunyaviridae, die die Hauptmasse aller Arboviren ausmachen, werden gegenwärtig nur mehr in der Familie Togaviridae zusammen gefaßt [74]. Es sind sphärische, äthersensitive Partikeln von 50 bis 100 nm Größe; sie besitzen ein einsträngiges RNA-Molekül als Genomträger. Auch RNA-Viren, aber doppelsträngig und ohne Hülle und damit ätherresistent, sind die Reoviridae. Das Virus des African Swine Fever gehört hingegen zur Gruppe der ätherempfindlichen DNA-Viren. Die systematische Stellung wie auch die Verbreitung ist bei einzelnen Erregern noch umstritten. Eine Übersicht über die europäischen, durch Zecken übertragenen Arboviren gibt Tabelle 1.

Aus der großen Anzahl zeckenübertragener Arboviren suchten wir für die serologischen Untersuchungen jene heraus, die bestimmte Bedingungen erfüllten: Sie durften keine speziellen, in Österreich unerfüllbare ökologische Anforderungen stellen wie z.B. Seevögelkolonien, und sie mußten Anhaltspunkte für die Möglichkeit einer heimischen Zirkulation zeigen. Wir wählten Viren, die mit Vögeln in Zusammenhang stehen, wenn auch nur über einen Nebenzyklus, oder bei denen Vögel als Transportwirte infizierter Vektoren dienen könnten. Im Einzelfall spielte auch die Möglichkeit der Antigenbeschaffung eine Rolle.

Die verwendete Antigenpalette bestand aus:
Frühsommer-Meningoenzephalitis, Uukuniemi, Bhanja, Bahig, Matruh, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever.

Zusammen mit den durch Stechmücken übertragenen Viren ergaben sich insgesamt 13 zu testende Antigene. Diese Anzahl stellt das Maximum dar, das mit der beschränkten Serummengung zu bearbeitet war.

Die von meinem Kollegen J. Wojta untersuchten Antigene sollen der Vollständigkeit halber aufgezählt werden:

Alphavirus: Sindbis, Semliki, Chikungunja

Flavivirus: West Nile, Dengue 2, Gelbfieber

Bunyavirus: Lednice

Fam.	Virus	Abk.	Hauptvektor	Hauptwirt	Geographische Verbreitung	Pa.
Togavir.	Frühsommer-Meningoenzephalitis	FSME	<i>Ixodes ricinus</i>	Kleinsäuger	fast ganz Europa	E
	Louping Ill	LI	<i>I. ricinus</i>	Schafe, Kleinsäuger	GB, IRL	E
Bunyaviridae	Crimean-Congo Hemorrhagic Fever	CCHF	<i>Hyalomma marginatum</i>	Ziege, Rind	BG, YU?, GR, SU	HF
	Uukuniemi	UUK	<i>I. ricinus</i>	Vögel, Kleinsäuger	SF, PL, CS, H, N, SU, A	
	Grand Arbaud	GA	<i>Argas reflexus</i>	Tauben	F	
	Ponteves	PTV	<i>A. reflexus</i>	Tauben	F	
	Bahig	BAH	<i>H. marginatum</i>	Zugvögel	I	
	Matruh	MTR	<i>H. marginatum</i>	Zugvögel	I	
	Thogoto	THO	<i>Rhipicephalus bursa</i>	Ziege, Schaf	I	E
	Bhanja	BHA	<i>Haemaphysalis punctata</i>	Ziege, Schaf	I, YU, BG, CS, F	F
	Clo Mor	CM	<i>I. uriae</i>	Trottellumme	GB	
Reovir.	Tribec	TRB	<i>I. ricinus</i>	Nager?	CS, R, I, SF, A	E
	Lipovnik	LIP	<i>I. ricinus</i>	Ziege?	CS	
	Cape Wrath	CW	<i>I. uriae</i>	Trottellumme	GB	
Coltiv.	Eyach	EYA	<i>I. ricinus</i>	?	D	F
Iridov.	African Swine Fever	ASF	Ornithodoros sp.	Schwein	E, P	
Unggrup.	Soldado	SOL	Ornithodoros sp.	Vögel	F	
	Dhori	DHO	<i>H. marginatum</i>	?	P	!?

Tab. 1 Europäische, durch Zecken übertragene Arboviren

Fam. .. Familie

Abk. .. international verwendete Abkürzung

Pa. .. Erkrankung des Menschen: E. .. Encephalitis

HF .. Hämorrhagisches Fieber

F. .. Febriler Infekt

Zur Erstellung der Tabelle 1 verwendete Literatur: [11]; [21]; [24]; [44]; [50]; [76]; [78]; [106].

4. MATERIAL UND METHODEN

Das Material für die vorliegende Arbeit sammelten wir im Zeitraum Frühling 1979 bis Spätherbst 1980 im Gebiet Seewinkel/Burgenland. Dabei durften wir die Biologische Station der Burgenländischen Landesregierung als Arbeitsplatz und Übernachtungsmöglichkeit benützen. Von dort aus führten wir Sammelexkursionen in die nähere Umgebung durch.

Die Biologische Station liegt am Rande des an dieser Stelle relativ schmalen Schilfgürtels, dessen Erstreckung nur ca. 800m beträgt (Abb. 5). Sie ist mit dem offenen Wasser durch einen Kanal und einen angrenzenden Damm verbunden. Zwischen dem Schilfgürtel und der Ortschaft Illmitz erstrecken sich, von kleineren Naturschutzgebieten abgesehen, Weinkulturen, die, wie auch der Schilfgürtel selbst, im Herbst als Jagdreviere dienen.

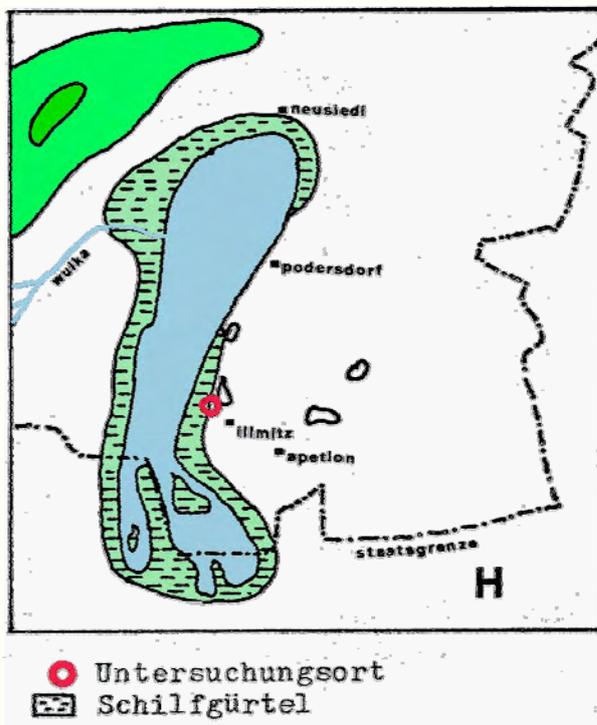


Abb. 5 Das Untersuchungsgebiet

4.1 VOGEL-PROGRAMM

4.1.1 Vogelfang

a) Netzanlagen

Der Vogelfang erfolgte hauptsächlich am Damm, der zwischen der Biologischen Station und dem offenen See durch das Schilf verläuft, am landabgewandten Ende. Die Netzgalerie war etwa 130 m lang und 2,70 m hoch, die Maschenweite der Netze betrug 20 mm. Die Netze standen vor einer Buschreihe, die im monotonen Schilfgürtel von den Vögeln gern als Rastplatz angeflogen wurde. Im Winter streuten wir vor den Netzen Körnerfutter, um den Anflugreiz zu vergrößern. Die Netze standen Tag und Nacht, und



Bild 1 Die Netze
für den Vogelfang

wir kontrollierten sie auf gefangene Vögel von der Morgendämmerung an im Abstand von 2 Stunden. Bei Schlechtwetter erfolgten die Kontrollen in kürzeren Zeitabständen, nach Einbruch der Dunkelheit war eine Nachtkontrolle obligat. Diese Fangmethode mit Japannetzen erfaßt alle heimischen oder durchziehenden Kleinvögel bis etwa Taubengröße.

Der Fangzeitraum ist folgend genau dargelegt:

Fj 79 24.03.1979 bis 17.06.1979

So 79 30.06.1979 bis 6.10.1979 + RZ

Wi 79/80 . 19.01.1980 bis 20.03.1980

Fj 80 31.03.1980 bis 10.06.1980

So 80 1.07.1980 bis 27.07.1980 + RZ

Wi 80 16.11.1980 bis 22.11.1980

+ RZ die Fänge der Vogelwarte Radolfzell wurden bearbeitet

Die Anfangs- und Enddaten der Fangperioden haben eine rein arbeitsmethodische Begründung, die Trennung zwischen Frühjahr und Sommer fällt allerdings mit dem Auftreten flügger Jungvögel zusammen.

Die gefangenen Vögel wurden vorsichtig aus den Netzen gelöst, einzeln in Stoffsäckchen verpackt und möglichst rasch ins Stationsgebäude transportiert.

b) Andere Fangmethoden

Während des Sommers führte die Vogelwarte Radolfzell im Umkreis der biologischen Station ein Vogelberingungsprogramm durch [23]; [108]. Nach den Angaben der deutschen Bearbeiter hätte unsere Tätigkeit die Ergebnisse ihrer Fangaktion so stark verfälscht, daß wir im Sommer jedes Jahres darauf verzichteten, selbst zu fangen. Dafür wurde uns von deutscher Seite ein Teil der beringten Tiere zur Blutabnahme überlassen (+RZ in der Fangdatenaufschlüsselung). Leider schrumpfte durch diese Maßnahme unser untersuchtes Artenspektrum deutlich, da wir nur ausgewählte, häufig gefangene Gruppen zur Bearbeitung erhielten.

In regelmäßigen Abständen wurden von uns auch die im Schutze des Instituts lebenden Mehlschwalben zur Untersuchung herangezogen. Die Schwalben nahmen wir einfach mit den Händen aus den Nestern. Da sie nach der Punktion immer wieder dorthin zurückkehrten, nehmen wir an, daß die Blutabnahme ihre Lebensgewohnheiten nicht sonderlich beeinträchtigte.

Schließlich dient die Biologische Station auch als Pflegestation verletzt aufgefundener Tiere. Auch diese wurden, soweit es ihr Allgemeinzustand erlaubte, in unser Programm einbezogen. Auf diese Weise erhielten wir die Sera all jener Großvögel, die sich gesund niemals in den dünnen Netzen verhängen würden.

4.1.2 Artbestimmung, Punktion und Ausfälle

Die Bestimmung der Art der gefangenen Vögel erfolgte hauptsächlich nach den Angaben von PETERSON et al. [103] und nach BRUUN et al. [30]. In Sommer erfolgte eine Trennung zwischen Altvögeln und Jungvögeln mit Hilfe des Abnutzungsgrades der Federn und des Mauserzustands. Dabei hielten wir uns weitgehend an die Angaben der deutschen Bearbeiter, die ornithologisch geschult worden waren. Für diese Studie von Interesse war nur die Trennung zwischen am Standort geschlüpften Tieren und solchen, die diesen schon verlassen haben könnten. Deshalb wurden nur während des Sommers die Jungtiere erfaßt, alle anderen Vögel wurden Alttiere benannt. Art, Alter, Ringnummer und andere auffällige Merkmale wurden zusammen mit dem Datum und dem Fangort in einem Protokoll festgehalten.

Nach Alkoholdesinfektion der Stichstelle punktierten wir im Jahre 1979 die Vena jugularis mit dünnen Injektionsnadeln (\emptyset 0,4 mm), und sogen das Blut in eine 2 ml Spritze mit geringer Kochsalzvorlage. Die abgenommene Blutmenge schwankte je nach Größe des Vogels und Geschicklichkeit des Bearbeiters zwischen 0,1 und 0,5 ml. Ab dem Winter 1979/80 konnten wir auf Grund erworbener Erfahrung dazu übergehen, die Flügelvene zu punktieren, wodurch die Ausfallsrate beträchtlich sank. Auf die Wunde klebten wir einige Flaumfedern, um einen rascheren Wundverschluss zu unterstützen. Wir kennzeichneten den punktierten Vogel durch Bemalen seiner Zehen mit unschädlicher Farbe, meist mit Nagellack. Dadurch konnten wir bis zum Verschwinden der Farbe nach ca. 2 Wochen die Wiederfangrate bestimmen, damit die Spätfolgen des Blutverlustes erkennen und Doppelpunktionen vermeiden. Die Tiere wurden sofort nach Eintritt der Blutgerinnung entlassen, um den Kreislauf bei eventuellem Schockzustand zu stabilisieren und die Hungerzeit möglichst kurz zu halten.

Ein in Oktober 1978 durchgeführter Vorversuch, im Zuge dessen 11 Rohrhammern 40 Stunden lang nach einer Punktion beobachtet wurden, ergab keinerlei Hinweise auf negative Auswirkungen auf das Wohlbefinden der Tiere.

Trotz aller Vorsicht konnte eine gewisse Ausfallsrate nicht verhindert werden. Direkt am Arbeitsplatz starben 101 Tiere, das sind 2% der punktierten Vögel, zumeist am Schock, schlechter Blutgerinnung oder falscher Behandlung. Die in der Literatur [22] angegebene Erfahrung, daß Kleinvögel besonders leicht an Schrecktod durch Herzkrampf

und erhöhten Blutdruck sterben, blieb auch uns leider nicht erspart. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, konnte mit steigender Übung die Ausfallsquote reduziert werden:

	Fj 79	So 79	Wi 79/80	Fj 80	So 80	Wi 80	Summe
Exitus	25	11	9	40	4	12	101
abs. u. in %	3%	1%	4%	3%	0,3%	4%	2%
Totfänge	2	-	2	34	20	24	82
							183
							3,5%

Tab. 2 Exitus und Totfänge während der Fangsaisonen

Im Winter kann die Verlustrate auch bei vorsichtigster Behandlung nicht wesentlich unter 4% gedrückt werden. Die Artenverteilung der toten Tiere ist weit gestreut, eine besondere Anfälligkeit einer Vogelart konnte nicht festgestellt werden.

Zusätzlich entstanden noch Ausfälle durch Wieselverbiß oder durch das Auffinden der nach der Punktion geschwächten Tiere durch Freißfeinde, insbesondere Falken. Diese Verluste wurden, soweit möglich, erfaßt und finden in einem totalen Abgang von 183 Tieren oder 3,5% der Punktierten ihren Niederschlag. Diese Rate liegt durchaus in dem bei früheren Arbeiten gefundenen Rahmen nicht zu vermeidender Zwischenfälle, der mit 5% angegeben wird [10].

4.1.3 Aufbewahrung des Materials

Das nach der Punktion in der Injektionsspritze befindliche Blut füllten wir in 0,5 ml fassende Plastikröhrchen und zentrifugierten es einige Sekunden bei ca. 2000 U/min in einer Mikrozentrifuge. Um beim Einfrieren ein Platzen der Erythrozyten und damit eine Verfärbung der Sera zu verhindern, wurden Serum und Blutkuchen getrennt bei -70°C im CO₂-Eis für den Transport nach Wien aufbewahrt. Der Blutkuchen kam im Hygiene-Institut der Universität Wien in Trockeneisgefäße, um für Virusisolierungsversuche den Erreger möglichst lange aktiv zu erhalten. Die Sera wurden bis zur weiteren Verwendung in einem Tiefkühlschrank bei -20°C aufbewahrt.

4.2 KLEINSÄUGER-PROGRAMM

Die 74 Kleinsäugersera konnten wir auf drei verschiedenen Wegen gewinnen:

a) Lebendfallen standen im Zeitraum vom 30.06.1979 bis zum 6.11.1979. Die Schlagdeckelfallen beköderten wir mit Karottenstücken und Erdnußbutter, eine Kombination, die auf Kleinsäuger eine unwiderstehliche Anziehungskraft ausübt. Die Fallen verteilten wir unregelmäßig vor den Erdlöchern der Tiere in der näheren Umgebung der Biologischen Station. Die Kontrolle auf gefangene Tiere erfolgte häufig, da vor allem Spitzmäuse an Futtermangel innerhalb kurzer Zeit sterben. Die Fallen erwiesen sich als gut geeignet zum Fang aller im Untersuchungsgebiet vorkommenden Erd-, Wald- und Spitzmausarten.

b) Wassern unterirdischer Bauten. Größere Säuger (Ziesel, Hamster, Wildkaninchen) fingen wir durch Überschwemmen ihrer Bauten mit Wasser. Luftmangel treibt die Tiere an die Oberfläche, wo sie mit festen Handschuhen ergriffen werden, was bei Feldhamstern äußerst ratsam ist! Diese Aktionen führten wir in den ziesel- und hamsterreichen Schutzgebieten der Hutweiden bei Apetlon durch.

c) Totfänge. Die deutschen Ornithologen stellten zum Schutz der gefangenen Vögel beköderte Fallen gegen Bodenräuber auf und in diesen fanden sich gelegentlich verwendete Tiere. Die Sera des Wiesels und der Bisamratte gewannen wir auf diese Weise.

Alle Kleinsäuger wurden, soweit tunlich, mit Äther betäubt und durch Herzstich punktiert. Die abgenommene Blutmenge gleicht der der Singvögel, ebenso glichen sich die verwendeten Materialien. Mit Ausnahme der kleinen und sehr hinfälligen Erd- und Feldmäuse haben wir mit der Methode der Herzpunktion sehr gute Erfahrungen gemacht. Die Ausfälle waren bei vorsichtiger Behandlung gering und die Tiere nach dem Erwachen aus der Narkose voll lebensfähig. Bei einer Blutabnahme aus dem retroorbitalen Sinus erblindet das betroffene Tier zumeist. Die Verarbeitung und die Aufbewahrung des Materials erfolgten nach den Angaben, die im Abschnitt 4.1.3 beschrieben sind.

4.3 SENTINELTIERE

4.3.1 Methodik

Sentineltiere sind für Arboviren empfängliche Vertebratenwirte, die in Gebieten, in denen das Vorkommen von Arboviren vermutet wird, einer erwünschten Infektion ausgesetzt werden. Durch regelmäßige Blutuntersuchungen ist mit etwas Glück die Isolierung eines Erregers möglich, oder es kann der genaue Zeitpunkt einer Infektion bestimmt werden.

In zwei am Damm vor der Biologischen Station gelegenen Käfigen lebten unsere Tiere, in einem eine wechselnde Anzahl von Hauskaninchen, im anderen 5 oder 6 Hühner. Die Bauweise der Käfige erlaubte zwar einen ungehinderten Anflug von Stechmücken, jedoch nicht den Zutritt von Zecken (erhöhter Käfigboden). Daher erwies sich diese Methode für meine Fragestellung als ungeeignet.

Die Kaninchen setzten wir früh im Jahr aus, die Hühner, anfangs noch Küken, erst nach Ende aller Nachtfröste. Während sich aber die Hühner als hart und widerstandsfähig erwiesen, starb eine größere Anzahl von Kaninchen an Myxomatose und die Tiere mußten ersetzt werden. Erst nach Verabreichung einer Schutzimpfung wurden die Überlebenschancen der Tiere größer. Das Blut gewannen wir durch Herzpunktion der nicht-narkotisierten Kaninchen und Flügelvenenpunktion der Hühner. Nach anfänglichen Schwierigkeiten waren Ausfälle durch die Punktion sehr selten. Die abgenommene Blutmenge lag bei etwa 5 ml. Über die weitere Behandlung und Aufbewahrung des Materials gibt Abschnitt 4.1.3 Auskunft.

4.3.2 Punktionsdaten

Im Jahre 1979 wurden die ganze angezeigte Saison hindurch zehn Kaninchen im Stall gehalten, eventuelle Ausfälle ersetzten wir sofort. Es handelte sich insgesamt um 24 Tiere. Zudem wurden noch sechs Hühner gehalten, sie lebten bis in den Spätherbst.

Kaninchen	Hühner
Daten der Punktion	Daten der Punktion
14., 18., 25. März	
1., 8., 15., 29. April	
5., 13., 20., 27. Mai	
4., 17. Juni	30. Juni
22., 29. Juli	7., 14., 21., 28. Juli
5., 16. August	4., 11., 19 August
2., 15., 21., 27. September	1., 15., 21., 27. September
5. Oktober	5. Oktober

Im Jahr 1980 pfl egten wir zuerst fünf Kaninchen, ab dem 21. Juni zehn Tiere, sowie fünf Hühner.

Kaninchen	Hühner
Daten der Punktion	Daten der Punktion
19. April	
6., 17., 28. Mai	6., 17., 28. Mai
9., 21. Juni	9., 21. Juni
4., 12., 26. Juli	4., 12., 26. Juli
8., 15., 23. August	8., 15., 23. August
1., 15., 23. September	1., 15., 23. September

4.3.3 Auswertung

Im Jahre 1979 entnahmen wir den Sentineltieren sowohl Blutkuchen- als auch Serumproben zur virologischen und serologischen Auswertung. Auf Grund der hohen Zahl von Blutproben des Vogelprogramms und unserer beschränkten Arbeitszeit verzichteten wir im Jahre 1980 auf eine virologische Untersuchung. Die Sera der Tiere wurden aufbewahrt und verarbeitet, die Blutkuchen verworfen.

Die serologische Auswertung der gesammelten Sera beider Jahre ergab im HHT keinerlei Probleme. Aus technischen Gründen konnte mit den Sera des Jahres 1979 keine KBR durchgeführt werden. Die Sera des zweiten Untersuchungsjahres testeten wir in der KBR gegen BAH/MTR-Antigen. Die Kaninchensera erwiesen sich allerdings als unbrauchbar, sie enthielten unzerstörbare, unspezifische, komplementbindende Faktoren. Als Kontrolle gegen Fehler unserer Arbeit erfolgte eine Austestung der Kaninchensera

gegen Myagawanella-Antigen im Virologischen Institut; auch hier ergab sich ein unspezifischer KBR-Titer von 1:32 in allen untersuchten Sera. Da die Versuchstiere gleich alt waren und von einem einzigen Züchter stammten, ist die Möglichkeit einer Verschiebung des Komplementgleichgewichtes durch eine frühere, von allen Tieren durchgemachte Infektion gegeben. Ein „stilles“ Virus, das bei Kaninchen keine ernsthafte Krankheitsbilder hervorruft, aber vielleicht im Wirt persistieren kann, wird in der Literatur beschrieben [124]. Eine subakute Virusinfektion, die im spezifischen Test gegen Arboviren-Antigen nicht kreuzreagiert, aber unspezifische Serumveränderungen hervorruft, kann für solche Erscheinungen eine Erklärung sein.

		1979		1980	
		Kaninchen	Hühner	Kaninchen	Hühner
Virusisolierungsversuche		+	+	-	-
serologische Auswertung	HHT	+	+	+	+
	KBR	-	-	unbrauchbar	+

Tab. 3 Untersuchungsdaten der Sentineltiere

4.4 UNTERSUCHUNGEN VON GÄNSE- UND ENTENSERA

Im Rahmen früherer Untersuchungen in Illmitz, Apetlon und Umgebung, die vom Bearbeiter H. ASPÖCK im Jahre 1977 durchgeführt wurden, waren Hausgeflügelsera gewonnen worden, die mir zur Verfügung gestellt wurden.

Es waren insgesamt: 65 Gänsesera

34 Entensera

4.5 WILDSERA

In den Herbsttagen beider Untersuchungsjahre hatten wir dreimal Gelegenheit, an Treibjagden auf Niederwild teilzunehmen und dem Wild während der Streckenlegung Blut abzunehmen. Die Jagdreviere erstreckten sich von Podersdorf über das Illmitzer Seeufer bis zur Staatsgrenze. Den erlegten Tieren entnahmen wir Blut aus den Wunden oder dem Herzen. Auf Grund der oft starken Verunreinigung der Proben verzichteten wir von Anfang an auf Virusisolierungsversuche; es wurden nur 332 Serumproben gewonnen.

Die Strecke, die wir bearbeiten konnten:

<i>Lepus europaeus</i> L.	Feldhase	234 Stücke
<i>Phasianus colchicus</i> L.	Fasan	79 Stücke
<i>Perdix perdix</i> L.	Rebhuhn	16 Stücke
<i>Anser anser</i> L.	Graugans	1 Stück
<i>Anas platyrhynchos</i> L.	Stockente	1 Stück
<i>Pica pica</i> L.	Elster	1 Stück
		<hr/>
		332 Stücke

4.6 VIRUSISOLIERUNGSVERSUCHE

Während des Stadiums der Virämie kreisen im Wirbeltierwirt große Mengen an Virionen im Blut. Diese haften auch an den Blutkörperchen. Deshalb versuchten wir aus den Blutkuchen der untersuchten Tiere, die wir vom Serum getrennt hatten, eine Virusisolierung vorzunehmen. Ein Isolierungsversuch aus primär affinen Organen oder Organen, in denen Viren vermutlich persistieren können, wäre zielführender gewesen, weil wir dafür nicht genau den Zeitpunkt der Virämie hätten treffen müssen. Doch wollten wir die dazu notwendige Tötung der Tiere zwecks Organentnahme vermeiden.

Das bei -70°C im CO_2 -Eis aufbewahrte Material tauten wir auf und resuspendierten die Erythrozyten in etwa 10-facher Menge sterilem TCM-Hanks Puffer mit einem Zusatz eines Antibiotikum. Vorsichtig inokulierten wir ca. 0,02 ml dieser Suspension 0 bis 48 Stunden alten, weißen Labormäusen intrazerebral. Wir verwendeten pro Blutkuchenportion, die aus einem Vogel stammte, einen Wurf Babymäuse. Die Anzahl der Babies eines Wurfs war unterschiedlich, lag jedoch meist zwischen 8 und 16 Tieren. Die weiße Labor-Babymaus hat sich für Arboviren als ideales Nachweismedium erwiesen. Sie ist besonders empfänglich für Viren bis zum 3. Lebenstag, da bis zu diesem Zeitpunkt ihr Immunsystem noch nicht vollständig funktioniert. Man kann sie in größeren Mengen beschaffen, auf beschränktem Raum halten, und sie ist selbst für Ungeübte relativ leicht zu pflegen.

