

Usutuvirus

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl. 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C (Hepatitis-G-Virus)* (Bundesgesundheitsbl. 41, 78–90, 1998), *HTLV 1/2* (Bundesgesundheitsbl. 41, 512–517, 1998), *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundheitsbl. 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 240–248, 2000), *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl. 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl. 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q (query)-Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 48, 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl. 48, 1082–1090, 2005), *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl. 50,

1184–1191, 2007), *Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien)* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1192–1207, 2007), *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 51, 90–97, 2008), *Malaria* (Bundesgesundheitsbl. 51, 236–249, 2008), *Arboprotzoen* (Bundesgesundheitsbl. 52, 123–146, 2009), *Orthopockenviren: Infektionen des Menschen* (Bundesgesundheitsbl. 53, 957–972, 2010), *Humanes Cytomegalievirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 53, 973–983, 2010), *Parvovirus B19* (Bundesgesundheitsbl. 53, 944–956, 2010), *Dengue-Fieber-Virus (DENV)* (Bundesgesundheitsbl. 54, 892–903, 2011), *XMRV* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1057–1060, 2012), *Arbonematoden – durch Arthropoden übertragbare Nematoden-Infektionen* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1044–1056, 2012), *West-Nil-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1024–1043, 2012) und *Coxiella burnetii – Erreger des Q (query) Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. im Druck).

1 Wissensstand über den Erreger

Usutuvirus (USUV) wurde erstmals im Jahr 1959 von McIntosh im Rahmen von Studien zum Vorkommen von Viren in Arthropoden in Südafrika aus *Culex neavei* (ursprüngliche Klassifizierung *C. univittatus* Theobald) durch intrazerebrale Inokulation in neugeborene Mäuse isoliert [1]. In den folgenden Jahren wurde dann über weitere Isolate aus Mückenspezies berichtet, unter anderem aus Uganda und westafrikanischen Staaten wie Senegal [2] und der Zentralafrikanischen Republik (Central African Republic, RCA [3]) [1, 4, 5]. Die überwie-

gende Mehrzahl der afrikanischen Isolate stammte von verschiedenen Mückenspezies, unter anderem aus *Culex neavei*, *Culex perfuscus*, *Mansonia africana*, *Mansonia aurites* und *Aedes (Aedimorphus) minutus* ([6], Übersichtsartikel [7]). Man geht davon aus, dass die Verbreitung von USUV im Zyklus zwischen ornithophilen Mücken und Vögeln – vergleichbar zur Epidemiologie von West-Nil-Virus (WNV) – erfolgt [8, 9]. Im Jahr 1981 wurde erstmals USUV von einem Patienten mit Fieber und Hautausschlag in RCA isoliert [5]. Über eine weitere Erkrankung eines Jungen in Burkina Faso im Jahr 2004 berichteten Nikolay et al. [7]. Nach dem Nachweis von USUV in toten Amseln in Österreich im Jahr 2001 wurde dem Erreger erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet. Es hat sich herausgestellt, dass USUV sich in Europa weiter ausbreitet. Besonders das Amselsterben durch USUV in Deutschland im Jahr 2011 [10] und ein kürzlicher Bericht zum Nachweis einer USUV-Infektion in einem Blutspender aus Süddeutschland haben die öffentliche Diskussion weiter verstärkt [11].

1.1 Erregereigenschaften

USUV wird aufgrund der ausgeprägten Kreuzreaktivität in serologischen Testverfahren in den Antigenkomplex (*serogroup*) des Japan-Enzephalitis-Virus (JEV) eingruppiert.

Einige Vertreter dieser Flaviviren sind wichtige Krankheitserreger für Menschen und/oder Tiere, wie der Namensgeber dieser Gruppe JEV, das St. Louis-Enzephalitis-Virus (SLEV), das Murray-

Infobox 1 Genomstruktur von USUV

5'-Cap-UTR-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS5B-NS5-UTR-3'

C Capsid-Protein/Kapsid-Protein, prM Vorläufer des Membranproteins, E Oberflächenglykoprotein (envelope protein), NS Nichtstrukturprotein, UTR nicht translatierte Sequenz (untranslated region), Cap Struktur am 5'Ende. NS1 Inhibitor der Signaltransduktion für die angeborene Immunität. NS2 NS2A notwendig für das Virusassembly und Inhibitor der Aktivierung des IFN- β -Promotors. NS3 multifunktionales Protein: Serinprotease (Kofaktor NS2B), 5'-RNA-Triphosphatase (RTPase), Nukleosid-Triphosphatase (NTPase) und ATP-abhängige RNA-Helikase. NS4 NS4A modifiziert das endoplasmatische Retikulum; NS4B blockiert die IFN-Antwort. NS5 RNA-abhängige RNA-Polymerase, NS-7- und 2'O-Methyltransferase (MTase) zur Methylierung der 5'-RNA-Cap-Struktur

Valley-Enzephalitis-Virus, das WNV und das USUV [9, 12].

Bisher gibt es zu USUV im Vergleich zu anderen Vertretern der Flaviviren wie WNV, Gelbfieber- (Yellow Fever Virus, YFV) und Denguevirus (DENV) keine umfassenden Untersuchungen zu Eigenschaften und zur Vermehrung des Virus. Aufgrund der Genomstruktur kann man jedoch davon ausgehen, dass sich USUV vergleichbar zu anderen Flaviviren wie WNV oder Denguevirus verhält [9, 13].

Wie andere Flaviviren ist das USUV-Partikel umhüllt, wobei sich die Hülle von Membranen der Wirtszelle ableitet. Die Virushülle umschließt das virale Kapsid, das das virale Positivstrang-RNA-Genom mit einer Größe von etwa 11.000 Nukleotiden enthält. Sequenzanalysen von USUV-Isolaten belegen, dass das Genom wie bei allen Flaviviren für ein Polyprotein mit einer Größe von etwa 3400 Aminosäuren kodiert, das durch zelluläre und virale Proteasen in Struktur- und Nichtstrukturproteine prozessiert wird. Die ersten 3 Gene kodieren für die Proteine, die für die Struktur des Virus notwendig sind: das Kapsidprotein (C), das Vorläufer-Membranprotein/Membranprotein (prM/M) und das Hüllprotein (E, *envelope protein*). Der rechte Teil des Genoms kodiert für die viralen Enzyme und regulatorischen Proteine (■ **Infobox 1**).

Das Viruspartikel heftet sich mit dem viralen Hüllprotein E an die Wirtszelle. Die Rezeptoren auf der Zelle, die für Anheftung und Aufnahme in die Zelle verantwortlich sind, sind unbekannt. Die Vermehrung des Virus erfolgt dann in den infizierten Zellen, wie für andere Flaviviren beschrieben [9, 13].

Stabilität

Detaillierte Untersuchungen zur Stabilität von USUV liegen bisher nicht vor. Man kann nach den bisher bekannten Daten zur Stabilität verschiedener Flaviviren wie DENV, YFV, FSMEV und WNV davon ausgehen, dass sich USUV vergleichbar zu diesen Flaviviren im Hinblick auf die Thermostabilität und Empfindlichkeit gegen Alkohole und Detergenzien verhält [14, 15, 16, 17, 18]. Detergenzbehandlung und Behandlung bei niedrigem pH, wie sie bei der Herstellung von Plasmaprodukten verwendet werden, inaktivieren WNV und scheinen daher auch geeignet, USUV zu inaktivieren [19].

