

# Abschlussbericht

Zahlungsempfänger: Friedrich-Loeffler-Institut

Förderkennzeichen: 2815ERA03D

Vorhabenbezeichnung: „Entwicklung epidemiologischer Modelle zur Bekämpfung von durch Arthropoden verursachten Infektionskrankheiten- ARBONET“

Laufzeit: 01.04.2016 - 31.05.2019

Berichtszeitraum: 01.04.2016 - 31.05.2019

**1) Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen, auch zwecks Evaluierung von Förderprogrammen.**

Die Ergebnisse des Projekts gliedern sich gut in die förderpolitischen Ziele ein<sup>1</sup>. Es wurden neue Erkenntnisse im Bereich der Modellierung von Vektor-übertragenen Krankheiten am Beispiel des Krim-Kongo Hämorrhagischen Fiebers (CCHF) insbesondere im Zusammenhang mit dem Wildtierreservoir (Abhängigkeit der Ausbreitung von der Dichte der kleinen Säugetiere, wie Hasen und Kaninchen) gewonnen.

**2) Aufzählung der wichtigsten wissenschaftlich-technischen Ergebnisse des Vorhabens im Vergleich zu den ursprünglichen Zielen, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen.**

Das FLI befasste sich schwerpunktmäßig

- a) mit einer systematischen Literaturübersicht der Modellierung von Vektor übertragenen Krankheiten, sowie mit der Modellierung einer von Zecken übertragenen Krankheit, dem Krim-Kongo Hämorrhagischen Fieber (CCHF) (Arbeitspaket 2 (Institut für Epidemiologie des FLI (FLI-IfE)).
- b) mit Untersuchungen zur Interaktion der Arboviren mit Wirbeltierwirten (Arbeitspaket 4 (Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger des FLI (FLI-INNT))

***Arbeitspaket 2***

***Bericht zur systematischen Literaturübersicht () der Modellierung von Vektor übertragenen Krankheiten, sowie mit der Modellierung einer von Zecken übertragenen Krankheit dem Krim-Kongo Hämorrhagischen Fieber (CCHFV).***

Die systematische Literaturübersicht und der zugehörige Bericht befinden sich in finaler Bearbeitung. Sie konnten im Projekt nicht vollständig bearbeitet werden, weil über einen großen Zeitraum kein Personal verfügbar war bzw. Vertretungen eingesetzt wurden, die nicht ausreichend eingearbeitet werden konnten. Insgesamt wurden 619 Publikationen zur Modellierung von CCHFV gefunden, die spezifizierten Suchvorgaben (s.u.) in den Datenbanken *PubMed* und *Web of Science* entsprochen haben. Beispielsweise wurde gesucht nach „Crimean Congo Hemorrhagic fever OR CCHF OR CCHFV AND Model AND spatial“ und ähnlichen logischen Ausdrücken. Nach Präzisierung der Suchvorgaben und manuellem Screening der Abstracts aller 619 Publikationen hat sich die Anzahl der Artikel auf 19 relevante Publikationen reduziert.

Die Ergebnisse der systematischen Literaturübersicht wurden verwendet, um ein Kompartiment-Modell des Krim-Kongo Hämorrhagischen Fiebers zu erstellen (s. Abb. 1). Zusätzlich wurde das Modell mit Zeckenexperten besprochen, um die Biologie des Erregers abzuklären (Prof. Dr. C. Silaghi (FLI, Insel Riems), Dr. C. Klaus (FLI, Jena), persönliche Kommunikation). Das Kompartiment-Modell deckt alle Entwicklungsstufen der Zecken ab. Abbildung 1 zeigt eine Übersicht des Modells und die Zusammenhänge zwischen Vektoren und Säugetieren.

---

<sup>1</sup> [https://www.fisaonline.de/einrichtungen-  
finden/projekttraeger/details/?tx\\_fisaresearch\\_projectagencies%5Bp\\_id%5D=9262&tx\\_fisaresearch\\_projectagencies%5Baction%5D=proj  
ctDetails&tx\\_fisaresearch\\_projectagencies%5Bcontroller%5D=Projects&cHash=052ff14612026e6e0e091a80e5bd4ebd#more](https://www.fisaonline.de/einrichtungen-<br/>finden/projekttraeger/details/?tx_fisaresearch_projectagencies%5Bp_id%5D=9262&tx_fisaresearch_projectagencies%5Baction%5D=proj<br/>ctDetails&tx_fisaresearch_projectagencies%5Bcontroller%5D=Projects&cHash=052ff14612026e6e0e091a80e5bd4ebd#more)

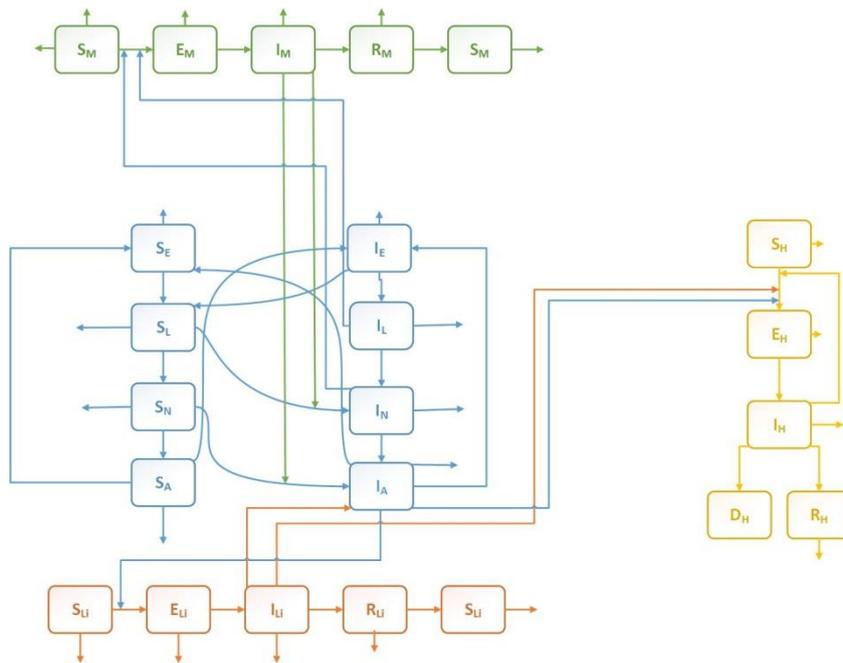


Abbildung 1: Kompartiment-Modell für CCHFV mit S (susceptible, empfänglich), E (exposed, exponiert), I (infected, infiziert), R (recovered, rekonvaleszent), D (dead, gestorben). Einbezogene Spezies sind Li (Nutztiere; rot), H (Mensch; gelb), M (kleine Säugetiere; grün), A (adulte Zecken; blau), L (Zeckenlarven; blau), N (Zeckennymphen; blau).

Das CCHF-Virus wird vor allem durch Zecken der Gattung *Hyalomma*, insbesondere *Hyalomma marginatum*, übertragen. Es gibt Evidenz zur transstadialen und transovarialen Übertragung. Als ersten Schritt hat FLI sich auf den Lebenszyklus von *Hyalomma spp.* konzentriert und die entsprechenden Parameter für das Modell in Abbildung 1 aus Literatur und Expertenwissen für von Zecken übertragene Krankheiten identifiziert. Die dabei gefundenen Parameter sind in Tabelle 1 auf Seite 6 zusammengefasst.

