

# **Vergleichende Neuropathologie der Bornavirus-Enzephalitis in Mensch und Tier und Korrelation mit dem klinischen Verlauf**

Yannik Vollmuth

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der Technischen Universität München zur Erlangung eines Doktors der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitz: apl. Prof. Dr. Ute Reuning

Prüfende der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Friederike Liesche-Starnecker
2. Prof. Dr. Kaspar Matiasek

Die Dissertation wurde am 21.12.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die TUM School of Medicine and Health am 14.03.2024 angenommen.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>5</b>
1.1. Abkürzungen.....	5
<b>2. EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
2.1. Problemstellung.....	7
2.2. Epidemiologie und Risikofaktoren.....	8
2.3. Virusenzephalitiden .....	10
2.4. Die Geschichte des Bornavirus .....	13
2.5. Die klassische Bornavirus-Enzephalitis (BoDV-1).....	16
2.5.1. Symptomatik .....	16
2.5.2. Immunpathologie der Infektion mit BoDV-1.....	17
2.5.3. Neuropathologie und Neuroradiologie.....	17
2.5.4. Diagnostik.....	21
2.5.5. Virostatische Therapiemöglichkeiten .....	21
2.6. Zielsetzung.....	22
<b>3. MATERIAL UND METHODIK.....</b>	<b>23</b>
3.1. Materialien .....	23
3.1.1. Patient:innenkollektiv.....	24
3.1.2. Gewebe .....	25
3.2. Methoden .....	25
3.2.1. Aufarbeitung des Gewebes .....	25
3.2.3. Bildanalyse und Auszählung .....	30
3.2.4. Statistische Auswertung.....	31
<b>4. ERGEBNISSE .....</b>	<b>32</b>
4.1. Untersuchung der BoDV-1- und Entzündungsverteilung im humanen Gehirngewebe .....	32

4.1.1. Korrelation der Lymphozytenanzahl im Gehirn in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der immunsuppressiven Therapie .....	32
4.1.2. Verteilungsmuster von BoDV-1-positiven Zellen und Lymphozyten im ZNS .....	43
4.1.3. Symptome und Überleben der Menschen .....	48
4.2. Untersuchung der Verteilung in Tieren.....	49
4.2.1. Verteilungsmuster der Lymphozyten im ZNS der Pferde, Schafe und Alpakas.....	49
4.2.2. Verteilung von BoDV-1-positiven Gliazellen und Neuronen im ZNS von Pferden, Schafen und Alpakas .....	51
4.2.3. Symptome der Tiere.....	54
4.3. Vergleich des Verteilungsmusters zwischen Mensch und Tier.....	55
4.4. Saisonalität der Bornavirus-Enzephalitis.....	61
5. DISKUSSION .....	64
5.1. Einfluss der Immunsuppression auf das Lymphozytenausmaß.....	64
5.2. Hypothese zur Eintrittspforte .....	65
5.4. Verteilungsmuster in den Tieren .....	67
5.5. Virusverteilungsmuster in Mensch und in Tier.....	68
5.6. Vergleich der Bornavirus-Enzephalitis mit der Tollwut .....	69
5.7. Evaluation der angewandten Methoden und Auswertungen .....	75
5.8. Ausblick .....	75
6. ZUSAMMENFASSUNG .....	77
7. LITERATURVERZEICHNIS .....	79
8. ANHANG ZU MATERIALIEN.....	89
8.1. Materialien .....	89
8.1.1. Verwendete Antikörper .....	89
8.1.2. Chemikalien .....	89
8.1.3. Puffer und Lösungen .....	90
8.1.4. Kits .....	91
8.1.5. Arbeitsgeräte .....	91
8.1.6. Verbrauchsmaterialien.....	92
8.1.7. Software .....	92

<b>9. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>94</b>
<b>10. TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>95</b>
<b>11. LEBENSLAUF.....</b>	<b>96</b>
<b>12. DANKSAGUNG.....</b>	<b>98</b>
<b>ANHANG I.....</b>	<b>99</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>99</b>

# 1. Abkürzungsverzeichnis

## 1.1. Abkürzungen und Akronyme

Abb.	Abbildung
AUT	Österreich
BD	Borna Disease
BoDV-1	Borna-Disease-Virus 1
BW	Baden-Württemberg
BY	Bayern
DAB	3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid
EEG	Elektroenzephalographie
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FFPE	Formalin-fixiert Paraffin-eingebettet
GER	Deutschland
GR	Grisons
HE	Hessen
H&E	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HSV	Herpes-simplex-Virus
HSVE	Herpes-simplex-Virus-Enzephalitis
IFAT	Indirect immunofluorescence antibody test
IHC	Immunhistochemie
k.A.	Keine Angabe
KI	Konfidenzintervall
L	Lappen
LIE	Liechtenstein
MHC	Major Histocompatibility Complex
MRT	Magnetresonanztomographie
NGS	Next-Generation-Sequencing
NI	Niedersachsen
PEP	Postexpositionsprophylaxe
pMSS	Anzahl der Lymphozyten pro Mittelwert von 10 Screenshots
qRT-PCR	Quantitative real-time polymerase chain reaction
RABV	Rabies Virus

RKI	Robert-Koch-Institut
RM	Rückenmark
RP	Rheinland-Pfalz
SG	St. Gallen
SN	Sachsen
ST	Sachsen-Anhalt
ST	Steiermark
SUI	Schweiz
UA	Oberösterreich
VPM	Nucleus ventralis posteromedialis
VSBV-1	Variegated squirrel Borna-Virus 1
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 2. Einleitung