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Bisher gibt es nur sehr wenige Berichte über USUV-Infektionen beim Menschen. Aus Afrika (RCA und Burkina Faso) wurde in den 80er-Jahren des vorigen Jahrhunderts über 2 Krankheitsfälle bei Menschen berichtet (s. Übersichtsartikel [7]). Von dem Patienten aus RCA, der Fieber und Hautausschlag hatte, konnte Virus isoliert werden [3]. In Österreich wurden 203 Personen, die aufgrund der epidemiologischen Situation ein erhöhtes Risiko für eine USUV-Infektion aufwiesen und einen Hautausschlag unbekannter Ursache entwickelt hatten, auf USUV-spezifische Antikörper und mit der PCR auf USUV-Nukleinsäure untersucht [20]. Ausgeschlossen waren dabei Patienten mit einer Borrelien-Infektion. Bei 83 dieser Patienten konnten mit dem Hämagglutinationshemmtest Antikörper nachgewiesen werden. Im Plaque-Reduktions-Neutralisations-Test (PRNT)

konnte bestätigt werden, dass 52 dieser Patienten neutralisierende Antikörper gegen USUV hatten. Daraus ergibt sich, dass für etwa 25% der aufgrund der epidemiologischen Situation und anhand von klinischen Symptomen ausgesuchten Patienten Hinweise auf eine Infektion mit USUV vorlagen. Bei einem der Patienten konnte zudem mit der PCR Virusgenom nachgewiesen werden. Die Autoren folgern, dass transienter Hautausschlag ein klinisches Symptom für eine USUV-Infektion ist, dass jedoch keine schwerwiegenden Erkrankungen auftreten.

Bei 2 immunsupprimierten Patienten in Italien, die beide die USUV-Infektion überlebten, wurden im Jahr 2009 schwere Krankheitsverläufe beschrieben. Eine Patientin über 60 Jahre, die nach einer operativen Entfernung eines B-Zell-Lymphoms chemotherapeutisch behandelt worden war, entwickelte nach Beenden der Therapie Fieber und neurologische Symptome [21]. Mit der PCR konnte USUV-Genom nachgewiesen und durch phylogenetische Untersuchungen gezeigt werden, dass der Erreger eng verwandt war mit Isolaten aus Österreich und Ungarn. Ein zweiter Fall betraf eine etwa 40 Jahre alte Patientin, die wenige Tage nach einem Ferienaufenthalt in Ägypten eine thrombotisch-thrombozytopenische Purpura entwickelte, die mit intensivem Plasmaaustausch behandelt wurde. Zwei Wochen später bekam sie hohes Fieber und entwickelte im weiteren Verlauf eine fulminante Hepatitis mit einer rasch progredienten neurologischen Symptomatik bis hin zum Koma, was eine Lebertransplantation erforderlich machte. In einer unmittelbar vor der Transplantation entnommenen Plasmaprobe konnte mittels PCR USUV nachgewiesen werden [22]. Virusisolierung auf Verozellen und Nukleinsäurenachweis mit der PCR belegten eine USUV-Infektion. In beiden Fällen ist bisher unklar, ob die beiden Patienten die USUV-Infektion auf natürlichem Wege oder über USUV-kontaminierte Plasmaspenden erworben hatten und inwieweit das USUV für die schwere Symptomatik verantwortlich war.

In Italien wurden Patienten mit einem Verdacht auf Meningoenzephalitis mithilfe von neu entwickelten PCR-Verfah-

ren auf USUV untersucht [23]. Bei 3 von 44 Patienten konnte in der Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) Virusgenom nachgewiesen werden, jedoch nicht in Plasma oder Serum, die zur gleichen Zeit gewonnen worden waren. Nur einer der Patienten hatte zum Zeitpunkt der Probennahme Antikörper gegen USUV im Serum und in der CSF.

Seroepidemiologische Untersuchungen bei Blutspendern in Italien, die aus einer Region stammten, in der USUV und WNV zirkulierten, zeigten, dass etwa 1% der Spender Antikörper gegen USUV und 15% gegen WNV aufwiesen [24]. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sowohl WNV als auch USUV in Oberitalien zirkulieren und Menschen infizieren können, ohne dass Erkrankungen beobachtet werden.

Infektionen von Vögeln und Mäuseversuche zeigten, dass USUV unterschiedliche Infektionsverläufe in Abhängigkeit von der infizierten Spezies aufweist.

Histologische Untersuchungen der von der USUV-Epidemie in Österreich betroffenen Vögel (Amsel und Bartkauz) ergaben Hepatosplenomegalie, Nekrosen im Nervengewebe, Läsionen im Herzmuskel und Nekrosen in Leber und Milz [25].

Experimentelle Infektionen von Säugtieren zeigen, dass es Unterschiede im Verlauf von USUV-Infektionen im Vergleich zu dem bei WNV-Infektionen gibt. Mäuse entwickeln nach intraperitonealer Infektion mit USUV neurologische Symptome, jedoch nur, wenn sie innerhalb einer Woche nach Geburt infiziert werden [26]. WNV hingegen ist in der Lage, auch ältere Mäuse zu infizieren und letale Erkrankungen hervorzurufen [27]. Frucht-fressende afrikanische Fledermäuse ließen sich experimentell nicht mit USUV infizieren [28].

Seroepidemiologische Untersuchungen bei verschiedenen Vogelspezies weisen darauf hin, dass eine Vielzahl von Vögeln durch USUV infiziert werden kann und Antikörper gegen den Erreger induziert werden, ohne dass die Tiere jedoch Krankheitssymptome entwickeln. USUV vermehrte sich in Gänsen nach experimenteller Infektion. Die Tiere zeigten jedoch keine klinischen Sym-

ptome und schieden nur gelegentlich Virus aus [29]. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei der experimentellen Infektion von Hühnern beobachtet. In einigen der infizierten Tiere ließ sich die Vermehrung von Virus nachweisen, jedoch konnten ebenfalls keine klinischen Symptome beobachtet werden [30]. Hühner werden häufig zur Überwachung der Ausbreitung von Flaviviren wie WNV oder SLEV verwendet [31]. Da nur ein Teil der Tiere Antikörper gegen USUV entwickelte, wurde von den Autoren diskutiert, inwieweit diese Tiere (Sentinel-Hühner) sich für die Überwachung der USUV-Ausbreitung eignen.

1.3 Epidemiologie

Bisher wurde USUV aus verschiedenen Mückenspezies, aus Vögeln und Menschen isoliert bzw. mit Nukleinsäure-nachweisverfahren (NAT) das Vorkommen dieses Erregers in diesen Spezies beschrieben [7]. Die überwiegende Anzahl von afrikanischen USUV-Isolaten wurde aus Mücken und nur wenige aus afrikanischen Vögeln isoliert [Hornvogel (*Bycanistes sharpei*), Grünbühlbül (*Andropadus virens*), Rotschnabeldrossel (*Turdus libonyanus*)]. Diese Vogelspezies sind keine Zugvögel [6]. Über gehäufte Todesfälle bei afrikanischen Vögeln liegen keine Berichte vor. Afrikanische Vögel sind wahrscheinlich zumindest teilweise resistent gegenüber der USUV-Infektion und entwickeln keine Krankheitssymptome.

Unerwartet war der Nachweis von USUV in toten Vögeln im Jahr 2001 in Österreich in Wien und Umgebung [32]. Betroffen waren hauptsächlich Amsel (*Turdus merula*) und Bartkauz (*Strix nebulosa*). In den Jahren 2001 und 2002 breitete sich USUV in der Region um Wien weiter aus. Das von der Veterinärmedizinischen Universität Wien entwickelte Programm zur Überwachung von USUV ermöglichte in den folgenden Jahren ein kontinuierliches Monitoring von USUV-Infektionen. Die Anzahl von toten Vögeln, in denen USUV nachgewiesen wurde, war zwar relativ niedrig, stieg aber im sehr warmen Sommer 2003 stark an [25, 33]. In den folgenden Jahren nahm die Anzahl von toten Vögeln im Vergleich zum Höhepunkt des Vo-

gelsterbens im Jahre 2003 ab, der Erreger breitete sich jedoch vor allem im Osten Österreichs weiter aus [30]. Untersuchungen von frei lebenden Vögeln auf Antikörper gegen USUV ergaben, dass im Jahr 2003 weniger als 10% der untersuchten Vögel neutralisierende Antikörper aufwiesen; der Prozentsatz an positiven Vögeln stieg in den folgenden Jahren jedoch teilweise auf über 50% an [34].