Obwohl FLI für die meisten Parameter Informationen in der Literatur gefunden hat (siehe Tabelle 1, Seite 7), bleiben manche Parameter auch nach der Literaturrecherche unbekannt. Insbesondere sind nach Erkenntnis von FLI nur wenig Daten über den Lebenszyklus von Zecken verfügbar. Darüber hinaus ist die Datenqualität zu kleinen Säugetieren (Wildtiere) schlecht, d.h. ihre Populationsgröße und –Verteilung ist weitgehend unbekannt. Es ist unklar, ob diese nach einer Genesung neu infiziert werden können, und falls ja nach welcher Zeitspanne. Darüber hinaus sind keine Daten über die Wege der Virus Sekretion oder deren Ausscheidung bei Tieren verfügbar. Zuverlässige Werte für diese Parameter sind nicht vorhanden. Das liegt auch an den erschwerten experimentellen Bedingungen zur Erhebung der Daten – die Experimente müssen unter BSL4 (*biosafety level 4*, höchste biologische Schutzstufe) Bedingungen durchgeführt werden, wobei der Infektionsprozess durch Zeckenbisse ein seltenes Ereignis ist und eine genügende Anzahl solcher Ereignisse nur in einer großen Population zu erwarten ist. Diese Bedingungen sind in einem BSL4 Labor nicht realisierbar. Darüber hinaus ist die Effizienz der Übertragung vom Wirt auf die Zecke (adult, Nymphe und Larve) durch Blutmahlzeit unklar. Noch weniger ist bekannt über die Übertragungsraten auf den Menschen. Auch die benötigten Umweltbedingungen für die Etablierung den Vektor (*Hyalomma marginatum*) sind nur teilweise bekannt. Einige dieser Faktoren sind im ECDC (European Center for Disease Control) zu finden (<https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/tick-factsheets/hyalomma-marginatum>). Diese Quelle liefert Informationen zu *H. marginatum*-Zecken:

- Aktive Periode aller Stadien von *H. marginatum* zwischen Mai und September.

- *H. marginatum* suchen aktiv nach einem Wirt, wenn die durchschnittliche Tagestemperatur zwischen 22°C und 27°C liegt und die Luftfeuchtigkeit zwischen 75 und 100%.
- Die *H. marginatum*-Population wird nach sehr kalten Wintern (unter -30°C, ohne Schnee) reduziert. Eine erhöhte Population wird hingegen nach wärmeren und kürzeren Herbst-Winter Perioden beobachtet.
- Die Überlebensrate und Reproduktion der Zecken ist positiv mit der Anzahl von Wirten korreliert.
- Die Larven schlüpfen nach 20-40 Tagen.
- *H. marginatum* kann einen Wirt über Minuten lang verfolgen und legt dabei Entfernungen von bis zu 100 m zurück.

In Europa ist das CCHF Virus bereits in den südöstlichen Regionen vorhanden, aber bedingt durch den Klimawandel könnten in Zukunft auch Regionen weiter im Norden betroffen sein. Um die Wahrscheinlichkeit abzuschätzen, mit der CCHFV-Infektionen in Ländern mit *Hyalomma*-Arten auftreten können, sind detaillierte Informationen zu Landschaft, Zeckendichte, Rinderdichte, Dichte an kleinen Säugetieren (z.B. Hasen, Kaninchen) und Umweltfaktoren, wie z.B. die Temperatur, notwendig.

In Regionen ohne regelmäßiges Vorkommen von *Hyalomma*-Arten, wie z.B. Deutschland in der Vergangenheit, muss das Importrisiko von Zecken mittels Transporten oder Zugvögeln geschätzt werden. Darüber hinaus ist eine Definition von Regionen mit geeigneten Bedingungen für eine Zeckenetablierung von Interesse. Eine wichtige Frage dabei ist, in welchem Ausmaß ein Temperaturanstieg notwendig für das Etablieren der *Hyalomma*-Zeckenpopulation in bislang ungeeigneten Regionen ist.

### **Ergebnisse aus Simulationen**

Das Modell wurde als System von Differenzialgleichungen mathematisch formuliert. Die Gleichungen wurden numerisch mit einem Standard-Solver (R package DeSolve) gelöst. Die eingehenden Parameter und die Anfangsbedingungen wurden entsprechend der Literatur gewählt. Als Anfangsbedingung wurde eine minimale Anzahl infizierter Eier benutzt, alle anderen Teile der Population sind empfänglich. Für die Säugetiere wurde eine geschlossene Population angenommen (d.h. keine Geburtenrate), weil die Simulationszeit kürzer als die Lebenszeit ist.

Die Ergebnisse zeigen, dass jedes Stadium der Zeckenpopulation nach einiger Zeit endemisch infiziert ist (Abbildung 2).

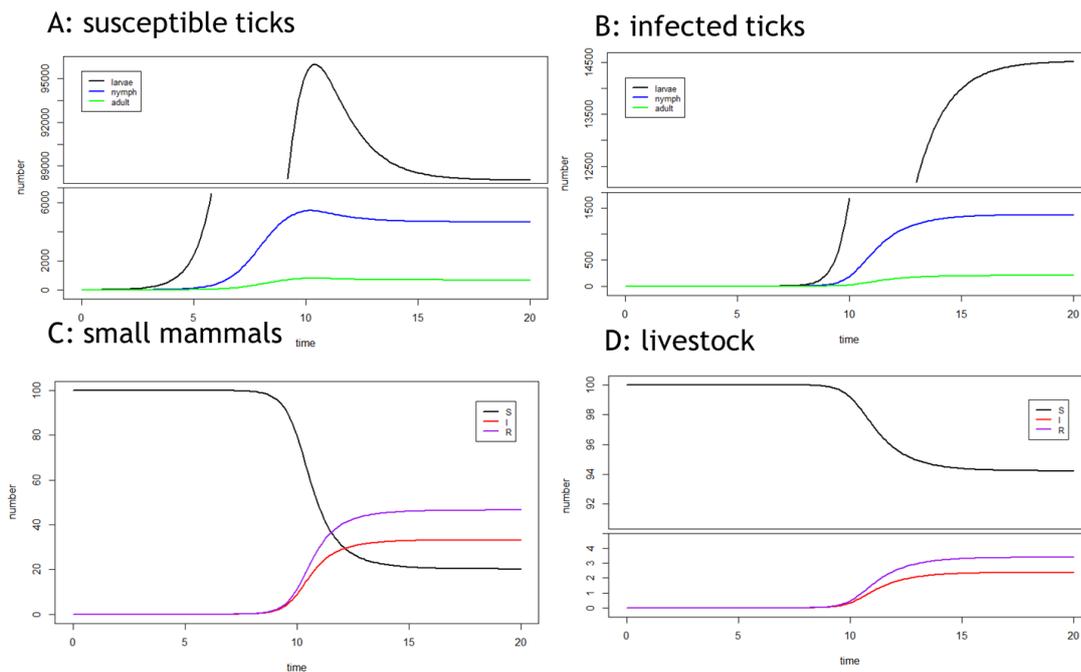


Abbildung 2: Ergebnisse des Ausbruchmodells. A: Anzahl der empfänglichen Zecken in verschiedenen Lebensstadien über die Zeit (schwarz: Larven, blau: Nymphen, grün: adulte Zecken). B: Anzahl der infizierten Zecken in verschiedenen Lebensstadien über die Zeit (Farben wie in A). C: Anzahl empfänglicher (schwarz; S), infizierter (rot; I) und genesener (violett; R) Kleinsäuger über die Zeit. D: Anzahl empfänglicher (schwarz; S), infizierter (rot; I) und genesener (violett; R) Nutztiere über die Zeit.

Um die Sensitivität des Modells zu prüfen, wurden Partielle Rangkorrelationskoeffizienten (PRCC) berechnet. Der Einfluss der Parameter (siehe nächster Abschnitt) auf das Modell ist relativ homogen (Abbildung 3), d.h. dass alle Parameter etwa gleich stark zum Modellverhalten beitragen.

Unter den im Modell getroffenen Annahmen wird sich die *Hyalomma marginatum*-Population etablieren können, d.h. es wurden bislang nur Parameter berücksichtigt, in denen die Population nicht ausstirbt. Für weitere Analysen muss das Modell an deutsche Habitat- und Klimadaten angepasst werden, um ein realistischeres Bild zu erhalten.

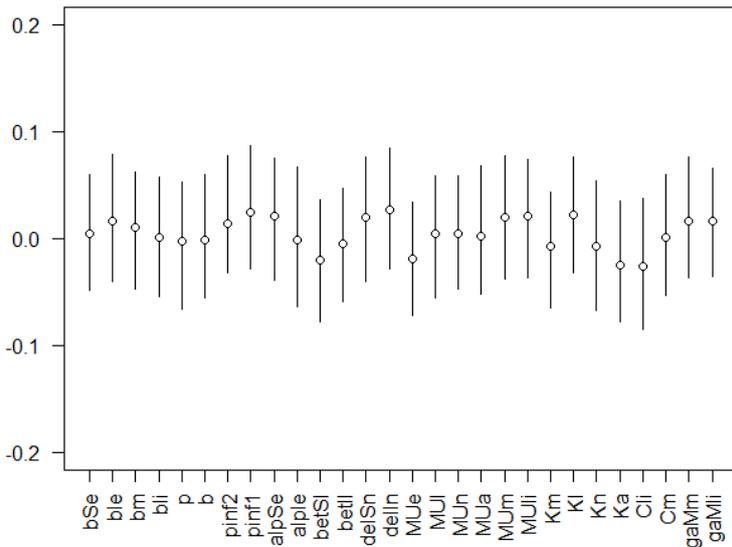


Abbildung 3: Sensitivitätsanalyse. Partiieller Rang Korrelationskoeffizient (PRCC) vs. Eingabeparameter. Alle Parameter haben einen gleichen Einfluss auf das Modellergebnis.