Die nach der Inokulation noch vorhandenen Suspensionsreste wurden wiederum eingefroren, um bei Bedarf Kontrollisolierungen aus dem Ausgangsmaterial vornehmen zu können. Die Muttermäuse nahmen ihre inokulierten Babies zumeist wiederum an und pflegten sie problemlos weiter. Bedingt durch den engen Stichkanal (\varnothing 0,4 mm) und die Weichheit des jungen Knochens, verheilte die Kopfwunde der Babymäuse sehr rasch, und die Jungmäuse entwickelten sich ohne bleibende Schädigung. Wir beobachteten das Wachstum und das Verhalten der Jungtiere etwa 20 Tage lang. Wenn bis dahin keinerlei Krankheitserscheinungen auftraten, wurden die Tiere an Interessenten aus der Terrarianergemeinde abgegeben. Eine oder mehrere Blindpassagen durchzuführen, war auf Grund der dazu benötigten großen Materialmenge nicht möglich. Es erschien uns auch sinnvoller, eine möglichst große Zahl von Blutproben nur einmal durchzusehen, als eine kleinere Menge durch ein oder zwei Blindpassagen zu schleusen.

Bei Vorhandensein krankheitserregender Viruspartikeln treten in den infizierten Tieren zwischen dem 2. und 14. Tag nach der Infektion charakteristische Krankheitsbilder einer Meningoenzephalitis auf. Alle Arboviren sind in intrazerebral infizierten Babymäusen neurotrop, die Erkrankung der Tiere tritt mit unterschiedlicher, für das Virus charakteristischer Inkubationszeit auf. Die Tiere zittern, bewegen sich unkoordiniert, magern stark ab und sterben zumeist nach kurzer Erkrankungszeit. Allerdings rufen solche Erscheinungen auch eingedrungene Bakterien hervor; eine Gram-Färbung eines Gehirnakklatsches des erkrankten, getöteten Tieres bringt darüber rasch Aufklärung. Besteht aber der Verdacht einer virusbedingten Erkrankung, werden alle Jungmäuse des betroffenen Wurfes getötet, die Gehirne entnommen und in der 10-fachen Menge TCM-Hanks Puffer feinst zerteilt. Nach hochtourigem Zentrifugieren (10 000 UpM) zum Absetzen aller zellulären Bestandteile und auch der Bakterien wird mit dem Überstand ein weiterer Wurf Babymäuse beimpft. Erkrankten diese Mäuse wiederum, und ist mit Sicherheit eine Bakterienkontamination auszuschließen, kann das Virusisolat mittels seiner charakteristischen Eigenschaften und serologischer Reaktionen identifiziert werden.

Die Herstellung von Antigenen für die Serotests erfolgte auf ähnlichem Wege, ebenso die Stock-Virus Erzeugung. Dies ist der gereinigte, klare Überstand nach einer Ultrazentrifugation von Gehirnmaterial Virus-infizierter Babymäuse.

Die Mäuse des von uns verwendete Mausstamms Him OF 1, swiss SPS stammten aus dem Institut für Versuchstierzucht der Universität Wien in Himberg.

4.7 SEROLOGIE

4.7.1 Grundlagen

Zur qualitativen Erfassung von Antikörpern in einem Untersuchungsserum werden standardisierte Tests verwendet, die sich spezifische Eigenschaften des Antigens und/oder der Antikörper zu Nutze machen.

Einer der in der Virologie am häufigsten verwendeten Tests ist der Hämagglutinations-Hemmungstest, HHT abgekürzt. Dieser Test ist jedoch nur durchführbar, wenn das zu untersuchende Antigen eine bestimmte Eigenschaft aufweist, nämlich rote Blutkörperchen spontan zu agglutinieren. Prinzipiell sind dazu nur äthersensitive, d.h. von einer Lipidhülle umgebene Viren befähigt [43]. Diese Netzbildung, die Agglutination, wird durch die Einwirkung von Antikörpern verhindert (siehe Kap. 4.7.4). Dieser Test erfaßt eine große Anzahl aller infizierter Tiere und ist als Suchtest im Falle einer hohen Serazahl (monitoring test) besonders gut geeignet [79].

Für Viren, die trotz verschiedener Hilfsverfahren, wie der Trypsinisierung von Erythrozyten, Ultraschallbehandlung, Wärmebindung u.ä.m. [51]; [139], keine verwertbare Hämagglutination zustande bringen, ist dieser Test unbrauchbar. In meiner Arbeit waren dies die Viren Bahig, Matruh und Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. Ich versuchte es mit pH-Schwankungen bis zur Toleranzgrenze der Erythrozyten, im pH-Bereich 5,7 - 6,8, mit Erythrozyten verschiedener Tiere, Taube, Gans, Huhn, Ratte, Maus, Kaninchen, Meerschweinchen, Hamster, mit Wärme- (37°C) und Kälteinkubation (4°C) und mit Zerstörung unspezifischer Inhibitoren durch Hitze einwirkung bei 56°C. Das Ergebnis war immer gleich: Hämagglutination trat nicht auf.

Ich mußte daher auf einen anderen Test ausweichen, der Neutralisationstest bot sich an. Dieser Test kann einen noch höheren Prozentsatz der infizierten Tiere erfassen, er ist auch als monitoring test geeignet und besonders spezifisch. Sein Nachteil besteht jedoch im relativ hohen Aufwand, mit dem das dafür notwendige, streng sterile Arbeiten verbunden ist.

Da der Neutralisationstest in Babymäusen von Anfang an durch den hohen Aufwand einer Abarbeitung von etwa 16 000 Mauswürfen ausschied, blieb nur die Methode der Zellkultur. Dabei wird der auf dichtem Zellrasen auftretende zytopathische Effekt eines zellzerstörenden Virus durch Zugabe von spezifischen Antikörpern verhindert. Im Zellrasen bilden sich keine Löcher, sondern das Wachstum des Rasens ist ungestört. Auf Grund der großen Probenzahl kamen als Kulturen nur permanente Zelllinien in Frage. Es bildeten sich aber in den ausgetesteten Zelllinien Vero 199 und BHK 21 kein zytopathischer Effekt aus, oder ein so unscheinbarer, daß er nicht verwertet werden konnte.

Es mußte daher auf die Komplementbindungsreaktion, abgekürzt KBR, zurückgegriffen werden, die ein sehr komplexes System aufeinander abgestimmter Reagenzien ist (Kap. 4.7.5). Daraus ergeben sich ihre Nachteile: Der Test ist störungsanfällig und die Einzelreaktionen müssen in Vorversuchen aufeinander eingespielt werden.

Der HHT erfasst nach einer Infektion rasch die darauf folgende Antikörperproduktion und zeigt bald nach der Infektion den Titeranstieg an. Dieser Titeranstieg kann sehr hohe Serumverdünnungsstufen erreichen, bis zu 1:10 000 wurden gemessen. Man kann mit dem HHT persistierende Antikörper jahrelang nach einer Infektion nachweisen (Abb. 6). Die höchste Serumverdünnung findet sich ca. 2 Wochen nach der Infektion, und bei hühnerartigen Vögeln kann ein Antikörpertiter gegen FSME-Virus über zwei Jahre nachgewiesen werden [28].

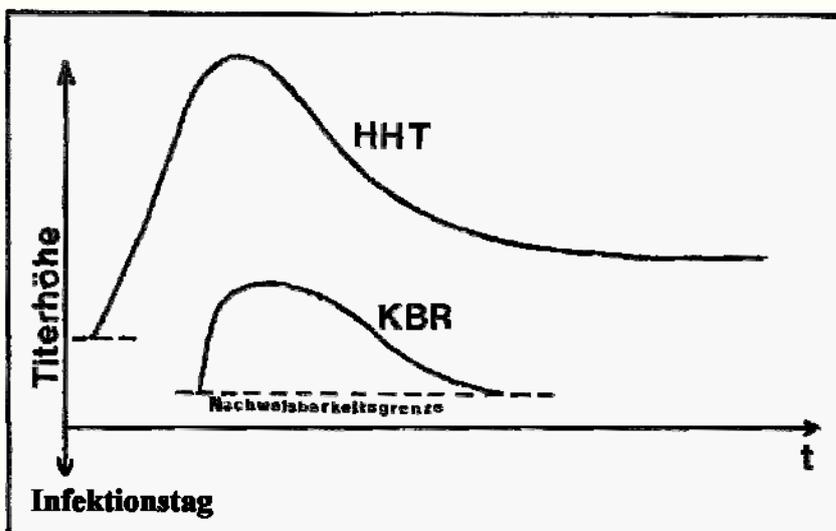


Abb. 6 Unterschiede der serologischen Reaktionen der verwendeten Testsysteme

Hingegen zeigt die KBR erst später nach der Infektion einen Antikörpertiteranstieg an, und eine Serumverdünnungsstufe von 1:5 ist bereits als spezifisch zu betrachten. Die Nachweisbarkeit einer Infektion mittels der KBR verliert sich etwa nach einem halben Jahr [08]. Der Test ist daher gut geeignet, frische Infektionen nachzuweisen, allerdings kann er nur ca. 60% der Infizierten tatsächlich erfassen [79]; [86].

Auf Grund der geringen zur Verfügung stehenden Serummenge konnten zwar 13 Antigene in je einem Test bearbeitet werden, und bei Unklarheiten ein Test wiederholt werden, wir konnten jedoch nicht ein Serum in mehreren verschiedenen Tests gegen ein Antigen laufen lassen. Für Kombinationen zur genauen Trennung der Viren Bahig/Matruh (z.B. KBR + Neutralisationstest in Babymäusen) war die Serummenge zu gering.

Die Interpretation der Ergebnisse muß den Eigenheiten des verwendeten Testsystems Rechnung tragen.

4.7.2 Antigencharakterisierung

Virus	Stamm	Inkubationszeit in der Babymaus	produziert Hämagglutinin	pH-Optimum im HHT	Antigengebrauchs- verdünnung im HHT	im HHT verwendete Erythrozyten	Titerhöhe der Kontrollsera
Frühsommer- Meningoenzephalitis	VIE 415 B	4 d	+	6,4	1:1000	Gans	1:80
Uukuniemi	Devin 1978 P. 10 in Bm; Ix.r. ♀	7 d	+	6,1	1:28	Taube	1:40
Bhamja	IG 690 Vesenjok-Hirjan	3 d	+	6,1	1:32	Taube	1:40
Bahig	ISS.U.45	3 d	-	KBR			1:32
Matruh	ISS.U.60	3 d	-	KBR			1:32
Crimean-Congo Hemorrhagic Fever	3010 Casals Yale Univ.	6 d	-	KBR			1:16

Tab. 4 Darlegung der Eigenschaften der als Antigene verwendeten Arboviren

4.7.3 Kontrollsera

Die Kontrollsera für die serologischen Tests wurden in Kaninchen hergestellt, pro Antigen verwendete ich ein Tier. Ich impfte junge Tiere in die Nackengegend mit 1 ml Stock-Virus, gut vermischt mit 1 ml komplettem Freundsches Adjuvans. Diese Substanz verstärkt die Antikörperbildung. Nach etwa 10 Tagen verimpfte ich Virus-suspension vermischt mit inkomplettem Adjuvans, diese Mischung wurde noch ein weiteres Mal den Tieren verabreicht. Einige Tage nach der letzten Impfung entnahmen wir den Versuchstieren durch Herzpunktion Blut und ermittelten den Antikörpertiter. Gegen manche Antigene reagierten die Tiere mit einer starken Antikörperproduktion, gegen andere mußte noch öfters nachgeimpft werden, um eine verwertbare Verdünnungsstufe des Kontrollserums zu erreichen. Auf eine Erhöhung des Titers über etwa 1:30 hinaus wurde bewußt verzichtet, da ausreichende Mengen an Kontrollsera zur Verfügung standen, die Herstellung von Stock-Virus hingegen arbeitsaufwendig und Freundsches Adjuvans teuer war.

Die negativen Kontrollsera gewann ich ebenfalls aus einem Kaninchen. Da zum Zeitpunkt der Kontrollseraproduktion die Schwierigkeiten mit den Kaninchensera im Testverfahren KBR nicht vorhersehbar waren (Kap. 4.3.3), verzichtete ich auf eine Serumprüfung in der KBR noch vor der Immunisierung der Versuchstiere. Unspezifische Serumreaktionen der positiven Kontrollsera sind jedoch sehr unwahrscheinlich, da alle zur Produktion der Kontrollsera verwendeten Tiere gleich alt waren und von einem Züchter stammten. Die Qualität des negativen Kontrollserums wie auch die Ergebnisse der Schachbrettitation, die als zusätzliches Kontrollverfahren durchgeführt wurde, waren zufriedenstellend (siehe Kap. 4.7.5.3).

Die Kontrollsera wurden nach der Präparation in handlichen Portionen bei -20°C aufbewahrt, einen Abfall der Antikörpertiter durch das Auftauen konnte ich nicht beobachten.

4.7.4 Der Hämagglutinationshemmungstest (HHT)

4.7.4.1 Prinzip

Der Hämagglutinationshemmungstest, auch Hirst-Test genannt, ist im Grunde ein Neutralisationstest. Er basiert auf der Tatsache, daß, bei Vorliegen bestimmter Bedingungen, manche Viren rote Blutkörperchen spontan zu einem Netzwerk zusammenfügen können. Dies wird agglutinieren genannt. Dabei kommt es zu einer spezifische Adsorption von Rezeptorsubstanzen, das sind affinen Molekülgruppen der Hülle oder des Kapsids der Viren, an die Membranen von Wirbeltiererythrozyten [46]; [74]. Vertraut ist diese Wesensart von den Pocken-, Myxo-, Adeno-, Reo-, Entero-, Arboviren und den Psittakoseerregern. Das Agglutinationsvermögen wird infolge sterischer Blockierung der Molekülgruppen durch spezifische Antikörper aufgehoben. Bei Anwesenheit von Antikörpern kann eine Agglutination nicht erfolgen, man spricht von Hemmung. Dieser Vorgang wird zum Nachweis von Antikörpern gegen ein hämagglutinierendes Virus verwendet. Standardisierte Virusmengen werden mit Serum gemischt, einige Zeit inkubiert und dann mit einer standardisierten Erythrozytensuspension in einem bestimmten pH-Bereich versetzt. Eine Hämagglutination zeigt freies Virus an und damit das Fehlen von Antikörpern im Serum, - ein Absinken der Erythrozyten auf den Boden des Testgefäßes bedeutet einen positiven Antikörpernachweis [43]; [56]; [157].

4.7.4.2 Technik

Der HHT sowie alle Vortests wurden im Mikroverfahren durchgeführt, dieses arbeitet mit der Menge von 0,025 ml als eine Volumseinheit und mit Mikrotiterplatten aus Styren mit U-förmigen Böden als Mischgefäße [18]. Da dieser Test sehr fettempfindlich reagiert, ist eine spezielle Präparation der verwendeten Reagenzien notwendig. Wir hielten uns dabei weitgehend an die Referenzmethode von CLARK und CASALS [36].

a) Antigenpräparation

Das Gehirn einer virusinfizierten und moribunden Maus wird aus dem Schädel präpariert und in 4 Teilen einer 8,5%igen wässrigen Saccharoselösung homogenisiert.

Diese Suspension mischt man mit der 20-fachen Menge gekühlten Azetons. Die flockige Ausfällung wird zentrifugiert (5 min, 1800 UpM), der Überstand verworfen und neuerlich mit Azeton aufgefüllt. Nach einer Inkubationszeit von 2 Stunden bei 4°C wird noch zwei Mal je 5 min bei 1800 UpM zentrifugiert, das Azeton nach jedem Zentrifugieren verworfen und frisches Azeton aufgefüllt. Der Überstand wird schließlich vollständig entfernt und das Sediment im Vakuum bis zu staubförmiger Konsistenz getrocknet. Das Pulver löst man in 40% des Ausgangsvolumens Borat Saline Puffer (BBS) pH 9. Dieses Gemisch soll 12 Stunden im Eisbad inkubieren. Dann entfernt man alle zellulären Bestandteile und Verunreinigungen durch hochtouriges Zentrifugieren (1 h, 10 000 UpM); der klare, rosa Überstand stellt das gebrauchsfertige Hämagglutinin dar.

b) Serumpräparation

Die Serumpräparation für den HHT erfolgt ähnlich der Antigenpräparation. Eine 1%ige Lösung von Serum in Azeton wird 5 min inkubiert, danach 5 min mit 2000 UpM bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und die Prozedur nach Auffüllen mit Azeton wiederholt. Das Sediment trocknet man im Vakuum und füllt es anschließend mit der 10-fachen Menge BBSs auf. Zur Entfernung unspezifischer Hämagglutinationshemmer fügt man 1/10 der Menge an einer 50%igen Suspension an Gänse- oder Taubenerythrozyten bei, dieses Gemisch läßt man 20 min inkubieren. Danach werden die Blutkörperchen abzentrifugiert (5 min, 2000 UpM), der Überstand ist ein abgesättigtes Serum in einer Verdünnung von 1:10. Dies ist die reguläre Ausgangsverdünnungstufe im HHT.

4.7.4.3 Hämagglutinationstest und Hämagglutinationshemmungstest

Nicht jedes Virus agglutiniert Erythrozyten verschiedener Spenderarten gleich gut. Die geeignete Blutkörperchenart (Gans, Taube oder humane O-Erythrozyten) muß ebenso wie der geeignete pH-Bereich für eine Agglutination in einem Vortest ermittelt werden. Dabei sei darauf hingewiesen, daß einerseits zeitlich verschiedene Antigenpräparationen eine Verschiebung des pH-Bereichs für eine optimale Agglutination hervorrufen können, und daß andererseits die Erythrozytenspender starke individuelle Schwankungen ihrer Brauchbarkeit aufweisen können. Eine Nachjustierung ist bei jedem neuen Testansatz unumgänglich.

Die Erythrozyten werden durch (Flügel-)Venenpunktion gewonnen, dabei wird die Blutgerinnung durch Zugabe eines Citratpuffers verhindert. Nach 3- bis 4-maligem Zentrifugieren (10 min, 2000 UpM) in Dextrose-Gelatin-Veronal-Puffer ist eine 50%ige Suspension der Erythrozyten im Veronal-Puffer anwendungsbereit.

In einem Vortest - dem Hämagglutinationstest - werden die einzelnen Reaktionspartner aufeinander eingestellt. Eine Einheit, das sind 0,025 ml, Antigen verdünnt man geometrisch in BBS, anreichert mit 0,4% Rinderalbumin. Dann tropft man in alle Verdünnungsstufen einen Tropfen, das ist eine Einheit, 1%iger Erythrozytensuspension in veronalgepufferter oxalierter Kochsalzlösung (VAD). Dies ist ein Puffer, der gemeinsam mit BBS pH 9 einen bestimmten, beliebig regulierbaren pH-Wert erzeugt. Innerhalb eines optimalen pH-Bereichs und mit brauchbaren Erythrozyten werden die Blutkörperchen bis zu einer bestimmten Virusverdünnungsstufe agglutiniert. Im Hämagglutinationshemmungstest soll die Antigenverdünnung dann vier Einheiten betragen. Dies bedeutet, daß die Virusverdünnung 4-mal konzentrierter sein soll als die letzte gerade noch eine Agglutination hervorrufende Verdünnungsstufe: z.B.:
Höchste Agglutination-bewirkende Antigenverdünnung: 1:256 → 4-mal konzentriertere Arbeitsverdünnung: 1: 64. Um eine eventuell spontan auftretende Agglutination der Erythrozyten auszuschließen, ist es notwendig, bei allen Testansätzen eine Erythrozytenkontrolle ohne Antigen mitzuführen, im Bild 2 mit EK bezeichnet. In dieser Kontrolle darf keine Agglutination auftreten! - Die Dokumentation der im HHT verwendeten Antigeneigenschaften ist der Tabelle 4 auf Seite 39 zu entnehmen.

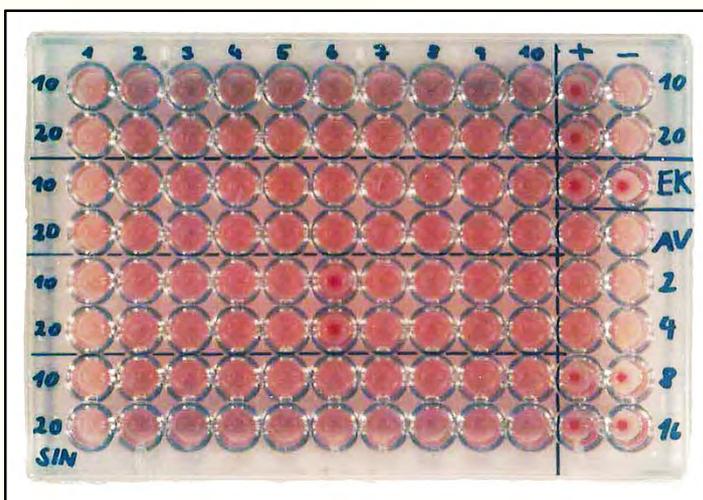


Bild 2 Der Hämagglutinationshemmungstest

Zum raschen Durchtesten der Sera verwendeten wir eine Monitoring Methode, alle Sera wurden vorerst nur in den beiden Titerstufen 1:10 und 1:20 getestet. Im Falle eines positiven Ergebnisses wiederholten wir den Test mit einer Bestimmung des Titerendpunkts. Außerdem führten wir immer eine Erythrozytenkontrolle, eine Kontrolle mit bekannten positiven und negativen Sera und eine Antigenverdünnungsreihe mit. Dies ist in Bild 2 erkennbar.

Zur praktischen Durchführung mischten wir einen Tropfen Serum oder Serumverdünnung in BBS mit 0,4% Rinderalbumin mit einem Tropfen Antigenarbeitsverdünnung. Nach einer Inkubationszeit von 15 h bei 4°C gibt man zwei Tropfen 1%iger Erythrozytensuspension in VAD zur pH-Korrektur bei und läßt den Testansatz bei Zimmertemperatur bis zur vollständigen Agglutination der Negativkontrolle inkubieren. Beim Ablesen gilt jene Serumverdünnungsstufe als letzte positive, bei der die Hämagglutination noch vollständig gehemmt wird.

4.7.5 Die Komplementbindungsreaktion

4.7.5.1 Prinzip

Die Komplementbindungsreaktion, KBR abgekürzt, ist eine lytische Reaktion, die von der Voraussetzung ausgeht, daß zelluläre Antigenträger, üblicherweise Erythrozyten, durch spezifische Antikörper in Anwesenheit von Komplement aufgelöst, dh lysiert, werden [56]. Man benötigt für die Reaktion Antigen, z.B. Viruspartikel, Antikörper im Serum, den unspezifischen Komplex von Komplement, und ein Indikatorsystem, das die Reaktion sichtbar, dh ablesbar, macht. Das Komplement ist im Test nur in beschränkter Menge vorhanden. Sind im Untersuchungsserum spezifische Antikörper vorhanden, so lagern sich diese an das vorgegebene Antigen und verbrauchen das Komplement. Der Vorgang wird in Abbildung 7 dargestellt. Dieses steht dann nicht mehr dem Indikatorsystem zur Verfügung. Bei Fehlen der Antikörper kann sich das freibleibende Komplement mit dem Indikatorsystem, das auch Hämolytisches System genannt wird, verbinden. Das Hämolytische System besteht aus gewaschenen Hammelerythrozyten und aus lytischen Antikörpern, dem Ambozeptor, die aus Kaninchenserum gewonnen werden. Unter Einwirkung von Komplement zerstören

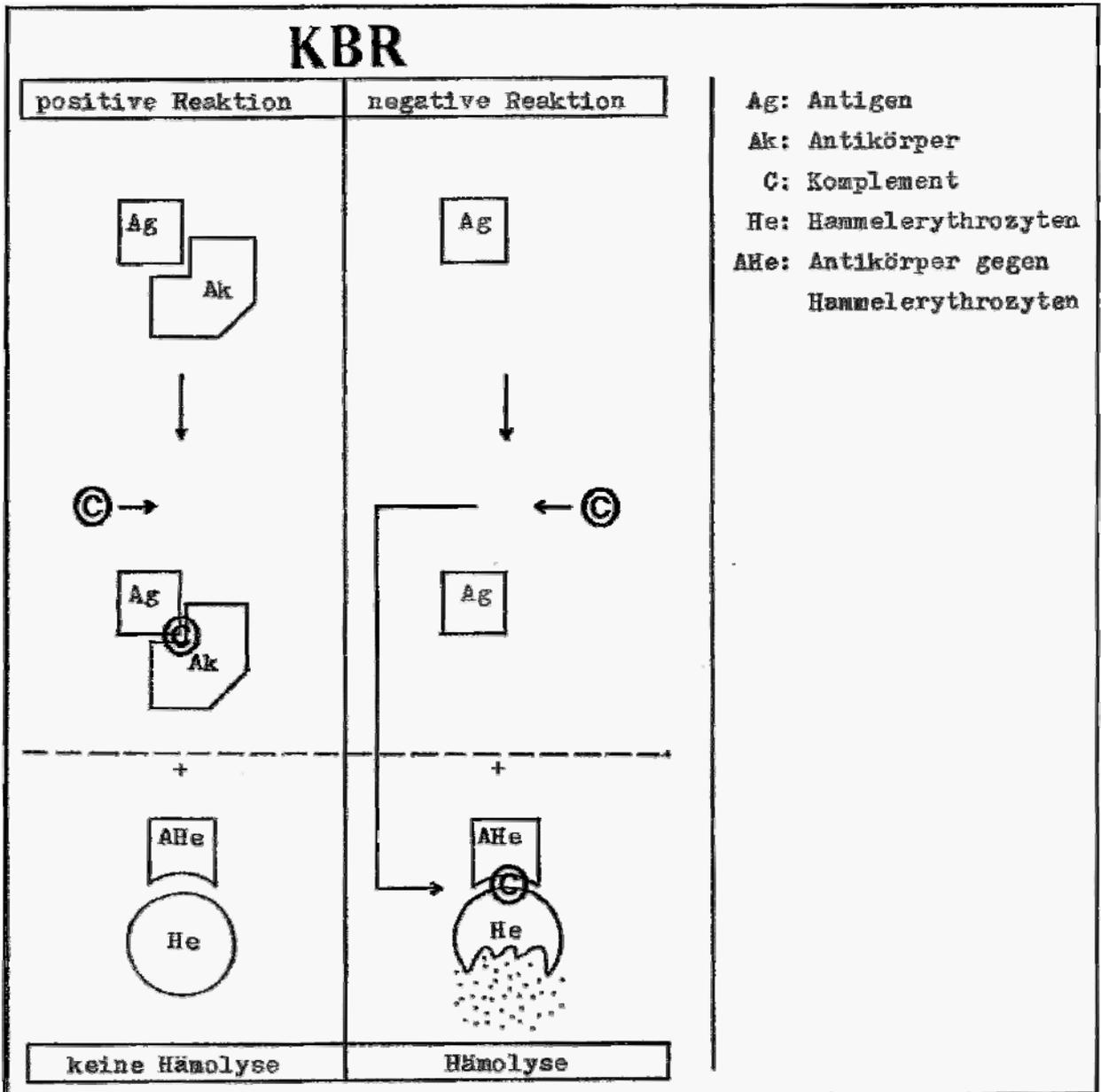


Abb. 7 Schema einer KBR

die Kaninchenantikörper die Oberfläche der Hammelerythrozyten. Der Blutfarbstoff tritt aus und ermöglicht so eine optische Unterscheidung zu den sich sedimentierenden, nicht lysierten Blutkörperchen einer positiven Reaktion. Positiv ist die Reaktion, wenn spezifische Antikörper im Untersuchungsserum vorhanden waren.

