

Stellungnahme zur Immunisierung von Pferden gegen das West-Nil-Virus



I. Zusammenfassung

Anfang September 2018 wurden erstmalig im östlichen Teil Deutschlands (MV, BB, ST, BY) Infektionen mit dem West-Nil-Virus bei Vögeln diagnostiziert, Ende September auch bei zwei Pferden in Brandenburg sowie in Sachsen-Anhalt. Angesichts der Erfahrungen, die in europäischen Nachbarländern und den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) mit West-Nil-Virus-Infektionen gemacht wurden, ist davon auszugehen, dass das Virus sich in den kommenden Jahren weiter in Deutschland ausbreiten wird. Die Infektion verläuft bei Pferden häufig subklinisch. Bei etwa 8% der infizierten Pferde kommt es aber zu neurologischen Symptomen. Diese Verlaufsform geht mit einer hohen Letalität von ca. 30 bis 50% einher. Überlebende Pferde zeigen häufig bleibende Schäden. Die Ständige Impfkommission Veterinärmedizin (StIKo Vet) empfiehlt daher, Pferde in den bereits betroffenen Gebieten gegen WNV zu impfen. In diesen Gebieten sollte die Grundimmunisierung vor Beginn der nächsten Mückensaison, d.h. vor Ende Mai 2019, abgeschlossen sein. In Abhängigkeit vom weiteren Seuchengeschehen ist mittelfristig eine flächendeckende Impfung von Pferden im gesamten Bundesgebiet anzustreben. Die Einführung einer Pflichtimpfung ist aus Sicht der StIKo Vet nicht sinnvoll.

II. Stellungnahme

Ätiologie

Innerhalb der Familie der Flaviviridae, Genus Flavivirus, gehört das West-Nil-Virus (WNV) zur Gruppe der Japanischen Enzephalitisviren. Das Arbovirus, das von Mücken übertragen wird, ist eng mit den Erregern des Gelbfiebers und der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) verwandt. Das Virus trägt ein positives, einzelsträngiges RNA-Genom. Das etwa 40-60 nm große Virion besteht aus einem Nukleokapsid, das von einer Membran umhüllt ist. Als Hauptbestandteil der Virushülle ist das virale Glykoprotein E in die Membran integriert. Dieses Protein ist wesentlich am Eindringen in neue Wirtszellen beteiligt. Zudem ist es gleichzeitig das Hauptzielantigen virusneutralisierender Antikörper. Ein zweites Glykoprotein, prM, ist ebenfalls Teil der Virushülle und ebenfalls Zielantigen neutralisierender Antikörper [1]. Durch die enge antigenetische Verwandtschaft der Flaviviren kommt es häufig zu serologischen Kreuzreaktivitäten, z.B. nach equinen FSMEV-Infektionen, die diagnostisch schwer abzuklären sind [2]. Phylogenetisch lassen sich vier Linien des WNV unterscheiden: Während die Linien 3 und 4 nur in Arthropoden beobachtet werden, können Vertreter der Linie 1 und 2 auch Vertebraten infizieren [3]. Das West-Nil-Fieber ist eine anzeigepflichtige Tierseuche. Allerdings sind über die Anzeigepflicht hinaus derzeit keine besonderen veterinärbehördlichen Maßnahmen vorgeschrieben, wenn die WNV-Infektion bei einem Pferd und einem Vogel auftritt. Die Impfung von Pferden ist möglich.

Epizootiologie

WNV wird von Mücken übertragen. Reservoirwirte sind Vögel. Während bei Sperlingsvögeln, z.B. Hausspatzen, hohe Virustiter beobachtet werden, ohne dass sie klinische Veränderungen zeigen [4], erkranken Greifvögel und Krähenartige oft schwer und häufig mit tödlichem Ausgang. Das Auftreten von WNV in bis dato naiven Vogelpopulationen kann entsprechend zu einem drastischen Rückgang empfänglicher Arten führen [5]. Grundsätzlich zeigen WNV-Epidemien eine kontinuierliche, radiale Ausbreitungstendenz, was daraufhin deutet, dass in erster Linie lokal ansässige Vögel, z.B. Sperlinge, als Reservoirwirte fungieren [6]. In Einzelfällen wurden auch Neueinträge über weite Distanzen beobachtet; für derartige Sprünge scheinen eher Zugvögel verantwortlich zu sein [7]. Obwohl zahlreiche Mückenarten für das Virus empfänglich sind [8], gibt es teils erhebliche Unterschiede hinsichtlich der von ihnen präferierten Wirte, d.h. die Mücken fliegen bevorzugt Vögel oder Säugetiere an. So konnte gezeigt werden, dass die untersuchten Anopheles- und Aedesmücken zwar infizierbar waren, doch nahezu ausschließlich Säugetierwirte anfliegen. Andere Arten,