### 2.1. Problemstellung

Die Bornavirus-Enzephalitis verläuft sowohl bei einem breiten Spektrum von Säugetieren, als auch beim Menschen zumeist tödlich. Dass es überhaupt beim Menschen zu solch einer Enzephalitis kommen kann, wurde bis vor Kurzem bezweifelt. Retrospektiv konnten einige ätiologisch unklare Enzephalitiden nachträglich dem Bornavirus zugeschrieben werden. Aufklärungskampagnen über die Erkrankung konnten bewirken, dass circa 2-7 neue Fälle pro Jahr dem Robert-Koch-Institut (RKI) gemeldet werden. (Böhmer et al., 2022) Es ist anzunehmen, dass BoDV-1 im Endemiegebiet einen Großteil der schweren bis tödlichen Enzephalitis-Fälle unbekannter Ursache ausmachen könnte (Niller et al., 2020). Untersuchungen zum Virusreservoir haben gezeigt, dass die Feldspitzmaus (*Crocidura leucodon*, **Abb. 1**) das natürliche Reservoir des Borna-Disease-Virus 1 (BoDV-1) bildet (Hilbe et al., 2006, Bourg et al., 2013, Durrwald et al., 2014, Nobach et al., 2015). Bei Tieren wird vermutet, dass die Übertragung durch die Aufnahme von Ausscheidungen der Spitzmaus über das olfaktorische Netzwerk in das Zentrale Nervensystem (ZNS) erfolgt (Morales et al., 1988, Nobach et al., 2015, Gosztonyi, 2008, Kupke et al., 2019). Beim Menschen sind Risikofaktoren und Übertragungswege bisweilen jedoch unbekannt (Tappe et al., 2019b). Erste Studien konnten zeigen, dass die Zytotoxizität des Virus über die Immunpathologie vermittelt wird (Stitz et al., 1991, Hausmann et al., 1999, Chevalier et al., 2011). Aufgrund unzureichender Kenntnisse der Erkrankung ist die Diagnosestellung oftmals deutlich verzögert. Auch therapeutisch stehen bisher nur ein experimenteller Versuch von zwei in vitro getesteten Virostatika und einer immunsuppressiven Therapie, die der Immunpathologie entgegenwirken soll, zur Verfügung (Stitz et al., 2002, Tokunaga et al., 2017, Böhmer et al., 2022). Ein klinisch neuropathologischer Vergleich der bisher aufgetretenen Fälle könnte Aufschluss über die Effektivität und den Wirkungsansatz der bisherigen Therapien liefern.

Bisher existieren allerdings keine detaillierten vergleichenden Untersuchungen der Neuropathologie zwischen der seit mehreren Jahrhunderten bei Tieren bekannten „Borna’schen Erkrankung“ und der seit 2018 bekannten Enzephalitis beim Menschen. Hierüber könnten sowohl entscheidende Unterschiede, als auch Gemeinsamkeiten in der Virusausbreitung und Entzündungsreaktion gezeigt werden, über die Rückschlüsse auf die bislang unbekannte Eintrittspforte und den Infektionsweg abgeleitet werden könnten.

## 2.2. Epidemiologie und Risikofaktoren

Die Borna'sche Krankheit ist in der Veterinärmedizin seit mehr als 250 Jahren vor allem bei Pferden und Schafen bekannt (Durrwald and Ludwig, 1997). Erst im Jahr 2018 wurde durch ein Cluster von drei Organtransplantationsfällen und einem sporadischen Fall nachgewiesen, dass das Virus auch beim Menschen zu einer meist tödlichen Enzephalitis führt (Schlottau et al., 2018, Korn et al., 2018). Bundesweite Aufklärungskampagnen, die an Kliniken, Laboren und Pathologien gerichtet waren, führten vor allem retrospektiv und bei einigen prospektiven Fällen zu einem deutlichen Anstieg der diagnostizierten Fälle (Frank et al., 2022). Die aktuell dem RKI gemeldete Anzahl beläuft sich auf



**Abbildung 1: Zweifarbige Weißzahnspezmaus**

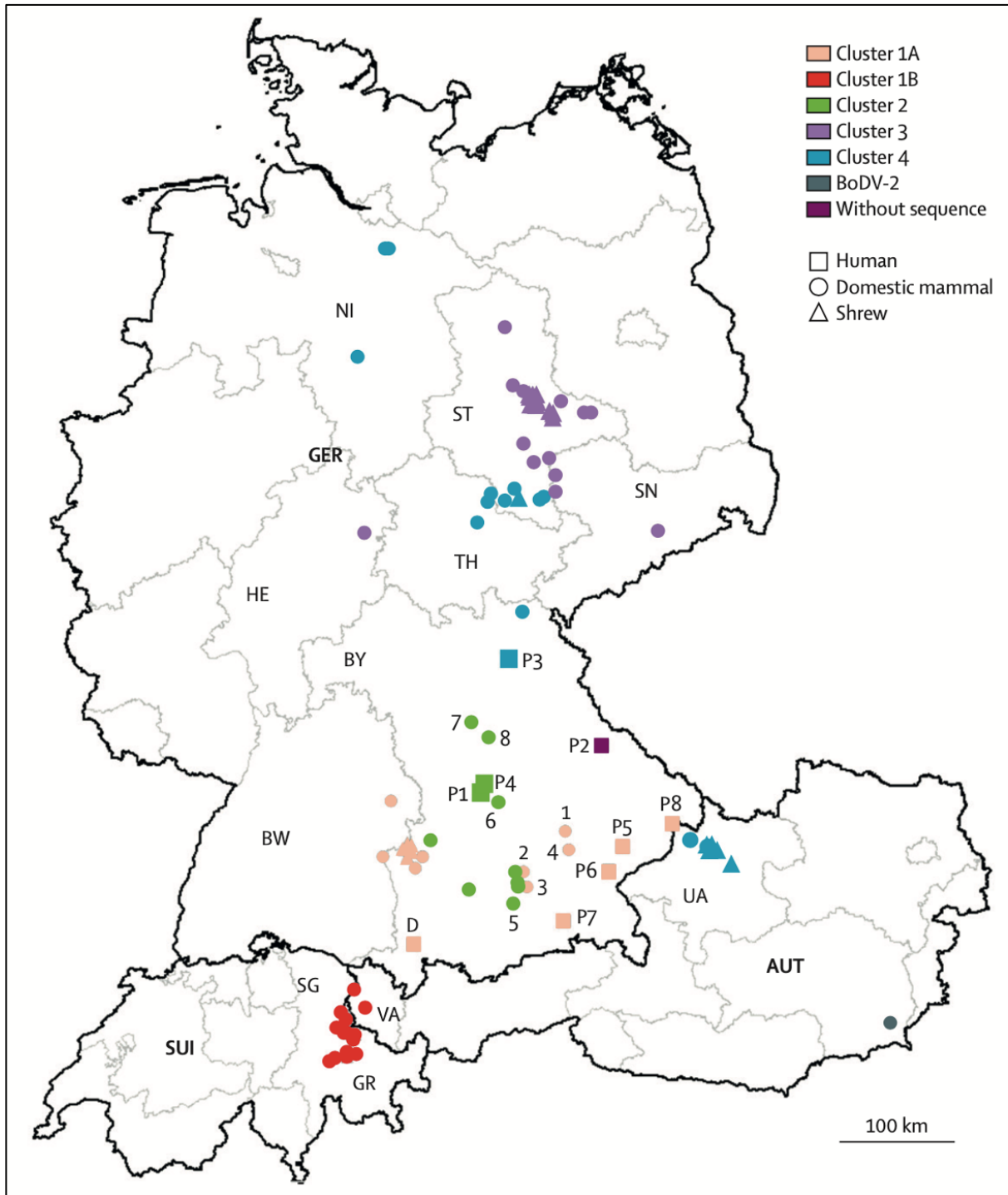
Die zweifarbige Weißzahnspezmaus erkennt man typischerweise am zweifarbigen Körper, an den weißen Zähnen und an den wimpernartigen Haaren am Schwanz. Sie ist ein Insektenfresser, erreicht eine Körperlänge von 6 bis 8 cm und ist in Bayern weit verbreitet. (Durrwald et al., 2014, Böhmer et al., 2022)