Da die KBR ein komplexes System darstellt, muß mit umfassenden Kontrollen jeder einzelne Reaktionspartner auf anti- oder prokomplementäre oder lysierende Eigenschaften überprüft werden. Gleichzeitig wird mit Hilfe positiver und negativer Kontrollsera die Reaktionsfähigkeit des gesamten Systems getestet. Die KBR wurde ebenfalls wie der HHT im Mikrotitersystem durchgeführt, die Ausrüstung und die Einheitsmengen gleichen denen des HHTs.

4.7.5.2 Reagenzien

a) Antigen

Für alle Komplementbindungsreaktionen wurde ein Rohantigen verwendet: Aus der Gehirnmaße moribunder Mäuse wird eine 10%ige Suspension mit Veronal-Puffer, das ist ein Barbitol-Acetat-Puffer pH 7,4 abgekürzt: DBP, hergestellt und bei 4°C eine Stunde extrahiert. Dann zentrifugiert man die Suspension 30 min bei 3500 UpM und bringt den Überstand in der KBR zur Anwendung. Dieses Rezept stammt aus dem Virologischen Institut der Universität Wien.

b) Untersuchte Sera

Die zu untersuchenden Sera werden in Veronal-Puffer 1:5 verdünnt. Da die KBR oft schon bei dieser Titerhöhe spezifisch positiv reagieren kann, stellt diese Titerstufe die Ausgangsverdünnung für alle zu untersuchenden Sera dar. Ein Serumbestandteil jedes Wirbeltierblutes ist freies Komplement, das, um die Testreaktion nicht zu stören, in den zu untersuchenden Sera zerstört werden muß. Da sich Komplement wärmelabil ist, können die Sera vor der Verwendung durch eine 30 minütige Erwärmung im Wasserbad bei 56°C vom Komplement befreit werden. Dies nennt man Inaktivierung der Sera.

c) Komplement

Besonders reich an Komplement ist das Serum der Meerschweinchen. Meerschweinchen werden daher auch als Komplementspender herangezogen. Für die Komplementgewinnung aus dem Serum kommen jedoch nur gesunde, nicht trächtige Tiere in Frage.

d) Hämolytisches System

Das Hämolytische System besteht aus Kaninchenserum, das Antikörper gegen Hammelerythrozyten enthält. Wir verwendeten ein käufliches Ambozeptorserum, das gegen selbst isolierte und mehrmals in DBP gewaschene Hammelerythrozyten eingesetzt wurde.

4.7.5.3 Vorversuche

Die Vorversuche dienen der Einstellung der Reaktionspartner aufeinander und müssen sehr sorgfältig durchgeführt werden, soll die diagnostische Reaktion nicht unspezifische Ergebnisse liefern.

a) Erster Vorversuch: Bestimmung des Ambozeptor-Titers

Dieser Vorversuch dient der Ermittlung derjenigen Ambozeptorkonzentration, die in Gegenwart von Komplement die Hammelerythrozyten gerade noch aufzulösen vermag. Eine Kontrolle ohne Ambozeptor wird dabei zum Ausschluß unspezifischer Reaktionen mitgeführt. In der diagnostischen Reaktion und in den anderen Vorversuchen wird aus Sicherheitsgründen die doppelte Ambozepterkonzentration verwendet, die ca. 2%ige Erythrozytensuspension muß in allen Versuchen gleich konzentriert verwendet werden. Da die Komplementkonzentration in diesem Vorversuch noch nicht bekannt ist, wird vorläufig mit einer Verdünnung von 1:30 gearbeitet. Die genaue Einstellung der Konzentration erfolgt dann im Zweiten Vorversuch.

Den Ambozeptorvorversuch führte ich nicht selbst durch, da das Hygiene-Institut, in dem diese Dissertation erarbeitet wurde, die KBR als Routinetest verwendet und uns dankenswerterweise die Vortestergebnisse und die nötige Ausrüstung zur Verfügung stellte.

b) Schachbrettitation

Diese Titration muß nicht unbedingt durchgeführt werden, mir diente sie aber zur Feststellung anti- oder prokomplementärer Eigenschaften der Reaktionspartner. Auch in diesem Vortest wurde die Komplementverdünnung vorläufig mit 1:30 gewählt.

↓ Ag/Ks →	BAH	MTR	CCHF	neg
BAH	1:32	1:32	-	-
MTR	1:32	1:32	-	-
CCHF	-	-	1:16	-
neg. Kont.	-	-	-	-
DBP	-	-	-	-

Die Zahlen geben die Serumverdün-
nungen einer positiven Reaktion an.
Ag . . . Antigen
Ks . . . Kontrollserum

Tab. 5 Ergebnisse der Schachbrettitation

In einem Schachbrettmuster mit steigenden Verdünnungsstufen wurden gegeneinander ausgetestet: Die Antigene Bahig, Matruh, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, ihre positiven Kontrollsera, ein negatives Kontrollserum, Kontrollantigen, das ist nicht-virushältiges Gehirnmaterial, und reiner Puffer.

Aus Tabelle 5 erkennt man, daß die Antigene Bahig und Matruh in der KBR nicht unterscheidbar waren. Die Antigenarbeitsverdünnung, die ebenfalls in der Schachbretttitration festgelegt wird, mußte jeweils mit 1:2 gewählt werden. Daraus ergab sich ein hoher Antigenverbrauch. Pro- oder antikomplementäre Eigenschaften konnten in keinem Reagenz festgestellt werden. In der KBR können lösliche Gehirnbestandteile eine Beeinträchtigung der Reaktion hervorrufen, deshalb ist eine Untersuchung eines negativen Kontrollantigens unerlässlich [56].

c) Zweiter Vorversuch: Bestimmung des Komplementtiters

Im Zweiten Vorversuch, dem Komplementvorversuch, wird diejenige Komplementmenge festgestellt, die gerade noch ausreicht, um die Lyse der Hammelerythrozyten durch den Ambozepter in der Gebrauchsverdünnung, die im Ersten Vorversuch bestimmt wurde, zu gewährleisten. Auch hier wird schließlich sicherheitshalber die doppelte Komplementmenge in der diagnostischen Reaktion eingesetzt. Auf eine Anwesenheit von Antigen und Kontrollantigen konnte auf Grund der Ergebnisse der Schachbretttitration verzichtet werden.

Auch diese Reaktion, die bei jeder neuen Testreihe zumindest überprüft werden sollte, wurde nicht immer selbst durchgeführt. Es konnten in den meisten Fällen auf die Ergebnisse der parasitologischen Routinediagnostikgruppe zurückgegriffen werden. Die Assistentinnen brachten durch ihre größere Erfahrung auch genauere und zuverlässigere Ergebnisse zustande. Im Haupttest wurde sowohl eine Komplementkontrolle als auch eine Antigen- und Erythrozytenkontrolle mitgeführt, die jede Änderung der Parameter sofort anzeigten.

4.7.5.4 Diagnostische Reaktion

Die Diagnostische Reaktion, den „Hauptversuch“, führten wir wieder in einer Monitoring Methode durch. Die Ausgangsverdünnung der Sera war 1:5 mit der Ausnahme der Kontrollsera. Ein Tropfen, 0,025 ml, des inaktivierten Serums wird mit

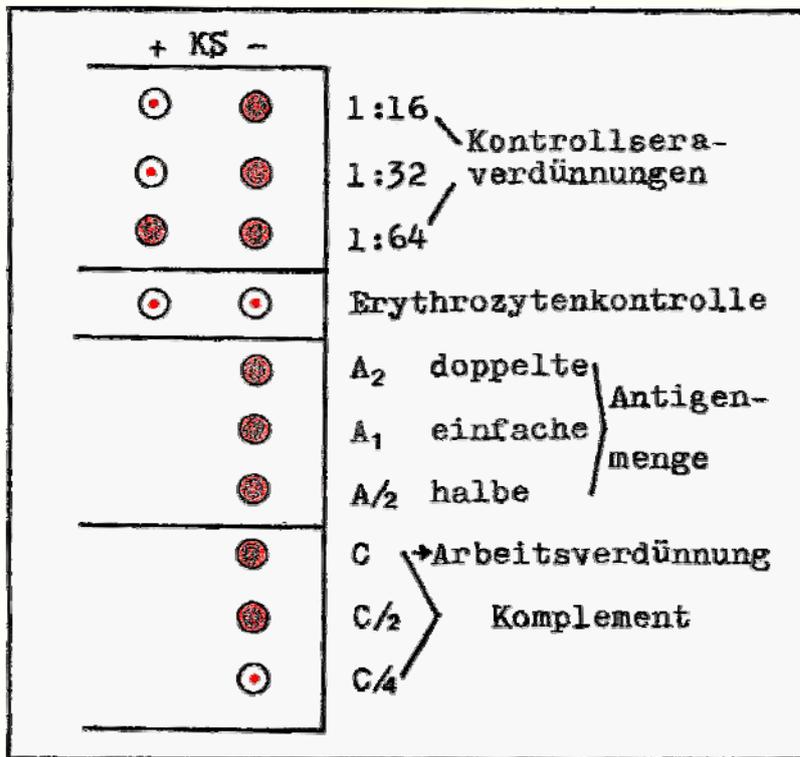


Abb. 8 Die Kontrollreaktionen einer gelungenen KBR

einem Tropfen Antigen vermischt und mit zwei Tropfen Komplementarbeitsverdünnung über Nacht bei 4°C inkubiert. Diese Kältebindung ergab gegenüber der Wärmebindung von 2 h bei 37°C deutlich bessere Ergebnisse. Nach der Inkubationszeit werden die Reagenzien auf 37°C erwärmt und zwei Einheiten Hämolytisches System zutropft. Dieses besteht aus 50% Ambozeptor-Gebrauchsverdünnung und 50% Suspension der Hammelerythrozyten, beides vor dem Zutropfen bei 37°C ca. 30 Minuten lang miteinander inkubiert.

Die gesamte KBR wird ca. 45 min bei 37°C bis zum Ablesen aufbewahrt, den richtigen Zeitpunkt zum Ablesen erkennt man an den Kontrollsera. Das positive Kontrollserum soll den in der Schachbrettitation bestimmten Titer erreichen, die anderen Kontrollen müssen einwandfrei sein. Die Kontrollreaktionen einer KBR sind in Abbildung 8 dargestellt.

Als positive Reaktion wird jene Serumverdünnungsstufe angesehen, die eine 50%ige Lysehemmung erkennen läßt, oder, falls diese Stufe nicht vorhanden ist, die letzte Stufe mit vollständiger Hemmung. Ein kurzes Zentrifugieren bei niedriger Tourenzahl zur rascheren Erythrozytensedimentation erleichtert das Ablesen erheblich.

5. ERGEBNISSE

5.1 VOGEL-PROGRAMM

Im Rahmen des Vogelfangprogramms konnten insgesamt 5 326 Individuen aus 24 Vogelfamilien gefangen werden. Eine genaue, nach Jahreszeiten geordnete Fangliste wird in der Tabelle 6 auf Seite 51 dargelegt. Zum Zwecke des besseren visuellen Wahrnehmens schlüsseln die Abbildungen auf den folgenden Seiten die in Tabelle 6 angeführten Fangzahlen nach verschiedenen Gesichtspunkten auf.

Tab. 6 Ergebnisse des Vogelfangprogramms
 nd . . . Altvögel
 d . . . Jungvögel

Spezies	Zahl der gefangenen Vögel									Summe	
	1979			1980			Wi				
	Fj	So	Wi	Fj	So	Wi					
nd	d	nd	d	nd	d	nd	d	nd	d		
<i>Botaurus stellaris</i> L. (Rohrdommel)								1		1	
<i>Anser anser</i> L. (Graugans)					2					2	
<i>Anas platyrhynchos</i> L. (Stockente)				1						1	
<i>Phasianus colchicus</i> L. (Fasan)				4				9		13	
<i>Rallus aquaticus</i> L. (Wasserralle)								1		1	
<i>Larus ridibundus</i> L. (Lachmöwe)				2						2	
<i>Columba livia</i> Gmelin (Haustaube)	1									1	
<i>Athene noctua</i> Scopoli (Steinkauz)					1					1	
<i>Caprimulgus europaeus</i> L. (Ziegenmelker)	1									1	
<i>Alcedo atthis</i> L. (Eisvogel)					1					1	
<i>Dendrocopos major</i> L. (Buntspecht)								1		1	
<i>Jynx torquilla</i> L. (Wendehals)	1				1					2	
<i>Riparia riparia</i> L. (Uferschwalbe)	12		8	25	48					93	
<i>Hirundo rustica</i> L. (Rauchschwalbe)	6		2	2	17			1		28	
<i>Delichon urbica</i> L. (Mehlschwalbe)	56		11	14	99		35	63		278	
<i>Motacilla alba</i> L. (Bachstelze)	2			4	1			7		14	
<i>Anthus trivialis</i> L. (Baumpieper)					1					1	
<i>Anthus cervinus</i> Pallas (Rotkehlpieper)	1									1	
<i>Anthus spinoletta</i> L. (Wasserpieper)	2				9					11	
<i>Lanius collurio</i> L. (Neuntöter)	6			2		10				18	
<i>Troglodytes troglodytes</i> L. (Zaunkönig)									8	8	
<i>Prunella modularis</i> L. (Heckenbraunelle)	1			2					2	5	
<i>Locustella luscinioides</i> Savi (Rohrschwirl)	7			14		37		1	2	61	
<i>Locustella naevia</i> Boddaert (Feldschwirl)									1	1	
<i>Acrocephalus melanopogon</i> Tem. (Mariskensänger)	60		4	12	5	65		13	40	199	
<i>Acrocephalus schoenobaenus</i> L. (Schilfrohrsänger)	90	1	29	177		141		29	208	675	
<i>Acrocephalus paludicola</i> Vieillot (Seggenrohrsänger)	1									1	
<i>Acrocephalus palustris</i> Bechstein (Sumpfrohrsänger)	9			2				2		13	
<i>Acrocephalus scirpaceus</i> Herm. (Teichrohrsänger)	280		53	327		728		68	376	1832	
<i>Acrocephalus arundinaceus</i> L. (Drosselrohrsänger)	28		16	18		39		4	12	117	
<i>Hippolais icterina</i> Vieillot (Gelbspötter)	5					7				12	
<i>Sylvia borin</i> Bodd. (Gartengrasmücke)	25		1	4		29				59	
<i>Sylvia atricapilla</i> L. (Mönchsgrasmücke)	12		5	6		17			1	41	
<i>Sylvia curruca</i> L. (Zaungrasmücke)	2					32				34	
<i>Sylvia communis</i> Latham (Dorngrasmücke)	17			1		19				37	
<i>Phylloscopus collybita</i> Vieillot (Zilpzalp)	11			1	2	36				50	
<i>Phylloscopus trochilus</i> L. (Fitis)	4					19			1	27	
<i>Phylloscopus sibilatrix</i> Bechstein (Waldlaubsänger)	1					9				10	
<i>Regulus regulus</i> L. (Wintergoldhähnchen)						1			2	3	
<i>Regulus ignicapillus</i> Tem. (Sommergoldhähnchen)						1				1	
<i>Ficedula hypoleuca</i> Pallas (Trauerschnäpper)	1			1		7				9	
<i>Saxicola torquata</i> L. (Schwarzkehlchen)									2	2	
<i>Phoenicurus phoenicurus</i> L. (Gartenrotschwanz)				2		8				10	
<i>Luscinia megarhynchos</i> Brehm (Nachtigall)						3				3	
<i>Luscinia svecica</i> L. (Blaukehlchen)						2				2	
<i>Erithacus rubecula</i> L. (Rotkehlchen)	22			19	22	61			1	129	
<i>Oenanthe oenanthe</i> L. (Steinschmätzer)				2						2	
<i>Turdus philomelos</i> Brehm (Singdrossel)	6			4		2				12	
<i>Turdus merula</i> L. (Amsel)	1			3				1		5	
<i>Panurus biarmicus</i> L. (Bartmeise)	145		100	93	15	126	1	33	203	727	
<i>Remiz pendulinus</i> L. (Beutelmeise)	2		2	16	41	3			17	110	
<i>Parus caeruleus</i> L. (Blaumeise)			1	12	56				1	179	
<i>Parus maior</i> L. (Kohlmeise)				3					1	5	
<i>Sitta europaea</i> L. (Kleiber)									1	1	
<i>Emberiza calandra</i> L. (Grauammer)				1						1	
<i>Emberiza citrinella</i> L. (Goldammer)									2	2	
<i>Emberiza schoeniclus</i> L. (Rohrhammer)	17	2	13	43	92	27	2	22	45	343	
<i>Fringilla coelebs</i> L. (Buchfink)									1	1	
<i>Carduelis chloris</i> L. (Grünling)						2				2	
<i>Carduelis carduelis</i> L. (Stieglitz)						1		2	8	12	
<i>Carduelis cannabina</i> L. (Hänfling)						18		2	1	33	
<i>Passer montanus</i> L. (Feldsperling)				1		1		2	1	7	
<i>Sturnus vulgaris</i> L. (Star)				1						1	
<i>Pica pica</i> L. (Elster)							1			1	
43 Genera 64 Spezies	847	3	245	819	234	1628	6	214	1005	325	5326

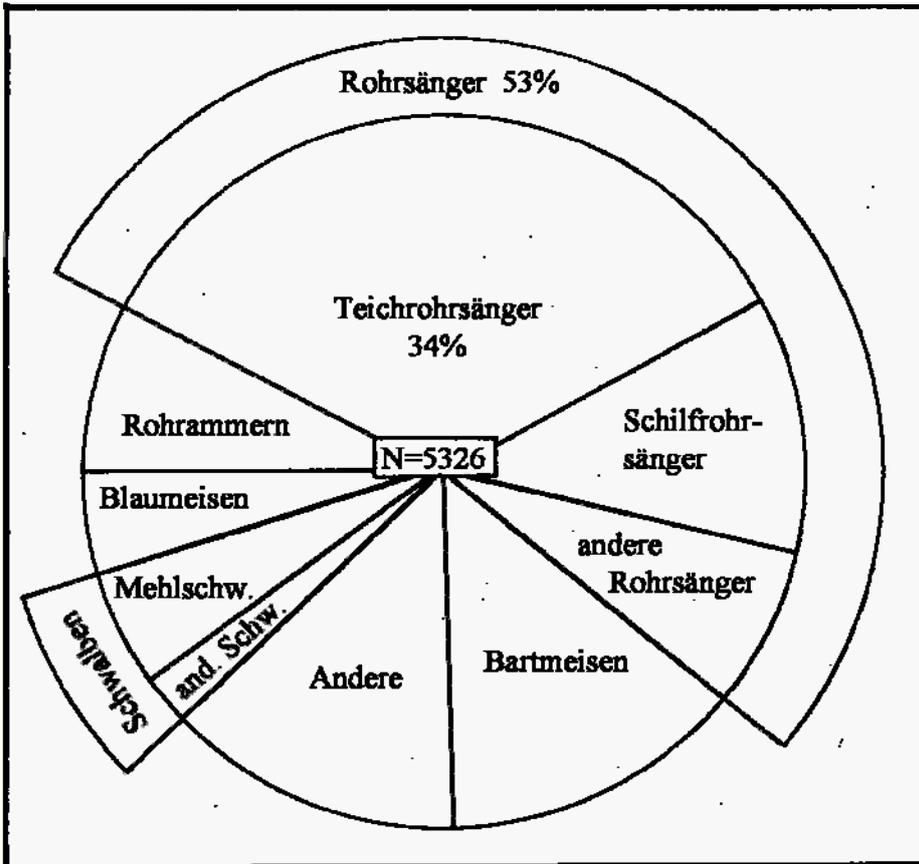


Abb. 9 Relative Fanghäufigkeit der wichtigsten Vogelarten

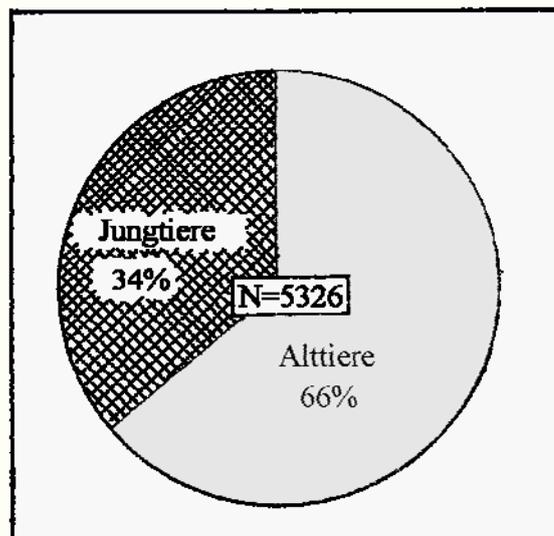


Abb. 10 Gesamtfang nach Jung- und Alttieren getrennt

In Abbildung 9 erkennt man deutlich die große Anzahl gefangener Rohrsänger, die methodisch bedingt ist und die Ergebnisse der Serotests beeinflusst. Als häufigster Schilfvogel nimmt der Teichrohrsänger eine dominierende Position ein; über ein Drittel aller gefangenen Tiere waren Teichrohrsänger!

Aus der Altersverteilung, die in Abbildung 10 gezeigt wird, geht hervor, daß 2/3 der gefangenen Tiere entweder schon eine Zugperiode erlebt hatten oder als Strichvögel einen Standortwechsel vorgenommen haben könnten. Nur diese Tiere, die allerdings in ihrer Mehrzahl während des Frühlingzuges gefangen wurden, wie in Abbildung 11 ersichtlich, kommen als Verschlepper von Arboviren in Betracht.

Die Abbildung 11 zeigt außerdem, daß die am Fangort lebenden Populationen der Kleinvögel im Sommer zu 80% aus Jungtieren bestehen. Der starke Einfluß des „Rastplatz-Effekts“ während des Frühjahrszuges verzerrt die Gesamtfangzahlen entsprechend.

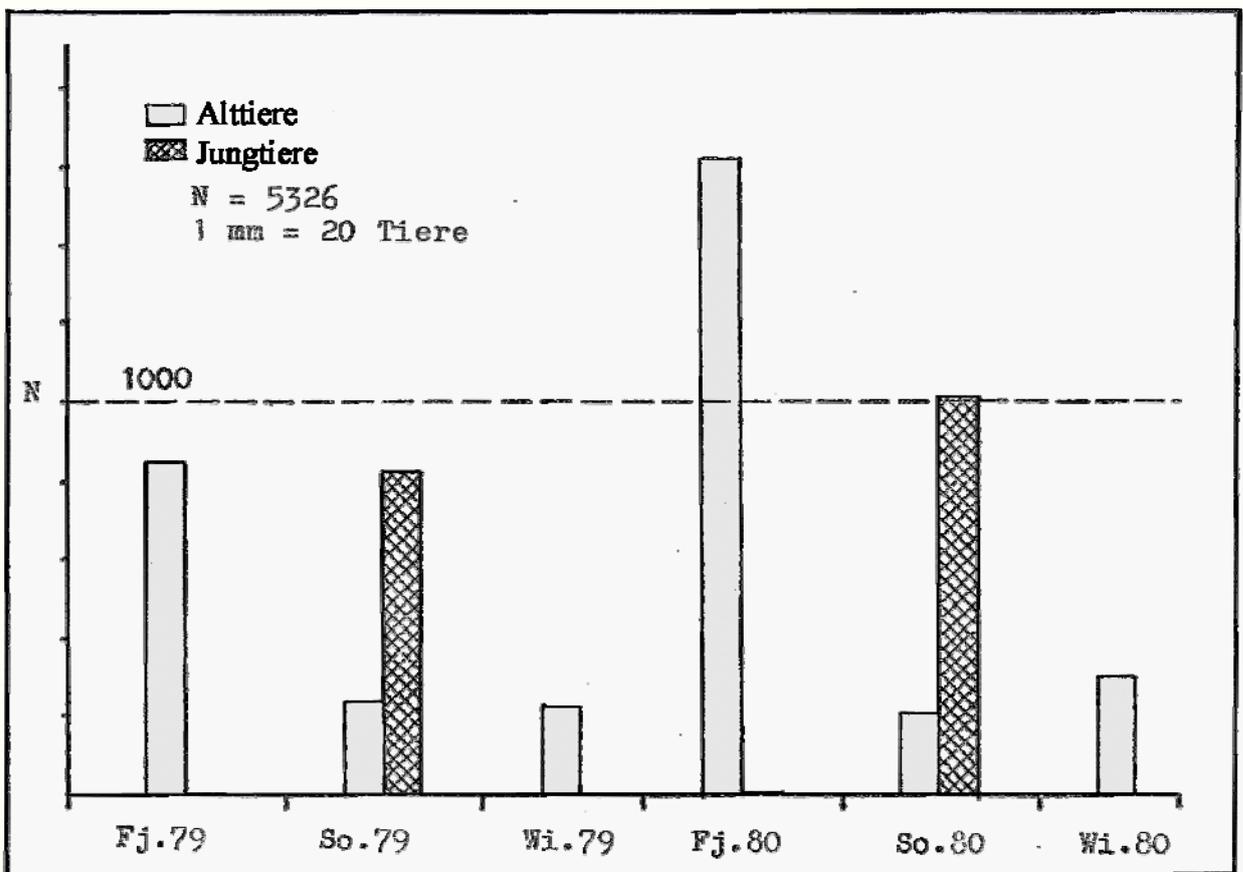


Abb. 11 Die Fangergebnisse nach Jahreszeiten geordnet

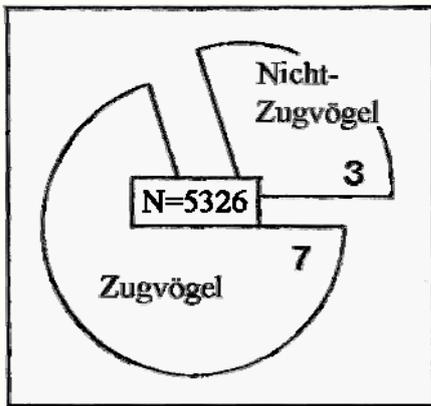


Abb. 13 Der gesamte Fang an Vögeln, in Zugvögel und Strich- und Standvögel getrennt

In dieser Zeit fängt man auch Arten, die während der restlichen Zeit des Jahres nicht vorkommen, also den Schilfbiotop meiden. Beispiele sind Grasmücken, Pieper, Phylloscopus sp. u.a.m. Das Überwiegen der vollwertigen Zugvögel, die den Winter außerhalb Europas verbringen, gegenüber Strich- und Standvögeln ist in Abbildung 12 zu erkennen. Der Schilfgürtel ist im Winter jedoch keineswegs vogelarm, zumal 2/3 der Tiere in Afrika überwintern. Es finden im Herbst großräumige Populationsumschichtungen statt, die Bartmeisen und Rohrammern des Sommers ziehen nach Ungarn, andere, aus Gebieten der CSSR eintreffende Tiere verbringen im Seegebiet den Winter [26]. Ebenso tauchen Arten auf, die im Sommer nicht beobachtet werden können, wie z.B. die Blaumeise. Daher sieht auch die Artenzusammensetzung des Winterfangs ganz anders aus als die des Sommers. Dies ist der Abbildung 13 zu entnehmen. Diese Zusammensetzung ist, bedingt durch die Umweltfaktoren, wesentlich artenärmer, Blaumeisen und Rohrammern stellen alleine beinahe 3/4 des gefangenen Kontingents dar.