Parameter: *bSe* Geburtenrate empfänglicher Eier, *ble* Geburtenrate infizierter Eier, *bm* Geburtenrate Säugetiere, *bli* Geburtenrate Nutztiere, *p* Wahrscheinlichkeit für ein empfängliches Ei von infiziertem adult, *b* allg. Infektionsstärke, *pinf2* Infektionswahrscheinlichkeit Säugetier, *pinf1* Infektionswahrscheinlichkeit Zecke, *alpSe* Entwicklungsrate empfängliches Ei nach Larve, *alpe* Entwicklungsrate infiziertes Ei nach Larve, *betSI* Entwicklungsrate empfängliche Larve nach Nymphe, *betLI* Entwicklungsrate infizierte Larve nach Nymphe, *delSN* Entwicklungsrate empfängliche Nymphe nach adult, *delln* Entwicklungsrate infizierte Nymphe nach adult, *MUe* Mortalitätsrate Eier, *MUJ* Mortalitätsrate Larven, *MUh* Mortalitätsrate Nymphen, *MUa* Mortalitätsrate adulte, *MUm* Mortalitätsrate Säugetiere, *MULi* Mortalitätsrate Nutztiere, *Km* Kapazität Säugetiere, *KI* Kapazität Larve, *Kn* Kapazität Nymphe, *Ka* Kapazität adulte, *Cli* Genesungsrate Nutztier, *CM* Genesungsrate Säugetier, *gaMn* Rate Wiederempfänglichkeit Säugetier, *gaMli* Rate Wiederempfänglichkeit Nutztier.

### Parameter

Wie bereits weiter oben erwähnt, sind Daten zu einigen Parametern kaum vorhanden. In manchen Fällen waren die Werte in verschiedenen Publikationen unterschiedlich (siehe Tabelle 1). Als Beispiel sind in Abbildung 4 voneinander abweichende Überlebensraten für adulte Zecken und Eier dargestellt.

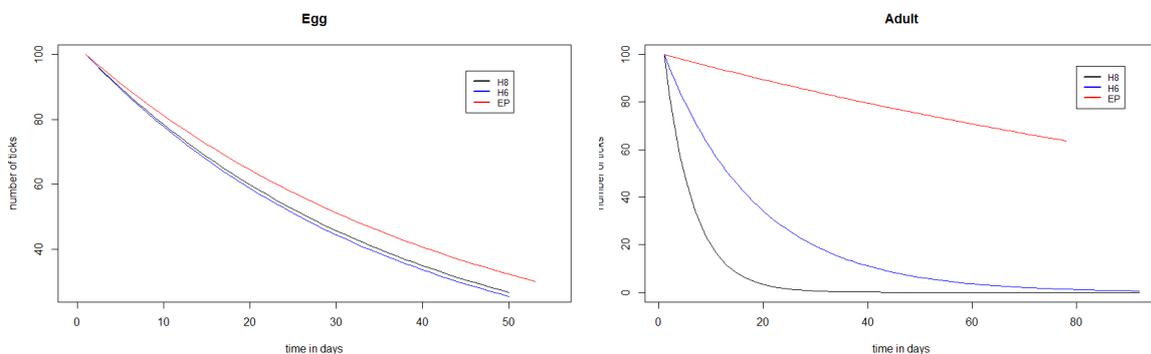


Abbildung 4: Überlebensrate von Eiern und adulten Zecken basierend auf den Annahmen von Estrada-Pena (2011), Hoch (2016) und Hoch (2018).

**Tabelle 1: Wichtige bekannte und unbekannte Parameter kategorisiert nach Typ, Wert, Einheit und Referenz (M – kleine Säugetiere, Li – Nutztiere).**

<b>Typ</b>	<b>Wert</b>	<b>Einheit</b>	<b>Referenz</b>
Effizienz der Übertragung von Nymphe zu Host (M)	0.2		(Matser et al., 2009)
Effizienz der Übertragung von Larve zu Wirt? (M)	0.2		(Matser et al., 2009)
Effizienz der Übertragung von adulter Zecke zu Host (Li)	0.2		(Matser et al., 2009)
Effizienz der Übertragung von Zecke zu Zecke	0.01-0.04		(Matser et al., 2009)
Effizienz der transovarialen Übertragung	0.17		(Matser et al., 2009)
Effizienz des Erwerbs durch Larven	0.3		(Matser et al., 2009)
Effizienz des Erwerbs durch adulte Zecken	0.3		(Matser et al., 2009)
Effizienz des Erwerbs durch Nymphen	0.3		(Matser et al., 2009)
Anzahl an Eiern pro weiblicher Zecke	6500	Eier	(Estrada-Pena et al., 2011)
Dauer der Blutmahlzeit Larven	5	Tage	(Estrada-Pena et al., 2011)
Dauer der Blutmahlzeit Nymphen	8	Tage	(Estrada-Pena et al., 2011)
Dauer der Blutmahlzeit adulte Zecken	14	Tage	(Estrada-Pena et al., 2011)
Mortalitätsrate während der Blutmahlzeit	0.28	Tage <sup>-1</sup>	(Hoch et al., 2016)
Infektionsdauer bei Rindern (Li) (Virämie, Infektiöse Dauer)	7	Tage	(Matser et al., 2009)
Infektionsdauer bei Hasen (Virämie, Infektiöse Dauer)	5	Tage	(Matser et al., 2009)
Dauer der Entwicklung von gesogener Larve zur Nymphe	26	Tage	(Estrada-Pena et al., 2011)

## **Arbeitspaket 4**

### **Untersuchungen zur Interaktion der Arboviren mit Wirbeltierwirten**

Die epidemiologische Modellierung von vektorübertragenen Krankheiten wie Krim-Kongo-Hämorrhagisches Fieber (CCHF), Rift-Tal-Fieber (RVF), West-Nil-Fieber (WNV) erfordert gute Kenntnisse über den Verlauf von Virusinfektionen bei Arthropoden sowie bei Wirbeltierwirten, um deren Intra- und Inter-Spezies-Übertragungsraten und die Verbreitung vorherzusagen. Für die CCHFV fehlt dieses Wissen derzeit völlig - daher war dies der Schwerpunkt dieses Arbeitspaketes. Experimentelle CCHFV-Studien erfordern jedoch maximale Biosicherheitsbedingungen, die in der neuen Labor- und Tieranlage BSL4 am FLI verfügbar sein sollten. Leider war diese Anlage während der Projektphase aus technischen Gründen und durch Verzögerungen bei der Inbetriebnahme nicht verfügbar. Diese Probleme wurden in den Sachberichten im Februar 2017, Januar 2018 und im Juni 2019 zunehmend deutlicher dargestellt. Daher wurde in diesem Arbeitspaket mehr Gewicht auf das Hazaravirus, ein mögliches Modellvirus für CCHFV, sowie auf Wissenslücken über die RVFV-Infektionen bei europäischen Schafen sowie auf vergleichende Virulenzstudien über europäische WNV-Stämme/Isolate in Mausmodellen gelegt. Erkenntnisse und Erfahrungen aus den RVFV- und WNV-Studien wurden bereits in die epidemiologische Modellierung eingebracht, während in 2019 HAZV-Infektionsstudien bei Schafen liefen. Die auch für die Tätigkeit des Nationalen Referenzlabors für CCHFV am FLI thematisch wichtige BSL4-Infektionsstudie wird deshalb erst durchgeführt werden, sobald hierzu die Rahmenbedingungen vorhanden sind. Weltweit laufen nur zwei solcher BSL4-Anlagen (Canadian Food Inspection Agency (CFIA) Winnipeg, Kanada; Australian Animal Health Laboratory (AAHL) Geelong, Australien). Daher wurde ein solches BSL4-Labor in den Jahren 2010-13 am FLI gebaut und es war geplant, dass dieses im Rahmen des Arbonet-Projekts nach einer Inbetriebnahme-Phase voll funktionsfähig und verfügbar ist. Da die technischen Herausforderungen einer solchen BSL4-Anlage jedoch erheblich sind, konnten die BSL4-Arbeiten im Labor erst zum Projektende gestartet werden, die Inbetriebnahme der BSL4-Tierhaltung steht bis heute (Juli 2020) noch aus. Die geplanten Experimente konnten daher im Arbonet-Projekt nicht wie geplant durchgeführt werden. Angesichts der Wichtigkeit dieser Untersuchungen auch für die Tätigkeit des am FLI angesiedelten nationalen Referenzlabors ist deshalb geplant, diesen Tierversuch nach dem Ende des Projektes nachzuholen, sobald dazu die technischen und organisatorischen Voraussetzungen gegeben sind.