insgesamt über 40 Fälle, die zwischen 1992-2022 aufgetreten sind (Böhmer et al., 2022). Das bis 2017 einzige bekannte natürliche Reservoir war die zweifarbige Weißzahnspezmaus (*Crocidura leucodon*, **Abb.1**), die selber nicht erkrankt (Hilbe et al., 2006, Durrwald et al., 2014). In einer Studie konnte schließlich in einem Fall die eurasische Spitzmaus (*Sorex araneus*) als weiteres Reservoirtier identifiziert werden (Weissenböck et al., 2017). Das Gebiet, in dem die zweifarbige Weißzahnspezmaus lebt, erstreckt sich über weite Teile von Mitteleuropa (Corbet and Ovenden,

1980). Das bisher identifizierte Endemiegebiet der mit BoDV-1-infizierten zweifarbigen Weißzahnspezmaus beschränkt sich auf den östlichen und südlichen Teil Deutschlands von Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Bayern bis in die angrenzenden Länder Österreich, Lichtenstein und der Schweiz (siehe **Abb.2**) (Durrwald et al., 2014). Sowohl bei Menschen, als auch bei Tieren ist das Bundesland Bayern besonders betroffen. Es ist davon auszugehen, dass die hochinfektiösen Ausscheidungen der Spitzmaus auf das Futter der suszeptiblen Tiere gelangt und das Virus so an diese weitergegeben wird (Hilbe et al., 2006, Nobach et al., 2015). Die Mechanismen der Übertragung in das ZNS der Fehlwirte sind bislang unbekannt. Bei Pferden und bisweilen auch bei Menschen wird ein Eintritt über das olfaktorische Netzwerk diskutiert (Morales et al., 1988, Gosztonyi, 2008, Nobach et al., 2015, Kupke et al., 2019, Grosse et al., 2023). Die Inkubationszeit der Erkrankung ist unklar, wird aber auf Wochen bis Monate geschätzt (Jacobsen et al., 2010, Priestnall et al., 2011, Meyer et al., 2022, Böhmer et al., 2022). In einer Studie, in der die Hälfte aller bisher bekannten humanen Fälle miteingeschlossen waren, konnte trotz gründlicher Untersuchung der Lebensumgebungen und Expositionsanalysen kein plausibles Übertragungseignis gefunden werden. Ein wichtiger signifikanter Risikofaktor ist das Leben in ländlichen Gegenden, wodurch ein Kontakt zu Spitzmäusen



wahrscheinlicher wird. Zwischenzeitlich wurde diskutiert, ob Katzen eine Rolle als Verbindung zwischen Reservoirwirt und dem Menschen oder als Zwischenwirt spielen könnten. Diese Hypothese konnte jedoch bislang nicht untermauert werden. (Portner et al., 2023) Für eine natürliche Übertragung von Mensch zu Mensch gibt es abgesehen von den iatrogenen Organtransplantationsclustern, bisher keine Anzeichen (Niller et al., 2020).



**Abbildung 2: Geografische Kartierung der gemeldeten BoDV-1 Infektionen**

Die geografische Kartierung zeigt die gemeldeten menschlichen Fälle, die zusammen mit den veröffentlichten sequenzbestätigten BoDV-1-infizierten Reservoirmäusen und den zufälligen Tierwirten dargestellt sind. *Abbildung aus (Niller et al., 2020).*