darunter *Culex pipiens*, eine der am häufigsten in Europa vorkommenden Mückenarten, zeigten eine deutliche Wirtspromiskuität. Der Anteil an Blutmahlzeiten aus Vögeln variierte bei diesen Arten zwischen 40 und 80% [9, 10]. Entsprechend spielen diese Arten eine besondere Rolle bei der Übertragung des Virus von aviären Reservoirwirten auf Säugetiere [11, 12]. Während bei Vögeln und Säugetieren die Virämiephase nur relativ kurz andauert, verursacht das Virus in den Vektoren langandauernde Infektionen. Dadurch kann es während der Winterpause in den Mücken persistieren. Diese Eigenschaft ist für die Epidemiologie in gemäßigten Klimazonen entscheidend [13, 14]. Neben dem Menschen sind vor allem Equiden empfänglich für WNV [3]. Im Gegensatz zu Vögeln entwickeln sich bei Menschen und Pferden während der virämischen Phase nur relativ niedrige Virustiter. Experimentell konnte gezeigt werden, dass Mücken durch eine Blutmahlzeit an virämischen Pferden nicht mit WNV infiziert werden [15]. Entsprechend gelten Pferde und Menschen als Fehlwirte. Sie stellen keine Gefahr für eine Weiterverbreitung des Virus über den Vektor dar. Allerdings kann das Virus beim Menschen durch kontaminierte Blutspenden, zum Teil auch intrauterin auf das Ungeborene oder während des Stillens über die Muttermilch von einer infizierten Mutter auf das Kind übertragen werden [16].

WNV wurde 1937 erstmalig in Uganda beschrieben. Seither kam es in Afrika, in Südeuropa und im Mittelmeerraum immer wieder zu Ausbrüchen [17]. Außerhalb des südlichen Afrikas wurden nur Vertreter der Viruslinie 1 beobachtet [18]. Im Jahr 1999 kam es zu einem ersten Auftreten eines WNV der Linie 1 in den USA [19]. Ausgehend von New York City breitete sich die Epidemie rasch über die gesamten Vereinigten Staaten aus. Insgesamt wurden zwischen 1999 und 2017 in den USA knapp 30.000 equine WNV-Fälle berichtet. Auffällig ist die starke Häufung in den ersten Jahren. Auf dem Höhepunkt der Epidemie kam es alleine im Jahr 2002 zu über 15.000 berichteten WNV-Fällen. Seit 2002, dem Jahr in dem ein erster Veterinärimpfstoff zugelassen wurde, sanken die Fallzahlen bei Pferden auf derzeit ca. 300 Fälle pro Jahr [20]. Im gleichen Zeitraum von 1999 bis 2017 wurden in den USA knapp 50.000 WNV-Fälle beim Menschen festgestellt. Knapp die Hälfte der Betroffenen zeigte eine neuroinvasive Form. Die Letalität betrug ca. 4%. Ein Impfstoff für Menschen steht nicht zur Verfügung. Im Gegensatz zum Pferd ist

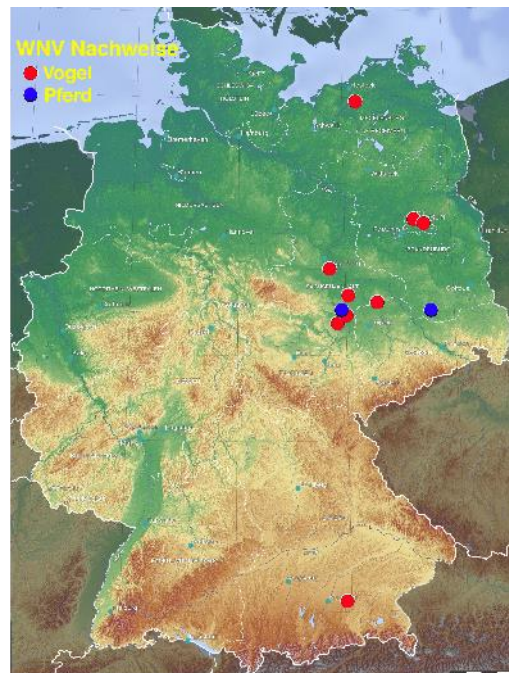


Abbildung 1: Bislang erfolgte Nachweise von WNV in Vögeln (rote Symbole) und Pferden (blaue Symbole), Stand: 9.10.2018 (TSN Abfrage Timo Homeier, FLI)

in Nordamerika bei den humanen Fallzahlen kein Rückgang zu verzeichnen [21].

In Südosteuropa ist WNV seit langem endemisch. Im Jahr 2004 wurden in Ungarn erstmals Fälle mit Viren der Linie 2 beobachtet. Dies war der erste Nachweis dieser Viren außerhalb des südlichen Afrika [7]. Aus den zunächst sporadischen Fällen entwickelte sich eine Epizootie, die sich schnell auf weitere Länder ausbreitete [12, 22-24]. Im Jahr 2017 wurden aus acht EU-Ländern sowie Serbien und dem europäischen Teil der Türkei über 250 WNV Fälle beim Menschen an das European Center for Disease Control (ECDC) gemeldet. Im gleichen Zeitraum traten in sieben europäischen Ländern insgesamt 127 equine Fälle auf [25]. Vermutlich aufgrund der besonderen Witterungsverhältnisse begann die WNV-Saison im Jahr 2018 ungewöhnlich früh, und es kam zu einem steilen Anstieg der Fallzahlen [26]. Bis Anfang Oktober wurden aus acht europäischen Ländern insgesamt 222 Ausbrüche beim Pferd gemeldet. Nach ersten bestätigten Fällen in Bartkauzen und Greifvögeln wurden Ende September 2018 WNV-Infektionen bei zwei Pferden in Deutschland bestätigt [27] (siehe Karte). Bei den Viren handelt es sich um Vertreter der Linie 2, die eng mit Viren verwandt sind, die derzeit in Tschechien zirkulieren (U. Ziegler; persönliche Kommunikation).