Die Arbeitspaket 4-Aktivitäten wurden daher auf die Untersuchung von Hazaravirusinfektionen in vitro und in vivo ausgerichtet, einem weiteren eng verwandten Orthonairovirus, das jedoch nur BSL2-Bedingungen erfordert. Darüber hinaus hat Partner 2 (FLI) RVFV-Infektionsmodelle bei Schafen und Mäusen etabliert und WNV-Infektionsstudien an Mäusen durchgeführt, um stammspezifische Infektionsmerkmale zu bestimmen.

Folgende Aktivitäten wurden im Einzelnen in den Arbeitspaketen 4.1 – 4.4 durchgeführt

#### WP 4.1 Infektionsstudien bei Tieren

##### *CCHFV*

Tierexperimentelle Infektionsstudien mit CCHFV konnten nicht wie geplant durchgeführt werden, da die technischen Voraussetzungen für Arbeiten mit diesem hochvirulenten BSL4-Erreger am FLI nicht gegeben waren. Daher konnten die entsprechenden Meilensteine und Ergebnisse nicht erreicht werden (Meilenstein 4.10 CCHFV Infektionsstudie in Arbeit (18 Monate) / Meilenstein 5.12 In vivo Protokolle optimiert (24 Monate)).

Alternativ wurden daher Infektionsstudien mit den Arboviren Hazara-Virus, West-Nil-Virus und Rifttal-Fieber-Virus (HAZV, WNV und RVFV) durchgeführt, mit denen unter BSL2- bzw. BSL3-Biosicherheitsbedingungen gearbeitet werden darf.

#### *HAZV-Infektionsstudien*

Hazara orthonairovirus (HAZV) ist ein zeckenübertragenes Arbovirus, das zur Gattung Orthonairovirus innerhalb der Ordnung Bunyvirales gehört. Die natürlichen Wirte sind unbekannt und es wurde bisher keine Krankheit bei Wirbeltieren (inkl. Menschen) gemeldet. Dieses Virus ist jedoch von Interesse, da es in enger Beziehung zu CCHFV steht, das bekanntermaßen tödliche Krankheiten beim Menschen verursacht. Da es zur gleichen Serogruppe wie CCHFV gehört, wurde HAZV als potentielles Modellvirus untersucht. HAZV-Studien konnten unter BSL2-Bedingungen durchgeführt werden.

Für die Serologie und den Nachweis von HAZV in Gewebeproben gibt es jedoch kaum immunologische Werkzeuge, die eingesetzt werden konnten. Am FLI wurden daher in einem ersten Versuch die In-vitro-Kultivierung von HAZV etabliert und ausreichend Viren produziert, die anschließend (mit verschiedenen Behandlungen - siehe Tabelle 2) inaktiviert und zur Immunisierung von Mäusen, Kaninchen, Ratten, Schafen und Rindern eingesetzt wurden. Außerdem wurden HAZV-N-Protein rekombinant in *E. coli* exprimiert und nach Aufreinigung zur Impfung eines Kaninchens verwendet. Lebendes HAZV wurde schließlich eingesetzt, um zwei Kaninchen zu infizieren. Beide Kaninchen zeigten keinerlei klinischen Symptome, was die Apathogenität dieses Virus in dieser Spezies bestätigte, bildeten aber ausgezeichnete Antikörper.

Über HAZV-Infektionen und deren Pathogenese bei Wiederkäuern war bis dato wenig bekannt. Deshalb wurden am FLI Schafe mit HAZV infiziert, um ihre Empfänglichkeit nachzuweisen. Durch die Analyse der Tupferproben, die zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion genommen worden waren, konnte die Virusvermehrung und -ausscheidung analysiert werden. Isolierte RNA aus Blutproben sowie aus Organen nach der Nekropsie zeigten den Verlauf der viralen Replikation und die Virus-Verteilung innerhalb der Tiere. Darüber hinaus konnte Blut- und Organmaterial dieser Tiere auch als Referenzmaterial verwendet werden, z.B. für die Entwicklung von diagnostischen Assays.

#### *Studien zur Infektion mit dem West-Nil-Virus*

Das West-Nil-Virus ist ein in Europa zunehmend vorkommendes Arbovirus, das zwischen Mücken und Vögeln in einem enzootischen Zyklus übertragen und weltweit verbreitet wird. Es kann auch auf Dead End-Wirte, z. B. Menschen und Pferde, übertragen werden und bei diesen schwere neurologische Erkrankungen verursachen (insbesondere bei immungeschwächten Personen). In der Vergangenheit wurde davon ausgegangen, dass die Virulenz mit den genetischen Linien von WNV korreliert. WNV Linie 1-Erregerstämmen wurde eine höhere Pathogenität zugewiesen, während WNV-Linie 2-Stämme in Afrika und Madagaskar vermutlich niedrigvirulent waren. Im Jahr 2004 erreichten die Isolate der Linie 2 allerdings erstmals Europa und führten zu zahlreichen Ausbrüchen mit neuroinvasiven Krankheiten beim Menschen, anderen Säugetieren und bei Vögeln (vor allem Greifvögel). WNV-Linie 2-Stämme erreichten Deutschland erstmals im Jahre 2018 und sind seitdem vor allem in den neuen Bundesländern endemisch.

In Wirbeltierarten sind Alpha/Beta-Interferone (Typ-I-Interferone) wichtige angeborene Immunantwortmechanismen gegen Virusinfektionen, die den Gewebetropismus und die Viruslast stark einschränken. Wildtyp-Maus-Infektionsstudien am FLI zeigten eine Virusgenotyp-spezifische Neuropathogenität von niedrig- und hochvirulenten Stämmen von WNV-Linien 1 und 2. Daher wurden

im Rahmen des Projektes zwei hochvirulente Linie-1-Stämme (WNV-Linie 1 New York`99 (NY) und Dakar (DA)) und zwei Linie-2-Stämme (Uganda (UG) und Goshawk Austria 2009 (GO)) in Interferon Typ I (alpha/beta) Rezeptor Knock-out-Mäusen (IFNAR  $-/-$ ) und Wildtyp-Mäusen (WT, C57/Bl6). Ziel der Studie war es, hoch- und niedrigvirulente Linie 1 und 2 Isolate tierexperimentell zu charakterisieren.