In den folgenden Jahren wurde zunehmend über USUV-Infektionen in Europa bei wild lebenden und in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln berichtet ([10, 30, 32, 35, 36], ■ **Tab. 1**). Ausgehend vom Überwachungsprogramm in Österreich wurden verstorbene Vögel seit 2003 auch in Ungarn auf USUV untersucht. Im Jahre 2005 gelang dann in Budapest der erste Nachweis von USUV in einer Amsel [35].

In Norditalien wurden Antikörper gegen USUV in Seren von einzelnen Sentinel-Hühnern aus den Jahren 2005 und 2007 nachgewiesen [45, 46]. Ebenfalls in Italien wurden Seren von Pferden aus den Jahren 2008 und 2009 auf Antikörper gegen USUV untersucht und Antikörper in Pferden aus der Toskana und Nord-Ost-Italien nachgewiesen [47]. Der direkte Virusnachweis in Italien wurde bei Eulen und Amseln geführt, die in den Jahren 2006 bis 2008 mit klinischen Symptomen, die auf eine Virusinfektion hinwiesen, in Oberitalien verstorben waren [48]. USUV-Antikörper wurden auch bei einem Pferd in Serbien nachgewiesen [42].

In Deutschland gelang 2010 der erstmalige Nachweis von USUV in einem Mückenpool von *C. pipiens*, der 2010 in der Region Weinheim (Baden-Württemberg) gewonnen worden war [39]. Im folgenden Jahr 2011 wurde dann in toten Vögeln, die aus dem oberen Rheintal stammten, USUV nachgewiesen [10].

Diese Befunde belegen, dass sich das Virus seit Beginn des 21. Jahrhunderts in Europa ausbreitet. Die meisten Todesfälle in Zentraleuropa wurden bei Amseln (*Turdus merula*) beobachtet, jedoch wurden auch Todesfälle bei anderen Vogelspezies beobachtet [10, 30, 35, 36]. Seroepidemiologische Untersuchungen von einer Vielzahl von Vögeln belegen zudem, dass einzelne Spezies sich zwar in-

Tab. 1 Nachweis von USUV in Europa				
Region	Säuger	Vögel ^{a,b}	Mücken	Literatur
Italien	Mensch ^{a,b,c} Pferd ^c	Elster (<i>Pica pica</i>) Eichelhäher (<i>Garrulus glandarius</i>) Star (<i>Sturnus vulgaris</i>) Amsel (<i>Turdus merula</i>)	<i>Aedes albopictus</i> , <i>Culex pipiens</i>	[37]
Österreich (2001)	Mensch ^{b,c}	Amsel (<i>T. merula</i>) Bartkauz (<i>Strix nebulosa</i>) Blaumeise (<i>Parus caeruleus</i>) Sperling (<i>Passer domesticus</i>) Kohlmeise (<i>Parus major</i>) Kleiber (<i>Sitta europaea</i>) Rotkehlchen (<i>Erithacus rubecula</i>) Singdrossel (<i>Turdus philomelos</i>)		[30, 38]
Deutschland (2011)	Mensch ^c	Amsel (<i>T. merula</i>) Star (<i>S. vulgaris</i>) Kanarienvogel (<i>Serinus canaria domestica</i>) Sperling (<i>P. domesticus</i>) Bartkauz (<i>S. nebulosa</i>) Eisvogel (<i>Alcedo atthis</i>)	<i>Culex pipiens pipiens</i>	[10, 39]
Schweiz		Sperling (<i>P. domesticus</i>) Amsel (<i>T. merula</i>) Blaumeise (<i>P. caeruleus</i>) Grünfink (<i>Carduelis chloris</i>) Rotkehlchen (<i>Erithacus rubecula</i>) Raufußkauz (<i>Aegolius funereus</i>) Bartkauz/Lapplandeule (<i>S. nebulosa lapponica</i>) Sperbereule (<i>Surnia ulula</i>) Sperlingskauz (<i>Glaucidium passerinum</i>)		[36]
Spanien			<i>Cx. pipiens</i> , <i>Cx. perexiguus</i>	[40, 41]
Ungarn		Amsel (<i>T. merula</i>)		[35]
Serbien	Pferd ^{c,d}			[42]
Tschechien ^e		Antikörper ^d		[43]
Polen ^e		Antikörper ^d		[44]

^aVirusisolierung. ^bGenomnachweis mit der PCR. ^cAntikörpernachweis. ^dEbenfalls mit WNV reaktiv im PRNT. ^eOb die Antikörper durch Infektionen der Vögel in der jeweiligen Region gebildet wurden oder sich die Vögel in Endemiegebieten wie etwa Afrika infiziert hatten, ist nicht klar.

fizieren können, jedoch nicht erkranken oder die Infektion überstehen.

Ornithophile Mücken dienen dabei, vergleichbar zur Epidemiologie von WNV, als Vektor zur Verbreitung des Virus in der Vogelpopulation [9]. Der Nachweis von Antikörpern gegen USUV bei Pferden und Menschen belegt zudem, dass verschiedene Mückenspezies auch als sog. Brückenvektoren dienen können, die sowohl auf Vögeln als auch auf Säugern ihre Blutmahlzeit nehmen können.

Der Nachweis von USUV-Sequenzen und die Isolierung von USUV aus Mücken in aufeinanderfolgenden Jahren weisen darauf hin, dass USUV in verschiedenen Regionen Europas endemisch geworden ist [49]. Diese Aussage wird durch den Nachweis von USUV in erkrankten Vögeln in aufeinanderfolgenden Jahren gestützt. Sentinel-Unter-

suchungen bei Pferden und Hühnern in Italien zeigten zudem, dass Serokonversionen in aufeinanderfolgenden Jahren beobachtet wurden und somit ein weiterer Hinweis auf die Etablierung von USUV gegeben wurde [49].

Phylogenetische Untersuchungen von bisher wenigen USUV-Isolaten aus verschiedenen Regionen und Spezies unter Verwendung von Gesamtgenom-Sequenzen bzw. verschiedenen Genomabschnitten zeigen, dass in Europa unterschiedliche, aber eng verwandte Varianten zirkulieren [10, 35, 40, 47, 50]. In Österreich, Ungarn, der Schweiz und Deutschland zirkulieren eng verwandte Viren, die sich von dem ursprünglich in Südafrika isolierten USUV-Stamm SAAR 1776 unterscheiden lassen. Eng verwandte USUV wurden auch in Nordost-Italien nachgewiesen. In Spanien

wurde jedoch ein USUV-Isolat aus *C. pipiens* gewonnen, das eng mit dem südafrikanischen Stamm SAAR 1776 verwandt ist. Ähnliche Isolate wurden aber auch in italienischen Endemiegebieten gefunden. Dies deutet darauf hin, dass USUV mehrmals aus dem ursprünglichen Verbreitungsgebiet Afrika nach Europa eingeschleppt wurde, möglicherweise durch Zugvögel. Inwieweit diese genetischen Unterschiede auch für das bei Vögeln beobachtete unterschiedliche pathogene Potenzial der Viren verantwortlich sind, ist unklar.