### 2.3. Virusenzephalitiden

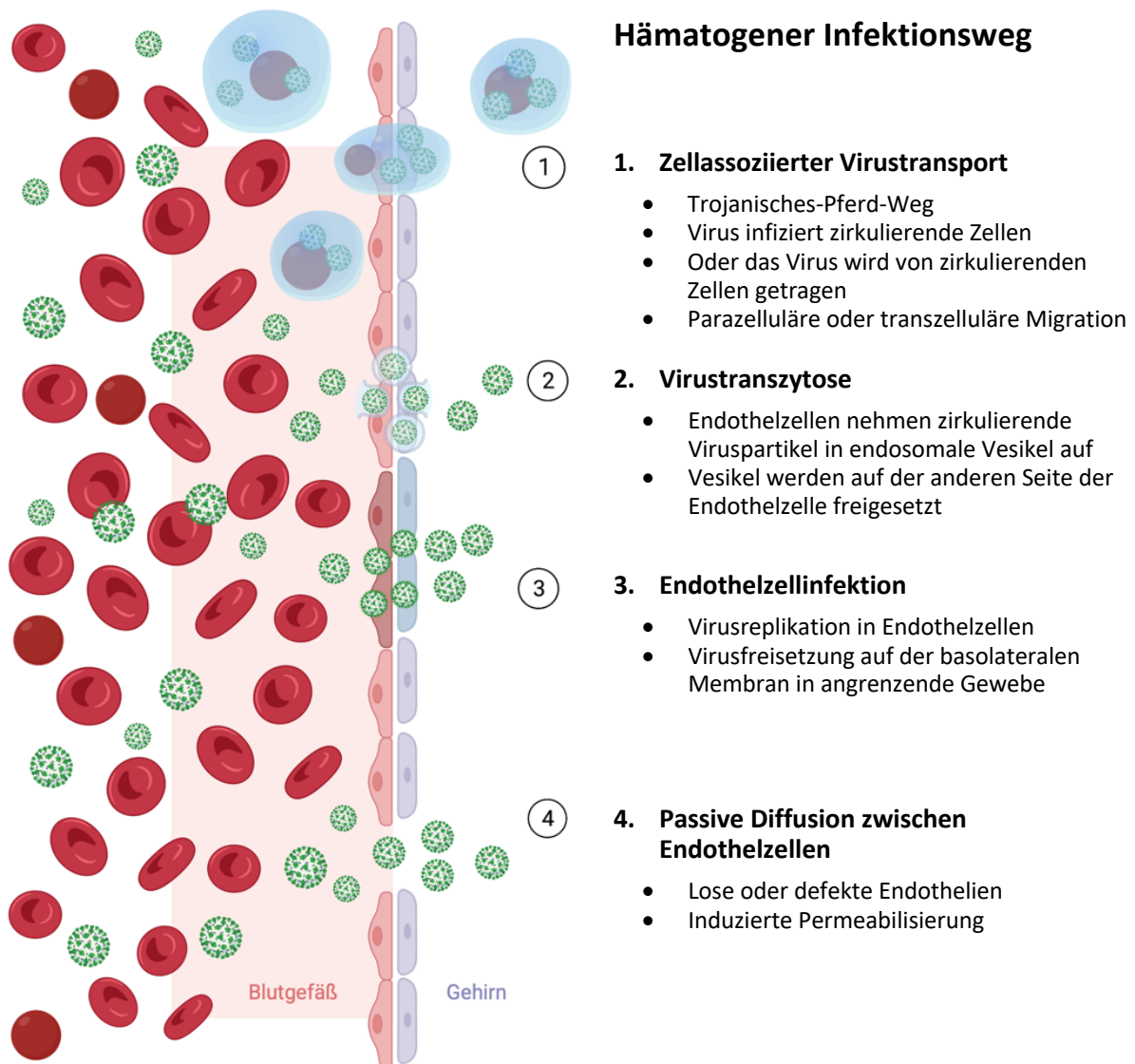
Viren können unterschiedlichste Formen von entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems auslösen. Dazu zählen die Enzephalitis, Meningitis, Myelitis, Radikulitis und Neuritis. Nach dem betroffenen Hirngewebe unterscheidet man drei Arten der Enzephalitis. Ist das gesamte Hirngewebe betroffen spricht man von einer Panenzephalitis. Ist hauptsächlich die graue Substanz betroffen, bezeichnet man die Enzephalitis als Polioenzephalitis und bei dem Befall der weißen Substanz als Leukenzephalitis. (Deckert, 2012)

Der folgende Abschnitt bezieht sich auf die viralen Enzephalitiden. Erkrankten Patient:innen an einer viralen Enzephalitis, handelt es sich um einen medizinischen Notfall. Dabei hängt der Krankheitsverlauf und das Ausmaß einer viralen Enzephalitis von dem immunologischen Zustand der Patient:innen, von dem spezifischen Erreger und den Umweltfaktoren ab. (Steiner et al., 2010) Die Enzephalitis wird definiert als ein Syndrom, bestehend aus akutem Fieber und Bewusstseinsstörungen mit nicht obligaten Symptomen wie Krampfanfällen, Paresen und aphasischen Störungen. In der Diagnostik können sich unter anderem eine Liquorpleozytose, Anomalien in der Bildgebung und Veränderungen im EEG zeigen. (Meyding-Lamade, 2018, Tyler, 2018) Im Hirnparenchym löst eine Enzephalitis einen entzündlichen Prozess aus. Eine Inflammation, die zusätzlich auch die Hirnhäute betrifft, bezeichnet man als Meningoenzephalitis. Betrifft die Inflammation das Hirnparenchym und das Rückenmark, wird dies Enzephalomyelitis genannt. (Schmutzhard, 2020) Das Ausmaß der Hirnschädigung und des Überlebens ist wesentlich abhängig von der korrekten Diagnose und der Einleitung einer symptomatischen und einer spezifischen Therapie (Steiner et al., 2010). Virale Enzephalitiden können selbstlimitierende Entzündungen mit einem prognostisch günstigen Verlauf sein, jedoch nicht selten führen diese zu irreversiblen Schädigungen und in einem Teil der Fälle zum Tod der Patient:innen (Deckert, 2012).

Es werden zwei wichtige Wege unterschieden, wie Viren in das ZNS gelangen können. Das Entero- und das Adenovirus gelangen über den hämatogenen Weg in das ZNS. (Deckert, 2012, Jain et al., 2014) Dem gegenüber steht der neuronale Weg, der für das Rabies- und das Herpes-simplex-Virus (HSV) typisch ist (Hemachudha et al., 2013, Bradshaw and Venkatesan, 2016). Die meisten Viren dringen über periphere Eintrittsstellen in den Körper ein und führen dort durch die lokale Replikation zu einer primären Virämie. Nach der Infektion weiterer Organe und weiterer Replikation, führt dies zu einer systemischen Infektion und damit zu einer sekundären Virämie mit hohen viralen Titern, die dann hämatogen das ZNS erreicht. (Vezzani et al., 2016, Solomon et al., 2007)

Dadurch kann das Virus auf folgenden Wegen ins ZNS gelangen: Zum einen über die Endothelzellwand durch einen zellassozierten Virustransport. Zum anderen ist der Transport des Virus mit Vesikeln über die Endothelzellwand durch die Virustranszytose möglich. Ebenso kann das Virus durch eine Infektion von Endothelzellen zerebraler Gefäße eintreten. Auch eine virale Leckage im geschädigten Endothel kann eine ZNS-Infektion auslösen. (Johnson, 1999, Deckert, 2012, Forrester et al., 2018, Craemer, 2023)

Die vier Wege der hämatogenen Infektion sind in **Abbildung 3** visualisiert



**Abbildung 3: Darstellung des viralen Eintritts in das ZNS über eine hämatogene Infektion**  
(Grafik erstellt durch BioRender.com).