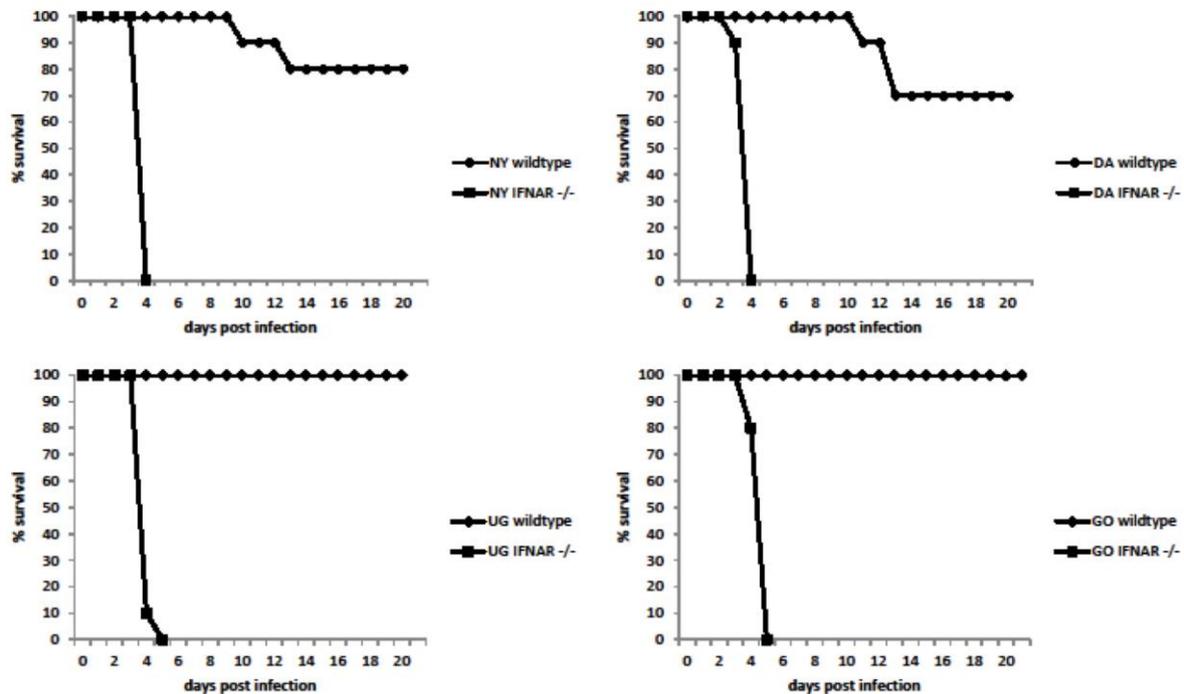


Abbildung 5. Überlebenskurven von IFNAR  $-/-$  und Wildtyp (C57/Bl6) Mäusen, die mit vier verschiedenen WNV-Isolaten infiziert sind. Zehn Mäuse pro Gruppe wurden subkutan mit 100 Zellkultur-infektiosen Dosen ( $TCID_{50}$ ) der WNV-Linie 1 NY, DA, WNV-Linie 2 UG und GO infiziert. Bei den Linie 1 infizierten Wildtyp-Mäusen starben 20-30% der Tiere, während alle Linie 2 infizierten Tiere überlebten. Im Gegensatz dazu erkrankten und verstarben alle IFNAR  $-/-$  Mäuse nach der Infektion schnell, unabhängig davon, welche WNV-Linie verwendet wurde.

#### *RVFV-Infektionsstudien*

In der Vergangenheit wurden RVFV-Infektionen bei kleinen Wiederkäuern in Afrika stets mit dort einheimischen Schafen untersucht, während Daten aus Empfänglichkeit- und Pathogenese bei z.B. europäischen Schafrassen fehlten. Solche Daten sind jedoch für die Entwicklung epidemiologischer Modelle erforderlich. Daher wurde eine Infektionsstudie mit deutschen Schaflämmern durchgeführt, bei der die intravenöse Challenge-Dosis  $10^6$   $TCID_{50}$  des RVFV-Stammes ZH501 (hochvirulent) betrug (siehe Abb. 6).

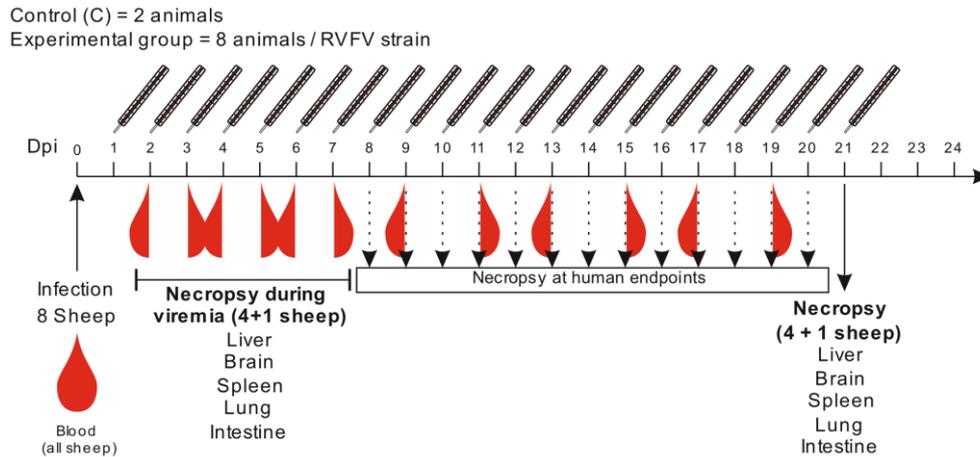


Abbildung 6. Design und Realisierung der RVFV-Infektionsstudie unter BSL3 Bedingungen bei FLI

WP 4.2 Analyse der Gewebeproben aus den Infektionsstudien

*CCHFV / HAZV Infektionsstudien*

Aufgrund der Verzögerungen bei der Inbetriebnahme der BSL4-Labor- und Tieranlage konnten die ursprünglich geplanten CCHFV-Arbeiten nicht durchgeführt werden. Stattdessen wurden HAZV-Impfungen und Infektionsstudien durchgeführt. Die wichtigsten Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2. HAZV-Impfungen und Challenge-Studien

Inaktivierung	Tierspezies	Antikörper im ELISA	Antikörper im SNT
<i>Beta Propiolacton</i>	<i>Maus</i> <i>2x Balb c</i> <i>2x IFNAR</i> <i>2x IFNGR</i>	<i>schwach</i>	<i>nein</i>

	2x IFNy		
	1x Rat	nd	nd
	1x Kaninchen	ja	nein
	1x Schaf	nein	nein
Formaldehyd	1x Rind	ja	ja
	Kaninchen	geplant	
	Mouse	In progress	
Lebend-Virus	2x Kaninchen	ja	nein
56°C / 30 min	Kaninchen	geplant	
N-Protein	1x Kaninchen	schwach	nein

### WNV-Infektionsstudien

Die Pathogenität von WNV-Stämmen sollte experimentell im Mausmodell untersucht werden.

West-Nil-Virus-Fälle (WNV) werden seit vielen Jahren häufig in Europa und anderswo beobachtet. Der klinische Schweregrad und die epidemiologische Ausbreitung dieser Infektionen werden durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Um das europäische WNV Linie 2 Isolat Austria 2009 zu charakterisieren, wurden immunkompetente Wildtyp-Mäuse (C57/Bl6) und Interferon Typ I-Rezeptor Knock-out-Mäuse (IFNAR -/-) mit diesem Isolat und zwei hochvirulenten WNV Linie 1-Stämmen und einem nicht-virulenten WNV Linie 2 Uganda-Stamm infiziert. Im Gegensatz zu Linie-1-Stämmen, die bei Wildtyp-Mäusen neuroinvasiv waren, waren beide WNV-Linien-2-Stämme bei diesen Mäusen nicht pathogen. Für IFNAR -/- Mäuse waren alle Stämme hochvirulent, wobei die Viruslast bei Linie 2 Österreich 2009 in Organen annähernd mit Linie 1 Stämmen vergleichbar, während die Replikation der Linie 2 Uganda-Stamm etwas geringer war. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das WNV Austria 2009 Isolat nicht in der Lage ist, die interferonbasierte Immunabwehr bei erwachsenen Wildtyp-Mäusen zu überwinden. Diese Daten stimmen jedoch nicht genau mit der vermuteten höheren Virulenz der aktuellen WNV-Linie 2-Stämme in Europa überein, was darauf hindeutet, dass es zusätzliche interferonunabhängige Virulenz-Faktoren (z.B. Umwelt, Wirte) gibt.

Tabelle 3. Mittlere Virusgenombelastung und mittlere immunhistopathologische (IHC) Anfärbungswerte bei Tieren, die einer Infektion erlegen sind (nur verstorbene Mäuse).