Pathogenese und Klinik

Während der Blutmahlzeit einer infizierten Mücke werden mit dem Mückenspeichel bis zu 1×10^6 Viruspartikel in die Unterhaut injiziert. Das Virus repliziert zunächst lokal in Keratozyten und lokalen Zellen des angeborenen Immunsystems, z.B. Dendritischen Zellen (DCs) der Haut oder Langerhans-Zellen. Anschließend streut es in den drainierenden Lymphknoten, von wo aus es zu einer ersten Virämiephase und einer Manifestation in viszeralen Organen, insbesondere der Milz, kommt [28]. In der Regel dauert die Virämiephase sowohl bei Menschen wie auch bei Pferden nicht länger als zwei bis drei Wochen, bzw. eine Woche bei Vögeln [4, 6, 29, 30]. Über bislang noch nicht klar definierte Eintrittsmechanismen kann es zu einer Infektion des zentralen Nervensystems kommen, allerdings scheinen bestimmte Glykosilierungsmuster des Glykoprotein E dabei eine Rolle zu spielen [31]. Die Infektion des ZNS ist ursächlich für schwere klinische Verläufe. Während eine Infektion insbesondere bei jungen immunkompetenten Patienten in aller Regel symptomlos bleibt oder nur mit leichten Grippeerscheinungen einhergeht, kommt es insbesondere bei älteren Patienten in 0,5% der Fälle zu einer Enzephalitis. Die Symptome reichen von schweren Kopfschmerzen, Sehstörungen und kognitiven Ausfällen, über Krämpfe bis hin zu schlaffen Lähmungen [29]. Während der anhaltenden WNV-Epidemie in den Vereinigten Staaten von Amerika betrug die Letalität bei der neuroinvasiven Form beim Menschen ca. 10% [21]. Ein vergleichbares Bild zeigt sich auch beim Pferd, allerdings sind die Zahlen aufgrund der stärkeren Mückenexposition und geringeren intensivmedizinischen Therapiemöglichkeiten deutlich gravierender. So kommt es bei exponierten, immunologisch naiven, nicht-geimpften Pferden in ca. 8% der Fälle zu neuroinvasiven Formen. Klinisch ist diese Form durch Ataxien, Paresen der Hinterhand und Paraplegien bis hin zum Festliegen gekennzeichnet [32, 33]. Die Letalität derartiger Fälle liegt bei über 30-50%. Auch Rekonvaleszenten zeigen häufig bleibende Schäden [34].

Immunität

Die Dynamik einer WNV-Infektion entwickelt sich abhängig davon, wie schnell sich das Virus in einem neuen Wirt etablieren und replizieren kann, bzw. in welchem Maße es dem Wirt gelingt, die einsetzende Replikation effizient zu verhindern. Insbesondere zu Beginn einer Infektion spielen auf der Seite des Wirtes früh einsetzende, angeborene, antivirale Immunmechanismen, wie z.B. das Typ-1-Interferonsystem eine wichtige Rolle [28]. Umgekehrt verfügt das Virus über verschiedene Mechanismen, um diese frühen antiviralen Effekte zu umgehen [29]. Unterschiede in der Virulenz verschiedener Virusisolate basieren im Wesentlichen auf Sequenzunterschieden oder unterschiedlichen Glykosylierungsmustern der Nichtstrukturproteine, die für die Hemmung der antiviralen Immun-

mechanismen verantwortlich sind [29, 35]. Auch Bestandteile des Mückenspeichels, die einerseits angeborene Immunmechanismen dämpfen und gleichzeitig potentielle Wirtszellen des Virus wie DCs oder neutrophile Granulozyten anlocken, tragen zur Etablierung des Virus in einem neuen Wirt bei [36]. Letztlich können die angeborenen Immunmechanismen die Virusreplikation zwar verzögern, zur Eliminierung des Virus ist aber die Ausbildung einer humoralen sowie zellulären, adaptiven Immunantwort erforderlich. Hauptzielantigene neutralisierender Antikörper sind das Membranglykoprotein E [37] und in geringerem Umfang das zweite virale Membranprotein prM [29]. Dabei folgen die Titerverläufe der Antikörper einem klassischen Muster: Innerhalb von 5-7 Tagen nach der Infektion erreichen Antikörper vom IgM-Isotyp ein erstes Maximum, zeitlich versetzt folgen dann virusspezifische Antikörper vom IgG-Isotyp. Während die IgM-Titer nach ca. einem halben Jahr wieder Hintergrundniveau erreichen, persistieren neutralisierende IgG-Antikörper über lange Zeiträume [38]. Neben Antikörpern tragen auch T-Zellen zu einer effizienten Immunantwort gegen WNV bei. Während T-Helferzellen die Entstehung der Immunantwort orchestrieren, eliminieren virusspezifische, zytotoxische T-Zellen infizierte Wirtszellen direkt [39]. Von besonderer Bedeutung ist die Rolle zytotoxischer T-Zellen im Zusammenhang mit der Eliminierung des Virus aus dem zentralen Nervensystem [40].