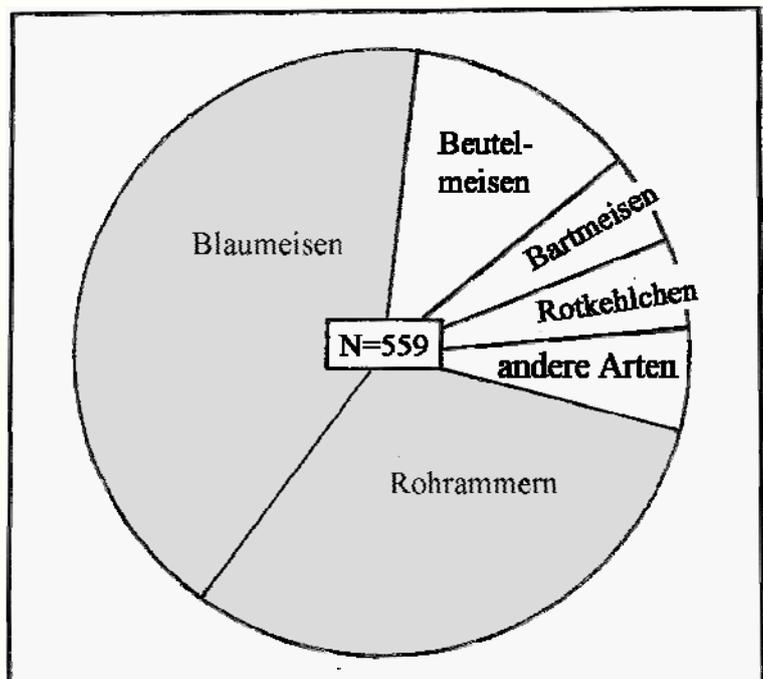


Abb. 12 Die Artenzusammensetzung des Winterfangs

5.1.1 Virusisolierungsversuche

Die virologischen Untersuchungen in Form von Virusisolierungsversuchen begannen sofort nach Anfall der ersten Blutproben. Sie wurden bis Ende Jänner 1981 in der im Kapitel 4.6 Material und Methoden detailliert beschriebenen Art durchgeführt. Die Untersuchung von 5300 Blutproben erschien uns vom Aufwand her unmöglich, deshalb bearbeiteten wir bevorzugt Proben von im Frühjahrszug gefangenen Tieren. Es bestand bei diesen Vögeln die größte Chance für eine Isolierung eines Arbovirus.

Aus der Fangperiode Frühjahr und Sommer 1979 werteten wir 1205 Proben aus, ohne eine Isolierung zu erzielen.

Aus der Fangperiode Frühling 1980 konnten wir 427 Blutproben untersuchen, ebenfalls ohne daß uns eine Isolierung gelang.

Das ergibt insgesamt 1632 Versuche einer Virusisolierung aus ebenso vielen Blutproben von Vögeln.

Die negativen Ergebnisse überraschen nicht, wenn man bedenkt, daß zu einer erfolgreichen Virusisolierung genau der kurze Zeitraum einer Virämie zur Blutentnahme getroffen werden muß. Die Chance, diese 3 bis 5 Tage ausfindig zu machen, ist eben gering. Auf Isolierungsversuche aus Organmaterial wurde im Sinne des Tierschutzes bewußt verzichtet, da dies mit einer Tötung der Tiere zur Organentnahme verbunden gewesen wäre.

5.1.2 Serologische Auswertung

Die serologische Auswertung erfolgte für alle 13 Antigene gemeinsam. Es reagierten insgesamt 180 Sera gegen eines der 13 Antigene, das sind 3,4% der 5326 untersuchten Sera. Die Verteilung der Alt- und Jungtiere in der Gruppe seropositiver Individuen ist sehr charakteristisch, in absoluten Zahlen 163 zu 17, relativ zur Zahl der jeweils gefangenen Tiere 4,7% zu 1%. Aus der Reihe fallen nur die Ergebnisse des Winterfangs; es konnten im Winter nur 2‰ der Sera als positiv gewertet werden. Zudem wurde im Serum einer Blaumeise Antikörper gegen West Nile-Virus gefunden. Ein signifikanter Unterschied zwischen 1979 und 1980 ist, wie erwartet, nicht feststellbar. Die Prozentpunkte positiver Sera sind sehr ähnlich, nämlich 3,9:3,6. Über die Artverteilung der Vögel, die Antikörper gegen die getesteten, durch Zecken übertragenen Arboviren im Blut hatten, gibt Tabelle 7 Auskunft.

Vogelspezies	Zahl der getesteten Sera	Alttiere					Zahl der getesteten Sera	Jungtiere				
		Zahl der positiven Sera						Zahl der positiven Sera				
		FSME	UUK	BHA	BAH MTR	CCHF		FSME	UUK	BHA	BAH MTR	CCHF
Teichrohrsänger	1129	3	4	7	2		703	1			1	
Schilfrohrsänger	289	3		2			386					
Mariskensänger	147	1	2	1			52	1				
Drosselrohrsänger	87		1				30				1	
Bartmeise	430	1	4		1		297				1	
Rohrammer	251	2	2		1		92					
Mehlschwalbe	201	3	1	1			77				1	
Uferschwalbe	68	1	2	1			25					
Rotkehlchen	109			1			20				1	
Fasan	0						13				1	
Beutelmeise	77						33				1	
Ziegenmelker	1			1			0					
Wendehals	2	1					0					
Wasserpieper	11		1				0					
Gartengrasmücke	55				1		4					
Mönchsgrasmücke	34		1				7					
Zaungrasmücke	34		1				0					
Zilpzalp	49	1					1					
Singdrossel	8						4	1				
Grünling	2			1			0					
Hänfling	32		1				1					
Summe	3493	16	20	15	5	0	1833	3	0	0	6	0
Gesamtheit in %	100	0,5	0,6	0,4	0,2	-	100	0,15	-	-	0,3	-

Tab. 7 Serologische Ergebnisse des Vogelfangprogramms

Gegen Crimean-Congo Hemorrhagic Fever konnten in keinem der getesteten Sera der Vögel Antikörper festgestellt werden. Auf Grund der außerordentlichen Gefährlichkeit des Erregers wurden die Tests nach 3 500 Sera abgebrochen. Ausgetestet wurden die beiden Frühjahrsfänge, also die Tiere, die während der Zugzeit gefangen wurden.

Als Grenzwert, der positive und negative Reaktionen trennt, sahen wir im HHT 1:20 an, in der KBR 1:10. Eine exakte Angabe zur Titerhöhe als positiv beurteilter Sera kann ich auf Grund der schwankenden Menge abgenommenen Blutes nicht machen. Die Angaben sind bestmöglich ermittelte Werte. Im Zweifelsfall wurde die Beurteilung der höheren Konzentration gewählt, um Unspezifität zu vermeiden. Deswegen wurden die von SAIKKU [116] und KOLMAN und HUSOVA [69] geäußerten Einwänden gegen die Bewertung eines HHT, der Antikörper gegen UUK-Virus anzeigt, in meiner Arbeit nicht berücksichtigt. Abbildung 14 zeigt die Titerhöhenverteilung in der KBR und im HHT.

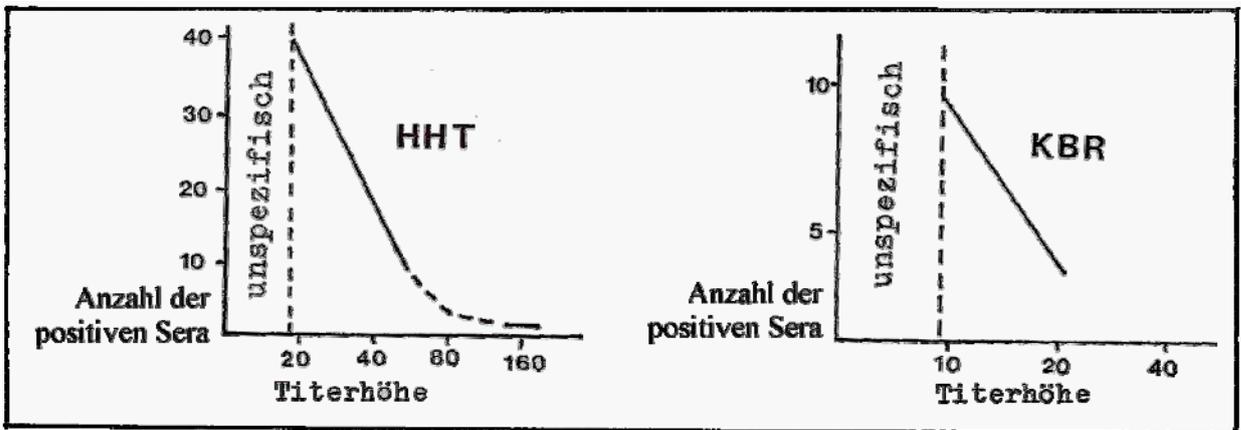
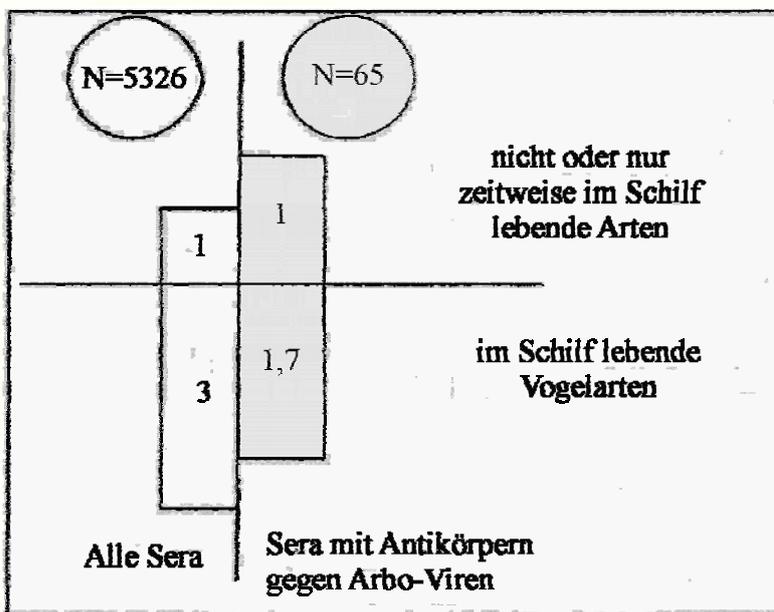


Abb. 14 Anzahl der Seren, die eine bestimmte Titerhöhen in den von mir verwendeten Testsystemen erreichten

Antikörper gegen mehrere Antigene traten nur sehr selten auf, insgesamt 3 Sera (2 Rohrhammern und 1 Mariskensänger) reagierten mit FSME- und UUK-Antigen. Diese



Mehrfachinfektionen sind erklärbar, da beiden Viren in Mitteleuropa im gleichen Biotop existieren.

Abb. 15
Der Einfluß des Biotops auf die serologischen Ergebnisse

In Abbildung 15 erkennt man erneut den Einfluss des für Zecken ungeeigneten Biotops auf meine Testergebnisse. Während der Gesamtfang zu 3/4 aus Tieren bestand, die überwiegend oder dauernd im Schilf leben, ist das Verhältnis zwischen schilflebenden und nicht oder nur sporadisch im Schilf lebenden Arten bei den seropositiven Tieren nur noch 62:38. Schon aus dieser Proportionsverschiebung ergibt sich, daß die seropositiven Tiere nicht gleichmäßig über die ganze Fangperiode verstreut gewesen sein konnten. Tatsächlich ergibt sich, wie aus Tabelle 8 zu entnehmen, eine Häufung der seropositiven Tiere während der Zugzeit.

Zahl der gef. Vögel	Fangperiode	Virus			
		FSME	UUK	BHA	BAH/MTR
2 484	Fj	13	18	13	5
2 283	So	3+3	2	2	6
5 326	Gesamt	19	20	15	11
100	in %	0,26	0,38	0,28	0,21

Tab. 8 Anzahl und Prozentpunkte von Antikörper-hältigen Sera, nach Fangperioden differenziert

Abgesehen vom Sonderfall des BAH/MTR Virus-Komplexes produzierten bei fast gleichen Fangzahlen (1,09 zu 1) während der Zugzeit im Frühjahr etwa 5-mal so viele Tiere Antikörper gegen eines der untersuchten Antigene wie im Sommer. Da diese Tiere zum größten Teil nicht im Seegebiet brüten, sondern meist nur auf der Rast kurz verweilen, müssen sie aus anderen, wesentlich zeckenreicheren Biotopen Europas stammen. Allerdings ist auch das Artenspektrum der gefangenen Vögel im Frühjahr wesentlich größer.

Abbildung 16 auf Seite 59 schließlich zeigt die zunächst merkwürdig erscheinende Art- und Altersverteilung der Vögel, die Antikörper gegen FSME- oder BAH/MTR-Antigen im Blut kreisen hatten. Eine Erklärung für diese Verteilung findet sich in den Eigenarten der verwendeten Testsysteme. Die KBR erfaßt vorwiegend kurz zurückliegende Infektionen. Eine andere Erklärung ist die unterschiedliche topographische Verteilung dieser heimischen (?) Viren.

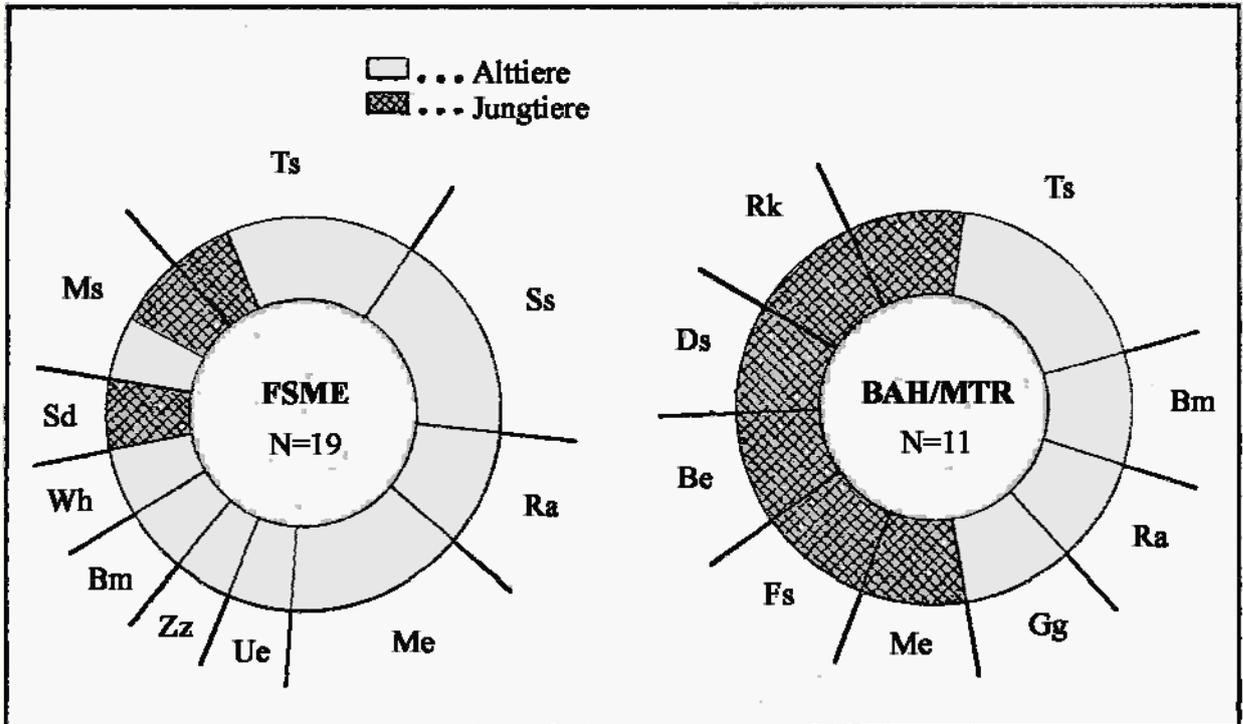


Abb. 16 Die Art- und Altersverteilung der Vögel, von denen die gegen FSME oder BAH/MTR positiven Sera stammen

- Ts Teichrohrsänger
- Ss Schilfrohrsänger
- Ms Mariskensänger
- Ds Drosselrohrsänger
- Me Mehlschwalbe
- Ue Uferschwalbe
- Bm Bartmeise
- Be Beutelmeise
- Ra Rohrammer
- Sd Singdrossel
- Zz Zilpzalp
- Rk Rotkehlchen
- Fs Fasan
- Gg Gartengrasmücke

5.2 KLEINSÄUGER-PROGRAMM

Im Rahmen einer ergänzenden Studie beschäftigten wir uns mit dem Fang und der Testung der lokalen Kleinsäugerpopulation. Wir fingen insgesamt 74 Tiere, nahmen ihnen Blut ab und untersuchten ihre Sera. Aus technischen Gründen konnte die KBR nur mit 6 der 74 Sera durchgeführt werden.

Spezies	Zahl der Sera getestet	
	im HHT	in der KBR
<i>Microtus agrestis</i> L. (Erdmaus)	39	-
<i>Microtus arvalis</i> Pallas (Feldmaus)	15	1
<i>Apodemus sylvaticus</i> L. (Waldmaus)	3	-
<i>Cricetus cricetus</i> L. (Feldhamster)	3	-
<i>Citellus citellus</i> L. (Ziesel)	2	-
<i>Oryctolagus cuniculus</i> L. (Kaninchen)	2	2
<i>Ondrata zibethicus</i> L. (Bisamratte)	1	1
<i>Neomys fodiens</i> Schreber (Wasserspitzmaus)	3	1
<i>Crocidura suaveolens</i> Pallas (Gartenspitzmaus)	5	-
<i>Mustela erminea</i> L. (Wiesel)	1	1
10 Spezies Summe:	74	6
Im HHT getestet: FSME, UUK, BHA In der KBR getestet: BAH/MTR		

Tab. 9 Die Zahlen getesteter Sera von Kleinsäufern, nach Arten und Testsystemen

Im Serum eines Wiesels konnten in der KBR Antikörper gegen BAH/MTR-Virus in einer Titerhöhe von 1:10 gefunden werden, alle anderen Sera waren negativ.

Die streng standortgebundenen Kleinsäugerpopulationen der Erd- und Feldmäuse dürften im Untersuchungsgebiet keine Rolle in den Kreisläufen von durch Zecken übertragenen Arbovirus spielen.

5.3 SENTINELTIERE, GÄNSE- UND ENTENSERA

Jahr	Zahl der getesteten Sera	
	Kaninchen	Hühner
1979	220	78
1980	125	70

Antigene: HHT: FSME, UUK, BHA
KBR: BAH/MTR

Im Jahre 1979 untersuchten wir 298 Proben des Blutkuchens der einer Virusinfektion absichtlich exponierten Sentineltiere auf eine Virämie. Es konnte allerdings kein Virus aus dem Blutkuchen isoliert werden.

Tab. 10 Die Sera der Sentineltiere

Im Zuge der serologischen Testung der 493 Tiersera beider Jahre fand sich kein

Serum, das Antikörper gegen zeckenübertragene Arboviren enthielt. Dies führe ich auf die für diese Studie ungeeignete Methodik der Verwendung eines erhöhten Stallbodens zurück.

Unter den 99 untersuchten Sera von Hausgeflügel konnte ebenfalls kein Serum gefunden werden, das Antikörper gegen ein durch Zecken übertragenes Arbovirus enthielt. Die Auswahl der getesteten Tiere geschah auch nicht im Hinblick auf die in dieser Arbeit behandelte Fragestellung. Ein Viruskreislauf zwischen Haus-Wassergeflügel und Zecken ist auf Grund der Lebensgewohnheiten der Wirtstiere unwahrscheinlich.

5.4 WILDSERA

Aus den 332 bei mehreren Treibjagden in der näheren Umgebung gewonnenen Sera konnte ebenfalls kein gegen meine Antigenpalette positiv reagierendes Tier ermittelt werden.

6. DISKUSSION

6.1 ZECKENABUNDANZ IM UNTERSUCHUNGSGEBIET

Wie schon in den vorigen Abschnitten erwähnt, kann die Einschleppung eines Arbovirus über zwei Wege erfolgen: Erstens über einen virämischen Wirt, zweitens über einen bei einer Tierwanderung mitgeschleppten, infektiösen Vektor. Zur Verwirklichung einer der beiden Möglichkeiten muß jedoch als Voraussetzung ein passender Biotop für die Vektoren vorhanden sein. Das untenstehende Bild zeigt die Umgebung des Fangplatzes - einen für Zecken zum Leben ungeeigneten Ort. Der Schilfbestand über dem offenen Wasser bietet einer Zecke keinerlei Existenzmöglichkeiten, und so darf es nicht wundern, daß freilebende Zecken in diesem Gebiet nur auf engumgrenzten, das ganze Jahr nicht überschwemmten Stellen gefunden werden [11]. Die am häufigsten auftretende Art ist *Dermacentor reticulatus* und, in größerer Entfernung innerhalb eines Robinienwäldchens, *Ixodes ricinus*. Die hinter dem Schilfgürtel sich erstreckenden Weinkulturen mit ihren regelmäßigen Spritzungen von Pflanzenschutzmitteln sind ein ungeeigneter Lebensraum für Zecken.

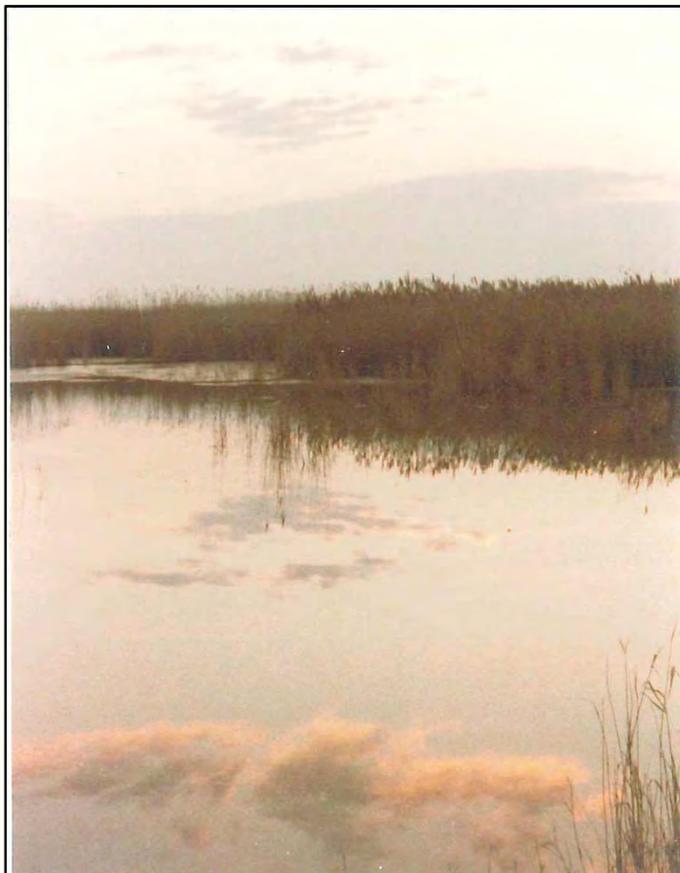


Bild 3 Der Biotop

Es ist daher eine einleuchtende Folge, daß die Virusisolierungsversuche aus den lokalen Zecken wie auch der Antikörpernachweis aus den Sentineltieren und aus fast allen Kleinsäugetern negativ verliefen. Die Zeckenpopulationen und damit die potentiellen Virusherde beschränken sich im Untersuchungsgebiet auf kleinräumige Areale, können aber trotzdem auf Grund der Möglichkeit einer vertikalen Übertragung über Jahre stabile Infektionsquellen bilden. Die potentiellen Wirte müssen, um sich zu infizieren, aktiv in dieses Gebiet eindringen [114]; [130]. Das setzt relativ mobile Vertebratenwirte voraus, eine Bedingung, die die Kleinvögel erfüllen, vielleicht auch Fasanküken und Wiesel, nicht aber die vor dem Haus gefangenen Erd- und Feldmäuse mit ihrem geringen Aktionsradius.

Während die Abundanz von Stechmücken im Untersuchungsgebiet sehr hoch ist [09] und diese sich mehr oder minder gleichmäßig im Schilfgürtel verteilen, liegen grundlegend andere Verhältnisse bei der Abundanz von Zecken vor. Da sich die Untersuchung aus methodischen Gründen überwiegend auf im Schilf lebende Vogelarten erstreckte (75% der untersuchten Vögel), ist das Verhältnis der Sera, die Antikörper gegen zeckenübertragene zu jenen, die Antikörper gegen stechmückenübertragene Arboviren enthielten 1:2. Dies ist aus den oben genannten Gründen leicht erklärbar. Abbildung 15 zeigt auch deutlich den Unterschied zwischen den Anteilen der Proben von im Schilf lebender Vogelarten gegenüber nicht schilflebender Arten, vergleicht man die Arten-Zusammensetzung des Pools aller in dieser Untersuchung getesteten Vogelsera mit der des Pools der gegen zeckenübertragene Antigene positiv getesteten Sera. Dies ist auf den hohen Anteil von seropositiven Vögeln zurückzuführen, die nur während des Zuges hier rasten, aber keine Schilfbewohner im strengen Sinne darstellen, und daher in erhöhtem Maße von Zecken befallen werden können.