Der Nachweis von USUV in *C. pipiens* weist darauf hin, dass diese Mückenspezies nicht nur USUV auf Vögel übertragen kann, sondern auch als Brückenvektor zur Übertragung auf Säugetiere und den Menschen dienen kann [51]. Man geht davon aus, dass die Einschleppung

von USUV nach Europa durch Zugvögel erfolgt, die sich auf ihrer Wanderung in USUV-Endemiegebieten Afrikas infizieren.

Vögel werden als Reservoir- bzw. Amplifikationswirt für USUV angesehen. Man kann davon ausgehen, dass der enzootische Zyklus vergleichbar zur Ausbreitung von WNV zwischen Wildvögeln und ornithophilen Stechmücken in vielen Feuchtgebieten in den gemäßigten Breiten Europas auftritt. Bisher wurde nicht untersucht, wie hoch die Virusbelastung in virämischen Vögeln sein muss, um Mücken erfolgreich zu infizieren. Von WNV ist bekannt, dass dazu mehr als 10^5 infektiöse Viren/ml Blut notwendig sind.

Die Unterschiede im Verlauf von USUV-Infektionen bei Vögeln in Europa und Afrika könnten dadurch begründet sein, dass USUV in Afrika seit langer Zeit weit verbreitet war und sich Vögel, die in diesen Endemiegebieten lebten, mit dem Erreger fortlaufend auseinandersetzen mussten. Dabei wurden möglicherweise Vögel selektioniert, die eine geringere Empfindlichkeit gegenüber einer Infektion mit USUV aufwiesen. Das Einschleppen von USUV und die sich anschließende Ausbreitung in der Vogelpopulation in Zentraleuropa und im europäischen Mittelmeerraum weist Parallelen zur Epidemiologie von WNV in Amerika auf.

Umfangreiche Untersuchungen zum Infektionsverlauf verschiedener in Europa zirkulierender USUV in infizierten Vögeln oder Säugetieren – einschließlich Mensch – fehlen. Zu bemerken ist, dass bereits in den zurückliegenden Jahren USUV-spezifische Antikörper bei verschiedenen Vögeln nachgewiesen wurden, die in der Regel zu den Zugvögeln gehören. Unklar ist, inwieweit bei diesen Spezies, die zum Überwintern nach Afrika ziehen, bereits eine Selektion von Tieren stattgefunden hat, sodass zwar eine Infektion mit einer Virämie möglich ist, die Tiere jedoch nicht erkranken und daher die Infektion überleben. Solche Vogelspezies wären somit in der Lage, das Virus zu verbreiten [12, 52, 53, 54].

Nachweis von USUV in Stechmücken

In Europa und Afrika wurde in einer Vielzahl von Mückenspezies USUV nachgewiesen. Die Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage Philippsburg (KAPS, German Mosquito Control Association) führt seit 1991 umfangreiche Untersuchungen zur Verbreitung von Mückenspezies im oberen Rheintal durch. Diese Untersuchungen belegen, dass in dieser Region Mückenspezies verbreitet sind, die potenziell USUV zwischen Vögeln, aber auch von Vögeln auf den Menschen oder andere Säugetiere wie das Pferd übertragen können [55]. Der Nachweis und die Isolierung von USUV aus *C. pipiens* belegen, dass USUV bereits im oberen Rheintal zirkuliert [39].

Eine Meldepflicht für den Nachweis von USUV und USUV-assoziierte Erkrankungen besteht nicht. Bei gehäuftem Auftreten von USUV-assoziierten Erkrankungen des Menschen wäre eine Meldepflicht nach § 6 (1) Ziffer 5 a des Infektionsschutzgesetzes gegeben.

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Eine USUV-Infektion kann sowohl durch den Nachweis von spezifischen Antikörpern als auch durch Virusanzucht in Zellkultur bzw. durch den Nachweis von USUV-Genom durch NAT erfolgen. Bisher stehen kommerzielle Nachweissysteme weder für den serologischen Nachweis noch für den der viralen Nukleinsäure zur Verfügung.

Serologischer Nachweis

Da keine spezifischen Antikörpersuchteste für USUV zur Verfügung stehen, werden zurzeit bei der Suche nach Antikörpern WNV-Antikörpersuchteste, beispielsweise ELISA-Teste mit WNV-Antigenen oder WNV-infizierte Zellen verwendet. Eine Abklärung der Spezifität erfolgt anschließend mithilfe des Plaque-Reduktions-Neutralisations-Tests (PRNT). Einzelne Autoren verwenden hauseigene Teste, die auf der Basis von USUV-Antigenen beruhen. Der serologische Nachweis einer akuten USUV-Infektion erfolgt durch Bestimmung von

USUV-spezifischen IgM-Antikörpern im Serum oder in der CSF [24].

Beweisend für eine frische USUV-Infektion ist eine Serokonversion von virus-spezifischem IgM zu IgG bzw. ein vierfacher Antikörperanstieg in 2 im Abstand von etwa 10 Tagen gewonnenen Proben. Um auszuschließen, dass kreuzreagierende Antikörper vorliegen oder falsch-positive Ergebnisse ermittelt wurden, müssen reaktive (positive) Antikörperbefunde durch einen USUV-spezifischen Test abgeklärt werden, vor allem wenn der Antikörpernachweis auf der Basis von Enzymimmunoassays, Immunfluoreszenz- oder Hämagglutinationshemmtesten erhoben wurde. Als Goldstandard für die Bestätigung von USUV-spezifischen Antikörpern und damit den Ausschluss von Antikörpern gegen andere Flaviviren wird der PRNT verwendet. Dass der Nachweis von IgM-Antikörpern möglicherweise eine vergleichbar hohe Rate an falsch-positiven Untersuchungsergebnissen erzielen könnte, wie diese beim Nachweis von IgM gegen WNV in den USA ermittelt wurde, sollte bei der Bewertung von IgM-Nachweisen berücksichtigt werden [56].

Nach den bisher vorliegenden serologischen Untersuchungsergebnissen ist nicht bekannt, welche Rolle Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren für den Nachweis einer USUV-Infektion spielen, z. B. nach Impfung gegen Gelbfieber, Japanische Enzephalitis oder FSME oder aber nach Infektionen mit anderen Flaviviren wie DENV, FSMEV, JEV oder SLEV, die bei Aufenthalt in den entsprechenden Endemiegebieten erworben wurden. Für den Nachweis von Antikörpern gegen WNV wurde gezeigt, dass Kreuzreaktionen auftreten können, die aber in der Regel durch den Nachweis von erregerspezifischen neutralisierenden Antikörpern im PRNT abgeklärt werden können [57, 58, 59].

Ursprünglich wurde USUV durch intrazerebrale Inokulation von Mücken-Homogenaten in neugeborene Mäuse isoliert [1]. Unterschiedliche Empfänglichkeiten für die Infektion von Zellkulturen verschiedener Spezies wurden beobachtet. Einige Zellen wie Vero (Nierenzellen der Grünen Meerkatze), PK15 (Nierenzellen des Schweins) und emb-

ryonale Gänsefibroblasten entwickelten einen ausgeprägten zytopathischen Effekt, während andere Zellen, unter anderem auch Helazellen, sich zwar infizieren ließen, aber keine zytopathogenen Veränderungen zeigten [60]. Inwieweit eine neu etablierte Zelllinie aus der Rötelmaus (*Myodes glareolus*) besonders für die Isolierung von USUV geeignet ist, muss weiter untersucht werden [61]. Für die Untersuchung des Zelltropismus wurde das österreichische Isolat aus einer Amsel verwendet, das auf Verozellen angezüchtet worden war. Keine Virusvermehrung wurde in Hühnerembryofibroblasten oder im embryonierten Hühner-*ei* gefunden [47, 60].