Diagnostik

Klinisch lässt sich eine WNV-Infektion insbesondere bei geringgradiger Symptomatik nicht diagnostizieren. Die Diagnostik basiert daher entweder auf dem Nachweis des Virusgenoms mittels qRT-PCR oder auf dem Nachweis spezifischer Antikörper mittels Serologie. Nach der Amtlichen Methodensammlung eignen sich für den Virusnachweis EDTA-Blut, Serum oder postmortal entnommene Organproben, wie z.B. Gehirn- oder Milzgewebe [41]. Es ist zu beachten, dass die Virämiephase relativ kurz ist. Bei Einsetzen zentralnervöser Störungen kann sie bereits abgeklungen sein, sodass der Virusnachweis im Blut nicht mehr möglich ist. Entsprechende Bedeutung kommt der serologischen Untersuchung zu. Es sind derzeit zwei ELISA-Verfahren für die Diagnostik einer WNV-Infektion vom Friedrich-Loeffler-Institut zugelassen [42]: Der ID Screen West Nile Competition ELISA der Firma ID Vet ermöglicht den Nachweis WNV-spezifischer Antikörper im Serum von Pferden, Hühnern, Enten und Gänsen. Mit dem West-Nile-Virus IgM-Antikörper-Testkit der Firma IDEXX können WNV-spezifische IgM-Antikörper im Serum von Pferden nachgewiesen werden. Keines der beiden ELISA-Systeme erlaubt eine DIVA-Strategie, d.h. die Unterscheidung, ob WNV-spezifische Antikörper in geimpften Tieren aus der Impfung oder aus einer Feldinfektion resultieren, ist nicht möglich. Lediglich ergibt sich durch einen positiven IgM-Antikörpernachweis der Hinweis auf eine kürzlich zurückliegende Auseinandersetzung mit dem Antigen, was zumindest bei einer länger zurückliegenden Impfung möglicherweise als Hinweis auf eine frische Infektion gewertet werden kann.

Immunprophylaxe

Weltweit gibt es bislang keine Impfstoffe gegen WNV für den Menschen. Dagegen sind in Europa derzeit drei WNV-Impfstoffe für die Anwendung beim Pferd zentral durch die Europäische Arzneimittelagentur zugelassen. Für alle drei Impfstoffe gilt, dass sich Pferde trotz der Impfung mit dem Virus infizieren können. Alle drei Impfstoffe schützen aber, indem sie die klinischen Ausprägungen der Infektion weitestgehend verhindern sowie die Dauer der Virämie sehr deutlich verkürzen und die Viruslast während dieser Phase verringern. **Equip WNV** basiert auf einem inaktivierten Vollvirus. Der Impfstoff wurde zunächst für den US-amerikanischen Markt entwickelt und enthält Virusantigen der Linie 1. Sowohl aus Laborversuchen [43] als auch aus Feldstudien [44] gibt es Hinweise, dass der Impfstoff auch vor europäischen Isolaten der WNV-Linie 2 schützt. Ein zweiter Impfstoff, der ursprünglich ebenfalls für den US-amerikanischen Markt entwickelt wurde, ist **Proteq West Nile**. Dieser Impfstoff basiert auf einem rekombinanten Kanarienvirus, in das die Gene der WNV-Membranproteine E sowie prM eines Linie-1-WNV integriert wurden. Das Kanarienvirus repliziert zwar nicht im Pferd, exprimiert aber

die WNV-Proteine intrazellulär, wodurch auch IFN- γ -produzierende T-Zellen angesprochen werden [45]. Auch dieser Impfstoff schützt Pferde vor Viren der Linie-2 [46]. Ein dritter Impfstoff, **Equilis West Nile**, basiert auf einem chimären Gelbfieber-Virus-Stamm, bei dem die Gelbfieber-Virus-Membranproteine durch WNV-Membranprotein E und prM ersetzt sind. Das chimäre Virus wurde in den USA zunächst als attenuierter Lebendimpfstoff verwendet und erwies sich in verschiedenen Studien als wirksam [47-49]. 2010 wurde der Impfstoff aufgrund von Nebenwirkungsmeldungen vom Hersteller zurückgezogen [50]. In Europa wurde der Impfstoff in einer inaktivierten und mit einem Adjuvans versehenen Form zugelassen. Bislang wurde der Impfstoff in Europa nicht in nennenswertem Umfang eingesetzt. Veröffentlichte Studien zu seiner Wirkung bei Pferden liegen bislang nicht vor.

Im Lauf der WNV-Epidemie konnten in den USA umfassende Erfahrungen mit der Impfung von Pferden gemacht werden. Es zeigte sich, dass eine regelmäßige WNV-Impfung schwere neuroinvasive Formen der Infektion mit ausreichender Sicherheit verhindert [32, 34, 51]. Aus diesem Grund listet die American Association of Equine Practitioners die WNV-Impfung für Pferde in den USA als Core-Impfung [52]. Der zitierte Rückgang von WNV-Fällen beim Pferd im Gegensatz zum Menschen, für den bislang kein Impfstoff zur Verfügung steht, kann als Hinweis gewertet werden, dass die Impfstrategie erfolgreich ist [20, 21].