Ist auch das dauerhafte Überleben einer Zecke im limnischen Schilfgürtel sehr unwahrscheinlich, so erhebt sich dennoch die Frage, wie viele Vögel von heimischen oder tropischen Zecken befallen sind und dann als Verschlepper fungieren könnten. Es sind ungefähr 75 Zeckenarten bekannt, von denen zumindest ein Stadium auf Vögel als Wirte spezialisiert ist. Eine Reihe weiterer Arten parasitiert gelegentlich oder zufällig auf dieser Tiergruppe. Von den heimischen häufigen Arten saugen nur die Larven und Nymphen an Vögeln, die Adulttiere aber an Kleinsäugetern. Der beste

Zeckenbiotop in unseren Breiten, gleichbedeutend mit hohen Populationsdichten der Vertebratenwirte, ist der lockere Mischwald. Es zeigt sich deutlich, daß vor allem in diesem Terrain lebende Vogelarten von diesen Parasiten befallen werden. In der Slowakei liegt bei 75% aller gefangenen Amseln und 46% der Rotkehlchen ein Befall mit Ixodiden vor [41].

Durch die Untersuchung BACHMAYER-SCHAGERLs wird diese Ausführung bestätigt [11]. Von 7000 im selben Untersuchungsgebiet gefangenen Vögeln waren lediglich 216 mit Zecken behaftet. Die häufigste Parasitenspezies war *Dermacentor reticulatus*, gefolgt von *Haemaphysalis concinna*. Die als Überträger von Arbovirosen bedeutendste heimische Art, *Ixodes ricinus*, konnte vor allem an im Wald lebenden Vögeln festgestellt werden. Von einer Amsel sammelte die Untersucherin 141 Larven und Nymphen dieser Zeckenart ab. Ansonsten fanden sich weder adulte Parasiten noch exotische Arten an den untersuchten Wirtstieren. Auch bei früher von SIXL und Mitarbeitern durchgeführten Sammelaktionen im Seewinkel konnten nur autochthone Arten festgestellt werden [127]. Viele tropische Zeckenarten sind prächtig gefärbt und daher sehr auffallend; ihr Fehlen im Untersuchungsgebiet ist aus diesem Grund sehr wahrscheinlich. Das Auftreten ausschließlich autochthoner Arten spricht gegen eine regelmäßige Einschleppung von Zecken durch Vögel. Zahlreiche selbst durchgeführte stichprobenartige Aufsammlungen ergaben kein anderes Resultat. Die oben genannte Untersuchung von Vögeln erfolgte allerdings von Juli bis September, erfaßte daher größtenteils Jungtiere und Herbstzieher. Eine genaue acarologische Untersuchung im Frühjahr während des Nordzuges würde die Frage der Einschleppung tropischer Zecken durch Vögel besser klären helfen.

Andere Autoren stellten im Verlauf ihres Untersuchungszeitraums eine deutliche saisonale Schwankung der Häufigkeit eines Zeckenbefalls fest. Im Juli ist sie am größten; sie nimmt von da an rasch ab. Das korreliert recht gut mit dem Auftreten gegen das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Antigen seropositiver Jungvögel in meinen serologischen Ergebnissen. Schwankungen der Häufigkeit des Zeckenbefalls

von Jahr zu Jahr konnte HOOGSTRAAL bei Sammelaktionen an Zugvögeln in Ägypten feststellen [59]. Dieser, vielleicht von der Großwetterlage abhängige Faktor könnte eine Erklärung für den unregelmäßigen Nachweis des Auftretens von Arbovirusinfektionen sein. Ein illustrierendes Beispiel sind die Ergebnisse dieser Studie mit Bahig/Matruh-Antigen.

Es soll aber nicht vergessen werden, daß, außer Zecken und Stechmücken, noch andere Arthropoden als Virusüberträger in Frage kommen, zumindest auf mechanischem Weg. In Amerika konnte eine Wanze (*Oeciacus vicarius*) als essentielles Glied eines Alphaviruszyklus nachgewiesen werden, bei dem Schwalben das Reservoir bilden [54]. Als Vektoren kommen prinzipiell alle blutsaugenden Organismen in Frage, in der heimischen Fauna speziell Lausfliegen und Mallophagen. Der Mallophagenbefall der Singvögel ist allerdings sehr gering, ein Ergebnis der täglichen intensiven Gefiederreinigung [87]. Ein erhöhter Parasitenbefall läßt auf ein behindertes oder krankes Individuum schließen.

Ganz anders liegen die Verhältnisse allerdings bei koloniebrütenden und/oder auf festen Nistplätzen lebenden Vogelarten. Wir konnten uns davon überzeugen, daß Mehlschwalben regelmäßig und in hohem Ausmaß von Lausfliegen (*Stenopteryx hirundinis*) parasitiert werden. Sie wurden bestimmt nach den Angaben von WEIDNER [155]. Diese und verwandte Arten befallen auch Rauchschwalben, Uferschwalben und andere Vögel [135]. Wir konnten eine Lausfliege unbekannter Art an einer Blaumeise im Winter feststellen. Vor allem in Verbindung mit dem engen Zusammenleben der Wirte in einer Kolonie können diese sehr beweglichen und wendigen, wenn auch flugunfähigen Dipteren für die Verbreitung eines Erregers sorgen [135]. Außerdem werden Uferschwalben von einer ihnen eigenen Zeckenart (*Ixodes lividus*) befallen, die vor allem an Nestlingen und Brutvögeln Blut saugt und ausschließlich auf Uferschwalben als Wirte spezialisiert ist [92]. Diese Zeckenart konnte von SIXL und Mitarbeitern auch im Neusiedlerseegebiet festgestellt werden [127]. Gemeinsam mit dem langen durchschnittlichen Lebensalter der Schwalben liegt darin die Erklärung für die nachgewiesenen hohen Durchseuchungsraten dieser Vogelfamilie liegen.

Der in Abbildung 16 aufgezeigte Unterschied der Anteile an seropositiven Jungtieren zwischen den Testergebnissen des FSME-Virus und des BAH/MTR-

Komplexes ist auch auf Eigenschaften der verwendeten Testsysteme zurückzuführen. Während der HHT lange nach der Infektion persistierende Antikörper erfassen kann, fällt die Nachweisbarkeit von KBR-Antikörpern nach einiger Zeit unter die Grenze einer spezifischen Reaktion. Dies kann man aus der Abbildung 6 in Kapitel 4.7.1 ablesen. Daher reagierten in unseren Untersuchungen ältere, vor längerer Zeit mit BAH/MTR infizierte Tiere serologisch negativ. Das Gleichgewicht verschob sich, im Vergleich zum Ergebnis des serologischen Tests mit FSME-Antigen, zugunsten der Jungtiere. Allerdings läßt die numerisch verschiedene Anzahl seropositiver Jungvögel auch auf Unterschiede in der Abundanz der untersuchten Arboviren schließen. Doch diese These soll im folgenden Kapitel näher diskutiert werden.

6.2 BIONOMIE DER UNTERSUCHTEN ARBOVIREN

6.2.1 Frühsommer-Meningoenzephalitis

Das Virus der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) ist auf Grund seiner humanpathogenen Eigenschaften und seines autochthonen Vorkommens sicherlich das wichtigste Arbovirus Österreichs. Daher sind auch seine Ökologie und geographische Verbreitung im In- und Ausland gut erforscht und bekannt. Das Virus konnte bis in das Jahr 1981 bislang in fast allen europäischen Ländern nachgewiesen werden, wie in Abbildung 17 ersichtlich. Gefunden wurde es in:

Albanien [13]

Bulgarien [04]; [101]; [115]

CSSR [25]; [83]; [109]

Deutschland (BRD+DDR) [01]; [93]; [123]; [126]

Finnland [65]; [97]

Frankreich [53]

Griechenland [99]

Italien [145]; [147]

Jugoslawien [84]

Norwegen [140]

Österreich [107]

Polen [49]

Rumänien [40]

Rußland (europäischer Teil) [75]

Spanien [33]; serologischer Nachweis

Schweden [133]

Schweiz [73]

Ungarn [89]

Die Angaben stellen nur eine Auswahl aus der sehr umfangreichen Literatur dar, die unter dem Gesichtspunkt zusammenfassender Arbeiten über die geographische Verbreitung des Virus in dem genannten Land verfügbar ist.

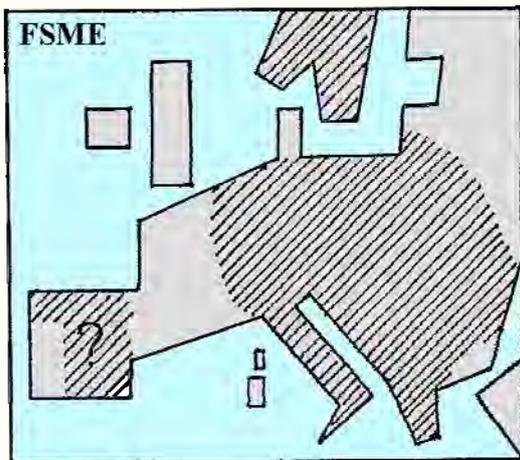


Abb. 17

Das FSME-Vorkommen in Europa

■ FSME-Vorkommen

Das FSME-Virus ist nahe verwandt, aber serologisch unterscheidbar, mit dem Virus der Russian-Spring-Summer Encephalitis und verwandt mit dem auf Großbritannien beschränkten Louping Ill Virus [137]. Für diese Aufspaltung dürften eiszeitliche Verschiebungen der Areale der Wirtstiere, im Besonderen der Vektoren verantwortlich sein [07].

Als Vektoren für das FSME-Virus fungieren mehrere Spezies mehrerer Zeckengenera: *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor* und *Rhipicephalus* [107]. Der wichtigste Vektor in unseren Breiten ist *Ixodes ricinus* (L.), der Gemeine Holzbock. Diese Spezies bevorzugt stark strukturierten Unterwuchs an gedeckten Standorten, sowie Aufforstungen und Kahlschläge in Laub- und Mischwäldern. Das Virus konnte im Burgenland auch aus *Haemaphysalis concinna* isoliert werden [113].

Als hauptsächliche Wirbeltierwirte des Gemeinen Holzbocks kommen, entsprechend den Lebensraumansprüchen der Zecke, Mäuse und Wild in Frage. Tatsächlich parasitieren die Larven und Nymphen auf Murinae, Microtinae und Soricidae, während die Adulttiere auf Rehen und anderen größeren Säugern Blut saugen [107]. Besonders die Kleinsäuger stellen das Vertebraten-Virusreservoir dar. Vögel spielen in diesem recht gut erforschten Kreislauf nur eine untergeordnete Rolle. Allenfalls werden bodenlebende Wald- und Gebüschvögel in den Zyklus einbezogen, z. B. Amseln [27].

Die Verbreitung des Virus ist recht genau bekannt. Verseucht sind in Österreich

die Niederungen der Traun und der Donau bis Wien, ein Teil des Waldviertels und das südliche Wiener Becken, sowie der Grazer und Klagenfurter Raum [107]. Die Ostgrenze der Verbreitung reicht nicht bis an den Neusiedlersee heran, der Seewinkel selbst ist FSME-frei. Dies deckt sich auch mit den erfolglosen Virusisolierungsversuchen in diesem Raum [11].

Die Ergebnisse dieser Studie stimmen mit den bisher erhobenen Befunden überein. Die standortgebundene Kleinsäugerpopulation und das Jagdwild haben keine Antikörper gegen das FSME-Virus, denn es liegt kein Viruszyklus im Seewinkel vor. Die seropositiven Altvögel weisen eine weite Artenstreuung auf, und, abgesehen von den Schwalben, eine Artenverteilung ähnlich der des Gesamtfanges. Diese Tiere werden also mehr oder minder zufällig bei Nahrungssuchflügen oder auf der Rast von Zecken befallen und mit dem Virus infiziert. Bei der Auszählung der seropositiven Altvögel entsprechend der Fangdaten zeigt sich ein deutlicher Gipfel während der Zugzeit. Ich fing in den Frühlingstagen ungefähr 6-mal so viele gegen FSME-Antigen positiv reagierende Alttiere wie im Sommer, wenn ich die Standortpopulation erfaßte.

Die geringe Zahl der seropositiven Jungvögel fügt sich in die niedrige Durchseuchungsrate der Standortpopulation ein. Die eine seropositive Singdrossel sollte außerdem aus den Jungtierergebnissen ausgeklammert werden, da sie am 5. Oktober gefangen wurde und sicherlich ein Tier am Herbstzug war. Sie muß die Infektion nördlich unseres Untersuchungsgebietes erworben haben. Ihr Status spiegelt daher nicht die lokalen Verhältnisse wider. Die beiden Rohrsänger wurden Mitte Juli gefangen, zu einem Zeitpunkt, in dem schon ausgewachsene Jungtiere beider Arten auftreten können, die durchaus zu ausgedehnteren Flügen fähig sind. Denn die Brutzeit der Rohrsänger ist im Mai und Juni, die Brutdauer beträgt 12 bis 14 Tage und die Aufzuchtzeit weitere 14 Tage (Dr. BÖCK, mündl. Mitt.).

Die Erklärung für das Nichtauftreten des FSME-Virus im Schilfgürtel liegt im habitatbedingten Fehlen des Hauptvektors *Ixodes ricinus*. Die anderen, in diesem Gebiet häufiger gefundenen Zecken, *Dermacentor reticulatus* und *Haemaphysalis concinna*, scheinen im Zyklus eine so geringe Rolle zu spielen, daß sie einen Kreislauf bei Fehlen des Hauptvektors nicht aufrecht erhalten können.

Ein Verschleppen des FSME-Virus durch Vögel im Zuge interkontinentaler Wanderungen ist nur in Nord-Süd Richtung denkbar, doch finden sich für eine tatsächliche Verbringung keinerlei Hinweise. Allenfalls spielen Vögel noch als kleinräumige Transportmittel innerhalb des FSME-Verbreitungsgebietes eine Rolle.

Die Untersuchung der Bionomie des Virus ist aus medizinischer Sicht besonders bedeutend, da diese Erkrankung für den Menschen sicherlich die gefährlichste heimische Arbovirose ist. Jahr für Jahr erkranken trotz umfassender Kampagnien für eine Schutzimpfung zwischen 100 und 500 Menschen, bei 10% davon kommt es zu paralytischen Verlaufsformen. Die Letalität beträgt 1 - 2% [77].

6.2.2 Uukuniemi

Das Uukuniemi-Virus (UUK) ist der namensgebende Hauptvertreter der Viren der Uukuniemi-Gruppe [116]. Zu dieser Gruppe gehören auch die Viren Grand Arbaud, Ponteves, Sumakh, Oceanside, Manava und Zaliv Terpenja. Die erste Isolierung des UUK-Virus erfolgte 1959 aus *Ixodes ricinus* in Finnland [96]. Die geographische Verbreitung des Virus erwies sich jedoch als weit größer: Isolierungen, alle aus Ixodiden, liegen aus Polen [158], aus der CSSR [68]; [70]; [72]), Ungarn [90], Norwegen [141], und dem europäischen Teil der UdSSR [47]; [48]; [143]) vor. Auf Grund dieser geographischen Verteilung war auch ein Vorkommen in Österreich zu erwarten, überdies lagen serologische Nachweise schon längere Zeit vor [10]; [127]; [128]). Tatsächlich gelang es auch kürzlich, das Virus in drei Stämmen aus *Ixodes ricinus*, die in Nord-Niederösterreich gesammelt worden waren, zu isolieren [11].

Verwandte Viren konnten aber auch aus taubenschlagbewohnenden Argasiden in Frankreich und Afghanistan isoliert werden – Ponteves und Grand Arbaud [52]; [59].

Das in Pakistan isolierte Manava-Virus [17]; [21] gehört ebenso in die UUK-Supergruppe wie das Sumakh-Virus aus dem Bereich des Ochotskischen Meeres [48], und das Oceanside-Virus von der Westküste Nordamerikas [136]; [159]. Ein aus Zugvögeln gezüchtetes Isolat in Ägypten konnte nachträglich als UUK-Virus identifiziert werden [58]. Die Mitglieder der UUK-Gruppe scheinen zumindest die Nordhalbkugel umspannend aufzutreten, da Nachweise aus der Paläarktischen, Orientalischen und Nearktischen Region vorliegen.

Die Vertebratenwirte des UUK-Virus sind in Finnland vermutlich Vögel. Insgesamt 26 Stämme konnten aus 1383 untersuchten Vögeln isoliert werden, die Artenverteilung der Wirte war dabei für zeckenübertragene Arboviren charakteristisch. Die meisten Isolate stammten von verschiedenen Arten der Gattung *Turdus* [118]; [119]. Durch die hohe Anzahl zeckenbefallener Vögel (10%) sowie die hohe Durchseuchungsrate der Vögel mit UUK-Virus (12,7%) assoziiert man in Finnland das Virus mit dem wichtigsten Vektor, *Ixodes ricinus*, und Vögeln [116]. Trotzdem zeigt in Südfinnland der Fund positiver Rindersera die Wirtsfunktion dieser Säugetiere und die Durchseuchung weiter Landstriche mit dem Erreger an [117]. Die häufigsten und unangenehmsten Blutsauger Finnlands sind jedoch Stechmücken, nicht Zecken. Aus diesen Dipteren konnte das Virus nur einmal, in der Ukraine, - aus *Aedes vexans* - isoliert werden [153]. Allerdings fehlt jeder Hinweis auf eine Vektorfunktion von *Aedes vexans*, die Isolierung dürfte auf eine akzidentell Aufnahme virushaltigen Blutes zurückzuführen sein und ohne epidemiologische Bedeutung sein. In Finnland spielen Stechmücken keine Rolle im Zyklus, da alle Isolierungsversuche aus diesen bisher ergebnislos verliefen [29]. Die Isolate aus dem europäischen Teil Rußlands stammen zum größten Teil aus Amseln (*Turdus merula*) [48], Die in Ägypten gelungene Isolierung aus einem südwärts ziehenden Fitis weist nicht nur auf die geographische Verbreitung des Virus hin, die die zentralen und nördlichen Teile Europas umfaßt, sondern zeigt auch die reale Gelegenheit der Verschleppung durch Vögel auf.

Die in Mitteleuropa durchgeführten serologischen Untersuchungen an Vögeln weisen weitaus geringere Infektionsraten als in Nordeuropa aus. Abgesehen von einem wohl zufälligen Befund aus der CSSR mit nur 37 Serumproben mit hoher Befallsrate (15%) [42] zeigte eine am Neusiedlersee durchgeführte Untersuchung nur eine geringe Durchseuchungsrate der dort vorkommenden Tiere auf [10]. Die Hauptwirte für den Vektor *Ixodes ricinus* stellen in Mitteleuropa Kleinsäuger dar und nur gelegentlich Vögel. Die Isolierungen des UUK-Virus aus Mäusen, *Apodemus sylvaticus*, in Polen [158] und in der CSSR [71] weisen auf deren mögliche Funktion im Viruskreislauf in Zentraleuropa hin. Die in Österreich erfolgte Isolierung aus *Ixodes ricinus* stammt aus dem nördlichen Niederösterreich [11]. Eine andere Österreichische Arbeit beschäftigt sich mit der Möglichkeit der Wirtsfunktion verschiedener Reptilien, speziell der Eidechse *Lacerta agilis*, die in bescheidenem Rahmen als Wirte zeckenübertragener Arboviren in Frage kommen [129]. Ihre Rolle im Ökosystem ist für eine Zecke ähnlich der von Kleinsäugetieren, doch ist ihre Abundanz geringer und ihre Reproduktionsrate niedriger.

Es sei jedoch auf die mögliche vertikale Virusübertragung durch verschiedene Zeckenstadien hingewiesen, die das Virus von den Vertebratenwirten unabhängig macht [67]. Die ökologischen Lebensbedingungen des Virus dürften zumindest in Zentraleuropa ähnlich denen des FSME-Virus sein, diese Tatsache ergibt sich schon daraus, daß beide Viren vorwiegend durch *Ixodes ricinus* übertragen werden. Diese Art ist jedoch nicht explizit ornithophil und in Mitteleuropa nicht auf das Parasitieren an Vögeln angewiesen.

Beim Studium unserer Untersuchungsergebnisse fällt zuerst das Fehlen seropositiver Jungvögel auf, weiters die negativen Kleinsäuger- und Wildsera. Trotz eines bestehenden Zyklus des UUK-Virus in Österreich ist eine Infektion am Neusiedlersee geborener Jungvögel offensichtlich unmöglich, dies ist ein wesentlicher Unterschied zum FSME-Virus. Das beweist, daß die Infektionsherde geographisch nicht nahe genug liegen, um bei der Futtersuche angefliegen zu werden, sie liegen wahrscheinlich im nördlichen Teil Ostösterreichs. Diese Entfernung ist für Jungvögel sicher zu groß, um ohne den Zwang des Zuges überwunden zu werden.

Die größte Anzahl aller gegen dieses Antigen positiv reagierender Vögel, hauptsächlich Rohrsänger und Grasmücken, fingen wir im Frühling. Es handelt sich also um Tiere, die nicht im Seegebiet brüten, sondern nordwärts streben. Das Verhältnis Frühjahrsfänge zu Sommerfänge war beinahe wie 10:1, wie aus Tabelle 8 ersichtlich ist. Eine bemerkenswerte Ausnahme bildet die hohe Anzahl seropositiver Bartmeisen. Diese Vögel wurden zwar auch fast alle im Frühling gefangen, sind aber nur Teilzieher. Die Bartmeisen des Neusiedlerseegebiets haben jedoch die Angewohnheit, im Herbst von ihren Brutplätzen in verschiedene Richtungen abzuwandern. Manche von ihnen kehren nach dieser Jugendwanderung wieder zu ihrem Schlupfport zurück, zusätzlich wandern aber auch ortsfremde Individuen ein. Bevorzugte Austauschräume sind die mährischen Teichgebiete und das Einzugsgebiet der Elbe [26]; [132]. Gerade in diesen Gebieten zirkuliert jedoch das UUK-Virus endemisch, die Infektionen dieser Teilzieher sind daher leicht erklärbar.

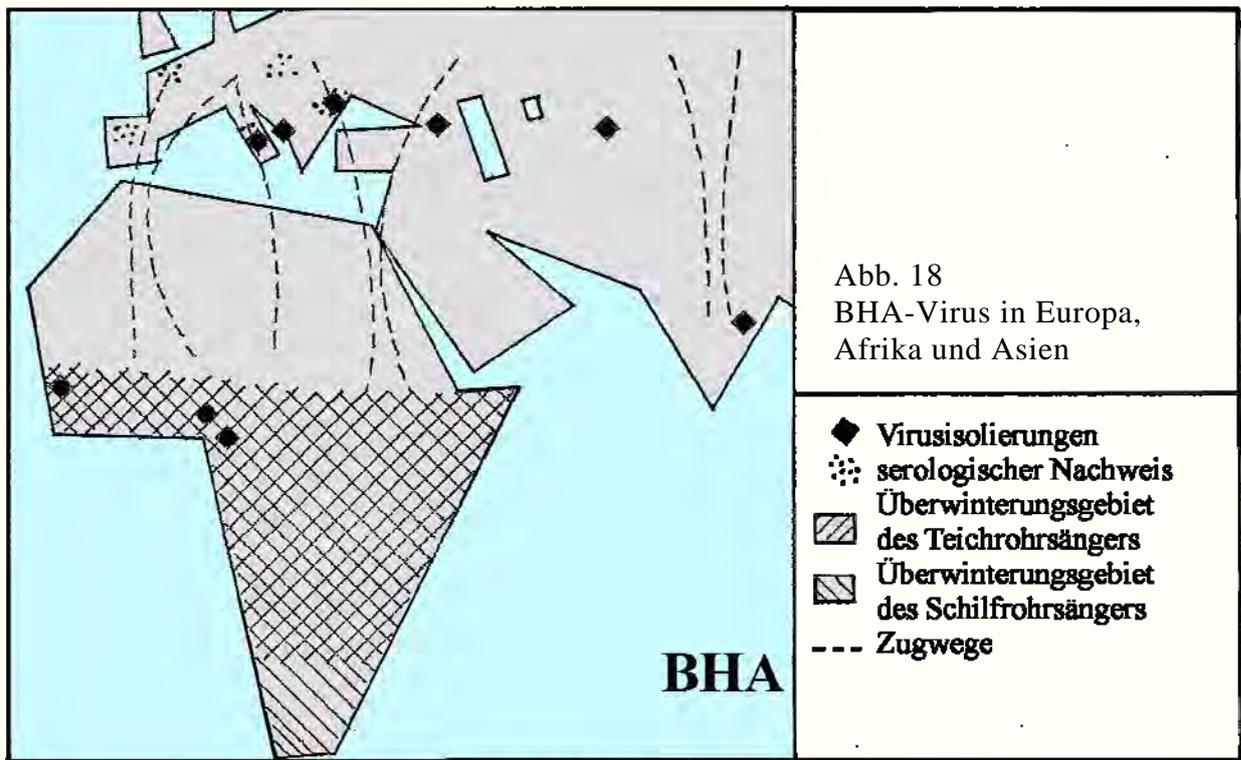
Die serologischen Befunde und die Ergebnisse der Virusisolierungsversuche lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß das UUK-Virus in Zentraleuropa nicht als „Vogelvirus“ bezeichnet werden kann. Die außergewöhnlich hohe Zahl seropositiver, nach Norden strebender Durchzügler, nämlich 12 Vögel, im Vergleich mit nur sieben Teilziehern läßt aber vermuten, daß in Nordeuropa Vögel im Viruszyklus eine entscheidende Rolle spielen. Dies wird von finnischen Autoren so beschrieben. An dieser Stelle sei auch auf andere differierende Eigenschaften der nördlichen und der südlichen Virusstämme hingewiesen: Die unterschiedliche Antikörperantwort des Menschen nach einer Infektion und die ungleiche Wirtsrolle von Rindern [116]. SAIKKU untersuchte die Befallshäufigkeit mit Zecken und die Intensität des Befalls von nordeuropäischen Vögeln und stellte dabei durchwegs höhere Werte fest, als sie bei Untersuchungen im Neusiedlerseegebiet gefunden wurden [118]. Damit wird die Existenz eines Viruskreislaufs zwischen Zecken und Vögeln in Nordeuropa wesentlich wahrscheinlicher als in unseren Breiten. In Mitteleuropa scheinen Singvögel nur ebenso akzidentell von Zecken befallen werden und dann in den UUK-Zyklus einbezogen werden, wie dies auch beim FSME-Virus der Fall ist. Die fast gleich hohen Durchseuchungsraten der heimischen Vögel (UUK:FSME = 0,6%:0,5%) sprechen dafür, daß die Biotope, in denen die beiden Viren vorkommen, sich ähneln. Eine Einschleppung des UUK-Virus in den Schilfgürtel des Neusiedlersees erscheint

mir auf Grund ökologischer Erwägungen unwahrscheinlich zu sein, wenn auch nicht unmöglich; eine interkontinentale Verschleppung ist wohl nur über die häufiger befallenen, nordeuropäischen Zugvögel möglich. Es ist vorstellbar, daß dieses Virus in Mitteleuropa überwiegend nur in den Zeckenpopulationen vertikal übertragen wird und ohne Vertebratenwirte auskommt. Diese Meinung wird vor allem von der Bearbeiterin des Österreichischen Erstisolats, Fr. S. BACHMAYER-SCHAGERL, vertreten.