Eine weitere Möglichkeit der Invasion des Nervensystems ist der neuronale Transport, wie bei HSV und dem Rabies-Virus (Hemachudha et al., 2013, Bradshaw and Venkatesan, 2016). Bei HSV findet eine Infektion der sensorischen Neurone statt, dadurch kann das Virus durch schnellen retrograden axonalen Transport in den Zellkörper der Neurone der Spinalganglien wandern (Diefenbach et al., 2008, Smith, 2012, Bradshaw and Venkatesan, 2016). Am wahrscheinlichsten gelangt das Virus dann über retrograden Transport entlang des Nervus olfactorius oder über den Trigeminusnerv in das ZNS (Mori et al., 2005, Shukla et al., 2012, Jennische et al., 2015). Bei einer Infektion mit dem Rabies-Virus findet ein schneller retrograder transneuronaler Transfer zum ZNS und langsame anterograde Ausbreitung statt (Wacharapluesadee and Hemachudha, 2001, Ugolini, 2011).

Die Ausbreitung im ZNS kann zum einen über eine aufeinanderfolgende Infektion von Zellen stattfinden, andererseits wurde auch eine Ausbreitung über den Extrazellulärraum, sowie die Lymphozyten, Makrophagen und Gliazellen beobachtet. Eine Ausbreitung über mehrere Wege ist ebenfalls möglich. (Deckert, 2012) Durch die akute Immunantwort oder den Infektionsprozess kann es zu einem zytotoxischen und/oder vasogenen Ödem kommen, das zu einem fokalen oder globalen Masseneffekt und damit zu einem erhöhten Hirndruck führt. (Bradshaw and Venkatesan, 2016)

Der erhöhte Druck führt zu einer Kompression des Hirngewebes und der Gefäßstrukturen. Zu einem letalen Ausgang kommt es bei transtentoriellen und insbesondere tonsillären Herniationen. (Schmutzhard, 2020, Safain et al., 2015)

Die virale Enzephalitis präsentiert sich meist biphasisch mit zu Beginn grippeähnlichem Prodromalstadium mit hohem Fieber, starken Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Bewusstseinsstörungen. Dabei können weitere neurologische Symptome wie Desorientierung, Sprachstörungen, Verhaltensänderungen und Verwirrung auffallen. (Solomon et al., 2007, Meyding-Lamadé et al., 2021) In der zweiten Phase kommen dann neurologische Herdsymptome mit fokalen und generalisierten Krampfanfällen und Zeichen zerebraler Dysfunktionen vor. Während dieser Phase kommt es bei Verschlechterung des Allgemeinzustandes zu einem somnolenten Zustand der Patient:innen, welcher anschließend in einen komatösen Zustand übergehen kann und eine intensivmedizinische Betreuung erfordert. (Schmutzhard, 2020)

Die Diagnostik einer akuten viralen Enzephalitis sollte in einer interdisziplinären Herangehensweise erfolgen. Eine detaillierte Anamnese ist notwendig, um gegebenenfalls auf das Erregerspektrum und den Zeitraum der Infektion schließen zu können.

Anamnestisches Erfragen nach Vorerkrankungen, Impfungen, Exposition, Reisen, Tierkontakte, Umgebungsinfektionen sind unerlässlich. Darüber hinaus ist der Beruf, Hobbys, die Ernährung, Freizeitaktivitäten, Sexualpraktiken und Drogenkonsum zu berücksichtigen. Die körperlich-neurologische Untersuchung kann weitere Hinweise auf mögliche Ursachen geben. Beispielsweise ist das Vorhandensein von Exanthemen und Enanthemen bei viralen Erregern hilfreich, aber nicht

besonders spezifisch. (Venkatesan et al., 2013, Tunkel et al., 2008, Steiner et al., 2010, Solomon et al., 2012, Tyler, 2018) Bereits durch die Untersuchung des Blutes ist in vielen Fällen ersichtlich, ob es sich um eine Infektion viraler oder bakterieller Genese handelt. Wichtig zur Unterscheidung sind in dieser Situation die Entzündungsparameter wie Leukozytenzahl, Differentialblutbild, C-reaktives Protein und Procalcitonin. (Meyding-Lamade, 2018, Schmutzhard, 2020) Bei einem Verdacht auf eine virale Enzephalitis ist eine neuroradiologische Untersuchung essenziell. Der Goldstandard ist hier die Magnetresonanztomographie (MRT). (Bertrand et al., 2017) Im Anschluss an die Bildgebung sollte eine Lumbalpunktion erfolgen. Typischer Liquorbefund einer viralen Enzephalitis ist eine leichte, gemischtzellige, im weiteren Verlauf lymphozytäre Pleozytose und eine Eiweißerhöhung mit normaler Glucose und Laktat. (Ellul and Solomon, 2018, Schmutzhard, 2020) Zusätzlich sollten mikrobiologische Untersuchungen erfolgen. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist der Goldstandard zum Nachweis viraler DNA bzw. RNA. Diese deckt die häufigsten Erreger wie Herpes-simplex-Virus Typ 1 und 2 (HSV-1, HSV-2), Varizella-Zoster-Virus, Humanes Herpesvirus Typ 6/7, Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus, Humanes Immundefizienz-Virus (HIV) und Dengue-Viren ab. Darüber hinaus ist ein Nachweis von Antikörpern im Liquor und Serum, sowie ein direkter Erregernachweis mithilfe einer Kultur möglich. (Steiner et al., 2010, Steiner et al., 2012) Die Notwendigkeit einer Hirnbiopsie hat seit der Einführung der PCR-Tests im Liquor abgenommen und wird nur bei speziellen Fragestellungen oder unklarer Diagnostik eingesetzt. (Wong et al., 2010, Ellul and Solomon, 2018) Ausnahmen bilden chronische Enzephalitiden, wie z.B. die Subakute sklerosierende Panenzephalitis nach Infektion mit dem Masern-Virus oder je nach Immunitätslage der Patient:innen auch die Progressive multifokale Leukenzephalopathie aufgrund einer aktivierten JC-Virus-Infektion (Schmutzhard, 2020). Bei jedem akuten Verdacht einer viralen Enzephalitis sollten auch bakterielle, postinfektiöse und autoimmune Differentialdiagnosen miteinbezogen werden (Kennedy, 2004).