Prognose

Es ist im Moment nicht abzusehen, welche Dynamik die WNV-Epizootie in den kommenden Jahren entwickeln wird. Während die Inzidenz humaner und equiner WNV-Infektionen in Italien und Ungarn in den letzten Jahren auf hohem Niveau stagnierte, kam es in Österreich und in Tschechien nur zu sporadischen Fällen. Erst das feucht-warme Frühjahr und der heiße Sommer 2018 haben auch hier die Fallzahlen ansteigen lassen [53]. Dass sich in Deutschland ein ähnlich fulminantes Geschehen wie in den USA entwickelt, d.h. dass sich die Seuche bereits im nächsten Jahr explosionsartig über das gesamte Land ausbreitet, ist angesichts der Erfahrungen in Österreich und Tschechien nicht unbedingt zu erwarten. Möglicherweise wird sich die Seuche in Deutschland eher diskontinuierlich verhalten, wie das beispielweise bei der Usutu-Krankheit bei Vögeln zu beobachten war. Der Erreger dieser Krankheit, das mit dem WNV eng verwandte Usutu-Virus (USUV), wird ebenfalls von Mücken übertragen und trat in Deutschland erstmalig 2010 im Bereich der nördlichen Oberrheinebene auf. Das Seuchengeschehen beschränkte sich über mehrere Jahre auf diese Region. Erst in diesem Jahr – möglicherweise aufgrund der besonderen Witterung – trat das Virus plötzlich im gesamten Bundesgebiet auf und verursachte in weiten Teilen ein massives Amselsterben [54]. Bei aller Unwägbarkeit kann als wahrscheinlich angenommen werden, dass das WNV in *Culex*-Mücken in den bislang betroffenen Gebieten überwintern wird, und es dort auch in den nächsten Jahren zu Infektionen bei Vögeln, Pferden und Menschen kommen wird. Welche Fallhäufigkeit sich daraus ergibt und welche Ausbreitungstendenz das Virus zeigen wird, hängt nicht zuletzt von den Witterungsbedingungen ab. Es ist bei entsprechenden Wetterlagen nicht unrealistisch anzunehmen, dass sich WNV –ähnlich wie USUV- in den nächsten Jahren über das gesamte Bundesgebiet ausbreiten und dabei auch Erkrankungsfälle bei Pferden verursachen wird.

Empfehlung

Ist ein Pferd an West-Nil-Fieber erkrankt und sind erst einmal zentralnervöse Symptome ausgebrochen, sind die therapeutischen Möglichkeiten limitiert. Außerdem kann der Erkrankung durch allgemeine Maßnahmen nur in geringem Umfang vorgebeugt werden, beispielsweise indem die Mückenexposition durch die Anwendung von Repellentien oder das Aufstallen der Pferde zur Dämmerung reduziert wird. Letztlich bleibt die Immunprophylaxe das Mittel der Wahl, um die Eintrittswahrscheinlichkeit WNV-bedingter Erkrankungen zuverlässig zu reduzieren und schwere Verlaufsformen weitestgehend zu verhindern. Da das Virus bis zum August 2018 in Deutschland nicht nachgewiesen wurde, ist die Impfung von Pferden gegen WNV von der Ständigen Impfkommission Veterinärmedizin (StIKo Vet) bislang nicht empfohlen worden. Die Leitlinie zur Impfung von Pferden sah lediglich eine Impfung vor, wenn Pferde in Endemiegebiete verbracht werden sollten [55]. Nach den ersten WNV-Nachweisen in östlichen Teilen Deutschland, die geographisch voneinander weit entfernte Gebiete von Bayern bis nach Brandenburg (siehe Karte) umfassen, ist davon auszugehen, dass das Virus in Wildvögeln dort bereits weit verbreitet ist.

Die Ständige Impfkommission Veterinärmedizin (StIKo Vet) empfiehlt daher, Pferde, die in den bereits betroffenen Gebieten gehalten werden oder die während der Mückensaison z.B. im Rahmen von Pferdesportveranstaltungen in diese Gebiete verbracht werden sollen, gegen WNV zu impfen. Hierfür sollte die Grundimmunisierung vor Beginn der nächsten Mückensaison, d.h. vor Ende Mai 2019, abgeschlossen sein.

In Abhängigkeit vom weiteren Seuchengeschehen ist mittelfristig eine flächendeckende Impfung aller Pferde im Bundesgebiet anzustreben. Die Impfung von Pferden schützt das Einzeltier vor den Folgen einer WNV-Infektion. Auf die Virusübertragung und das Ansteckungsrisiko der Pferde und anderen empfänglichen Wirte hat die Impfung von Pferden nach gegenwärtigem Kenntnisstand keinen Einfluss. Aus Sicht der StIKo Vet ist die Einführung einer Pflichtimpfung daher nicht sinnvoll.