Gehirn							
Virus							
Maustyp	Ct-Wert Median	SD	Kopien/mg Median	SD	TCID50/mg Median	SD	IHC Median
NY, WT	24.9	1.5	1.8*10 <sup>3</sup>	1.4*10 <sup>3</sup>	7.9*10 <sup>2</sup>	1.1*10 <sup>3</sup>	1,5
DA, WT	25.7	1.8	1.7*10 <sup>3</sup>	1.9*10 <sup>3</sup>	51.0	68.5	1
UG, WT*	-	-	-	-	-	-	-
GO, WT*	-	-	-	-	-	-	-
NY, IFNAR -/-	21.5	1.4	2.1*10 <sup>4</sup>	1.7*10 <sup>4</sup>	1.4*10 <sup>4</sup>	1.4*10 <sup>4</sup>	0
DA, IFNAR -/-	21.9	2.0	2.3*10 <sup>4</sup>	2.4*10 <sup>4</sup>	2*10 <sup>4</sup>	2.6*10 <sup>4</sup>	0
UG, IFNAR -/-	24.0	2.2	6.2*10 <sup>3</sup>	8.1 * 10 <sup>3</sup>	1.5*10 <sup>3</sup>	1.7*10 <sup>3</sup>	0
GO, IFNAR -/-	22.0	1.2	1.2 * 10 <sup>4</sup>	8.8 * 10 <sup>3</sup>	4.6*10 <sup>4</sup>	2.8 * 10 <sup>4</sup>	0

<b>Milz</b>							
<b>Virus</b>	<b>Ct-Wert</b>		<b>Kopien/mg</b>		<b>TCID50/mg</b>		<b>IHC</b>
<b>Maustyp</b>	<b>Median</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>SD</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>median</b>
NY, WT	30.2	1.2	93.1	77.1	neg.	-	0
DA, WT	33.3	1.6	5.3	4.5	neg.	-	0
UG, WT*	-	-	-	-	-	-	-
GO, WT*	-	-	-	-	-	-	-
NY, IFNAR -/-	14.1	0.4	3.2 * 10 <sup>6</sup>	9.5*10 <sup>5</sup>	8.3*10 <sup>5</sup>	1.1*10 <sup>6</sup>	2
DA, IFNAR -/-	14.1	0.8	5.7 * 10 <sup>6</sup>	4.8*10 <sup>6</sup>	1.3*10 <sup>6</sup>	1.5*10 <sup>6</sup>	2
UG, IFNAR -/-	17.7	6.1	4.8*10 <sup>6</sup>	4.7*10 <sup>6</sup>	2.2*10 <sup>5</sup>	2.6*10 <sup>5</sup>	2,5
GO, IFNAR -/-	14.7	0.8	2.7*10 <sup>6</sup>	1.9*10 <sup>6</sup>	2.4*10 <sup>6</sup>	2.7*10 <sup>6</sup>	2

<b>Herz</b>						
<b>Virus</b>	<b>Ct-Wert</b>		<b>Kopien/mg</b>		<b>TCID50/mg</b>	
<b>Maustyp</b>	<b>Median</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>SD</b>
NY, WT	29.7	1.6	70.4	68.0	neg.	-
DA, WT	35.5	8.4	17.2	18.2	0.6	0.5
UG, WT*	-	-	-	-	-	-
GO, WT*	-	-	-	-	-	-
NY, IFNAR -/-	18.4	0.9	2.5*10 <sup>5</sup>	1.5*10 <sup>5</sup>	4.4*10 <sup>4</sup>	4*10 <sup>4</sup>
DA, IFNAR -/-	17.1	1.6	1*10 <sup>6</sup>	1.2*10 <sup>6</sup>	3.2*10 <sup>5</sup>	3.5*10 <sup>5</sup>
UG, IFNAR -/-	19.1	3.2	7.4*10 <sup>5</sup>	1.2*10 <sup>6</sup>	7.7*10 <sup>3</sup>	8.5*10 <sup>3</sup>
GO, IFNAR -/-	17.8	1.1	3.8*10 <sup>5</sup>	3.1 *10 <sup>5</sup>	4.7*10 <sup>5</sup>	1.1*10 <sup>6</sup>

<b>Leber</b>	<b>perakute Nekrosen</b>	
<b>Virus</b>	<b>Zahl der</b>	
<b>Maustyp</b>	<b>IHC Median</b>	<b>Tiere</b>
DA, WT	0	1
UG, WT*	-	-
GO, WT*	-	-
NY, IFNAR -/-	2	2
DA, IFNAR -/-	2	9
UG, IFNAR -/-	0	8
GO, IFNAR -/-	2	4

\*keine verstorbenen Tiere, alle überlebten bis zum Ende des Experiments.

Diese Ergebnisse zeigen, dass sich das Austria GO WNV-Linie 2-Isolat von virulenten Linie-1-Stämmen unterscheidet, die einen nicht-virulenten Phänotyp bei Wildtyp-Mäusen darstellen, aber Virulenz-Niveaus erreichen, die mit Linie-1-Isolaten bei IFNAR<sup>-/-</sup>-Mäusen vergleichbar sind. Nach dem Auftreten der WNV-Linie 2 in Europa und der anschließenden Ausbreitung mit Fällen neuroinvasiver Erkrankungen bei Greifvögeln und Säugetieren wäre jedoch zumindest für das Austria GO-Isolat ein neuroinvasiver Phänotyp bei Wildtyp-Mäusen zu erwarten gewesen. Die in Europa beobachtete hohe Virulenz der WNV-Linie 2-Stämme lässt sich daher mit den hier erhaltenen Daten nicht vollständig erklären, was darauf hindeutet, dass auch externe Faktoren (Wirte, Vektoren, Umwelt) zur Virulenz beitragen.

### RVFV-Infektionsstudien

Tierexperimentell infizierte Schaflämmer wurden klinisch untersucht und es wurden täglich Abstrichproben entnommen. Jeden zweiten Tag wurde den Tieren Blut entnommen. Vier Schafe (plus 1 Kontrolle) wurden seziert und Gewebeproben entnommen, während die restlichen 4+1 Schafe erst nach drei Wochen eingeschläfert und seziert wurden. Alle Proben wurden mittels qRT-PCR und die Gewebeproben zusätzlich mit Histopathologie und IHC-Färbung für RVFV N-Protein analysiert. Diese Ergebnisse bestätigten, dass die deutschen Lämmer a) prinzipiell empfänglich für RVFV waren, aber keine schweren klinischen Symptome zeigten (nota bene: biphasischer klinischer Verlauf!), b) an den Tagen 2-3 eine Virämie entwickelten, die wahrscheinlich hoch genug war, um eine Übertragung auf Arthropoden zu ermöglichen und c) eine starke neutralisierende Antikörper-basierte Immunantwort entwickelten.

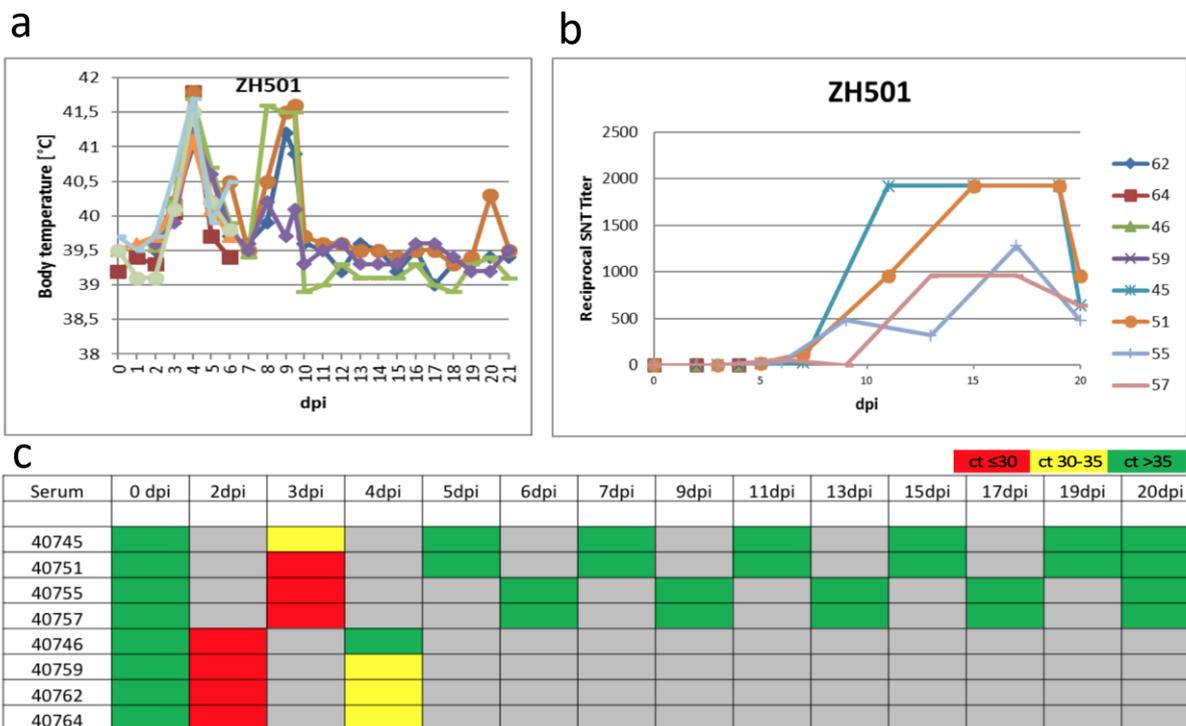


Abbildung 7a-c Klinischer Verlauf (a - Körpertemperaturen), Immunreaktionen (b - SNT-Ergebnisse) und Viremienspiegel (c - qRT-PCR ct-Werte im Blut) von RVFV-infizierten Schaflämmern im Laufe der Zeit.