#### **2.4. Die Geschichte des Bornavirus**

Der erste Bericht über klinische Zeichen einer Enzephalitis bei Pferden, die dem der Borna'schen Krankheit ähnelt, wurde 1767 von *Johann Baptist von Sind* veröffentlicht. Er beschrieb diese Erkrankung als „Hitze Kopfkrankeheit der Pferde“ (von Sind, 1767, 1781). Ähnliche Berichterstattungen stammten vor 1878 vor allem aus dem Königreich Bayern und Württemberg (Durrwald and Ludwig, 1997). Bezeichnungen wie „Enzephalomyelitis enzootica“, „epidemische Genickstarre“ und „Meningoencephalomyelitis simplex enzootica equorum“ wurden verwendet, um das klinische Bild der Krankheit besser beschreiben zu können (Durrwald and Ludwig, 1997). In den Berichten über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen und den Aussagen der Königlichen Kommission zu Dresden kam die Krankheit häufiger isoliert in der Gegend der Amtshauptmannschaft Borna vor (Walther, 1896, Walther, 1897, Walther, 1899, Königliche C(K)ommission für das Veterinärwesen zu Dresden, 1879–

1911). Gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurde die Region aufgrund zahlreicher Fälle bei Pferden zu einem Seuchengebiet erklärt

(Dürwald and Ludwig, 1997, Königliche C(K)ommission für das Veterinärwesen zu Dresden, 1879–1911). Zu dem heutigen Namen der Erkrankung kam es, als die Tierärzte *Kohl* und Oberrossarzt *a. D. Gensert* in ihren Berichten, darunter auch in der *Berliner Thierärztlichen Wochenschrift* diese aufgrund der Häufung der Erkrankung rund um die Stadt Borna als „Borna’sche Krankheit“ bezeichneten (Kohl, 1896, Gensert, 1896).

Die ersten histopathologischen Beschreibungen der Borna’schen Erkrankung beim Pferd wurden von *Hermann Dexler*, *Ernst Joest* und *Kurt Degen* veröffentlicht. Einerseits wurde durch *Dexler* eine interstitielle Meningoenzephalitis beschrieben und andererseits wurden durch *Joest* und *Degen* die charakteristischen intranukleären Einschlusskörperchen in den Neuronen des Hippocampus entdeckt. (Dexler, 1900, Joest and Degen, 1909, Joest and Degen, 1911)

In den darauffolgenden Jahren konnte gezeigt werden, dass es möglich war, das Bornavirus auf andere Tiere wie Meerschweinchen und Hasen zu übertragen, woraufhin diese ähnliche Symptomen wie Pferde entwickelten (Beck and Frohböse, 1926). Ende der 1920-er Jahre wurde durch mehrere Passagen von infizierten Pferdegehirn ein Vakzinastamm entwickelt, der dann ein halbes Jahrhundert in der Veterinärmedizin zur Impfung von Pferden und Schafen diente (Zwick and Witte, 1931, Zwick and Witte, 1932, Zwick, 1939). Aufgrund des Verdachts der Übertragung des Bornavirus und anderer Erreger wurde die Impfung in Westdeutschland frühzeitig eingestellt (Danner, 1978). In ostdeutschen Ländern wurde sie bis 1992 verwendet (Dürwald, 1993).

Im Jahr 1976 wurden zum ersten Mal von *Ludwig et al.* Bornavirus-spezifische Antikörper beim Menschen beschrieben (Ludwig et al., 1988). Hier waren angeblich niedrige Antikörpertiter bei einer Patientin festgestellt worden, die unter Epilepsien und psychiatrischen Syndromen litt. Ebenso konnten in einzelnen Gruppen psychiatrischer Patient:innen, HIV-infizierter Patient:innen, Patient:innen mit Multipler Sklerose und Patient:innen, die chronisch mit Blutparasiten infiziert waren, vermeintlich Antikörper mit Hilfe der weiterentwickelten Fluoreszenz-Antikörpertechnik gefunden werden (Amsterdam et al., 1985, Bode et al., 1988, Bode et al., 1990, Bode et al., 1992). Zudem zeigte sich in Längsschnittstudien, dass psychiatrische Patient:innen eine scheinbare höhere Antikörperprävalenz aufwiesen (Bode et al., 1993, Bode, 1995). Durch die Erkenntnisse, die von *Liv Bode* und ihrem Team am Robert-Koch-Institut publizierten wurden, kam es weltweit zur Aufmerksamkeit und einem nachfolgenden Forschungsandrang (Kishi et al., 1995a, Kishi et al., 1995b, Kitani et al., 1996, Even et al., 1996, De La Torre et al., 1996, Sauder et al., 1996). Das Verfahren von *Bode* und ihrem Team war jedoch nicht validiert, weshalb die Ergebnisse von virologischen Fachkreisen als fraglich und klärungsbedürftig gewertet wurden. Mehrere Forschungsteams sowohl im In-, als auch im Ausland forderten eine unabhängige Begutachtung der vorliegenden Ergebnisse und der hierfür

verwendeten Verfahren. Unabhängige Virusexperten, die vom RKI beauftragt wurden, kamen letztendlich zu dem Schluss, dass die Bornavirus-Isolate, die einem humanen Ursprung zugeordnet wurden, auf eine Verunreinigung des Materials zurückgehen. (Wolff et al., 2006, Breitenborn, 2007) Darüber hinaus bestätigte eine Metaanalyse, dass die als humanpathogene Gensequenzen des Bornavirus gewerteten Proben mit großer Wahrscheinlichkeit verunreinigte tierpathogene Laborstämme waren (Durrwald et al., 2007). Abschließend lässt sich sagen, dass aktuell nicht davon auszugehen ist, dass eine Assoziation zwischen erhöhtem Antikörpertitern und psychischen Erkrankungen vorliegt (Wolff et al., 2006, Durrwald et al., 2007).