6.2.3 Bhanja

Die namensgebende Erstisolierung des Bhanja (BHA) Virus erfolgte im Jahre 1954 aus einem Pool von *Haemaphysalis intermedia*-Zecken im Staate Orissa/Indien [125]. Später kamen Isolierungen in Westafrika, Senegal, Kamerun [152], und Nigeria [21] aus Zeckenspezies der Genera Boophilus, Amblyomma und Hyalomma dazu. Aus Armenien und Kirgisistan liegen auch Berichte über Isolierungen vor [66]; [85]. Aber auch in Europa konnte das Auftreten des BHA-Virus nachgewiesen werden: VERANI et al. isolierten das Virus aus *Haemaphysalis punctata* in Zentralitalien [148], dann folgten Isolierungen anderer Autoren in Bulgarien [100]; und Jugoslawien [150]. Ebenso liegen Befunde über seropositive Vertebraten aus Europa vor: Aus der CSSR [14], aus der Bretagne [34], Spanien [33] und Sizilien [02]. Die derzeit bekannte Verbreitung des Virus in Europa ist in der Abbildung 18 ersichtlich.

Die Ökologie des BHA-Virus steht in engem Zusammenhang mit Ziegen und Schafen, allerdings konnte es in Afrika auch aus Kleinsäugetern isoliert werden. Schafe und Ziegen zeigen jedoch die gediegenste Antikörperbildung, und die meisten Isolate stammen von Zecken, die an Ovinen gesaugt hatten [100]; [125]; [146]; [150]. In endemischen Gebieten ließ sich in manchen Schafherden serologisch eine 100%ige Durchseuchungsrate der Tiere feststellen [100]. Nach experimenteller Infektion konnte in Ziegen trotz Antikörperbildung und Erkrankung keine Virämie festge-



stellt werden [149]. Dieser Befund kann aber auch an der angewandten Methodik liegen, da eine experimentelle Infektion einer natürlichen nicht gleichgesetzt werden kann. Möglicherweise stützt sich aber die Persistenz des Virus in einem Gebiet vorwiegend oder ausschließlich auf die vertikale Übertragung. Auch an experimentell infizierten Wildvögeln aus der Ordnung Passeriformes bemerkten HUBALEK und RÖDEL keinerlei Krankheitserscheinungen [64]. Darüber hinaus konnte die Ausbildung einer Virämie nur spurenhaf nachgewiesen werden, während eine Immunantwort prompt erfolgte.

In Europa ist der Hauptvektor des Virus zweifelsohne *Haemaphysalis punctata*, eine weit verbreitete Zeckenart. Aus *Ixodes ricinus* wurde BHA noch niemals isoliert. *Haemaphysalis punctata* ist eine drei-wirtige Art, jedes Stadium sucht also einen neuen Wirt auf. Adulttiere zeigen eine Vorliebe für domestizierte und wildlebende Großsäuger, während sich die Jugendformen ornithophil verhalten [60]; [134]. Die Larven und Nymphen parasitieren an verschiedenen Vogelarten unterschiedslos. Sie können somit auch verschleppt werden. Gefunden wurden diese Jugendformen der Zecken an Zugvögeln in Ägypten während des Herbstes [61]. Diese Eigenschaft

des europäischen Vektors lassen den Schluß zu, daß Vögel bei der Verbreitung des Virus mithelfen, wenn sie selbst auch durch die fehlende Virämie nicht als Reservoire in Frage kommen. Die serologisch gesicherten Vorkommen des Virus in Europa, sowie die erfolgreichen Isolierungen liegen alle innerhalb oder in der Nähe großer Vogelzugstraßen, wie in Abbildung 18 ersichtlich ist.

Bei der Analyse der Ergebnisse der Serologie dieser Studie fällt der überdurchschnittlich hohe Anteil an Rohrsängern auf. Allerdings deckt sich das Überwinterungsgebiet der Rohrsänger zumindest im westlichen Teil Afrikas gut mit den bekannten Virusvorkommen. Leider liegen keinerlei Literaturhinweise für das Auftreten von BHA-Virus in Zentral- und Südafrika vor. Da die Rohrsänger der osteuropäischen Populationen im weiten Umkreis des Viktoriasees überwintern, wie BÖCK in einer mündlichen Mitteilung versichert; [160], wäre nach dem Ergebnis der Serologie in dieser Studie auch dort mit dem Auftreten von BHA-Virus zu rechnen.

Die anderen seropositiven Vögel lassen sich zwanglos einordnen. Schwalben und Ziegenmelker überwintern in denselben Gebieten wie die Schilfrohrsänger; Mariskensänger, Rotkehlchen und Grünfinken verbringen die Wintermonate im Mittelmeerraum. Diese Tiere haben also reichlich Gelegenheit, mit infektiösen Zecken in Kontakt zu treten.

Das Fehlen seropositiver Strich- und Standvögel, vor allem von Bartmeisen, Rohrammern und echten Meisen, läßt den Schluß zu, daß keine größeren endemischen Herde im Verbreitungsareal dieser Arten vorkommen. Leider wird in der tschechischen serologischen Studie nicht angegeben, aus welchen Gegenden des Staatsgebietes die gesammelten Schaf- und Ziegenserum stammen [14]. So ist eine Überprüfung des Schlusses auf das Fehlen von BHA-Virus-Herden in Zentraleuropa; nicht möglich. Ein Auftreten von BHA-Virus könnte Hand in Hand mit einer Art der Landwirtschaft gehen (extensive Schaf- und Ziegenzucht), die in Zentraleuropa nicht praktiziert wird. Auf Grund geringer Bestandsdichten dieser Tiere in Österreich und den benachbarten Gebieten erscheint die Existenz eines endemischen BHA-Herdes unwahrscheinlich.

Das Fehlen seropositiver Jungvögel, Kleinsäuger und Wildtiere weist ebenfalls darauf hin, daß dieses Virus in Ostösterreich nicht heimisch ist. Gestützt wird

diese These durch die ergebnislose Untersuchung von Kleinsäugersera aus Niederösterreich, Oberösterreich und dem Burgenland [11]. Das synökologische Beziehungsgefüge des BHA-Virus muß von dem des FSME-Virus so erheblich abweichen, daß in Ostösterreich sein Auftreten verhindert wird. Dies könnte eine Folge der unterschiedlichen Lebensweisen der Vektoren sein.

Haemaphysalis punctata befällt jedoch nicht nur Schafe und Ziegen, sondern auch den Menschen. Tatsächlich sind BHA-Virusinfektionen des Menschen bekannt, sowohl Laborinfektionen als auch natürliche. Innerhalb von Herdgebieten, wie etwa auf der Insel Brač in Jugoslawien, können lokal begrenzt bei 60% der Bevölkerung Antikörper gegen BHA-Virus nachgewiesen werden [151]. Eine Laborinfektion ging mit Kopf- und Gelenkschmerzen, Fieber und Photophobie einher, dabei trat auch eine Virämie auf [31].

6.2.4 Bahig/Matruh

Die Viren Bahig (BAH), Matruh (MTR), Tete und Tsuruse gehören gemeinsam zur Gruppe Tete. Sie zeigen untereinander deutliche Kreuzreaktionen sowohl im HHT als auch in der KBR und dürften nahe verwandt sein [21]. Das dokumentiert sich auch in der Tatsache, daß alle Viren der Tete-Gruppe aus Vögeln isoliert wurden. Während man früher die Meinung vertrat, daß Stechmücken die Vektoren dieser Gruppe wären, haben neuere Untersuchungen Zecken als Überträger für BAH und MTR, vielleicht auch für Tete, wahrscheinlich gemacht.

Tsuruse-Virus ist in Japan heimisch, Tete in Südafrika, Natal und Nigeria [21]. Über diese Arboviren ist sehr wenig bekannt. Ein Hinweis für das Auftreten von Tete oder einem verwandten, ebenfalls aus Vögeln isolierten Virus findet sich auch in der Kongoregion [122].

Die beiden am häufigsten isolierten Viren der Tete-Gruppe sind Bahig und Matruh. Ihre exakte serologische Trennung stößt auf Schwierigkeiten, die sich auch in meiner Arbeit bemerkbar machten. Da mir die Herstellung eines Hämagglutinins

nicht gelang, dieses aber zur serologischen Differenzierung unerlässlich ist, mußten wir in ein anderes Testsystem ausweichen, - die KBR bot sich an. Mit dieser kann man zwar recht spezifisch Antikörper gegen die Tete-Familie erfassen, eine Aufspaltung in die einzelnen Mitglieder erwies sich jedoch als unmöglich. Die ähnlichen biologischen Eigenschaften der beiden Erreger sprechen überdies dafür, beide nur als zwei Varianten ein und desselben Virus anzusehen. Dies wurde mir von Dr. RADDA mündliche mitgeteilt. Ich fasse sie daher zusammen und behandle sie als Einheit. Dies erweist sich auch beim Studium der vorliegenden Literatur als vorteilhaft, da in einigen Arbeiten eine Trennung der beiden Viren nicht durchgeführt werden konnte.

Die Endemiegebiete von BAH/MTR sind nicht genau bekannt. Isoliert wurden beide Viren aus Singvögeln in Ägypten und Zypern, meist im Herbst. Nur ganz wenige Virusstämme konnten während des Frühjahrszuges isoliert werden [21]. Das Artenspektrum der virämischen Vögel ist besonders breit, eine Bevorzugung einer bestimmten Vogelfamilie ist nicht ersichtlich.

Die überraschend hohe Zahl von Isolierungen während der Herbstzugzeit ließ die Vermutung zu, daß das Infektionsgebiet der Zugvögel im östlichen Europa oder westlichen Nordasien liegen müsse [154].

Einen genaueren Hinweis erhielt man durch die Isolierung von BAH und MTR aus Zugvögeln im Herbst in Italien [12]. Die ornithologische Station, in der dieser Vogel gefangen wurde, liegt im Raume Görz und erfaßt Vögel, die im östlichen Europa brüten. Das Virusverbreitungsgebiet muß demnach ebendort liegen.

Umso überraschender erfolgte danach die Isolierung von Bahig aus Larven und Nymphen von *Hyalomma marginatum marginatum*, die in Neapel von einem Pferd abgesammelt worden waren. Allerdings konnte die Herkunft des Tiere nicht genau eruiert werden; es kam, soviel ist sicher, aus dem Norden des Staatsgebietes zu einem Rennen nach Neapel [37].

Mit dieser Isolierung fand sich ein Hinweis auf den europäischen Virusvektor. Zudem konnte die Möglichkeit einer vertikalen Übertragung nachgewiesen werden. Der bis jetzt bekannte gewordene europäische Vektor fügt sich gut in das Bild der

Afrikanischen Zeckenfauna ein. *Hyalomma m. marginatum* ist zwar ein typisch mediterranes Faunenelement, wurde jedoch auf Kamelen und Rindern saugend im Sudan und Nordsomalia gefunden [57]; [102]. Die Vermutung der Verschleppung durch Zugvögel liegt nahe, zumal auch ägyptische Befunde über den Zeckenbefall von Zugvögeln im Herbst ein Überwiegen von Zecken der Gattung *Hyalomma* anzeigen [62]. Mehr als 40% der abgesammelten Zecken wurden als Zecken der Gattung *Hyalomma* bestimmt, die meisten davon waren *Hyalomma m. marginatum*.

Eine ägyptische BAH-Isolierung stammt aus *Hyalomma m. rufipes* [37]. Eine Larve dieser Zecke saugte an einem nordwärts ziehenden Steinschmätzer (*Oenanthe oenanthe*); dieser hat sich den infektiösen Parasiten wahrscheinlich im Überwinterungsgebiet zugezogen. *Hyalomma m. rufipes* gilt als äthiopisches Faunenelement. In Ägypten saugt dieser Parasit mit Vorliebe an Wasserbüffeln [57]. Tatsächlich fanden DARWISH et al. bei einer serologischen Untersuchung von Wasserbüffeln und Schweinen im fraglichen Gebiet 10% gegen BAH/MTR positiv reagierende Rindersera [39]. Das Verbreitungsgebiet der beiden Viren umfaßt also auch Ägypten selbst. Die Verbreitung über Teile Afrikas und Nordosteuropas läßt gemeinsam mit der engen Verbindung der Erreger mit Zugvögeln an eine regelmäßige Verschleppung durch diese Tiergruppe denken. Im nordeuropäischen Endemiegebiet muß allerdings eine andere Zeckenspezies als Vektor fungieren, da *Hyalomma m. marginatum* hier nicht vorkommt. Diese Zeckenart ist ein Bewohner südeuropäisch-zentralasiatischer Halbwüsten-, Steppen- und Berggebiete [60]. Die serologischen Unsicherheiten erschweren die Untersuchungen beträchtlich. Andere, noch unbekannte Mitglieder der Tete-Gruppe können durch Kreuzreaktionen das heutige Bild verzerren oder zu einer Änderung der derzeitigen Auffassung führen.

Die Frage nach der europäischen Lokalisation der Viren stand im Vordergrund meiner Untersuchungen. Dabei konnte wegen der testspezifischen Eigenschaften der KBR keine volle Vergleichbarkeit mit den anderen serologischen Ergebnissen erzielt werden. Durch das relativ frühe Absinken des Antikörpertiters unter die Nachweisbarkeitsgrenze fielen die vor Monaten infizierten Altvögel als unspezifisch oder

negativ aus den Ergebnissen. Das manifestiert sich in der geringen absoluten Zahl positiver Altvögel, nämlich nur fünf Stück. Eine Bevorzugung einer Vogelart ist nicht erkennbar. Es befinden sich darunter allerdings zwei Teilzieher, eine Bartmeise und eine Rohrammer. Diese Tatsache spricht dafür, daß sich der Infektionsherd in geographischer Nähe befinden muß.

Die Jungvögel des Jahres 1979 fügen sich gut in dieses Bild ein: Ein Rotkehlchen, gefangen im späten September, befand sich sicherlich zu diesem Zeitpunkt auf dem Südzug, ebenso eine Beutelmeise, die am Neusiedlersee überwintern wollte. Die Herkunft der im Winter am See weilenden Beutelmeisen ist relativ genau bekannt, es ist das obere Einzugsgebiet der Elbe [26]. In diesem Raum ist also ein Infektionsherd für BAH/HTR zu suchen.

Im Jahre 1980 veränderte sich die Situation vollkommen. Plötzlich traten während der späten Brutzeit Ende Juli seropositive Jungvögel auf. Zwei Rohrsänger, eine Mehlschwalbe und, besonders beachtenswert, ein Fasanküken. Speziell das Fasanküken kann sich die Infektion nur kurze Zeit vor dem Fang und nur in nächster Umgebung geholt haben. Das Lebensalter war noch relativ gering, es konnte noch keine größeren Entfernungen zurücklegen. Es eignete sich auf Grund seiner Lebensweise besonders gut als Zeckenwirt.

Eine Bestätigung der Annahme eines Viruszyklus im Untersuchungsgebiet ergibt sich durch die bei den Kleinsäugetieren erhobenen Befunde. Obwohl nur 6 der 74 Sera in der KBR getestet werden konnten, fiel doch eine Reaktion positiv aus. Ein Großes Wiesel, auch Hermelin genannt, hatte Antikörper gegen BAH/MTR-Antigen. Gefangen wurde das Tier im 2. Drittel des Julis, also genau zu jener Zeit, in der auch die seropositiven Jungvögel auftraten. Das Wiesel ist auf Grund seiner Lebensweise ganz sicher ein besonders gutes Indikatortier. Das Verkommen von BAH/MTR oder einem serologisch nicht unterscheidbaren Virus im Seegebiet kann mittels dieser Befunde postuliert werden.

Der Grund für den möglicherweise nicht stabilen Kreislauf mit schwankender Infektionshäufigkeit der Vertebratenwirte kann nur vermutet werden. Eine Möglichkeit wäre, daß im Jahre 1979 durch reinen Zufall während des Sommers kein seropositiver Jungvogel gefangen wurde. Diese Annahme ist aber eher unwahrscheinlich,

da wir im Juli 1979 immerhin 500 Tiere untersuchten, die, statistisch gesehen, einen Zyklus anzeigen hätten müssen. Zum Vergleich: Im Juli 1980 wurden 1250 Tiere gefangen. Die beiden Jungvögel des Herbstes 1979 waren Tiere auf dem Zug und hatten sich sicher nicht im Seegebiet infiziert. Leider fehlen vergleichbare Daten des Jahres 1980, da im Herbst nicht mehr gefangen wurde. Eine andere Möglichkeit wäre das unregelmäßige Auftreten eines Zyklus im Seewinkel. Vermutlich kann das Virus in zumindest einer Vektorenart vertikal weitergegeben werden und ist deshalb nicht unbedingt auf einen geregelten Vertebratenwirt-Vektor Wechsel angewiesen.

Im Falle eines Virusvorkommens in einem kleinräumigen Fokus ist der Erreger in hohem Ausmaß nur von Veränderungen der Zeckenpopulation abhängig. Die Dichte und die Durchseuchungsrate des Vektors beeinflussen die Dynamik des Viruszyklus. Die Vektordichte ist jedoch von den als Blutspendern dienenden Wirbeltieren und deren Populationsdynamik abhängig [105]. Diese Faktoren können zur unregelmäßigen Nachweisbarkeit von Arboviruszyklen beitragen.

Die Viren der Tete-Gruppe sind auf Grund ihrer Eigenschaften sicher als „Vogelviren“ zu bezeichnen. Der besonders vogelreiche Teil Ostösterreichs, der Neusiedlersee, kann dabei durchaus innerhalb des Endemiegebietes liegen. Das tatsächliche Verbreitungsgebiet dieser Viren in Europa muß jedoch wesentlich ausgedehnter sein, dies läßt sich aus den häufigen Isolierungen in Ägypten und Zypern schließen. Da in Österreich noch niemals über BAH/MTR geforscht wurde, liegt keine vergleichbare Arbeit vor. Über pathogene Eigenschaften dieser Arboviren im Menschen gibt es keine Angaben, eventuelle Reaktionen auf eine Infektion dürften harmloser Natur sein. Das schließe ich aus einer Laborinfektion von mir selbst. Ob eine Bildung von Antikörpern im Menschen auftritt, ist unbekannt, ich selbst konnte in der KBR keine Antikörper in meinem Serum feststellen. Ein volksgesundheitliches Problem stellen die Viren des BAH/MTR Komplex sicher nicht dar.

6.2.5 Crimean-Congo Hemorrhagic Fever

Über das Crimean-Congo Hemorrhagic Fever-Virus (CCHF) liegt ein umfangreiches Schriftenwerk vor. Dieses Virus ist zu den gefährlichsten Krankheitserregern des Menschen zu rechnen und wurde daher genau erforscht. Weil Vögel im Viruskreislauf nicht als Wirte, sondern nur als Verschlepper fungieren können, möchte ich mich auf einige ausgewählte Teilaspekte der Virusbiologie beschränken.

Das CCHF-Virus gehört zusammen mit dem in Pakistan isolierten Hazara Virus in eine Serogruppe [16]; [17]. Diese Gruppe zeigt für Bunyaviridae atypische Bildungen innerhalb der befallenen Wirtszellen und nimmt aus diesem Grund gemeinsam mit der UUK-Gruppe und dem Nairobi Sheep Disease Virus eine isolierte Stellung innerhalb der Familie Bunyaviridae ein [32].

Das Verbreitungsgebiet des CCHF-Virus ist über drei Kontinente verstreut. Das Virus tritt in Süd- und Zentralasien, Nordpakistan und Südindien auf, in Afrika von Senegal über Kamerun und Zentralafrika bis Kenia, jedoch nirgends in einem flächenmäßig größeren, zusammenhängenden Gebiet [60]. Die europäischen Herde sind für meine Untersuchung besonders interessant: Im Südteil der europäischen Sowjetunion ist der Herd auf der Krimhalbinsel namensgebend. Einen Ausbruch der Erkrankung erlebte man in den 50er und 60er Jahren des 20. Jahrhunderts in Bulgarien, VASILENKO und Mitarbeiter meldeten einige hundert Krankheitsfälle [142]; [144]. Ebenso wurden Erkrankungen aus Mazedonien bekannt [55], in Griechenland konnte das Virus aus Zecken isoliert werden und in Schafen und Ziegen serologisch nachgewiesen werden [98]. Serologische Befunde liegen auch aus Frankreich aus Fledermäuse und aus Ungarn aus Rinder) vor [63]; [138].

Das Virus kann nur deshalb so weit verstreut auftreten, weil circa 25 verschiedene Zeckenarten als Vektoren fungieren. In Europa ist der Hauptvektor die mediterrane Art *Hyalomma marginatum marginatum*, deren Verbreitung sich recht gut mit den südeuropäischen Infektionsherden deckt. Lokal können aber auch andere Arten in den Viruszyklus eingeschalten werden (*Ixodes ricinus*, *Haemaphysalis* spp.). Die trans-

ovarielle und die transstadiale Übertragung dieses Virus sind in Zecken nachgewiesen worden [82]. Aus in endemischen Gebieten gefangenen Stechmücken konnte CCHF-Virus noch niemals isoliert werden [35], diese spielen im Zyklus offensichtlich keine Rolle.

Der europäische Hauptvektor, *Hyalomma m. marginatum*, parasitiert an verschiedenen Wirbeltieren, bevorzugt jedoch Hasen und Saatkrähen. In Südosteuropa sind besonders Hasen ein integrierendes Glied des Zyklus, eine Veränderung ihrer Populationsdichte kann zu Infektionen von Menschen führen. Dies geschah nach dem 2. Weltkrieg auf der Halbinsel Krim, als nach kriegsbedingten Verwüstungen die einheimische Bevölkerung auf Jagdwild, unter anderem auf Hasen, als Nahrungsquelle angewiesen war und deren Parasiten auf einen menschlichen Wirt überwechselten [60].

Vögel spielen im Viruskreislauf nur eine indirekte Rolle. Selbst von infektiösen Zecken befallene Vögel zeigen keinerlei Krankheitserscheinungen und keine Antikörperproduktion [20]. Experimentell infizierte Saatkrähen und Tauben zeigen keine erkennbare Immunreaktion auf die Infektion [19]. Berichte über Antikörpernachweise in Vögeln können nach vorliegenden neueren Arbeiten als Irrtümer oder unspezifische Reaktionen angesehen werden. Da sich Vögel höchstwahrscheinlich refraktär gegenüber CCHF-Virus verhalten, kommen sie weder als Reservoir noch als direkter, virämischer Verschlepper in Frage.

Ich untersuchte 3500 Singvogelsera auf Antikörper gegen CCHF-Virus in der KBR. Die meisten dieser Sera stammten von während der Zugzeit gefangenen Tieren. Fast alle diese Vögel überwintern in afrikanischen CCHF-Endemiegebieten oder streifen diese Landstriche während des Zuges. Statistisch gesehen muß diese hohe Zahl untersuchter Sera ausreichen, um bei einer Bildung von Antikörpern nach einer Infektion diese auch nachzuweisen. Doch, abgesehen von einigen gesichert anti-komplementären Sera, reagierte kein einziges in der KBR mit CCHF-Antigen. Meine Ergebnisse können dazu beitragen, die Ansicht über die Unempfänglichkeit der gesamten Klasse der Vögel gegen CCHF-Virus als gesichert erscheinen zu lassen.

Die Bedeutung der Vögel in der Virusverbreitung liegt also im Verschleppen infektiöser Zecken und in ihrer Wirtsrolle für diese Parasiten. Im Untersuchungsgebiet kommt dabei den kleinräumigen Bewegungen der Strich- und Standvögel keinerlei Bedeutung zu, da das Virus in Österreich und dem angrenzenden Ausland wahrscheinlich nicht auftritt. Alle vorliegenden Befunde legen die Schlußfolgerung nahe, daß die in Mitteleuropa bestehenden Biotope den Umweltanforderungen des Virus nicht genügen.

Diese Bedingungen gelten auch für Zecken, die aus Afrika mittels Zugvögel ins Untersuchungsgebiet eingeschleppt werden. Von den 25 verschiedenen Zeckenspezies, die CCHF-Virus übertragen können, sind immerhin fünf europäische und fünf afrikanische Arten ausgesprochen ornithophil [60]. Von den vielen Millionen Zugvögeln können sicherlich einige infektiöse Zecken nach Europa tragen. Doch gerade in einem Schilfgebiet, wie es rund um den Neusiedlersee besteht, ist die Manifestation einer mit tropischen Zecken eingeschleppten Arbovirose unwahrscheinlich.

Von größerer Aussagekraft über die CCHF-Verschleppungsmöglichkeiten wäre eine Untersuchung der in Ostösterreich überwinterten Saatkrähen. Diese Tiere brüten in großen Kolonien im Wolgagebiet und werden stark von *Hyalomma m. marginatum* befallen. Dort finden sich auch wichtige Infektionsquellen des Menschen [60]. Die Saatkrähen sollten auf Parasitenbefall untersucht werden, wobei an eine mechanische Übertragung durch diverse blutsaugende Arthropoden zu denken ist. Besondere Bedeutung dürfte diesem Weg der Einschleppung wohl nicht zukommen, da in Österreich ein enger Kontakt zwischen Saatkrähen und anderen, empfänglichen Wirtstieren, die als Reservoir dienen könnten, während der Winterszeit kaum vorkommt.