In Ungarn wurde USUV aus toten Vögeln auf embryonalen Gänsefibroblasten und in Italien sowie Deutschland auf Verozellen isoliert [10, 35, 47]. Erfolgreiche Isolierung von USUV aus Mücken in C6/36-Zellen berichteten Jöst et al. [39], während die Isolierung von USUV aus einem PCR-positiven Mückenpool auf Verozellen in Spanien negativ verlief [41].

Inwieweit die beobachteten Unterschiede im Wachstumsverhalten in unterschiedlichen Zellen oder Spezies einen Hinweis auf Unterschiede im Pathopotenzial der USUV geben, sollte weiter untersucht werden.

Nachweis des Virusgenoms

NAT-Verfahren wie die Polymerasekettenreaktion (RT-PCR, Real-Time-PCR) oder Transkriptions-vermittelte Amplifikation (*transcription-mediated amplification*, TMA) haben sich für den Nachweis von viralen Genomen als sensitiv erwiesen. In der Literatur sind verschiedene Verfahren zum Nachweis von USUV-Sequenzen beschrieben; unter anderem werden für die Entwicklung des USUV-spezifischen Genomnachweises in der Regel Sequenzen aus dem NS5-Genombereich verwendet [23, 26]. Von Interesse ist auch die Entwicklung von Pan-Flavivirus-NATs, die es ermöglichen sollen, eine Vielzahl von Flaviviren in klinischen Materialien zu erkennen [10, 62, 63, 64]. In der Pan-Flavivirus-PCR nachgewiesene virale Sequenzen können durch Sequenzierung des PCR-Produktes oder durch die Verwendung virusspezifischer NATs weiter differenziert werden. Eine

Validierung der NAT im Hinblick auf die Sensitivität und Spezifität steht zurzeit noch aus.

Für die weitere Charakterisierung und Differenzierung von NAT-positiven Proben eignet sich die Genom-Sequenzierung mit anschließender phylogenetischer Analyse, die eine molekular-epidemiologische Einordnung der Isolate oder mit der PCR nachgewiesener zirkulirender Viren ermöglicht. So konnte mithilfe der Sequenzierung ein in der WNV-TMA positiver Befund als USUV-Infektion identifiziert werden. Des Weiteren wurde in Italien in einem Mückenpool überraschenderweise eine JEV-Sequenz mit einer Flavivirus-PCR identifiziert [65]. Nachuntersuchungen von Material toter Vögel, die in Italien 1997–2000 gesammelt wurden, enthielten ebenfalls JEV-Sequenzen [66]. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass JEV oder ein mit JEV eng verwandtes Virus in dieser Region vorhanden ist, das möglicherweise durch Zugvögel importiert wurde.

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Bisher wurde nur über wenige USUV-Infektionen bei Menschen berichtet. Bis zum Auftreten von USUV in Europa (Österreich) im Jahre 2001 waren nur 2 Infektionen beim Menschen in Afrika bekannt (Übersichtsartikel [7]). Untersuchungen von Blutspendern in der Region Ferrara (Nordost-Italien), in der WNV-Infektionen beobachtet worden waren, zeigten, dass etwa 16% der Spender (53/359) Antikörper gegen WNV und 4 Spender Antikörper gegen USUV aufwiesen [24]. Retrospektive Befragung der Spender nach Krankheitssymptomen im Zeitraum von 4 Monaten vor der Antikörper-positiven Spende ergab, dass keiner der Spender in diesem Zeitraum Fieber entwickelte. Es wird jedoch diskutiert, dass USUV vergleichbar zu WNV eine Virämie vor Auftreten von IgG entwickelt, über deren Höhe und Dauer bisher jedoch keine Aussagen gemacht werden können. Der Nachweis von USUV-Antikörpern bei einem Blutspender in Deutschland legt nahe, dass USUV auch

in Deutschland auf den Menschen übertragen werden kann, ohne dass Symptome beobachtet werden [11].

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Die bisher vorliegenden Ergebnisse zur Prävalenz und Inzidenz von USUV-Infektionen erlauben keine Definition von Ausschlusskriterien. Inwieweit die allgemeinen Ausschlusskriterien wie Fieber das Risiko einer Übertragung von USUV durch Blut oder Blutprodukte vermindern, ist unklar, da bisher bei den meisten serologisch positiven Personen keine Hinweise auf eine fieberhafte Erkrankung vorliegen.

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Testung von Spenden mit Antikörpersuchtesten wird nicht durchgeführt und erscheint auch nicht sinnvoll, da Antikörper-positiv Spenden in der Regel nur Hinweise auf eine abgelaufene Infektion mit USUV geben. Blut- und Plasmaspenden können mit der PCR oder anderen NAT-Verfahren auf virale RNA getestet werden [23]. Es ist jedoch zu bedenken, dass bisher keine ausreichenden Informationen zur Dauer der USUV-Virämie beim Menschen vorliegen und es zudem nicht gesichert ist, dass USUV durch Blutprodukte übertragen werden kann. Inwieweit beim Blutspenderscreening auch Pan-Flavivirus-NAT-Systeme eingesetzt werden können, die mit vergleichbarer Spezifität und Sensitivität Genome verschiedener Flaviviren (etwa WNV und USUV) in Blut- und Plasmaspenden erkennen, sollte weiter untersucht werden [64].

2.4 Spenderbefragung

Der Aufenthalt in Gebieten, in denen USUV in Mücken, Vögeln oder anderen Spezies nachgewiesen wurde, stellt theoretisch ein Risiko dar, eine USUV-Infektion erworben zu haben. Die Ausbreitung von USUV in der deutschen Vogelpopulation legt jedoch nahe, dass in Zukunft große Gebiete als potenzielle endemische Regionen angesehen werden müssen und

daher eine spezielle Befragung der Spender nicht sinnvoll erscheint.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine spezifische Beratung zu USUV-Infektionen und zur Prophylaxe kann in infektiologischen Zentren oder Tropeninstituten stattfinden.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Bisher wurde nur über wenige USUV-Infektionen bei Menschen berichtet. Bis zum Auftreten von USUV in Europa (Österreich) im Jahr 2001 waren nur 2 Infektionen beim Menschen in Afrika bekannt (Übersichtsartikel [7]). Der Nachweis von USUV-Antikörpern bei Blutspendern in Italien und einem Blutspender in Deutschland legen nahe, dass in der Blutspenderpopulation USUV-Infektionen stattfinden, die aber in der Regel asymptomatisch verlaufen. Ob, in welcher Höhe und für welchen Zeitraum eine Virämie bei einem Blutspender auftreten kann, ist bisher nicht ausreichend untersucht worden und daher unbekannt.

3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Die seroepidemiologischen Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass die bisher in Europa zirkulierenden USUV-Stämme in der Regel zu symptomlosen Infektionen führen. Jedoch legen die Berichte über die Assoziation von USUV-Infektionen und das Auftreten von Hautausschlag nahe, dass milde Symptome nach einer Infektion auftreten können.

USUV kann bei Immunsupprimierten zu schweren neurologischen Erkrankungen führen, die vergleichbar zu Infektionsverläufen mit WNV sind.

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die beiden immunsupprimierten Patienten in Italien, die neurologische Krankheitsverläufe (beispielsweise eine Meningoenzephalitis) entwickelten, überwand die Erkrankung [21, 22]. Inwieweit hinsichtlich des Verlaufs der USUV-Infektion Parallelen zum Verlauf von WNV-Infektionen gezogen werden können, ist angesichts der wenigen bisher bekannt gewordenen Fälle nicht vorhersagbar.