#### 4.3 Studien zur Tenazität des CCHFV

Infektiöses Körpergewebe und andere Proben, die von den mit CCHFV infizierten Tieren entnommen werden sollten, sollten unter unterschiedlichen Temperaturbedingungen gelagert bzw. behandelt werden, um die Hitze- und Umweltresistenz der Erreger zu bestimmen. Ebenso war geplant, Fleisch und Lebensmittel dieser Tiere unter Verwendung gängiger Lebensmittelproduktionsverfahren (wie Ansäuerung, Pökeln etc.) zu verarbeiten, und den residualen Erregergehalt zu festzustellen. Diese Studien konnten wie bereits erwähnt nicht durchgeführt werden (siehe 4.1). Generell muss aber auch bei retrospektiver Betrachtung gesagt werden, dass die ursprünglich geplanten Studien technisch sehr ambitioniert und den unter strengen BSL4-Bedingungen aus Gründen der Biosicherheit kaum realisierbar waren.

#### 4.4 Empfehlungen für angemessene persönliche Schutzmaßnahmen für Landwirte, Tierärzte und Schlachter

Deliverable 4.17 Empfehlungen für PSA-Maßnahmen konnten nicht gegeben werden, da die CCHFV-Infektionsstudien nicht durchgeführt werden konnten. Angesichts ihrer Wichtigkeit sollen diese Studien in Zukunft realisiert werden.

#### **3) Darstellung und Erläuterung der Angemessenheit von Aufwand und Zeit („Wirtschaftlichkeit“)**

Die im Projekt zugewiesenen Mittel waren angemessen, um die angestrebten Ziele zu erreichen. Es konnten aufgrund des Ausfalls einer Mitarbeiterin trotz einer Vertretung im Hinblick auf die CCHF-Modellierung nicht alle Ziele erreicht werden. Die Mittel für Reisen waren ausreichend, um das Projekt mit den internationalen Partnern abzustimmen und die Ergebnisse zu präsentieren.

#### **4) Aufführen von Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben.**

Die Arbeiten am epidemiologischen Modell konnten nicht vollständig abgeschlossen werden, da aufgrund des Ausfalls der im Projekt angestellten wissenschaftlichen Mitarbeiterin und trotz des Einstellens einer Vertretung keine vollständige Kompensation möglich war. Das betrifft zum einen die Erstellung eines Berichtes zur Literaturübersicht und zum anderen die detaillierte Analyse und Validierung des Modells und die Erstellung von Risikokarten aus den Modellergebnissen.

Die Infektionsstudien zu CCHFV konnten aufgrund der fehlenden Verfügbarkeit der BSL4-Hochsicherheitsbereichs nicht realisiert werden, so dass stattdessen mit einem eng verwandten Hazara-Virus als Modellvirus gearbeitet werden musste.

#### **5) Darstellung und Erläuterung der wissenschaftlichen und ggf. Anschlussfähigkeit für eine mögliche nächste Phase.**

Die Ergebnisse der Modellierung sind vielversprechend und zeigen, dass eine Modellierung der Krankheit möglich ist. Aufgrund der Verzögerungen, die sich im Projekt ergeben haben, sind wichtige Fragestellungen offengeblieben. Basierend auf den bisherigen Ergebnissen wäre es sinnvoll, das Modell weiter zu entwickeln. Bisher kann das Modell nur die Temperatur als Einflussfaktor berücksichtigen. Dies ist für eine zeckenübertragene Krankheit jedoch aufgrund der komplexen Biologie der Zecken noch nicht ausreichend. In Bezug auf den Hauptvektor hat sich

gezeigt, dass es noch viele Wissenslücken zu dessen Verbreitung und Vermehrung gibt, die dazu führen, dass im Modell mit vielen Annahmen gearbeitet werden muss. Dies führt zu ungenaueren Vorhersagen.

Eine weitere notwendige Erweiterung des Modells ist die räumliche Komponente. Nur mittels eines räumlichen Modells können die Habitataignung und mögliche Bekämpfungsmaßnahmen effizient simuliert werden. Seit zwei Jahren gibt es vermehrte Berichte über das Auftreten von *Hyalomma*-Zecken. Möglicherweise haben diese Zecken in Deutschland überwintert. (<https://www.spiegel.de/wissenschaft/natur/hyalomma-tropische-zecke-hat-erstmal-in-deutschland-ueberwintert-a-1271772.html>)

In einer nächsten Phase könnten die Ergebnisse der Zeckenforschung stärker in das Modell einbezogen werden und auf die spezifischen Aspekte in Deutschland eingegangen werden.

**6) War der Einsatz der Bundesmittel für die Erreichung des geplanten Vorhabenziels ursächlich oder wäre dieses Ziel auch ohne Bundesmittel erreicht worden (einschließlich Bewertung evtl. Mitnahmeeffekte)?**

Es hat sich gezeigt, dass die Erstellung eines mathematischen Kompartiment-Modells aufgrund der Komplexität nicht ohne personelle Mittel durchzuführen ist. Dabei konnte durch einen Austausch der Erfahrung zwischen am FLI durchgeführten Projekten, bei denen es auch um Vektor übertragene Krankheiten geht (z.B. CuliFo, kurz für *Culicoides*Forschung. Projekttitle: Stechmücken und Stechmücken-übertragene Zoonosen in Deutschland, [https://www.bnitm.de/uploads/media/pm-bni-bmel\\_CuliFo\\_160216.pdf](https://www.bnitm.de/uploads/media/pm-bni-bmel_CuliFo_160216.pdf)) wesentliche Fortschritte gemacht werden und Fehler vermieden werden.

Die Großtier-experimentellen Arbeiten mit hochpathogenen Erregern wie CCHFV, RVFV und WNV erfordern höchste Sicherheitsbedingungen, die derzeit an Hochschulen in Deutschland nicht realisiert werden können.

**7) Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer – z. B. Anwenderkonferenzen (soweit die Art des Vorhabens dies zulässt) und Darstellung der erfolgten und geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses**

Die Ergebnisse der Modellierung wurden auf nationalen und internationalen Konferenzen präsentiert (Tagung der Fachgruppe „Epidemiologie und Dokumentation“ der deutschen veterinärmedizinischen Gesellschaft, Greifswald 2018. <https://www.dvg.net/tagungen/termine/dach-epidemiologietagung-2018/?contUId=0>; Workshop on Arthropod-Borne Diseases, Friedrich-Loeffler-Institut and the Fraunhofer Institute Leipzig (IZI), Insel Riems, 2018; <https://nrl-qfieber.fli.de/de/workshops-on-arthropod-borne-diseases/2018/>; National Symposium on Zoonoses Research 2018 - Joint meeting of the National Research Platform for Zoonoses and the Research Network of Zoonotic Diseases, Berlin, 2018 <https://zoonosen.net/national-symposium-zoonoses-research-2018>).

Arbotnet Projekttreffen 2018

Es ist geplant, die Ergebnisse des Modells in Form einer wissenschaftlichen Publikation zu veröffentlichen. Diese Veröffentlichung konnte im Projekt nicht realisiert werden, weil über einen großen Zeitraum kein Personal verfügbar war bzw. Vertretungen eingesetzt wurden, die nicht ausreichend eingearbeitet werden konnten.

