

## Neues Fledermaustollwutvirus aus einer Fransenfledermaus (*Myotis nattereri*) isoliert

VON CONRAD M. FREULING, JEANETTE KLIEMT, WUSTERHAUSEN, ELKE MÜHLBACH, HANNOVER, und THOMAS MÜLLER, WUSTERHAUSEN

### Abstract

#### Novel bat lyssavirus isolated from Natterer's bat (*Myotis nattereri*)

A virus isolated from a Natterer's bat (*Myotis nattereri*) originating from Lower Saxony, Germany, was differentiated from other lyssaviruses based on the reaction pattern of a panel of monoclonal antibodies. Phylogenetic analysis supported the assumption that the isolated virus, *Bokeloh bat lyssavirus (BBLV)*, may represent a new member of the lyssavirus genus.

### Zusammenfassung

Bei einer Fransenfledermaus (*Myotis nattereri*) aus Niedersachsen wurde Tollwut nachgewiesen. Das isolierte Virus unterschied sich sowohl bei der Reaktion mit monoklonalen Antikörpern als auch genetisch von allen anderen bekannten Fledermaustollwutviren, so dass das *Bokeloh bat Lyssavirus (BBLV)* als neues Virus innerhalb des Lyssavirusgenus angesehen werden kann.

### Keywords

*Bokeloh bat lyssavirus (BBLV)*, Natterer's bat, *Myotis nattereri*, rabies infection.

### 1 Einleitung

Weltweit konnte gezeigt werden, dass Fledermäuse, oder besser gesagt Fledertiere (*Chiroptera*), Reservoir oder Träger einer Vielzahl unterschiedlicher Viren sein können (CALISHER et al. 2006). Unter diesen befinden sich auch Erreger, die zoonotisches Potenzial haben, also auch für den Menschen gefährlich werden können, wie z. B. SARS Coronaviren, Henipaviren oder Lyssaviren. Letztgenannte sind Erreger der Tollwut, der ältesten bekannten Infektionskrankheit der Menschheit. Auch die Fledermaustollwut hat für das Verständnis von Fledermaus-assoziierten Pathogenen einen Modellcharakter, da bereits seit Ende des 19. Jahrhunderts eine Verbindung zwischen

Fledermausbissen und Tollwutausbrüchen in Südamerika nachgewiesen wurde. Das *Lyssavirus* Genus innerhalb der Familie der *Rhabdoviridae* umfasst mittlerweile 12 Virusspezies: Rabies Virus (RABV), Lagos bat Virus (LBV), Mokola Virus (MOKV), Duvenhage Virus (DUVV), European bat lyssaviruses vom Typ 1 und 2 (EBLV-1 und -2), Australian bat lyssavirus (ABLV), Aravan Virus (ARAV), Khujand Virus (KHUV), Irkut Virus (IRKV) und West Caucasian bat Virus (WCBV) (DIETZGEN et al. 2011). Das Shimoni bat Virus (SHIBV) ist der jüngste Nachweis einer neuen Spezies und wurde aus einer Riesenrundblattnase (*Hipposideros commersonii*) in Kenia isoliert (KUZMIN et al. 2010). Bis auf MOKV sind unterschiedliche Arten der *Chiroptera* als Reservoir für die Lyssaviren nachgewiesen worden. Obwohl für die Mehrzahl der ca. 50.000 humanen Tollwutfälle hundevermittelte Tollwut (RABV) verantwortlich ist, haben auch die meisten Fledermaus-assoziierten Lyssaviren bereits humane Todesopfer gefordert (s. auch MÜLLER et al.: „Fledermaustollwut - ein globaler Überblick“ i. ds. Ausgabe).

In Deutschland wurde Fledermaustollwut zum ersten Mal im Jahr 1954 nachgewiesen, was auch den Erstdnachweis für Europa darstellt (MÜLLER et al. 2007). Während die Mehrzahl aller Fledermaustollwutviren als EBLV-1 charakterisiert wurden, ist EBLV-2 in Deutschland bisher nur aus einer Wasserfledermaus (*Myotis daubentonii*) isoliert worden (FREULING et al. 2008). Insgesamt konnten Lyssaviren in Europa nur in 10 der 45 vorkommenden Fledermausarten gefunden werden (MÜLLER et al.: „Fledermaustollwut - ein globaler Überblick“, s. ds. Ausgabe). Hier beschreiben wir den ersten Nachweis von Toll-

wut bei einer Fransenfledermaus (*Myotis nattereri*), und die Entdeckung eines neuen Fledermaustollwutvirus.