3.4 Therapie und Prophylaxe

Bisher sind nur wenige symptomatische Infektionen mit USUV beim Menschen beobachtet worden, sodass bislang keine Erfahrungen hinsichtlich der Therapie vorliegen. Wie bei anderen Flavivirusinfektionen kann nur eine symptombezogene Therapie erfolgen.

Antivirale Substanzen. Zurzeit gibt es keine USUV-spezifische antivirale Therapie. Die Aufklärung der Struktur viraler Enzyme wie der Helikase liefert Ansätze für die Entwicklung viruspezifischer Therapeutika [67]. Für verschiedene andere Flaviviren werden antivirale Substanzen in verschiedenen Arbeitsgruppen intensiv untersucht (Übersichtsartikel [68, 69, 70]). Ob diese Substanzen auch zur Therapie von USUV-Infektionen eingesetzt werden können, bleibt abzuwarten.

Prophylaxe. Bisher ist nicht bekannt, ob Impfstoffe für die Prophylaxe bei Menschen oder Tieren einschließlich Vögeln in der Entwicklung sind. Die Vermeidung von Mückenstichen in Regionen, in denen USUV endemisch ist oder in denen über Übertragungen von USUV berichtet wird, ist die einzige effiziente Prophylaxe.

3.5 Übertragbarkeit

USUV wird in der Regel durch infizierte Mücken übertragen; andere Übertragungswege sind bisher nicht mit Sicherheit abgeklärt. In Italien wurde ein Nationaler WNV-Überwachungsplan eingeführt, der festlegt, dass alle Blut- und Plasmaspenden in Regionen, in denen WNV zirkuliert, in der Zeit vom 15. Juni bis 15. November mit der PCR untersucht werden. Das betrifft auch die Untersuchung von Gewebe- und Organspenden. Außerdem werden alle Fälle, bei denen aufgrund der Symptome der Verdacht auf eine WNV-Infektion besteht, mit serologischen und virologischen Methoden abgeklärt. Bei den beiden Krankheitsfällen mit USUV bei Immunsupprimierten ist bisher nicht eindeutig geklärt, ob die beiden Patienten sich auf natürlichem Wege oder über Transfusionen infiziert hatten [21, 22].

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Unter der Annahme, dass Infektionen des Menschen mit USUV vergleichbar zu Infektionen mit WNV verlaufen, kann eine Übertragung von USUV durch *nicht* inaktivierte Blutprodukte (Erythrozytenpräparate, Fresh-Frozen-Plasma, Thrombozytenkonzentrate) erfolgen [71, 72], aber nicht durch virusinaktivierte Blutkomponenten oder Plasmaprodukte.

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Für den Nachweis von USUV-RNA stehen bisher keine validierten, kommerziellen NAT zur Verfügung. Antikörperuntersuchungen von Blutspendern in Italien und Deutschland belegen, dass in potenziellen Endemiegebieten USUV-Infektionen stattfanden. Bisher konnte bei der Untersuchung einer begrenzten Anzahl von Spenden vor allem in Endemiegebieten in Italien keine USUV-Virämie mit der PCR nachgewiesen werden.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Die Kapazität der Virusinaktivierung bei der Herstellung von Plasmaderivaten wurde mit relevanten Modellviren ermittelt. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen sind alle untersuchten Flaviviren (Bovines-Virus-Diarrhoe-Virus, FSMEV, WNV) gegenüber den eingesetzten Inaktivierungsverfahren vergleichbar empfindlich [14, 19, 73].

Gepooltes Plasma, das mit dem Solvent/Detergent-Verfahren behandelt wurde, ist sicher, da Flaviviren und andere umhüllte Viren durch das S/D-Verfahren wirksam inaktiviert werden (Übersichtsarbeit [74]). Methylen-Blau in Kombination mit der Photoinaktivierung inaktiviert Flaviviren in Plasma [75]. Amotosalen-Hydrochlorid (Pso-ralen, S-59) und UV-Licht (Intercept-Verfahren) inaktivieren eine Vielzahl von Erregern einschließlich Flaviviren in Plasma und in Thrombozytenpräparaten [76, 77, 78]. Riboflavin in Kombination mit UV-Licht-Behandlung (Mirasol-Verfahren) führte zu einer effektiven Reduktion von WNV sowie von einer Vielzahl anderer Erreger in Plasma und in Thrombozytenkonzentrat [79]. Die Sicherheit von Blutprodukten, die mit den verschiedenen Inaktivierungsverfahren hergestellt wurden, und deren therapeutischer Einsatz wurden in Übersichtsartikeln von Solheim [80] und Rock [81] bewertet.

4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

USUV vermehrt sich in geeigneten Zellkulturen zu hohen Titern. Unter Verwendung des Plaquetests (Bestimmung der *plaque forming units*) oder der Endpunkt-titration (Bestimmung der *tissue culture infectious dose 50%*) kann der Titer infektiöser Partikel ermittelt werden. Experimentell können Blut und Plasmakomponenten mit USUV kontaminiert werden. Die Eliminierung/Inaktivierung von USUV in den verschiedenen Produktions-schritten kann dann durch die

Bestimmung infektiöser Viren erfolgen. Aufgrund der vorliegenden Erkenntnisse verhalten sich alle bekannten Flaviviren vergleichbar gegenüber den verschiedenen Inaktivierungs-/Eliminierungsverfahren. Eine erneute USUV-spezifische Validierung der bisher etablierten Verfahren ist daher nicht angezeigt.

5 Bewertung

Die Ausbreitung des USUV in Europa und auch in Deutschland in verschiedenen Vogelpopulationen und die serologisch und virologisch belegten Infektionen von Menschen erfordern erhöhte Aufmerksamkeit. Ob eine Infektion mit diesem Virus bei immunkompetenten Menschen zu schweren Erkrankungen führt, ist bislang unklar und bedarf weiterer Beobachtung und wissenschaftlicher Auswertung. Die wenigen Krankheitsfälle in Italien waren immer mit einer Immunsuppression verbunden. In Deutschland wurden bisher keine Erkrankungen durch eine USUV-Infektion beobachtet.

Für die Abschätzung des Risikos der Verbreitung von USUV in Deutschland ist, wie für WNV von dieser Arbeitsgruppe bereits vorgeschlagen, eine multidisziplinäre Zusammenarbeit von Biologen (Ornithologen), Entomologen, Veterinärmedizinern und Humanmedizinern sowie Klimaforschern in gemeinsamen, längerfristig angelegten Projekten notwendig [9]. In diesen Projekten können Hinweise auf das Risiko der Verbreitung von USUV und der Einschleppung von WNV und anderen Arboviren gewonnen werden.

Blutkomponenten und Plasmaderivate, die mit validierten Verfahren zur Virusinaktivierung hergestellt werden, sind sicher. Nicht auszuschließen ist jedoch die Möglichkeit der Übertragung des USUV durch nicht inaktivierte Blutkomponenten, auch wenn bislang keine Übertragungen durch Blut in Deutschland nachgewiesen wurden. Personen mit ätiologisch unklaren Enzephalitiden oder Meningitiden sollten daher auf das Vorliegen einer USUV-Infektion untersucht werden. Ebenso könnten Fieber und zentralnervöse Störungen nach Transfusion von nicht inakti-

vierten Blutkomponenten, insbesondere bei Immunsupprimierten, auf eine transfusionsassoziierte USUV-Infektion hinweisen. Differenzialdiagnostisch müssen andere durch Arboviren hervorgerufene Enzephalitiden, Herpesenzephalitis, Guillain-Barré-Syndrom und eine bakterielle Meningoenzephalitis ausgeschlossen werden.

Die Untersuchung von Spenden auf virales Genom mit NAT-Verfahren könnte das Risiko der Übertragung prinzipiell reduzieren.