2015 kam es schließlich durch eine retrospektive Aufarbeitung von Enzephalitiden unklarer Ätiologie zum erstmaligen Nachweis einer menschlichen Infektion mit einem Virus aus der Familie der *Bornaviridae*. Durch Next-Generation-Sequencing (NGS) konnte in Ostdeutschland bei drei Privatzüchtern von exotischen Bunthörnchen, die zwischen 2011 und 2013 an einer Enzephalitis verstorben waren, das neuartige Virus nachgewiesen werden. Aufgrund der Neuentdeckung in Bunthörnchen und der Unterscheidung zu den bisher bekannten Bornaviren, wird das Virus unter dem Namen Bunthörnchen-Bornavirus 1, (Variegated squirrel Bornavirus 1, VSBV-1, Spezies *Mammalian 2 orthobornavirus*, Familie *Bornaviridae*) geführt (Hoffmann et al., 2015, Kuhn et al., 2015). Mit Hilfe zusätzlicher Untersuchungen konnte in weiteren Privatbetrieben und in Zoos VSBV-1 bei exotischen Bunthörnchen nachgewiesen werden. Zwei Unterfamilien der Bunthörnchen (*Collosciurus prevostii* und *Sciurus variegatoides*), die eine Prävalenz von 8,8% und 3,3% aufweisen, wurden identifiziert (Schlottau et al., 2017b, Schlottau et al., 2017a). In wildlebenden Bunthörnchen konnte hingegen bislang keine Durchsetzung mit VSBV-1 festgestellt werden (Schlottau et al., 2017a, Schlottau et al., 2017b, Schulze et al., 2020).

Insgesamt konnten seither sieben tödliche Fälle von VSBV-1-Infektionen beim Menschen identifiziert werden. Darunter waren fünf Bunthörnchenzüchter und zwei Zootierpfleger. Bei fünf der sieben Patient:innen konnte durch vorhandenes Gehirnmaterial der Verdacht eindeutig bestätigt werden. Bei den anderen beiden Patient:innen war eine Bestätigung aufgrund der nicht vorhandenen Gehirnmaterialien nicht mehr möglich. (Hoffmann et al., 2015, Tappe et al., 2018, Tappe et al., 2019a, Cadar et al., 2021, Huhndorf et al., 2023)

Eine überraschende Wende in der Erforschung des Bornavirus und der Erkrankung beim Menschen war 2018 zu verzeichnen. Es konnte erstmalig belegt werden, dass es beim Menschen zu einer Infektion mit dem BoDV-1 gekommen war. Einem 70-jährigen, männlichen hirntoten Organspender aus Süddeutschland, der zuvor keinerlei auffällige neurologische Symptomatik gezeigt hatte, wurden beide Nieren und die Leber entnommen. Die drei Empfänger der Organe entwickelten alle binnen ca. 80-120 Tage nach Transplantation enzephalitische Symptome. Zwei dieser Patient:innen verstarben letztlich infolge der Enzephalitis, während der dritte Patient schwerwiegende dauerhafte Folgen

davongetragen hat (Schlotta et al., 2018).

## **2.5. Die klassische Bornavirus-Enzephalitis (BoDV-1)**

Durch eine metagenomische Analyse an einer Hirnbiopsie einer der Organempfänger wurde ein fast vollständiges BoDV-1-Genom (BoDV-1; Spezies *Mammalian 1 orthobornavirus*, Familie *Bornaviridae*) gefunden. Die Befunde konnten über verschiedene Nachweismethoden, einschließlich Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR), Immunhistochemie (IHC) und RNA in-situ Hybridisierung gesichert werden. (Schlotta et al., 2018)

Unabhängig von dem Transplantationscluster wurde zeitgleich ein Fall eines 25-jährigen Studenten aus Bayern veröffentlicht, der ebenfalls an einer Enzephalitis verursacht durch BoDV-1 verstorben war (Korn et al., 2018).

Aufgrund dieser beiden Veröffentlichungen wurde an der Universität Regensburg eine retrospektive Studie aufgenommen, die 56 Fälle von Enzephalitis zwischen 1999 und 2018 untersuchte. Bei 28 der Patient:innen konnte der Erreger der Enzephalitis nicht eindeutig identifiziert werden. 15 der 28 Patient:innen hatten die Enzephalitis überlebt. Neun der 28 Patientinnen waren verstorben. Von diesen neun Patient:innen wurden sieben positiv auf BoDV-1-RNA getestet. Diese Studie deutet daraufhin, dass BoDV-1 einen Großteil der tödlichen Enzephalitiden unklarer Genese ausmachen könnte. (Niller et al., 2020)

Anschließende Antikörper-Screenings wurden bei über 1100 Personen (Tierärzten und gesunden Blutspendern), die größtenteils aus dem endemischen Gebiet stammen, durchgeführt. Dabei konnte bei einer Tierärztin ein Anti-BoDV-1-positives Serum gefunden werden. Weitere Untersuchungen oder eine Bestätigung des Befundes konnte aufgrund der Anonymisierung der Studie allerdings nicht erfolgen. Trotz dieses einen unbestätigten Falles, ist ein asymptomatischer/subklinischer Verlauf insgesamt mit der hohen Sterblichkeitsrate bekannter BoDV-1 Erkrankungen als extrem unwahrscheinlich zu bewerten. (Tappe et al., 2019b)

### **2.5.1. Symptomatik**

Die Erkrankung mit BoDV-1 beginnt meist mit einer kurzen Phase unspezifischer, grippeähnlicher Symptomen, wie Fieber, Kopfschmerzen und Abgeschlagenheit. Nach dieser Phase folgen neurologischen Auffälligkeiten, insbesondere mit Gangunsicherheit, Verwirrtheit, Paresen, Halluzinationen, Gedächtniseinschränkungen, Dysarthrien, Aphasien, Krampfanfällen und fortschreitender Bewusstseinsverlust, das meist in ein tiefes Koma mit Verlust der Hirnstammreflexen übergeht. Der Tod tritt circa 38 +/- 22 Tagen nach Symptombeginn ein. (Liesche et al., 2019, Finck et al., 2020)



Bei immunkomprimierten Patient:innen liegt das mittlere Überleben hingegen bei 75 +/- 8 Tagen (Schlottau et al., 2018). Die bei Pferden und Schafen auftretende Borna'sche Erkrankung beginnt meist mit einer kurzen Prodromalphase mit einer Depression und einer Anorexie. Die darauffolgende Erkrankung ist gekennzeichnet durch Somnolenz, Ataxie, Dysphagie und neurologische Ausfallserscheinungen. Der Krankheitsverlauf ist über 1 bis 3 Wochen fortschreitend und führt in der Regel zum Tod. Nicht selten werden die Tiere vorher euthanasiert. (Caplazi and Ehrensperger, 1998)