## 2 Fallbericht

Im November 2009 wurde eine Fledermaus am Tage an einer Hauswand hängend in der Gemeinde Wunstorf, Niedersachsen (52°25'31.56"N; 9°23'31.56"E), aufgefunden und zur Pflege an eine Fledermaussachverständige übergeben. Die Fledermaus wurde morphologisch als Fransenfledermaus identifiziert. Das Tier war in einem geschwächten Zustand, und insbesondere das stumpfe Fell deutete auf eine Unterversorgung mit Mineralien hin. Entsprechend wurden dem Tier Mehlwürmer, angereichert mit Vitaminen und Mineralien, ad libitum angeboten. Der Winterschlaf wurde wegen des anfangs kritischen Zustandes nicht eingeleitet. Im Februar 2010 änderte sich das Verhalten und die Fransenfledermaus wurde plötzlich aggressiv. Sie attackierte gerichtet jedes Objekt, welches in die Nähe gehalten wurde, und verbiss sich. Drei Tage nach dem Einsetzen dieser Symptomatik stellte die Fledermaus auch die Futter- und Wasseraufnahme ein. Nach sieben Tagen wurde das Tier zunehmend lethargisch, war sichtlich geschwächt und starb drei Tage später.

Am Pathologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover wurde eine Sektion vorgenommen und Tollwut mittels Immunhistochemie nachgewiesen. Der neurotrophe Charakter der Lyssaviren wurde durch den Virusnachweis in verschiedenen Arealen des Zentralnervensystems deutlich. Nicht-neuronale Organe, wie z. B. Herz, Lunge, aber auch die Speicheldrüsen waren negativ. Am Veterinärinstitut Hannover wurde der Befund Tollwut bestätigt, indem Virus aus dem Gehirn in murinen Neuroblastomzellen (mNA) isoliert wurde (WEBSTER & CASEY 1988). Zur weiteren Charakterisierung wurde virushaltiges Material an das Nationale Referenzlabor am Friedrich-Loeffler-Institut übersandt. Die Typisierung mittels anti-N monoklonalen Antikörpern (SCHNEIDER 1982) ergab ein Reakti-

onsmuster, das keinem der anderen zum Vergleich mitgeführten Lyssaviruspezies entsprach. In Anlehnung an den Fundort bekam das Virus den vorläufigen Namen *Bokeloh Bat Lyssavirus* (BBLV) (FREULING et al. 2011).

Nachdem EBLV-spezifische Nachweismethoden für virale RNA, d. h. RT-PCR (Vos et al. 2004) negativ waren, konnte nur eine universellere Methode RNA nachweisen (HEATON et al. 1997). Eine Sequenzanalyse dieses Amplikons ergab, dass mit 80 % Übereinstimmung das Khujand-Virus (KHUV) nächster genetischer Verwandter von BBLV ist.

## 3 Diskussion

Das isolierte Fledermaustollwutvirus, *Bokeloh Bat Lyssavirus*, stellt höchstwahrscheinlich ein neues Lyssavirus dar. Darauf deuten die Ergebnisse der vergleichenden genetischen Analysen sowie die antigenetische Typisierung hin. Allerdings sind noch weitere Untersuchungen, wie z. B. Kreuzneutralisationsversuche, notwendig, um nach den Kriterien des Internationalen Komitees zur Taxonomie der Viren (ICTV) eine neue Virusspezies zu deklarieren.

Offensichtlich ist BBLV pathogen für Fransenfledermäuse und das klinische Bild entsprach dem einer Tollwuterkrankung. Da der genaue Zeitpunkt, zu welchem sich die Fledermaus infiziert hatte, nicht bekannt ist, kann über die Inkubationszeit, d. h. die Zeit zwischen Infektion und Auftreten erster klinischer Zeichen, nur spekuliert werden. Auf jeden Fall liegt sie bei über 4 Monaten und ist damit deutlich länger als bei klassischer Tollwut. Auch die Frage, ob die Fransenfledermaus das eigentliche Reservoir darstellt, kann bisher nicht zweifelsfrei beantwortet werden. Die Tatsache aber, dass genetisch verwandte Lyssaviren aus *Myotis*-Arten isoliert wurden (EBLV-2 aus *M. daubentonii*, *M. dasycneme*; KHUV aus *M. mystacinus*, ARAV aus *M. blythii*) deutet darauf hin, dass *Myotis*-Arten eine zentrale Rolle in der Epidemiologie von bestimmten Lyssaviren spielen.