Eine genaue Erforschung der Bionomie des CCHF-Virus ist deshalb von besonderer Bedeutung, da dieses Virus eine beträchtliche Gefahr für die Gesundheit des Menschen darstellt. Der typische Krankheitsverlauf ist dreiphasig: Eine Inkubationsperiode, dann plötzlich auftretendes, unregelmäßiges, hohes Fieber und alle typischen Symptome einer Virose, und schließlich ein hämorrhagisches Stadium, das zum Tod führen kann [81]. Die Letalität dieser Erkrankung kann sehr hoch liegen, bis zu 25%, sie hängt vom Virusstamm, vom Alter und der körperlichen Verfassung des Patienten

u.a.m. ab. Der Erreger ist für den Menschen hochpathogen. Im Zustand der Virämie wird er mit allen Körperflüssigkeiten ausgeschieden. Entsprechend gefährlich ist der Umgang mit Patienten, zumal wahrscheinlich alle Infektionswege möglich sind, selbst eine Tröpfcheninfektionen. Besonders gefährdete Berufsgruppen sind in endemischen Gebieten Jäger, Forstarbeiter und Landwirte, Schafscherer, Schlächter und Krankenhauspersonal. In der Sowjetunion steht ein Vakzin zur Verfügung.

6.3 BIOGEOGRAPHIE UND VERSCHLEPPUNG VON ARBOVIREN

Das jetzige Bild der Fauna und Flora Europas ist gemeinhin geprägt durch die Eiszeiten. Die Wiederbesiedelung der in den Warmzeiten freiwerdenden ökologischen Nischen erfolgte von Refugialräumen, aus dem klimatisch begünstigten Mittelmeerraum oder aus den eisfreien sibirischen Landstrichen. Mit den Wirtstieren wanderten aus diesen Gebieten auch deren Parasiten ein, nicht zuletzt auch Arboviren [07].

Auf Grund ihrer Abhängigkeit von Vektoren und Vertebratenwirten muß sich vor der Etablierung eines Arboviruszyklus ein stabiles Wirt-Parasitenverhältnis ausbilden. Doch sind gerade die zeckenübertragenen Arboviren in dieser Konsolidierungsphase im entscheidenden Vorteil, da sie durch die Möglichkeit einer vertikalen Übertragung nur auf das Gedeihen der Zeckenpopulationen angewiesen sind. Diese Tatsache kommt häufig dadurch zum Ausdruck, daß zeckenübertragene Arboviren nur in flächenmäßig extrem kleinen Arealen endemisch zu finden sind. Diese punktförmigen Vorkommen verstreuen sich allerdings über weite Landstriche. Ein einmal eingeschlepptes Virus benötigt nur eine räumlich kleine, ökologisch passende Nische und deren Zeckenpopulation, um auf längere Zeit zu „überleben“.

Von den in Europa auftretenden zeckenübertragenen Arboviren scheiden als Sonderformen alle jene aus meinen Überlegungen aus, die an extreme Biotope angepaßt sind, wie die in Seevögelkolonien zirkulierenden Viren. Mit einiger Sicherheit autochthon sind FSME, Louping Ill, UUK, Tribec und Lipovnik. Diese Viren fügen sich gut in die Charakteristik sibirischer Faunenelemente ein. FSME läßt sich als „milderer“ Subtypus des RSSE-Virus von diesem durch postglaziale Einwanderung ableiten, das Louping Ill-Virus könnte aus einem geographischen Isolat des FSME-Virus entstanden sein. Das UUK-Virus zeigt geographisch-ökologische Varianten (?), die sich im bevorzugten Wirtsspektrum äußern. In Nordeuropa dienen als Viruswirte vor allem Vögel, im zentralen Teil Europas wahrscheinlich Kleinsäuger. FSME, UUK, Tribec und Lipovnik werden vom selben Vektor übertragen, nämlich *Ixodes ricinus*, und treten auch meist in denselben Herden auf, diese Viren stimmen in den wesentlichen Parametern ihrer Bionomie überein.

Bei einigen anderen in Europa zirkulierenden Viren ist eine Einschleppung als wahrscheinlich anzunehmen. Einschleppung durch den Menschen wird nach einer mündlichen Mitteilung von Dr. RADDA im Falle des Eyach Virus (CTV Gruppe) angenommen. Dieses Virus wurde möglicherweise mit einer Einheit von Soldaten aus Amerika eingeschleppt. Weiters kann menschliche Verschleppung im Falle des CCHF-Virus angenommen werden [60]. Zumindest der Eingriff in das Gleichgewicht eines Biotops führte zu den CCHF-Epidemien in Südeuropa. Ob das Virus selbst erst mittels Transporten dorthin gelangte und weiter zirkulierte, oder bereits vor der Landschaftsveränderung endemisch war, ist ungeklärt, doch wird ersteres vermutet. Die geringe Zahl der sicher als autochthon erkannten Arboviren in Europa läßt auf noch zu ungenaue Erforschung dieses Gebietes schließen. Besonders der Mediterranbereich als Rückzugsgebiet der europäischen Fauna während der Eiszeiten muß noch unentdeckte Arboviren beherbergen [07].

Im Falle der Verschleppung von Arboviren durch Vögel kann zwischen zwei Varianten unterschieden werden:

1. Variante: Kleinräumige Ortsbewegungen mobiler Tiere können zur Etablierung neuer Herde führen. Da sich die Tiere dann jeweils aus dem ihnen zuzugewandten Biotop in den nächste begeben, z.B. zur Futtersuche, ist die Chance eines Virus, einen artgleichen oder einen ökologisch ebenso gut geeigneten Vektor zu finden, relativ groß. Auch Teilzieher und Strichvögel gehören in diese Gruppe an Verschleppern, sie werden im Herbst lange genug von Zecken parasitiert, um einen Transport beim Aufsuchen ihrer Winterquartiere durchführen zu können. Aber auch der Weg vom Winter- ins Sommerquartier ist möglich, da Zecken schon im frühen April aktiv werden können [60]. Mit Hilfe mobiler Kleintiere wie Igel, Waldmäuse und Kleinvögel, lassen sich zwanglos die verstreut auftretenden Foci zeckenübertragener Arboviren erklären.
 2. Die andere Variante ist die interkontinentale Verschleppung durch den Vogelzug. Diese ist in Nord-Süd Richtung und umgekehrt möglich, andere Richtungen sind praktisch auszuschließen. Fliegen jährlich etwa doppelt so viele Tiere von
-

Europa nach Afrika wie in die umgekehrte Richtung, so ist im tropischen und subtropischen Bereich durch die höhere Arthropodendichte auch mit einer höheren Arbovirendichte zu rechnen. Ein mehr oder minder regelmäßiger Transport von Arboviren und/oder infektiösen Zecken ist wahrscheinlich.

Befunde aus dem Norden Europas, aus Finnland, zeigen jedoch, daß nur sehr wenige Vögel mit Zecken behaftet sind, nur etwa 2% [95]; [120]. Darunter findet sich nur ein einziger Fund von *Hyalomma m. rufipes*. Gemeinsam mit den früher erwähnten Funden tropischer Zecken im Mittelmeerraum, sowie den höheren Infestationsraten von Zugvögeln in Ägypten, liegt der Schluß nahe, daß die Tiere ihre Parasiten im Laufe der Frühjahrsreise verlieren. Dies ist auch aus der Tatsache erklärbar, daß der Frühjahrszug wesentlich länger dauert als der Herbstzug. Die Vögel fliegen kürzere Tagesstrecken und rasten öfters,- sie „bummeln“. Das Abnehmen der Parasitierung der Vögel von den zeckenreichen Tropengebieten bis zu den Zielpunkten ihrer Frühjahrswanderschaft läßt sich gut belegen [58]; [60]; [95]; [120]. Ebenso belegen läßt sich die Verschiebung der nachweisbaren Parasitenspezies: Je höher im Norden Europas die Untersuchung durchgeführt wurde, umso mehr dort heimische Arten konnten gefunden werden. Es ist eine logische Folgerung, daß auch die von den Vektoren abhängigen Arboviren wahrscheinlich nur etappenweise verschleppt werden können - von den Tropen in die Subtropen, vom Mittelmeergebiet nach Zentraleuropa u.s.w. Dabei ist auch der jeweils zu überwindende ökologische Sprung des Virus wesentlich geringer als im Zuge einer transkontinentalen Verschleppung.

Trotzdem muß das Virus, um im fremden Biotop zu „überleben“, rechtzeitig auf einen anderen Vektor und damit vorerst auch auf einen anderen Wirt umsteigen. Dieser ökologische Engpaß ist sicher jene Hürde, die Mitteleuropa vor der Überschwemmung mit auswärtigen Arboviren schützt. Der europäische Winter mit seiner Lähmung des Arthropodenlebens ist für zeckenübertragene Arboviren durch die lange Vektorenlebensdauer und die häufig realisierte Möglichkeit einer vertikalen Übertragung sicherlich von wesentlich geringerer Bedeutung als für stechmückenübertragene Viren. Doch tropische und subtropische Zecken sterben in der kalten

Jahreszeit in Mitteleuropa wohl zumeist ab und damit rottet der Winter alle nicht-mitteleuropäischen Arboviren aus, die nicht rechtzeitig den „Umstieg“ auf einen heimischen Vektor schafften.

Im speziellen Fall der von uns untersuchten Landschaft, des Schilfgürtels des Neusiedlersees, ist, biotopbedingt, ein besonders geringer Zeckenbefall der Vertebraten gegeben. Der Einschleppung ausländischer, zeckenübertragener Arboviren durch schilflebende Zugvögel ist damit ein Riegel vorgeschoben.

7. LITERATURVERZEICHNIS



- [01] ACKERMANN, R., B. REHSE-KÜPPER, R. LÖSER, W. SCHEID (1968): Über die Verbreitung der Zentraleuropäischen Enzephalitis in der Bundesrepublik Deutschland, des Landes Nordrhein-Westfalen. - Jb. 1968: 11 - 30. Westdeutscher Verlag Köln und Opladen.
 - [02] ALBANESE, M., G. DI CUONZO, G. RANDAZZO, S. SRIHONGSE et S. TRINGALI (1971): Survey for arbovirus antibodies in domestic animals of Western Sicily. - Ann. sclavo 13: 641 - 647.
 - [03] AMBROSIUS, H. et W. RUDOLPH (1978): Grundriß der Immunbiologie. - Gustav Fischer Verlag, Jena.
 - [04] ANDONOV, P.S. (1961): The natural focus of Tick-borne encephalitis in Stara Planina. - Khigiena 4: 23 - 25.
 - [05] ASPÖCK, H. (1970): Das synökologische Beziehungsgefüge von Arboviren und seine Beeinflussbarkeit durch den Menschen. - Zbl. Bakt. I Orig. 213: 434 - 454.
 - [06] ASPÖCK, H. (1974): Medizinisch-entomologische Probleme in Mitteleuropa und die Bedeutung taxonomischer und faunistischer Forschung. - Folia Ent. Hungar. 27: 85 - 102.
 - [07] ASPÖCK, H. (1979): Biogeographie der Arboviren Europas. - Beitr. z. Geoökologie d. Menschen, 3. Geomed. Symposium, Geograph. Zschr. Beiheft 51: 11 - 28.
 - [08] ASPÖCK, H. (1980): Die Diagnostik der Toxoplasma Infektionen. - Med. Labor. Bd. 33: 227 - 254
 - [09] ASPÖCK, H., C. KUNZ, G. PRETZMANN (1970): Phänologie und Abundanz der Stechmücken des östlichen Neusiedlersee-Gebietes (Ost-Österreich) in ihrer Beziehung zum Auftreten der durch Stechmücken übertragenen Arboviren. - Zbl. Bakt. I Orig. 214: 160 - 173.
 - [10] ASPÖCK, H., C. KUNZ, O. PICHER, F. BÖCK (1973): Virologische und serologische Untersuchungen über die Rolle von Vögeln als Wirte von Arboviren in Ost-Österreich. - Zbl. Bakt. I Orig. 224: 156 - 167.
 - [11] BACHMAYER-SCHAGERL, S. (1980): Zur Aktivität und Ökologie von durch Zecken übertragenen Arboviren in Österreich. - Dissertation an der Universität Wien.
-

- [12] BALDUCCI, M., P. VERANI, M.C. LOPES, B. GREGORIG (1973): Isolation in Italy of Bahig and Matruh Viruses (Tete Group) from Migratory Birds. - *Ann. Microbiol.* 124 B: 231 - 237.
- [13] BARDOS, V., J. ADAMCORA, S. DEDEL, N. GJINI, B. ROSICKY, A. SYMKOVA (1959): Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. - *J. Hyg. Epid. Microb. Immun.* 3: 277 - 282.
- [14] BARDOS, V., Z. HUBALEK, T. MITTERMAYER (1977): Bhanja Virus Serologic Survey in Czechoslovakia. - *Folia Parasitol.* 24: 381.
- [15] BAUER, K., H. FREUNDL, R. LUGITSCH (1955): Weitere Beiträge zur Kenntnis der Vogelwelt des Neusiedlersee-Gebietes. - *Wiss. Arb. Burgenland* 7: 1 - 123.
- [16] BEGUM, F., C. WISSEMAN J., CASALS (1970a): Tick-borne viruses of West Pakistan IV. Viruses similar to, or identical with Crimean Haemorrhagic Fever (Congo-Semunya), Wad Medani and Pak Argas 461 isolated from ticks of the Changa Manga Forest, Lahore district, and of Hunza, Gilgit agency, West Pakistan. - *Am. J. Epidemiol.* 92: 197 - 202.
- [17] BEGUM, F., C. WISSEMAN, J. CASALS (1970b): Tick-borne viruses of West Pakistan II. Hazara virus, a new agent isolated from *Ixodes redikorzevi* ticks from the Kaghan Valley, W. Pakistan. - *Am. J. Epidemiol.* 92: 192 - 194.
- [18] BEHRENS, F. et R. MAULER (1972): Laboratoriumsblätter für die medizinische Diagnostik (Röteln). - Behringwerke AG. Medizinische Information und Vertrieb, Frankfurt.
- [19] BEREZIN, V.V., H.P. CHUMAKOV, D.N. STOLBOV, A.H. BUTENKO (1971): On the problem of natural hosts of Crimean hemorrhagic fever virus in Astrakhan Region. - *Trudy Inst. Polio. Virus. Entsef. Akad. Med. NaukSSR* 19: 210 - 216.
- [20] BEREZIN, V.V., M.P. CHUMAKOV, S.G. RUBIN, D.N. STOLBOV, A.M. BUTENKO, V.A. BASHKIRTSEV (1969): Contribution to the ecology of Crimean hemorrhagic fever virus in the lower Volga River. - *Mater. Nauchn. Sess. Inst. Polio. Virus. Entsefalitov.* 2: 120 - 122.
- [21] BERGE, T.O. (1975): International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. - 2nd edition. - U.S. Dep. of Health, Education and Welfare. DHEW Publication No. (CDC) 75 - 8301.
-

- [22] BERNDT, R. et W. MEISE (1959): Naturgeschichte der Vögel. - Francksche Verl. Stuttgart: 207 - 373.
- [23] BERTHOLD, P. et D. SCHLENKER (1975): Das Mettnau- Reit- Illmitz Programm - ein langfristiges Vogelfangprogramm der Vogelwarte Radolfzell mit vielfältiger Fragestellung. - Vogelwarte 28: 97 - 122.
- [24] BISHOP, D. et R.E. SHOPE (1979): Bunyaviridae. - Comprehensive Virology 14.
- [25] BLASKOVIC, D. (1970): Tick borne encephalitis in Czechoslovakia; epidemiological and ecological conditions and methods of control. - Arch. Environ. Hlth. 21: 453 - 461.
- [26] BÖCK, F. (1979): Birds of Neusiedlersee. - In: H. LÖFFLER: Neusiedlersee. The Limnology of a shallow lake in Central Europe. - Monographiae Biologicae Vol. 37, The Hague, Boston, London.
- [27] BRUMMER-KORVENKONTIO, M., A. SALHINEN, N. OKER-BLOM (1962): Hemagglutination Inhibiting Antibodies to Tick-Borne Encephalitis Virus in Mammals and Birds. - Acta pathol. et microbiol. scand. Suppl. 154.
- [28] BRUMMER-KORVENKONTIO, M., P. SAIKKU, P. KORHONEN (1970): Studies on tick-borne encephalitis (TBE) viremia and maternal antibodies in the chicken. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 25: 105.
- [29] BRUMMER-KORVENKONTIO, M., P. SAIKKU, P. KORHONEN, J. ULMANEN, T. REUNALA, J. KARVONEN (1973): Arbovirus in Finland IV. Isolation and characterization of Inkoo virus, a Finnish representative of the California Group. - Am. J. Trop. Med. Hyg. 22: 404 - 413.
- [30] BRUUN, B., A. SINGER, C. KÖNIG (1974): Der Kosmos - Vogelführer. - Francksche Verl., Stuttgart.
- [31] CALISHER, C.H. et H.C. GOODPASTURE (1975): Human Infektion with Bhanja virus. - Am. J. Trop. Med. Hyg. 24: 1040 - 1042.
- [32] CASALS, J. (1975): International arbovirus research (Int. Symp. Arbov. Helsinki and Lepolami June 1975). - Med. Biol. 53: 249 - 256.
- [33] CHASTEL, C. et G. ROUGES (1980): Serological evidence of arbovirus infections in small mammals in Spain. - Arthropode borne virus information exchange 38.
-

- [34] CHASTEL, C., H. LAUNAY, G. ROUGES, F. LE GOFF, J.C. BEAUCOURNU (1979): Arbovirus Infektions in Brittany, France. - International Symposium "New Aspects in Ecology of Arboviruses", Smolenice June 1979.
- [35] CHUMAKOV, M.P., A.M. BUTENKO, S.G. RUBIN, V.V. BEREZIN, G.A. KARINSKAYA, S.M. VASILENKO, S.E. SMIRNOVA, V.V. BASHKIRTSEV, M.P. BERBEDENEVA, M.V. BADALOV, D.N. STOLBOV (1972): Question on the ecology of Crimean Congo hemorrhagic fever virus. Mater. 5. Simp. Izuch. Roli Perelletn. Ptits. Rasp. 222-229.
- [36] CLARK, D.S. and J. CASALS (1958): Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod borne viruses. - Am. J. Trop. Med. Hyg. 7: 561 - 573.
- [37] CONVERSE, J. D., H. HOOGSTRAAL, M.I. MOUSSA, H. STEK Jr., M.N. KAISER (1974): Bahig Virus (Tete group) in naturally and transovarially infected *Hyalomma marginatum* ticks from Egypt and Italy. - Arch. Ges. Virusf. 46: 29 - 35.
- [38] CROME, W. (1979): Amandibulata. - Urania Tierreich, Wirbellose Tiere 2. - Urania Verl. Leipzig, Jena, Berlin.
- [39] DARWISH, M.A., I. IMAM, F.M. OMAR, R. EL KARAMANY (1975): Antibodies to certain tick-borne viruses in Egyptian Sera. - J. Egypt. Publ. Hlth. Ass. 50: 37 - 42.
- [40] DRAGANESCU, N., V. GHEORGHI, C. SURDAN (1969): On the presence of group B-arbovirus infections in Roumania III. Incidence in humans of concomitant positive serareactions to several group B-arboviruses. - Rev. roum. inframicrobiol.: 19- 22.
- [41] ERNEK, E., O. KOZUCH, J. NOSEK, J. TEPLAN, C. FOLK (1975): Bird studies in East Slovakia. - Rep. WHO Coll. Center, Inst. of Virol., Bratislava.
- [42] ERNEK, E., O. KOZUCH, M. SEKEYOVA, K. HUDEC, C. FOLK (1971): Antibodies to Arboviruses in Birds in Czechoslovakia. - Acta virol. 15: 335.
- [43] FALKE, D. (1976): Medizinische Mikrobiologie I, Virologie.- Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- [44] FILIPE, A. et J. CASALS (1979): Isolation of Dhori Virus from *Hyalomma marginatum* Ticks in Portugal. - Intervirolog. 11: 124 - 127.
-

- [45] FRANK, W. (1976): Parasitologie. - Eugen Ulmer Verl., Stuttgart.
- [46] FRISCH-NIGGEMEYER, W. (1967): Die chemische Struktur der bei der Adsorption von TBE-Virus an Erythrozyten wirksamen Rezeptorsubstanz. - Arch. Hyg. u. Bakt. 151: 7.
- [47] GAIDAMOVICH, S.Y., I.A. VINOGRAD, V.R. OBUKHOVA (1971b): Isolation in South-West Ukraine of viruses of the Uukuniemi group. - Acta Virol. 15: 333.
- [48] GAIDAMOVICH, S.Y., L.P. NIKIFOROV, V.L. GROMASHEVSKY, V.F. OBUKHOVA, G.A. KLISENKO, V.I. CHERVONSKY, E.E. MELNIKOVA (1971a): Isolation and study of Sumakh virus, a member of the Uukuniemi group, in the U.S.S.R., Acta Virol. 15: 155.
- [49] GORALSKI, H. (1961): Encephalitis in Poland. - Wld. Neurol. 2: 336 - 342.
- [50] GRUMBACH, A. et W. KIKUTH (1969): Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger. - Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- [51] HANNOUN, C. (1968): Arbovirus hemagglutinins differential susceptibility to trypsin. - Nature (London) 219: 753 - 755.
- [52] HANNOUN, C., B. CORNIOU, J. RAGEAU (1970): Isolation in Southern France and characterization of new tick-borne viruses related to Uukuniemi: Grand Arbaud and Ponteves. - Acta Virol. 14: 167 - 170.
- [53] HANNOUN, C., J. CHATELAIN, S. KRANS, J. GUILLON (1971): Isolment du virus de l'encephalite a tiques en Alsace. - C.R. Acad. Sci. (Paris) 272: 766 - 768.
- [54] HAYES, R., D. FRANCY, J. LAZNICK, G.SHITH, E.GIBES (1971): Role of the Cliff Swallow Bug (*Oeciacus vicarius*) in the natural cycle of a Western-Equine Encephalitis - Related Alphavirus. - J. Hed. Entomol. 14: 257 - 262.
- [55] HENEBERG, D., N. HENEBERG, D. CELINA, D. FILIPOVIĆ, Z. MARKOVIĆ, D. ZUBI, B. ZIVKOVIĆ, M. SIMIĆ, S. ZONJIĆ, M. PANTELIĆ (1968): Crimean hemorrhagic fever in Yugoslavia. - Vojnosanit Pregl. 25: 181 - 184.
- [56] HENNEBERG, G. et H. KÖHLER (1961): Praktikum der Virusdiagnostik. - Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- [57] HOOGSTRAAL, H. (1956): African Ixodoidea I. Ticks of the Sudan (with special reference to Equatoria Province and with preliminary reviews of the genera *Boophilus*, *Margaropus* and *Hyalomma*). - Washington, D. C., U. S. Government Printing Office: 1101 pp.
-

- [58] HOOGSTRAAL, H. (1971): Birds as Tick Hosts and as Reservoirs and Disseminators of Tickborne Infections Agents. - Akaroentomol. Symp. Gdansk X, 1971.
- [59] HOOGSTRAAL, H. (1976): Virus and Ticks from Migrating Birds. - 2. Intern. Arbeitskoll. „Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa“, Graz II, 1976.
- [60] HOOGSTRAAL, H. (1979): The epidemiology of tick borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. – J. Med. Entomol. 15: 307 - 417.
- [61] HOOGSTRAAL, H., M.A. TRAYLOR, S. GABER, G. MALAKATIS, E. GUINDY, I. HELMY (1965): Ticks (Ixodidae) on migrating birds in Egypt, spring and fall 1962. - Bull. WHO 30: 355 - 367.
- [62] HOOGSTRAAL, H., M.N. KAISER, M. TRAYLOR, E. GUINDY, S. GABER (1963): Ticks (Ixodidae) on birds migrating from Europe and Asia to Africa 1959-61. - Bull. WHO 28: 235 - 262.
- [63] HORVATH, L.B. (1975): Incidence of antibodies to Crimean haemorrhagic fever in animals. - Acta Microbiol. Hungar. 22: 61 - 63.
- [64] HUBALEK, Z. et P. RÖDL (1979): Experimental Infection of wild Birds with Bhanja Virus. - Intern. Symp. „New Aspects in Ecology of Arboviruses“ Smolenice June 1979.
- [65] KÄÄRIÄINEN, L.E., E. HIRVONEN, N. OKER-BLOM (1961): Geographical distribution of diphasic Tick-borne encephalitis in Finland. - Ann. med. exp. Fenn. 39: 316 - 328.
- [66] KARAS, F.R. (1975): Results of the research on natural foci of arboviruses in the foothill valleys of Kirghizia. - Trudy Kirgiz. nauch. issled. in-ta epid. mikrobiol. i gig. 13: 75 - 77.
- [67] KOLMAN, J. et J. MEERGANSOVA (1972): Transfer of the virus Uukuniemi among the developmental stages of Ixodes ricinus under laboratory conditions. - Folia Parasitol. 19: 4.
- [68] KOLMAN, J. et M. HUSOVA (1971): Virus-carrying ticks Ixodes ricinus in the mixed natural focus of the Central European Tick-borne encephalitis virus (CETE) and Uukuniemi virus (UK). - Folia Parasitol. (Praha) 18: 329 - 335.
-