III. Quellen

1. Londono-Renteria, B. and Colpitts, T. M., A Brief Review of West Nile Virus Biology. *Methods Mol Biol* (2016). 1435: 1-13.
2. Niedrig, M., Sonnenberg, K., Steinhagen, K. and Paweska, J. T., Comparison of ELISA and immunoassays for measurement of IgG and IgM antibody to West Nile virus in human sera against virus neutralisation. *J Virol Methods* (2007). 139: 103-105.
3. Angenvoort, J., Brault, A. C., Bowen, R. A. and Groschup, M. H., West Nile viral infection of equids. *Vet Microbiol* (2013). 167: 168-180.
4. Nemeth, N. M., Oesterle, P. T. and Bowen, R. A., Humoral immunity to West Nile virus is long-lasting and protective in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Am J Trop Med Hyg* (2009). 80: 864-869.
5. LaDeau, S. L., Kilpatrick, A. M. and Marra, P. P., West Nile virus emergence and large-scale declines of North American bird populations. *Nature* (2007). 447: 710-713.
6. Rappole, J. H. and Hubalek, Z., Migratory birds and West Nile virus. *J Appl Microbiol* (2003). 94 Suppl: 47S-58S.
7. Bakonyi, T., Ivanics, E., et al., Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis* (2006). 12: 618-623.
8. Goddard, L. B., Roth, A. E., Reisen, W. K. and Scott, T. W., Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* (2002). 8: 1385-1391.
9. Apperson, C. S., Hassan, H. K., et al., Host feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile virus in the eastern United States. *Vector Borne Zoonotic Dis* (2004). 4: 71-82.
10. Apperson, C. S., Harrison, B. A., et al., Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identification of *Culex* mosquitoes. *J Med Entomol* (2002). 39: 777-785.
11. Mancini, G., Montarsi, F., et al., Mosquito species involved in the circulation of West Nile and Usutu viruses in Italy. *Vet Ital* (2017). 53: 97-110.
12. Rudolf, I., Bakonyi, T., et al., West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill* (2014). 19: 2-5.
13. Rudolf, I., Betasova, L., et al., West Nile virus in overwintering mosquitoes, central Europe. *Parasit Vectors* (2017). 10: 452.
14. Nasci, R. S., Savage, H. M., et al., West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg Infect Dis* (2001). 7: 742-744.
15. Bunning, M. L., Bowen, R. A., et al., Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Infect Dis* (2002). 8: 380-386.
16. Hayes, E. B., Komar, N., et al., Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* (2005). 11: 1167-1173.
17. Calistri, P., Giovannini, A., et al., Epidemiology of west nile in europe and in the mediterranean basin. *Open Virol J* (2010). 4: 29-37.
18. Lanciotti, R. S., Ebel, G. D., et al., Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology* (2002). 298: 96-105.
19. Nash, D., Mostashari, F., et al., The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med* (2001). 344: 1807-1814.
20. USDA-APHIS, USDA, West Nile virus distribution maps, 1999 - 2017, heruntergeladen am: 12/09/2018, <http://www.aphis.usda.gov/>
21. CDC, CDC, West Nile virus – Final Cumulative Maps & Data for 1999–2017, heruntergeladen am: 12/09/2018, <http://www.cdc.gov/>
22. Calzolari, M., Pautasso, A. et al., West Nile Virus Surveillance in 2013 via Mosquito Screening in Northern Italy and the Influence of Weather on Virus Circulation. *PLoS One* (2015). 10: e0140915.

23. Bakonyi, T., Ferenczi, E., et al., Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009. *Vet Microbiol* (2013). 165: 61-70.
24. Savini, G., Capelli, G., et al., Evidence of West Nile virus lineage 2 circulation in Northern Italy. *Vet Microbiol* (2012). 158: 267-273.
25. ECDC, ECDC, Epidemiological Update: West Nile virus transmission season in Europe, 2017, heruntergeladen am: 28/09/2018, <https://ecdc.europa.eu/>
26. Haussig, J. M., Young, J. J., et al., Early start of the West Nile fever transmission season 2018 in Europe. *Euro Surveill* (2018). 23.
27. Friedrich-Loeffler-Institut, FLI, Erster Fall von West-Nil-Virus Infektion bei einem Pferd in Deutschland, heruntergeladen am: 24/09/2018, <http://www.fli.de/>
28. Suthar, M. S., Diamond, M. S. and Gale, M., Jr., West Nile virus infection and immunity. *Nat Rev Microbiol* (2013). 11: 115-128.
29. Samuel, M. A. and Diamond, M. S., Pathogenesis of West Nile Virus infection: a balance between virulence, innate and adaptive immunity, and viral evasion. *J Virol* (2006). 80: 9349-9360.
30. Castillo-Olivares, J. and Wood, J., West Nile virus infection of horses. *Vet Res* (2004). 35: 467-483.
31. Beasley, D. W., Whiteman, M. C., et al., Envelope protein glycosylation status influences mouse neuroinvasion phenotype of genetic lineage 1 West Nile virus strains. *J Virol* (2005). 79: 8339-8347.
32. Salazar, P., Traub-Dargatz, J. L. et al., Outcome of equids with clinical signs of West Nile virus infection and factors associated with death. *J Am Vet Med Assoc* (2004). 225: 267-274.
33. Cantile, C., Di Guardo, G., Eleni, C. and Arispici, M., Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet J* (2000). 32: 31-35.
34. Gardner, I. A., Wong, S. J., et al., Incidence and effects of West Nile virus infection in vaccinated and unvaccinated horses in California. *Vet Res* (2007). 38: 109-116.
35. Botha, E. M., Markotter, W., et al., Genetic determinants of virulence in pathogenic lineage 2 West Nile virus strains. *Emerg Infect Dis* (2008). 14: 222-230.
36. Schneider, B. S., McGee, C. E., et al., Prior exposure to uninfected mosquitoes enhances mortality in naturally-transmitted West Nile virus infection. *PLoS One* (2007). 2: e1171.
37. Beasley, D. W. and Barrett, A. D., Identification of neutralizing epitopes within structural domain III of the West Nile virus envelope protein. *J Virol* (2002). 76: 13097-13100.
38. Prince, H. E., Tobler, L. H., et al., Development and persistence of West Nile virus-specific immunoglobulin M (IgM), IgA, and IgG in viremic blood donors. *J Clin Microbiol* (2005). 43: 4316-4320.
39. Shrestha, B. and Diamond, M. S., Role of CD8+ T cells in control of West Nile virus infection. *J Virol* (2004). 78: 8312-8321.
40. Wang, Y., Lobigs, M., Lee, E. and Mullbacher, A., CD8+ T cells mediate recovery and immunopathology in West Nile virus encephalitis. *J Virol* (2003). 77: 13323-13334.
41. Friedrich-Loeffler-Institut, Friedrich-Loeffler-Institut, Amtliche Methodensammlung: Infektion mit dem West-Nil-Virus bei einem Vogel oder Pferd, heruntergeladen am: 17/07/2017, <http://www.fli.de/>
42. Friedrich-Loeffler-Institut, Friedrich-Loeffler-Institut, Liste der nach § 11 Abs. 2 TierGesG zugelassenen Mittel, heruntergeladen am: 29/08/2018, <http://www.fli.de/>
43. Bowen, R. A., Bosco-Lauth, A., et al., Protection of horses from West Nile virus Lineage 2 challenge following immunization with a whole, inactivated WNV lineage 1 vaccine. *Vaccine* (2014). 32: 5455-5459.
44. Chaintoutis, S. C., Diakakis, N., et al., Evaluation of Cross-Protection of a Lineage 1 West Nile Virus Inactivated Vaccine against Natural Infections from a Virulent Lineage 2 Strain in Horses, under Field Conditions. *Clin Vaccine Immunol* (2015). 22: 1040-1049.
45. El Garch, H., Minke, J. M., et al., A West Nile virus (WNV) recombinant canarypox virus vaccine elicits WNV-specific neutralizing antibodies and cell-mediated immune responses in the horse. *Vet Immunol Immunopathol* (2008). 123: 230-239.
46. Minke, J. M., Siger, L., et al., Protection provided by a recombinant ALVAC((R))-WNV vaccine expressing the prM/E genes of a lineage 1 strain of WNV against a virulent challenge with a lineage 2 strain. *Vaccine* (2011). 29: 4608-4612.