Gerade vor dem Hintergrund, dass in Deutschland eine vergleichsweise hohe Untersuchungsdichte besteht, erscheint es verwunderlich, dass BBLV erst jetzt „entdeckt“ wurde. Allerdings ist die Fransenfledermaus eine eher unterrepräsentierte Art: nur 63 Fransenfledermäuse sind zwischen 1999 und 2010 überhaupt untersucht worden.

Wie bei vielen anderen Fledermaustollwutviren auch (JOHNSON et al. 2010) ist davon auszugehen, dass eine Infektion mit BBLV zu einer tödlichen Erkrankung auch beim Menschen führen kann. Durch Schutzmaßnahmen und Forschungen ist der Umgang mit Fledermäusen unerlässlich. Zwischen dem Jahr 2000 und 2010 sind allein 37.140 Markierungen für die Fransenfledermaus bei der Beringungszentrale Dresden registriert worden, was die Bedeutung einer Tollwutimpfprophylaxe unterstreicht. Aufgrund des Verwandtschaftsgrades und erster experimenteller Untersuchungen erscheint es sehr wahrscheinlich, dass Personen, die eine Tollwutimpfung bekommen haben, auch vor einer Infektion mit BBLV geschützt sind. Weitere Forschungen sind geplant, um mehr Erkenntnisse über die Verbreitung und Bedeutung von BBLV zu gewinnen.

### Danksagung

Besonderer Dank gilt CHRISTIAN KORTHASE und SUSANNE SCHARES für die technische Unterstützung. Teile der Untersuchungen sind durch die Zoonoseforschungsförderung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF, Förderkennzeichen 01K11016A) und durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz gefördert worden.

### Schrifttum

CALISHER, C. H., CHILD, J. E., FIELD, H., HOLMES, K. V., & SCHOUNTZ, T. (2006): Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews* **19**(3), 531-545.

- DIETZGEN, R. G., CALISHER, C. H., KURATH, G., KUZMIN, I. V., RODRIGUEZ, L. L., STONE, D. M., TESH, R. B., TORDO, N., WALKER, P. J., WETZEL, T., & WHITFIELD, A. E. (in press): Family *Rhabdoviridae*. In: KING, A. M. Q., ADAMS, M. J., CARSTENS, E. B., & LEFKOWITZ, E. J. (eds.): *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. 9<sup>th</sup> Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier.
- FREULING, C., GROSSMANN, E., CONRATHS, F. J., SCHAMEITAT, A., KLIEMT, J., AUER, E., GREISER-WILKE, I., & MÜLLER, T. (2008): First Isolation of EBLV-2 in Germany. *Veterinary Microbiology* **131**, 26-34.
- BEER, M., CONRATHS, F. J., FINKE, S., HOFFMANN, B., KELLER, B., HÖPER, D., METTENLEITER, T. C., MÜHLBACH, E., TEIFKE, J., WOHLSEIN, P., & MÜLLER, T. (2011): Novel lyssavirus isolated from a Natterer's bat, Germany. *Emerging Infectious Diseases* (im Druck).
- HEATON, P. R., JOHNSTONE, P., McELHINNEY, L. M., COWLEY, R., O'SULLIVAN, E., & WHITBY, J. E. (1997): Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. *J. Clin. Microbiol.* **35**(11), 2762-2766.
- JOHNSON, N., VOS, A., FREULING, C., TORDO, N., FOOKS, A. R., & MÜLLER, T. (2010): Human rabies due to lyssavirus infection of bat origin. *Veterinary Microbiology* **142**(3-4), 151-159.
- KUZMIN, I. V., MAYER, A. E., NIEZGODA, M., MARKOTTER, W., AGWANDA, B., BREIMAN, R. F., & RUPPRECHT, C. E. (2010): Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. *Virus Research* **149**(2), 197-210.
- MÜLLER, T., JOHNSON, N., FREULING, C. M., FOOKS, A. R., SELHORST, T., & VOS, A. (2007): Epidemiology of bat rabies in Germany. *Archives of Virology* **152**(2), 273-288.
- SCHNEIDER, L. G. (1982): Antigenic Variants of Rabies Virus. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* **5**(1-3), 101-197.
- VOS, A., MÜLLER, T., COX, J., NEUBERT, L., & FOOKS, A. R. (2004): Susceptibility of ferrets (*Mustela putorius furo*) to experimentally induced rabies with European Bat Lyssaviruses (EBLV). *Journ. Veterinary Medicine Ser. B – Infectious Diseases and Veterinary Public Health* **51**(2), 55-60.
- WEBSTER, W. A., & CASEY, G. A. (1988): Diagnosis of rabies infection, p. 201-222. In: CAMPBELL, J. B., & CHARLTON, K. M. (eds.): *Rabies*. Kluwer Academic Publishers. Boston.