Die Ergebnisse der tierexperimentellen Studien wurden auf nationalen und internationalen Konferenzen vorgestellt (National Symposium on Zoonoses Research 2018 (<https://zoonosen.net/national-symposium-zoonoses-research-2018>), National Symposium on Zoonoses Research 2019 (<https://zoonosen.net/national-symposium-zoonoses-research-2019>),

Arbonet Meeting 2018). Es ist geplant, diese Ergebnisse im Form einer wissenschaftlichen Publikation zu veröffentlichen.

### **Veröffentlichungen im Kontext von Arbonet**

- Johnson N, Fernández de Marco M, Giovannini A, Ippoliti C, Danzetta ML, Svartz G, Erster O, Groschup MH, Ziegler U, Mirazimi A, Monteil V, Beck C, Gonzalez G, Lecollinet S, Attoui H, Moutailler S. Emerging Mosquito-Borne Threats and the Response from European and Eastern Mediterranean Countries. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Dec 7;15(12):2775. doi: 10.3390/ijerph15122775. PMID: 30544521; PMCID: PMC6313739.
- Mroz C, Schmidt KM, Reiche S, Groschup MH, Eiden M. Development of monoclonal antibodies to Rift Valley Fever Virus and their application in antigen detection and indirect immunofluorescence. *J Immunol Methods*. 2018 Sep;460:36-44. doi: 10.1016/j.jim.2018.06.006. Epub 2018 Jun 9. PMID: 29894749.
- Vina-Rodriguez A, Sachse K, Ziegler U, Chaintoutis SC, Keller M, Groschup MH, Eiden M. A Novel Pan-*Flavivirus* Detection and Identification Assay Based on RT-qPCR and Microarray. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4248756. doi: 10.1155/2017/4248756. Epub 2017 May 24. PMID: 28626758; PMCID: PMC5463098.
- Sas MA, Vina-Rodriguez A, Mertens M, Eiden M, Emmerich P, Chaintoutis SC, Mirazimi A, Groschup MH. A one-step multiplex real-time RT-PCR for the universal detection of all currently known CCHFV genotypes. *J Virol Methods*. 2018 May;255:38-43. doi: 10.1016/j.jviromet.2018.01.013. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29408661.
- Sas MA, Comtet L, Donnet F, Mertens M, Vatansever Z, Tordo N, Pourquier P, Groschup MH. A novel double-antigen sandwich ELISA for the species-independent detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-specific antibodies. *Antiviral Res*. 2018 Mar;151:24-26. doi: 10.1016/j.antiviral.2018.01.006. Epub 2018 Jan 9. PMID: 29330092.
- Sieg M, Schmidt V, Ziegler U, Keller M, Höper D, Heenemann K, Rückner A, Nieper H, Muluneh A, Groschup MH, Vahlenkamp TW. Outbreak and Cocirculation of Three Different Usutu Virus Strains in Eastern Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2017 Sep;17(9):662-664. doi: 10.1089/vbz.2016.2096. Epub 2017 Aug 17. PMID: 28816628.
- Rissmann M, Ulrich R, Schröder C, Hammerschmidt B, Hanke D, Mroz C, Groschup MH, Eiden M. Vaccination of alpacas against Rift Valley fever virus: Safety, immunogenicity and pathogenicity of MP-12 vaccine. *Vaccine*. 2017 Jan 23;35(4):655-662. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.12.003. Epub 2016 Dec 21. PMID: 28012779.

### **8) Vergleich der entstandenen Ausgaben mit dem verbindlichen Gesamtfinanzierungsplan. Erläuterung der Positionen des zahlenmäßigen Nachweises zur Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit.**

Die entstandenen Ausgaben decken sich mit dem Gesamtfinanzierungsplan.

Der größte Anteil der Ausgaben entfiel auf Position 0812 Personal. Die Mittel waren notwendig zur Finanzierung je einer ½ Wissenschaftlerstelle für die Arbeitspakete 2 und 4. Die im Projekt Arbeitspaket 2 angestellte Wissenschaftlerin hat im Rahmen dieser Anstellung einen Literaturreview durchgeführt und ein Ausbreitungsmodell zu CCHF erstellt. Die im Projekt Arbeitspaket 4 angestellte Wissenschaftlerin hat im Rahmen ihrer Tätigkeit die WNV, RVFV und HAZV-Infektionsversuche durchgeführt. Die veranschlagten Verbrauchsmittel wurden ebenfalls für die Durchführung dieser Aktivitäten verwendet. Eine weitere Position waren 0846 Reisekosten.

Diese Mittel wurden verwendet, um das Projekt mit den internationalen Partnern abzustimmen und die Ergebnisse zu präsentieren.

## **Kurzfassung**

Vektor übertragene Zoonosen sind ein wachsendes Problem in vielen Teilen der Welt und die Änderungen der klimatischen Bedingungen, zusammen mit anderen, von Menschen verursachten Faktoren (z.B. Entwaldung, der Rückgang landwirtschaftlich nutzbarer Flächen oder der internationale Handel mit exotischen Gütern und Tieren) führen im Mittelmeerraum und den europäischen Ländern zu einer ständigen Bedrohung durch die Einschleppung und Verbreitung dieser Krankheiten. Drei davon – Rifttal-Fieber (RVF), West-Nil-Fieber (WNV) und Krim-Kongo-Hämorrhagisches Fieber (CCHF) – waren im Fokus dieses Projektes. Ziel des AP2 war es die Anwendung mathematischer Modelle zu untersuchen, die Dynamik dieser drei Krankheiten beschreiben. Das Ergebnis sind nützliche Indikatoren für die Anwendung von Risiko-basierten Überwachungsstrategien. In AP4 wurden die Infektionskrankheiten in Tierversuchen untersucht. Dadurch konnten die nötigen Infektionsparameter für das Modell bestimmt werden.

Eine Literaturrecherche wurde durchgeführt, um detaillierte Daten und Informationen in den mathematischen Modellen berücksichtigen zu können. Stechmücken- und Zeckenexperten, die an den im Projekt beteiligten Institutionen arbeiten, wurden konsultiert und lieferten einen wertvollen Beitrag zur Modellentwicklung. Mathematische Modelle zur WNV-, RVFV- und CCHF-Übertragung wurden schrittweise zusammen mit den jeweiligen Experten entwickelt. Ein Workshop mit Experten der teilnehmenden Institute des Konsortiums wurde organisiert, um die grundsätzlichen Modellansätze zu diskutieren, die die wichtigsten Komponenten und Kompartimente der Modelle zu definieren.

Parallel dazu wurden tierexperimentelle Studien zur Virusamplifikation und Pathogenese von Arbovirus-Infektionen (RVFV, WNV, HAZV) bei Tieren durchgeführt, um die infektionsbiologischen Einflussfaktoren in den mathematischen Modellen beschreiben zu können.

Die Ergebnisse der Modelle ermöglichen eine effizientere Kalibrierung der risikobasierten Überwachung und Bekämpfungsstrategien.

## **Summary**

Vector borne zoonoses are an emergent issue in several parts of the World, and the changes in climatic conditions coupled with other anthropogenic drivers (such as deforestation, abandon of arable lands, international trade of exotic animals and goods) have posed the Mediterranean Basin and European countries under a constant threat of introduction and spread of these diseases. Three of them, Rift Valley fever (RVF), West Nile fever (WNV) and Crimean Congo Hemorrhagic fever (CCHF), were the focus of this project. The general aim of the WP2 was to explore the use of mathematical models to describe the dynamics of these three diseases, thus providing also useful indication for risk-based surveillance activities. In work package 4, these infections were investigated in animal experiments in order to determine important infection parameters for the modelling.

A literature review was performed to gather all possible detailed data and information to be considered in the modelling activities. Mosquito and tick experts working at the Institutes within the project consortium were consulted, with a valuable contribution to the models' development. Mathematical models for WNV, RVFV and CCHFV transmission were developed following a step-by-step participatory approach. A workshop has been organised with the participation of experts from the institutes of the Consortium to discuss the principal modelling approaches and to capture the main components and compartments to be included in each model.

Parallel to this, animal experimental studies on the viral amplification and pathogenesis of arbovirus infections (RVFV, WNV, HAZV) in animals were carried out in order to be able to describe the infection biological influencing factors in the mathematical models.

The results of all these models allowed at calibrating risk-based surveillance and control options in a more efficient way.