- [69] KOLMAN, J. et M. HUSOVA (1972): Antibodies against Tick-borne encephalitis and UUK viruses in small mammals in a mixed natural disease focus. - *Folia Parasitol.* 19: 61 - 66.
- [70] KOLMAN, J., D. MALKOVA, A. SMETANA (1966): Isolation of a presumably virus from unengorged *Ixodes ricinus* ticks. - *Acta Virol.* 10: 171 - 172.
- [71] KOZUCH, O., J. RAJCANI, M. SEKEYOVA, J. NOSEK (1970b): Uukuniemi virus in small rodents. - *Acta virol.* 14: 163 - 166.
- [72] KOZUCH, O., M. GRESIKOVA, J. NOSEK, J. CHMELA (1970a): Uukuniemi Virus in Western Slovakia and Northern Moravia. - *Folia Parasitol.* 17: 337 - 340.
- [73] KRECH, U.F. et M. JUNG (1969): Zentraleuropäische Zeckencephalitis in der Schweiz. - *Schw. med. Wschr.* 99: 282 - 285.
- [74] KRIEG, A. (1973): *Arthropodenviren.* - Gustav Thieme Verlag, Stuttgart.
- [75] KUCERUK, V., L. IVANOVA, V. NERONOV (1969): Tick-borne encephalitis. - *Akad, med. Wiss. Moskau:* 171 - 215.
- [76] KUNZ, C. (1974): Arboviren in Europa. - *Beitr. z. Geoökologie des Menschen, Geograph. Zschr.*
- [77] KUNZ, C. (1977): Die Frühsommer Meningoencephalitis (FSME) in Österreich und ihre Verhütung. - *Acta Med. Austriaca* 4: 90 - 92.
- [78] KUNZ, C. et A. RADDI (1976): Klinisch - epidemiologische Bedeutung der Arboviren in Zentraleuropa. - *Med. Klin.* 71: 2195- 2202.
- [79] KUNZ, C. et H. MORITSCH (1961): Zur serologischen Diagnostik der Frühsommer - Meningoencephalitis (FSME). - *Arch. Ges. Virusf.* 11.
- [80] LACK, D. (1943): The Age of some more British Birds. - *Brit. Birds* 36: 193 - 221.
- [81] LESHCHINSKAYA, E.V. (1965): Clinical picture of Crimean hemorrhagic fever (CCHF). - *Tr. Inst. Polio. Virusn. Entsefal. Akad. Med. NaukSSR* 7: 226 - 236.
- [82] LEVI, V. et S. VASILENKO (1972): Study on the Crimean hemorrhagic fever (CCHF) virus transmission mechanism in *Hyalomma pl. plumbeum* ticks. - *Epidemiol. Microbiol. Infekts. Boles* 9: 182 - 185.
- [83] LIBIKOVA, H. (1961): Zeckencephalitis in Europa. - *Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Berlin.*
-

- [84] LIKAR, M. et J. KMET (1956): Virus meningoencephalitis in Slovenia IV. Isolation of virus from ticks. – Bull. WHO 15: 275 - 279.
- [85] MATEVOSYAN, K.Sh., I. SEMASHKO, M. CHUMAKOV (1974): Isolation of Bhanja virus from ticks *Dermacentor marginatus* in Armenian SSR. - Zh. Eksp. Klin. Med. 14: 9 - 13.
- [86] McINTOSH, B.H., D.B. DICKINSON, G.M. McGILLIVRAY, W. MADSEN (1969): Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa V. The response of birds to inoculation of virus. - S. Afr. J. Med. Sci. Vol. 34: 77 - 82.
- [87] MEY-EISENACH, E. (1977): Der Mallophagenbefall von Singvogel. - Der Falke 12: 402 - 404.
- [88] MOHR, R. (1968): Ergebnisse der Beringung deutscher Blaumeisen (*Parus caeruleus*). -Die Vogelwarte 21: 210- 219.
- [89] MOLNAR, E. et T. KUBASZOVA (1966/67): Tick-borne encephalitis; a comparative serological survey in Hungary. - Acta microbiol. Acad. Sci. hung. 13: 289 - 294.
- [90] MOLNAR, E., M. GRESIKOVA, T. KUBASZOVA, L. KUBINYI, J.B. SZABO (1973): Arboviruses in Hungary. - J. Hyg. Epid. Microbiol. Immunol. 17: 1 - 10.
- [91] MOREAU, R.E. (1972): The Palaearctic African bird migration systems. - Academic Press, London, New York.
- [92] MÜLLER, J., W. CIUPA, K.J. SEELIG (1974): Zum Vorkommen von *Ixodes lividus* (Koch) (syn. *I. plumbeus* Leach) auf Uferschwalben (*Riparia riparia* L.) in Kreis Staßfurt. *Hercynia N.F.*, Leipzig 12: 320 - 324.
- [93] MÜLLER, W., S. LÖFLER, B. PREIS (1970): Experimentelle Untersuchungen über das Vorkommen van Arboviren in Unterfranken. 1. Versuche zur Virusisolierung aus Zecken. - Zbl. Bakt. I Orig. 214: 145 - 159.
- [94] NAUCK, E.G. (1975): Lehrbuch der Tropenkrankheiten. - Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- [95] NUORTEVA, P. et H. HOOGSTRAAL (1963): The incidence of ticks (*Ixodoidea*, *Ixodidae*) on migratory birds arriving in Finland during the spring of 1962. -Ann. Med. exp. Fenn. Vol. 41: 4.
-

- [96] OKER-BLOM, N., A. SALMINEN, H. BRUMMER-KORVENKONTIO, L. KÄÄRIÄINEN, P. WECKSTRÖM (1964): Isolation of some viruses other than typical Tick-borne encephalitis viruses from *Ixodes ricinus* ticks in Finland. - *Ann. Med. Exp. Fenn.* 42: 109- 112.
- [97] OKER-BLOM, N., L. KÄÄRIÄINEN, M. BRUMMER-KORVENKONTIO, P. WECKSTRÖM (1962): Isolation and occurrence of viruses of the Tick-borne encephalitis complex in Finland. - In: *Proceedings of Symposium on the Biology of Viruses of the Tick-borne encephalitis complex. Smolenice 1962.*
- [98] PAPADOPOULOS, O., G. KOPTOPOULOS (1978): Isolation of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus from *Rhipicephalus bursa* ticks in Greece, - *Acta Microbiol. Hell.* 23: 20 - 28.
- [99] PAVLATOS, M. et C.E.G. SMITH (1964): Antibodies to arthropod borne virus in Greece. - *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 58: 422 - 434.
- [100] PAVLOV, P., B. ROSICKY, Z. HUBALEK, M. DANIEL, V. BARDOS, J. MINAR, Z. JURICOVA (1978): Isolation of Bhanja virus from ticks of the Genus *Haemaphysalis* in Southeast Bulgaria and Presence of Antibodies in pastured Sheep. - *Folia Parasitol.* 25: 67 - 73.
- [101] PAVLOV, P., M. DANIEL, B. GEORGIEV, J. KOLMAN, K. RASHER, D. ARNANDOV, D. IGNATOV (1972): The natural focus of Tick-borne encephalitis of sheep and man in the Rhodope Mountains (Bulgaria). - *Folia Parasitol.* 19(1): 33 - 40.
- [102] PEGRAM, R.G. (1976): Ticks (Acarina, Ixodoidea) of the northern regions of the Somali Democratic Republic. - *Bull. Entomol. Res.* 66: 345 - 363.
- [103] PETERSON, R., G. MOUNTFORT, P.A.D. HOLLON (1978): *Die Vögel Europas.* - P. Parey Verlag, Stuttgart.
- [104] PORTERFIELD, J.S. et J.S. ASH (1966): Arbovirus antibodies in avian sera. - *Nature* 212: 431 - 432.
- [105] PRETZMANN, G. (1965): Bedeutung des Wetters für die Morbidität einer durch Zecken übertragenen Virusinfektion des Menschen. - *Archiv f. Hyg. U. Bakteriol.* 149/2.
- [106] RADDI, A. (1973): Die Zeckenzephalitis in Europa. Geographische Verbreitung und Ökologie des Virus. - *Zschr. f. angew. Zool.* 4: 409 - 462.
-

- [107] RADDI, A. (1975): Geoökologische Gesichtspunkte beim Vorkommen der Frühsommer-Meningoencephalitis. – In: JUSATZ, H.J. (Hrsg): Fortschritte der geomedizinischen Forschung, Beiträge zur Geoökologie der Infektionskrankheiten. Erdkundliches Wissen Heft 35, Franz Steiner Verl. Wiesbaden: 62 - 75.
- [108] Radolfzell Vogelwarte (1976): Berichte und Mitteilungen 2/76. - Max Planck Institut für Verhaltensphysiologie.
- [109] RASKA, K. (1961): Epidemiologie der Zeckenecephalitis in der Tschechoslowakei. - In: H. LIBIKOVA: Zeckenecephalitis in Europa. - Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Berlin: 43 - 53.
- [110] REEVES W.C., W.M. HAMMON, W.A. LONGSHORE Jr, H.E. McCLURE, A.F. GEIB (1962): Epidemiology of the arthropod-borne encephalitides in Kern County, California 1943 - 1952. - Publ. Public Health Univ. Calif. 4: 1-257.
- [111] REEVES, W.C., G.A. HUTSON, R.E. BELLAMY, R.P. SERIVANI (1958): Chronic latent infections of birds with Western Encephalomyelitis Virus. - Proc. Soc. exp. biol. 97: 733 - 736.
- [112] RHEINWALD, G. et H. GUTSCHER (1969): Das Alter der Mehlschwalbe (*Delichon urbica*) in Riet. -Die Vogelwarte 25: 141 - 147.
- [113] RIEDL, H., O. KOZUCH, W. SIXL, E. SCHMELLER, J. NOSEK (1971): Isolierung des Zeckenecephalitisvirus (TBE-Virus) aus der Zecke *Haemaphysalis concinna* (Koch). - Archiv f. Hyg. u. Bakteriologie. 154: 610 - 611.
- [114] ROSICKY, B. (1964): Some basic features of natural focality of diseases in Central and South-Eastern Europe. - Ceskoslovenska parasitologie XI: 15 – 32.
- [115] RUSAKJEV, N., P. ANDONOV, T. KHRISTOVA (1965): Comparative characterization of the landscape features and some other peculiarities of natural foci of Tick borne encephalitis in Bulgaria. Theoretical Questions of Natural foci of Diseases. - Proc. Symp. Prague. Acad. Verl. CSR: 123 - 129.
- [116] SAIKKU, P. (1974a): Uukuniemi Virus. -Academic Diss. Helsingin Yliopiston Monistus Palyeln, Helsinki.
- [117] SAIKKU, P. (1973): Arboviruses in Finland: III Uukuniemi virus antibodies in human, cattle and reindeer sera. - Am. J. Trop. Med. Hyg, 22: 400 - 403.
- [118] SAIKKU, P. (1974b): Passerine birds in the ecology of Uukuniemi virus. - Med. Biol. 52(2): 98 - 103.
-

- [119] SAIKKU, P. et M. BRUMMER-KORVENKONTIO (1973): Arboviruses in Finland: II Isolation and characterisation of Uukuniemi virus, a virus associated with ticks and birds. - *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22: 390 - 399.
- [120] SAIKKU, P., I. ULHANEN, M. BRUHMER-KORVENKONTIO (1971): Ticks (Ixodidae) on migratory birds in Finland, - *Acta Ent. Fenn.* 28: 46 - 51.
- [121] SALOMONSEN, F. (1969): *Vogelzug*. - BLV München.
- [122] SAREAU, P. (1974): Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Banqui. - *Année 1974 Banqui*: 162.
- [123] SCHEIDT, W., R. ACKERMANN, H. BLOEDHORN, R. LÖSER, G. LIEDTKE, N. SKRITIC (1964): Untersuchungen über das Vorkommen der zentraleuropäischen Encephalitis in Süddeutschland. - *Dt. med. Wschr.* 89: 2313 - 2317.
- [124] SEIFRIED, O. (1927): *Die wichtigsten Krankheiten des Kaninchens*. - J.F. Bergmann Verl., München.
- [125] SHAH, K.V. et T.H. WORK (1969): Bhanja virus: A new arbovirus from ticks *Haemaphysalis intermedia* Warburton and Nuttal, 1909 in Orissa. - *Indian J. Med. Res.* 57: 793 - 798.
- [126] SINNECKER, H. (1960): Zeckenencephalitis in Deutschland. - *Zbl. Bakt. I Orig.* A 180: 12 - 18.
- [127] SIXL, W., H. RIEDL, E. SCHMELLER (1971a): Heimische Zecken (Arachnida, Acari). - *Mitt. naturw. Ver. Steiermark* 100: 391 - 393.
- [128] SIXL, W., M. BATIKOVA, D. STÜNZNER, M. SEKEYOVA, B. SIXL-VOIGT, M. GRESIKOVA (1973): II. Haemagglutination-inhibiting antibodies against arboviruses in animal sera, collected in some regions in Austria. - *Zbl. Bakt. Hyg. I Orig A* 224: 303 – 308.
- [129] SIXL, W., M. SEKEYOVA, H. RIEDL (1971b): Ein Fund von Antikörpern gegen Arboviren in *Lacerta agilis*. - *Archiv f. Hyg. u. Bakteriologie* 154(6): 609
- [130] SMITH, C.E.G. (1964a): Factors Influencing the Behavior of viruses in their Arthropodan Hosts. In: TAYLOR, A.E.R. (ed): *Host-parasite relationships in invertebrate hosts*. Blackwell Scientific Press, Oxford: 1 - 31.
- [131] SMITH, C.E.G. (1964b): Factors in the Transmission of Virus Infections from Animals to Man. - *The Scientific Basis of Medicine. Annual Reviews* 1964.
-

- [132] SPITZER, G. (1974): Zum Emigrationsverhalten der osteuropäischen Bartmeise (*Panurus biarmicus ruscicus*). - *Vogelwarte* 27: 186 - 194.
- [133] SVEDMYR, A., G. ZEIPPEL, B. HOLMYREN (1958): Tick-borne meningoencephalitis in Sweden. - *Archiv ges. Virusf.* 8: 565- 576.
- [134] TER-VARTANOV, V.N., V.M. GUSEV, P.A. REZNIK, A.A. GUSEVA, M.N. MIRZOEVA, O.N. BOCHARNIKOV, N.N. BAKEEV (1956): Contribution to the transmission of ticks and fleas by birds. - *Sec. comm. Zool. Zh.* 35: 173 - 189.
- [135] THEODOR, O. et H. OLDROYD (1964): Hippoboscidae. In: E. LINDNER: Die Fliegen der Paläarktischen Region.- Bd XII, E. Schweizerbart Verlagsbuchh., Stuttgart 1965.
- [136] THOMAS, L.A., C.M. CLIFFORD, C.E. YUNKER, J.E. KEIRANS, E.R. PATZER, G.E. MONK, E.R. EASTON (1973): Tickborne viruses in Western North America, I. Viruses isolated from *Ixodes uriae* in coastal Oregon in 1970. - *J. Med. Ent.* 10: 165 - 168.
- [137] THORBURN, H. et H. WILLIAMS (1966): A serological Examination of Scottish Strains of Louping Ill and their relation to other Members of the Complex. - *Archiv f. ges. Virusf.* 19: 155 - 160.
- [138] TKACHENKO, E.A., K. KHANUN, V.V. BEREZIN (1969): Serological investigation of human and animal sera in agar gel diffusion and precipitation (AGDP) test for the presence of antibodies of Crimean hemorrhagic fever and Grand Arbaud virus. - *Mater. 16 Nauchn. Sess. Inst. Polio. Virus. Entsefalitov.* 2: 265.
- [139] TRAAVIK, T. (1977): Improvement of Arbovirus HA Antigens by Treatment with Colloidal Silica Gel and Sonication. - *Archiv of Virology* 54: 223 - 229.
- [140] TRAAVIK, T. (1979): Arboviruses in Norway. -In: E. KURSTAK: Arctic and Tropical Arboviruses. - Academic Press, New York, San Francisco, London.
- [141] TRAAVIK, T., R. MEHL, E.M. PETTERSON (1974): The isolation of an agent related to Uukuniemi virus from Norwegian *Ixodes ricinus* ticks. - *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. Microbiol. Immunol.* 82: 297 - 298.
- [142] VASILENKO, S.M. (1973): Results of the investigation on etiology, epidemiologic features and specific prophylactic of Crimean hemorrhagic fever (CCHF) in Bulgaria. - *Abstr. Inv. Pap. 9. Int. Congr. Trop. Med. Malar. (Athens Oct. 73)* 1: 32- 33.
-

- [143] VASILENKO, S.M. et al. (1972): Uukuniemi viiruse isoleerimisest Puutu ornitoloogiliseh keelualal. - Nöukogude Eesti Tervishoid 2: 116 - 118.
- [144] VASILENKO, S.M., G. KATSAROV, A. MIKHAILOV, M. TEOKHAROVA, V. LEVI, S. LEVI, G. KEBEDZHIEV, I.D. KIROV, M. RADEV (1971): Crimean hemorrhagic fever (CHF) in Bulgaria. - Tr. Inst. Polio. Virusn. Entsefalitov. Akad. Med. NaukSSR 19: 110 - 111.
- [145] VERANI, P. et al. (1979b): Studies on the Occurrence of Tick borne Encephalitis in Italy. - In: Intern. Symp. „New Aspects in Ecology of Arboviruses“, Smolenice June 1979.
- [146] VERANI, P., M. BALDUCCI, M.C. LOPES (1970a): Isolation of Bhanja Virus in Italy and serologic evidence of its distribution in Man and Animals of Different Italian Regions. - Folia parasitol. 17: 367 – 374.
- [147] VERANI, P., M. BALDUCCI, M.C. LOPES (1979a): Arboviruses in Italy. - In: E. KURSTAK: Arctic and Tropical Arboviruses, - Academic Press, New York, San Francisco, London.
- [148] VERANI, P., M. BALDUCCI, M.C. LOPES, G. SACCA (1970b): Isolation of Bhanja virus from Haemaphysalis Ticks in Italy. - Am. J. Trop. Med. Hyg. 19: 103 - 105.
- [149] VERANI, P., M.C. LOPES, M. BALDUCCI, F. SERRA, G. CRIVARO (1971): Arbovirus investigations in Southern Italy (Calabria). - J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol. 15(4): 405 - 416.
- [150] VESENJAK-HIRJAN, J., C. CALISHER, Z. BRUDNJAK, D. TOVORNIK, N. SKRTIC, J. LAZUICK (1977): Isolation of Bhanja Virus from Ticks in Yugoslavia. - Am. J. Trop. Med. Hyg. 26: 1003 - 1008.
- [151] VESENJAK-HIRJAN, J., M. GALINOVIC-WEISGLASS, Z. BRUDNJAK, C. CALISHER, D. TOVORNIK, J. LAZUICK, Z. RENDIC (1980): Island of Brač: - Focus of Arbovirus Infections. - In: VESENJAK-HIRJAN J., J.S. PORTERFIELD, E. ARSLANAGIĆ (edt): Arboviruses in the Mediterranean countries. - Zbl. Bakt. Suppl. 9, Gustav Fischer Verl., Stuttgart, New York: 311 - 317.
- [152] VINOGRAD, I.A., I.A KRASOVSKAIA, G.A. SIDOROVA, A.A. SAZONOV, R. BOSH (1975): Isolation of Bhanja arbovirus from Boophilus decoloratus ticks in Cameroon. - Voprosy Virusol. 1: 63 - 67.
-

- [153] VINOGRAD, I.A., S.Ya. GAIDAMOVICH, O.G. MARUSHCHAK, E.G. ROGOCHIY, I.A. EMDINA, V.R. OBUKHOVA, G.V. BELETSKAYA (1971): Isolation of the Sumakh-Uukuniemi group viruses from arthropods and birds in Chernovitsy region. - Vop. Med. Virusol. 2: 116 - 117.
- [154] WATSON, G.E., R.E. SHOPE, M.N. KAISER (1972): Study of the Role of Migrating Birds in the Distribution of Arboviruses. - Proc. 5th Symp. Publ. House "Nauka", Sib. branch, Novosibirsk: 176 - 180.
- [155] WEIDNER, H. (1971): Bestimmungstabellen der Vorratsschädlinge und des Hausungeziefers Mitteleuropas. - G. Fischer Verl., Stuttgart.
- [156] WHO (1967): WHO Scientific Group on Arboviruses and Human Disease. - WHO Techn. Rep. Ser. No. 369: 9.
- [157] WIESMANN, E. (1978): Medizinische Mikrobiologie. - G. Thieme Verl. Stuttgart.
- [158] WROBLEWSKA-MULARCZYKOWA, Z., W. SADOWSKI, K. ZUKOWSKI (1970): Isolation of arbovirus strains of Uukuniemi type in Poland. - Folia parasitol. 17: 375 - 378.
- [159] YUNKER, C.E. (1975): Tick borne Viruses associated with Seabirds in North America and related Islands. - Med. Biolog. 53: 302 - 311.
- [160] ZINK, G. (1973): Der Zug europäischer Singvögel. Ein Atlas der Wiederfunde beringter Vögel. - Radolfzell 1973.
-

8. ANHÄNGE, IM JAHRE 2018 ZUGEFÜGT

8.1 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1 Zahl der weltweit bekannten Arboviren.....	9
Abb. 2 Studiendesign.....	12
Abb. 3 Arboviruskreislauf nach ASPÖCK	13
Abb. 4 Das synökologische Beziehungsgefüge von Arboviren	16
Abb. 5 Das Untersuchungsgebiet.....	25
Abb. 6 Unterschiede der serologischen Reaktionen der verwendeten Testsysteme	38
Abb. 7 Schema einer KBR.....	45
Abb. 8 Die Kontrollreaktionen einer gelungenen KBR	49
Abb. 9 Relative Fanghäufigkeit der wichtigsten Vogelarten	52
Abb. 10 Gesamtfang nach Jung- und Alttieren getrennt	52
Abb. 11 Die Fangergebnisse nach Jahreszeiten geordnet	53
Abb. 13 Die Artenzusammensetzung des Winterfangs	54
Abb. 12 Der gesamte Fang an Vögeln, in Zugvögel und Strich- und Standvögel getrennt	54
Abb. 14 Anzahl der Seren, die eine bestimmte Titerhöhen in den von mir verwendeten Testsystemen erreichten.....	57
Abb. 15 Der Einfluß des Biotops auf die serologischen Ergebnisse	57
Abb. 16 Die Art- und Altersverteilung der Vögel, von denen die gegen FSME oder BAH/MTR positiven Sera stammen.....	59
Abb. 17 Das FSME-Vorkommen in Europa	68
Abb. 18 BHA-Virus in Europa, Afrika und Asien.....	75

8.2 BILDERVERZEICHNIS

Bild 1 Die Netze für den Vogelfang	26
Bild 1 Der Hämagglutinationshemmungstest	43
Bild 1 Der Biotop	62

8.3 TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1 Europäische, durch Zecken übertragene Arboviren	24
Tab. 2 Exitus und Totfänge während der Fangsaisonen	29
Tab. 3 Untersuchungsdaten der Sentineltiere	33
Tab. 4 Darlegung der Eigenschaften der als Antigene verwendeten Arboviren	39
Tab. 5 Ergebnisse der Schachbrettitation	47
Tab. 6 Ergebnisse des Vogelfangprogramms	51
Tab. 7 Serologische Ergebnisse des Vogelfangprogramms	56
Tab. 8 Anzahl und Prozentpunkte von Antikörper-hältigen Sera, nach Fangperioden differenziert	58
Tab. 9 Die Zahlen getesteter Sera von Kleinsäufern, nach Arten und Testsystemen	60
Tab. 9 Die Zahlen getesteter Sera von Kleinsäufern, nach Arten und Testsystemen	60
Tab. 10 Die Sera der Sentineltiere	61

8.4 FACHBEGRIFF-VERZEICHNIS

- Abundanz Ökologischer Begriff: Die Anzahl der Individuen einer Art, bezogen auf ihr Habitat. Als Adjektiv: Im gegenständlichen Habitat häufig vorkommend.
- autochthon Als epidemiologischer Begriff: An Ort und Stelle entstandene Infektion. Als biologischer Begriff: Eine autochthone Art ist eine an Ort und Stelle aus einer Vorläuferart entstandene Art. Das Evolutionszentrum und das betrachtete geografische Verbreitungsgebiet stimmen überein.
- Bionomie Biologischer Begriff: Deskriptive Erkundung des gesetzmäßigen Ablaufs der Lebensweise von Organismen.
- Biotop Ökologischer Begriff: Funktional wahrgenommene Vereinigungsmenge der Habitate einer Lebensgemeinschaft.
- Fang Wirbeltiere, die innerhalb einer Periode gefangen wurden.
- hämorrhagisch .. Medizinischer Begriff: Ins Gewebe blutend oder Gewebsblutungen auslösend.
- Hauptwirt Jener Wirt, der für ein bestimmtes Stadium eines Parasiten (Adult- oder Larvalstadium) in der Wildnis eine den Zyklus aufrechterhaltende Rolle spielt.
- Sentineltier Tiere, die dazu verwendet werden, um (Gesundheits-)Risiken für den Menschen zu erkennen und um dann vor der Gefahr rechtzeitig eine Warnung auszusprechen oder eine Abwehrmaßnahme einzuleiten.
- transovarielle Übertragung ... Übergang eines Erregers über das Ei auf die nächste Wirtsgeneration.
- transstadiale Übertragung ... Übergang eines Erregers über ein (Larven-)Stadium auf das nächste Wirtsstadium.
- Vektor Epidemiologischer Begriff: Er ist ähnlich dem des Überträgers, wird aber auch bei nicht-parasitierenden Lebewesen und gelegentlich sogar für eine unbelebte Sache verwendet. Ein Vektor transportiert einen Mikroorganismus oder ein Virus zu einem empfänglichen Wirt.
-

9. CURRICULUM VITAE

Andreas Rudolf Haßl

Geboren wurde ich am 22.10.1957 als erstes von zwei Kindern des Mittelschulprofessorenehepaars Rudolf und Elisabeth Haßl.

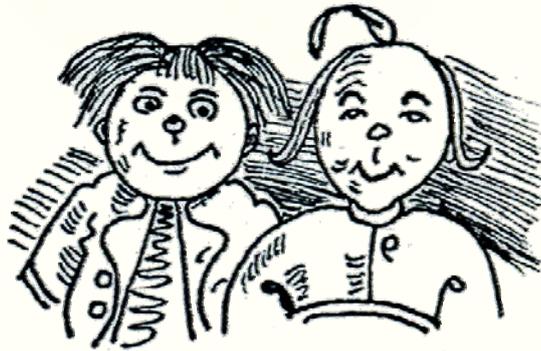
Im September 1963 begann ich meine Schulzeit in der Volksschule Wien VII, Zieglergasse. Nach Beendigung der Volksschule wechselte ich 1967 in das Naturwissenschaftliche Realgymnasium mit Darstellender Geometrie (Wien 7, Kandlgasse) und maturierte dort am 2.6.1975.

Vom Juli 1975 bis Februar 1976 leistete ich meinen Wehrdienst, die Grundausbildung erhielt ich im JgB 25, Klagenfurt, dann wurde ich zum JgB 4, Wien versetzt und rüstete am 29.2.1976 als Gefreiter ab.

Im März 1976 immatrikulierte ich an der Universität Wien und belegte die Fächer Zoologie und Botanik.

Epilog

*Ach was muß man oft von bösen
Kindern hören oder lesen!
Wie zum Beispiel hier von diesen.*



*Welche Max und Moritz heißen.
Die, anstatt durch weise Lehren
Sich zum Guten zu bekehren.
Oftmals noch darüber lachten
Und sich heimlich lustig machten.*

W.B

Zur Erinnerung an meinen Kollegen und Freund
Johann Wojta