Eine Aussage, ob – vergleichbar zum Vorgehen bei WNV – eine Untersuchung von Blut- und Plasmaspenden in den Jahreszeiten, in denen eine Übertragung des Erregers durch Mücken zu erwarten ist, auf Anwesenheit von USUV-Genomen erfolgen sollte, kann beim derzeitigen Kenntnisstand noch nicht getroffen werden. Die Einführung einer USUV-Testung von Blutspenden erscheint aber zurzeit aufgrund der vorliegenden epidemiologischen Daten und den wenigen bisher beobachteten, meist asymptomatischen oder milden Infektionsverläufen bei Menschen nicht angezeigt.

Verschiedene Mückenspezies spielen eine wesentliche Rolle als Vektor bei der Ausbreitung von USUV. Die Vermehrung von USUV im Mückenvektor hängt aber entscheidend von den regionalen klimatischen Bedingungen ab. Es ist daher geboten, nicht nur weitere Erkenntnisse zur Pathogenese von USUV zu sammeln, sondern auch die geografische und zeitliche Ausbreitung von USUV in Deutschland weiterhin zu beobachten. Mit einem neuen Kenntnisstand zur Epidemiologie und zum Pathopotenzial von USUV-Infektionen kann unter Umständen eine Neubewertung des Erregers im Kontext der Blutsicherheit erforderlich werden.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 14.02.2013 und vom Arbeitskreis Blut am 05.03.2013 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Georg Pauli, Dr. Ursula Bauerfeind, Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Christian Drosten, Dr. Albrecht Gröner, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr.

Dr. Bernd Jansen, Dr. Ruth Offergeld, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen.

Literatur

- Williams MC, Simpson DI, Haddow AJ, Knight EM (1964) The isolation of West Nile virus from man and of Usutu virus from the bird-biting mosquito *Mansonia aurites* (Theobald) in the Entebbe area of Uganda. *Ann Trop Med Parasitol* 58:367–374
- CRORA Senegal. <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/souches/sras1.html> (Zugegriffen: 14.09.2012)
- CRORA RCA. <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/souches/sqas1.html> (Zugegriffen: 14.09.2012)
- Woodall JP (1964) The viruses isolated from arthropods at the East African Virus Research Institute in the 26 years ending december 1963. *Proc E Afr Acad II*:141–146
- CRORA Flavivirus USUTU: <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/virus/v010050.html> (Zugegriffen: 14.09.2012)
- CDC ArboCat USUV: <http://www.cdc.gov/arbo-cat/catalog-listing.asp?VirusID=503&SI=1> (Zugegriffen: 19.09.2012)
- Nikolay B, Diallo M, Boye CS, Sall AA (2011) Usutu virus in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11:1417–1423
- Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ et al (2006) West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *PLoS Biol* 4:e82
- Pauli G, Bauerfeind U, Blümel J et al (2012) West-Nil-Virus. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz* 55:1024–1043
- Becker N, Jöst H, Ziegler U et al (2012) Epizootic emergence of Usutu virus in wild and captive birds in Germany. *PLoS One* 7:e32604
- Allering L, Jöst H, Emmerich P et al (2012) Detection of Usutu virus infection in a healthy blood donor from south-west Germany, 2012. *Euro Surveill* 17:pii=20341. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20341>
- Weissenböck H, Hubálek Z, Bakonyi T, Nowotny N (2010) Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases. *Vet Microbiol* 140:271–280
- Gürtler L, Bauerfeind U, Blümel J et al (2011) Dengue Fieber Virus (DENV). *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz* 54:892–904
- Kreil TR, Berting A, Kistner O, Kindermann J (2003) West Nile virus and the safety of plasma derivatives: verification of high safety margins, and the validity of predictions based on model virus data. *Transfusion* 43:1023–1028
- Song H, Li J, Shi S et al (2010) Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture. *Virology* 407:7–10
- Fang Y, Brault AC, Reisen WK (2009) Comparative thermostability of West Nile, St. Louis encephalitis, and western equine encephalomyelitis viruses during heat inactivation for serologic diagnostics. *Am J Trop Med Hyg* 80:862–863
- Xie YW, Chan PK, Szeto CK et al (2008) Clearance of dengue virus in the plasma-derived therapeutic proteins. *Transfusion* 48:1342–1347
- Remington KM, Trejo SR, Buczynski G et al (2004) Inactivation of West Nile virus, vaccinia virus and viral surrogates for relevant and emergent viral pathogens in plasma-derived products. *Vox Sang* 87:10–18
- Kreil TR (2004) West Nile virus: recent experience with the model virus approach. *Dev Biol (Basel)* 118:101–105
- Weissenböck H, Chvala S, Bakonyi T, Nowotny N (2007) Emergence of Usutu virus in central Europe: diagnosis, surveillance and epizootology. In: Takken W, Knols B (Hrsg) *Emerging pests and vector-borne disease in Europe*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, S 153–168
- Pecorari M, Longo G, Gennari W et al (2009) First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill* 14:pii=19446
- Cavrini F, Gaibani P, Longo G et al (2009) Usutu virus infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill* 14:pii=19448
- Cavrini F, Della Pepa ME, Gaibani P et al (2011) A rapid and specific real-time RT-PCR assay to identify Usutu virus in human plasma, serum, and cerebrospinal fluid. *J Clin Virol* 50:221–223
- Gaibani P, Pierro A, Alicino R et al (2012) Detection of Usutu-virus-specific IgG in blood donors from northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12:431–433
- Chvala S, Kolodziejek J, Nowotny N, Weissenböck H (2004) Pathology and viral distribution in fatal Usutu virus infections of birds from the 2001 and 2002 outbreaks in Austria. *J Comp Pathol* 131:176–185
- Weissenböck H, Bakonyi T, Chvala S, Nowotny N (2004) Experimental Usutu virus infection of suckling mice causes neuronal and glial cell apoptosis and demyelination. *Acta Neuropathol* 108:453–460
- Morrey JD, Olsen AL, Siddharthan V et al (2008) Increased blood–brain barrier permeability is not a primary determinant for lethality of West Nile virus infection in rodents. *J Gen Virol* 89:467–473
- Simpson DIH, O'Sullivan JP (1968) Studies on arboviruses and bats (Chiroptera) in East Africa. I. Experimental infection of bats and virus transmission attempts in *Aedes (Stegomyia) aegypti*. *Ann Trop Med Parasit* 62:422–431
- Chvala S, Bakonyi T, Hackl R et al (2006) Limited pathogenicity of Usutu virus for the domestic goose (*Anser anser* f. domestica) following experimental inoculation. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 53:171–175
- Chvala S, Bakonyi T, Bukovsky C et al (2007) Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003–2005. *Vet Microbiol* 122:237–245
- Chevalier V, Lecollinet S, Durand B (2011) West Nile virus in Europe: a comparison of surveillance system designs in a changing epidemiological context. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11:1085–1091
- Weissenböck H, Kolodziejek J, Url A et al (2002) Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerg Infect Dis* 8:652–656
- Brugger K, Rubel F (2009) Simulation of climate-change scenarios to explain Usutu-virus dynamics in Austria. *Prev Vet Med* 88:24–31
- Meister T, Lussy H, Bakonyi T et al (2007) Serological evidence of continuing high Usutu virus (Flaviviridae) activity and establishment of herd immunity in wild birds in Austria. *Vet Microbiol* 127:237–248
- Bakonyi T, Erdélyi K, Ursu K et al (2007) Emergence of Usutu virus in Hungary. *J Clin Microbiol* 45:3870–3874
- Steinmetz HW, Bakonyi T, Weissenböck H et al (2011) Emergence and establishment of Usutu virus infection in wild and captive avian species in and around Zurich, Switzerland – genomic and pathologic comparison to other central European outbreaks. *Vet Microbiol* 148:207–212
- Tamba M, Bonilauri P, Bellini R et al (2011) Detection of Usutu virus within a West Nile virus surveillance program in northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11:551–557
- Weissenböck H, Kolodziejek J, Fagner K et al (2003) Usutu virus activity in Austria, 2001–2002. *Microbes Infect* 5:1132–1136
- Jöst H, Bialonski A, Maus D et al (2011) Isolation of Usutu virus in Germany. *Am J Trop Med Hyg* 85:551–553
- Busquets N, Alba A, Allepuz A et al (2008) Usutu virus sequences in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), Spain. *Emerg Infect Dis* 14:861–863
- Vázquez A, Ruiz S, Herrero L et al (2011) West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008–2009. *Am J Trop Med Hyg* 85:178–181
- Lupulovic D, Martin-Acebes MA, Lazić S et al (2011) First serological evidence of West Nile virus activity in horses in Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11:1303–1305
- Hubálek Z, Halouzka J, Juricová Z et al (2008) Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic). *Vector Borne Zoonotic Dis* 8:659–666
- Hubálek Z, Wegner E, Halouzka J et al (2008) Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland. *Viral Immunol* 21:247–253
- Rizzoli A, Rosà R, Rosso F et al (2007) West Nile virus circulation detected in northern Italy in sentinel chickens. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7:411–417
- Lelli R, Savini G, Teodori L et al (2008) Serological evidence of Usutu virus occurrence in north-eastern Italy. *Zoonoses Public Health* 55:361–367
- Savini G, Monaco F, Terregino C et al (2011) Usutu virus in Italy: an emergence or a silent infection? *Vet Microbiol* 15:264–274
- Manarolla G, Bakonyi T, Gallazzi D et al (2010) Usutu virus in wild birds in northern Italy. *Vet Microbiol* 141:159–163
- Calzolari M, Gaibani P, Bellini R et al (2012) Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia-Romagna region (Italy) in 2010. *PLoS One* 7:e38058
- Bakonyi T, Gould EA, Kolodziejek J et al (2004) Complete genome analysis and molecular characterization of Usutu virus that emerged in Austria in 2001: comparison with the South African strain SAAR-1776 and other flaviviruses. *Virology* 328:301–310
- Hayes EB, Komar N, Nasci RS et al (2005) Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 20:1167–1173
- Linke S, Niedrig M, Kaiser A et al (2007) Serologic evidence of West Nile virus infections in wild birds captured in Germany. *Am J Trop Med Hyg* 77:358–364