47. Seino, K. K., Long, M. T., et al., Comparative efficacies of three commercially available vaccines against West Nile Virus (WNV) in a short-duration challenge trial involving an equine WNV encephalitis model. *Clin Vaccine Immunol* (2007). 14: 1465-1471.
48. Long, M. T., Gibbs, E. P., et al., Safety of an attenuated West Nile virus vaccine, live Flavivirus chimera in horses. *Equine Vet J* (2007). 39: 486-490.
49. Long, M. T., Gibbs, E. P., et al., Efficacy, duration, and onset of immunogenicity of a West Nile virus vaccine, live Flavivirus chimera, in horses with a clinical disease challenge model. *Equine Vet J* (2007). 39: 491-497.
50. AVMA, American Veterinary Medical Association, Intervet/Shering Plough recalls PreveNile vaccine, heruntergeladen am: 15/06/2010, <http://www.avma.org/>
51. Davidson, A. H., Traub-Dargatz, J. L., et al., Immunologic responses to West Nile virus in vaccinated and clinically affected horses. *J Am Vet Med Assoc* (2005). 226: 240-245.
52. AAEP, American Association of Equine Practitioners, Core Vaccination Guidelines – West Nile Virus, heruntergeladen am: 2018, <https://aaep.org/guidelines/vaccination-guidelines/core-vaccination-guidelines/west-nile-virus>
53. ECDC, ECDC, West Nile virus distribution maps, 2016-2018, heruntergeladen am: 9/10/2018, <https://atlas.ecdc.europa.eu>
54. Friedrich-Loeffler-Institut, FLI, Usutu-Virus tritt 2018 verstärkt auf, heruntergeladen am: 11/09/2018, <http://www.fli.de/>
55. StIKoVet, Friedrich-Loeffler-Institut, Leitlinie zur Impfung von Pferden, heruntergeladen am: 12.12.2016, <http://www.stiko-vet.de>
56. CVMP, EMA, Equip WNV : EPAR - Scientific Discussion, heruntergeladen am: 25/09/2018, <http://www.ema.europa.eu/>
57. CVMP, EMA, Equilis West Nile : EPAR - Scientific Discussion, heruntergeladen am: 25/09/2018, <http://www.ema.europa.eu/>
58. CVMP, EMA, Proteq West Nile : EPAR - Scientific Discussion, heruntergeladen am: 25/09/2018, <http://www.ema.europa.eu/>

IV. In Deutschland zugelassene WNV-Impfstoffe (Quelle: PEI/EMA)

Tabelle 1: Auflistung der in Deutschland zugelassenen WNV-Impfstoffe (Stand: Oktober 2018).

Handelsname	Zulassungsinhaber	lebend/ inaktiviert	Hyperlink
Equip WNV	Zoetis	inaktiviert	EPAR
Equilis West Nile	Intervet	inaktiviert	EPAR
Proteq West Nile	Merial	lebend	EPAR

Tabelle 2: Zusammensetzung der in Deutschland zugelassenen WNV-Impfstoffe

Handelsname	Antigen	Zelllinie	Adjuvans (pro Dosis)
Equip WNV	WNV VM2 (Viruslinie 1)	VERO	Metastim (ölhaltiges Adjuvans) 4-5,5% (v/v)
Equilis West Nile	chimärer Flavivirus-Stamm YF-WN1	VERO	Saponin 250 µg Cholesterin 83 µg Phosphatidylcholin 42 µg
Proteq West Nile	WNV rekombin. Kanarienvirus (vCP2017)	Hühnerembryofibroblasten	Carbomer 4 mg

Tabelle 3: Indikationen der in Deutschland zugelassenen WNV-Impfstoffe

Handelsname	Indikation
Equip WNV	Zur aktiven Immunisierung von Pferden ab einem Mindestalter von 6 Monaten oder älter gegen die West-Nil-Erkrankung (WNV), um die Anzahl virämischer Pferde nach einer Infektion mit WNV-Stämmen der Stammlinien 1 und 2 zu reduzieren, sowie Dauer und Schwere der durch WNV-Stämme der Stammlinie 2 verursachten Symptome zu reduzieren.
Equilis West Nile	Zur aktiven Immunisierung von Pferden gegen West-Nil-Virus (WNV) um die klinischen Symptome der Erkrankung, die Schädigungen im Gehirn und die Virusausscheidung zu verringern
Proteq West Nile	Zur aktiven Immunisierung von Pferden ab einem Alter von 5 Monaten gegen die West-Nil-Erkrankung, wobei die Anzahl virämischer Pferde reduziert wird. Falls Symptome auftreten, werden deren Dauer und Schweregrad reduziert.

Tabelle 4: Immunisierungsschemata der in Deutschland zugelassenen WNV-Impfstoffe

Handelsname	Dosis	frühester Zeitpunkt	Grundimmunisierung	Wiederholung	Ool	Dol
Equip WNV	1 ml	ab 6 Mo.	2x im Abstand von 3-5 Wo	1x jährlich	3 Wo nach 2. Imm.	12 Mo. ¹⁾
Equilis West Nile	1 ml	ab 6 Mo.	2x im Abstand von 3-5 Wo	1x jährlich	2 Wo nach 2. Imm.	12 Mo.
Proteq West Nile	1 ml	ab 5 Mo.	2x im Abstand von 4-6 Wo	1x jährlich	4 Wo nach 1. Imm.	12 Mo. ²⁾

Ool – Beginn der Immunität; Dol – Dauer der Immunität nach den ersten zwei bzw. nach der dritten Impfung

¹⁾ Für WNV-Stämme der Stammlinie 2 wurde die Dauer der Immunität (von 12 Mo.) nicht belegt. .

²⁾ Die Dol von 12 Mo. gilt nach Grundimmunisierung bestehend aus zwei Injektionen im Abstand von 4-6 Wo.

Tabelle 5: Zulassungsstudien zur Wirksamkeit der WNV-Impfstoffe

Handelsname	Studienlage laut öffentlichem, europäischem Bewertungsbericht (EPAR)
Equip WNV	<i>Insgesamt werden im EPAR [56] drei Laborstudien erwähnt, in denen die Wirksamkeit von Equip WNV untersucht wurde. In allen Fällen wurde der Impfstoff intramuskulär verabreicht. Zur Prüfung der Impfschutzes wurden in zwei Studien zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Immunisierung Viren der Linie 1 subkutan verabreicht. Im Vergleich zwischen geimpften und nicht-geimpften Pferden zeigten deutlich weniger geimpfte Pferde eine Virämie. Klinische Ausprägungen wurden auch bei ungeimpften Tieren nicht beobachtet. Die Dauer der Immunität wurde serologisch belegt.</i>
Equilis West Nile	<i>Insgesamt werden im EPAR [57] sieben Studien erwähnt, in denen die Wirksamkeit von Equilis West Nile untersucht wurde. In allen Fällen wurde der Impfstoff intramuskulär verabreicht. Zur Prüfung der Immunität wurden in vier Infektionsversuchen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Immunisierung Viren der Linie 1 intrathekal verabreicht. In keiner dieser Studien entwickelte eines der geimpften Pferde Fieber oder eine Virämie. Dagegen entwickelten nicht-geimpfte Pferde regelmäßig eine (niedertitrige) Virämie sowie Fieber. Klinische Ausprägungen wurden sowohl bei geimpften als auch bei nicht-geimpften Tieren beobachtet, bei geimpften Tieren waren sie aber signifikant seltener, milder und dauerten kürzer an. Die Dauer der Immunität wurde nicht nur serologisch, sondern auch im Infektionsversuch belegt. In drei Feldversuchen wurde die Serokonversion nach zweimaliger Impfung untersucht, ca. 90% der geimpften Pferde zeigte vierzehn Tage nach zweiter Impfung eine Serokonversion.</i>
Proteq West Nile	<i>Insgesamt werden im EPAR [58] neun Laborstudien erwähnt, in denen die Wirksamkeit von Proteq West Nile oder dem vergleichbaren US-amerikanischen Produkt, Recombitek Equine West Nile Virus, untersucht wurde. In allen Fällen wurde der Impfstoff intramuskulär verabreicht. Zur Prüfung der Immunität mittels Infektionsversuch wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Immunisierung Viren sowohl der Linie 1 als auch der Linie 2 verwendet. Zur Inokulation wurden die Pferde entweder infizierten Mücken ausgesetzt, oder das Virus wurde intrathekal verabreicht. Im Vergleich zwischen geimpften und nicht-geimpften Pferden zeigten geimpfte -wenn überhaupt- eine Virämie nur über einen kürzeren Zeitraum bei deutlich geringeren Viruslasten sowie signifikant mildere, klinische Anzeichen einer WNV-Infektion. Die Dauer der Immunität wurde serologisch belegt.</i>

Die Stellungnahme wurde vom Arbeitskreis Pferd der StIKo Vet erarbeitet. Dem Arbeitskreis gehören an:

Prof. Dr. R. Straubinger; LMU München

Prof. Dr. U. Truyen; Universität Leipzig

Prof. Dr. K. Osterrieder; FU Berlin

Prof. Dr. K. Feige; TiHo Hannover

Dr. P. Witzmann; FTA für Pferde, Leinfelden-Echterdingen

Ständige Impfkommission Veterinärmedizin (StIKo Vet)
am Friedrich-Loeffler-Institut,
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10
D-17493 Greifswald - Insel Riems

StIKo Vet Geschäftsstelle
Leiter der Geschäftsstelle
Dr. Max Bastian
Telefon +49 (0) 38351 7-1026
Telefax +49 (0) 38351 7-1151
E-Mail: stikovet@fli.de
Internet: www.stiko-vet.de