53. Bakonyi T, Ivanics E, Erdélyi K et al (2006) Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis* 12:618–623
54. Calistri P, Giovannini A, Hubálek Z et al (2010) Epidemiology of West Nile in Europe and in the mediterranean basin. *Open Virol J* 4:29–37
55. Becker N, Huber K, Pluskota B, Kaiser A (2011) *Ochlerotatus japonicus japonicus* – a newly established neo-zoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. *Eur Mosq Bull* 29:88–102
56. Janusz KB, Lehman JA, Panella AJ et al (2011) Laboratory testing practices for West Nile virus in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11:597–599
57. Linke S, Muehlen M, Niedrig M et al (2008) Assessing the exposure of German and Austrian bird ringers to West Nile virus (Flavivirus) and evaluating their potential risk of infection. *J Ornithol* 149:271–275
58. Pfeleiderer C, Blümel J, Schmidt M et al (2008) West Nile virus and blood product safety in Germany. *J Med Virol* 80:557–563
59. Papa A, Xanthopoulou K, Gewehr S, Mourelatos S (2011) Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin Microbiol Infect* 17:1176–1180
60. Bakonyi T, Lussy H, Weissenböck H et al (2005) In vitro host-cell susceptibility to Usutu virus. *Emerg Infect Dis* 11:298–301
61. Essbauer SS, Krautkrämer E, Herzog S, Pfeffer M (2011) A new permanent cell line derived from the bank vole (*Myodes glareolus*) as cell culture model for zoonotic viruses. *Virol J* 8:339
62. Scaramozzino N, Crance JM, Jouan A et al (2001) Comparison of flavivirus universal primer pairs and development of a rapid, highly sensitive heminested reverse transcription-PCR assay for detection of flaviviruses targeted to a conserved region of the NS5 gene sequences. *J Clin Microbiol* 39:1922–1927
63. Maher-Sturgess SL, Forrester NL, Wayper PJ et al (2008) Universal primers that amplify RNA from all three flavivirus subgroups. *Virol J* 5:16
64. Johnson N, Wakeley PR, Mansfield KL et al (2010) Assessment of a novel real-time pan-flavivirus RT-polymerase chain reaction. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10:665–671
65. Ravanini P, Huhtamo E, Ilaria V et al (2012) Japanese encephalitis virus RNA detected in *Culex pipiens* mosquitoes in Italy. *Euro Surveill* 17:pii=20221
66. Platonov AE, Rossi G, Karan LS et al (2012) Does the Japanese encephalitis virus (JEV) represent a threat for human health in Europe? Detection of JEV RNA sequences in birds collected in Italy. *Euro Surveill* 17:pii=20241
67. Vlachakis D (2009) Theoretical study of the Usutu virus helicase 3D structure, by means of computer-aided homology modelling. *Theor Biol Med Model* 6:9
68. Malet H, Massé N, Selisko B et al (2008) The flavivirus polymerase as a target for drug discovery. *Antiviral Res* 80:23–35
69. Diamond MS (2009) Progress on the development of therapeutics against West Nile virus. *Antiviral Res* 83:214–227
70. Beasley DW (2011) Vaccines and immunotherapeutics for the prevention and treatment of infections with West Nile virus. *Immunotherapy* 3:269–285
71. Montgomery SP, Brown JA, Kuehnert M, 2003 West Nile Virus Transfusion-Associated Transmission Investigation Team et al (2006) Transfusion-associated transmission of West Nile virus, United States 2003 through 2005. *Transfusion* 46:2038–2046
72. CDC, Centers for Disease Control and Prevention (2007) West Nile virus transmission through blood transfusion – South Dakota, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 56:76–79
73. Jakubik JJ, Vivic SM, Tannatt MM, Kelley BD (2004) West Nile Virus inactivation by the solvent/detergent steps of the second and third generation manufacturing processes for B-domain deleted recombinant factor VIII. *Haemophilia* 10:69–74
74. Hellstern P, Solheim BG (2011) The use of solvent/detergent treatment in pathogen reduction of plasma. *Transfus Med Hemother* 38:65–70
75. Mohr H, Knüver-Hopf J, Gravemann U et al (2004) West Nile virus in plasma is highly sensitive to methylene blue-light treatment. *Transfusion* 44:886–890
76. Lin L, Hanson CV, Alter HJ et al (2005) Inactivation of viruses in platelet concentrates by photochemical treatment with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion* 45:580–590
77. Gallian P, Vignoli C, Dombey AM et al (2006) Inactivation of a European strain of West Nile virus in single-donor platelet concentrate using the INTERCEPT blood system. *Vox Sang* 91:345–347
78. Irsch J, Lin L (2011) Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the INTERCEPT Blood System™. *Transfus Med Hemother* 38:19–31
79. Marschner S, Goodrich R (2011) Pathogen reduction technology treatment of platelets, plasma and whole blood using riboflavin and UV light. *Transfus Med Hemother* 38:8–18
80. Solheim BG (2008) Pathogen reduction of blood components. *Transfus Apher Sci* 39:75–82
81. Rock G (2011) A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP. *Vox Sang* 100:169–178