### **2.5.2. Immunpathologie der Infektion mit BoDV-1**

Mehrere Tierstudien haben belegt, dass die Zytotoxizität der BoDV-1-Infektion durch BoDV-1-spezifische CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten vermittelt wird (Stitz et al., 1991, Hausmann et al., 1999, Chevalier et al., 2011). Im experimentellen Nagermodeill konnte gezeigt werden, dass immunsupprimierende Medikamente die T-Zell-vermittelte Immunpathologie hemmen oder verhindern können (Stitz et al., 1992, Noske et al., 1998, Hallensleben et al., 1998, Stitz et al., 2002). Infolge der erst kürzlich entdeckten Humanpathogenität konnten bisher nur erste Beobachtungen darauf hindeuten, dass das längste Überleben die beiden Nierentransplantationsempfänger aus dem Organtransplantationscluster zeigten, die zur Vermeidung einer Abstoßungsreaktion mit Antithyozytenglobulin behandelt worden waren (Schlottau et al., 2018). In einem weiteren Fall eines 7-jährigen Jungen konnte durch eine frühzeitige immunsuppressive Therapie mit hochdosiertem Steroid, Ciclosporin und Mycophenolat-Mofetil und virostatische Therapie eine deutliche klinische Verbesserung und ein verlängertes Überleben von über 60 Tagen erzielt werden (Grosse et al., 2023). Daraus lässt sich schließen, dass eine immunsuppressive Therapie einen wichtigen Ansatz in der Behandlung der Bornavirus-Enzephalitis darstellt.

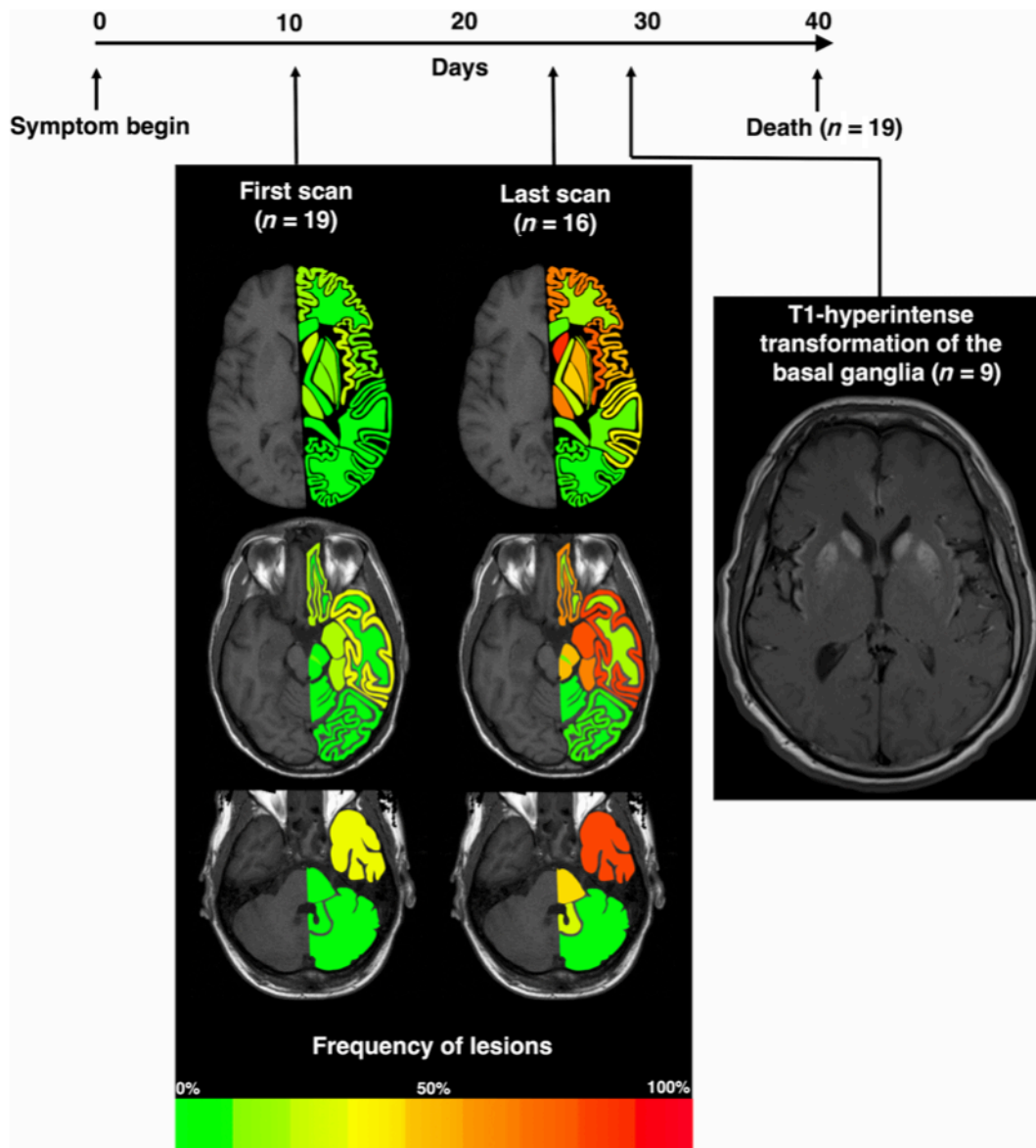
### **2.5.3. Neuropathologie und Neuroradiologie**

2019 und 2020 konnten Studien der Neuropathologie und der Neuroradiologie der Technischen Universität München die ersten umfassenden Beschreibungen der Morphologie der humanen BoDV-1-Enzephalitis mit histopathologischer Bestätigung der Bildgebungsanomalien liefern.

Es wurden 55 magnetresonanztomographische (MRT) Aufnahmen von 19 humanen BoDV-1-Fällen ausgewertet. Dabei konnte man zeigen, dass in frühen Krankheitsstadien die Inflammation durch eine T2-Hyperintensität im Caput des Nucleus caudatus, im posteromedialen Thalamus, im Inselcortex und im Hippocampus zu sehen ist. Im weiteren Verlauf der Erkrankung verstärkt sich die Entzündung in diesen Regionen und breitet sich von dort weiter in den Frontal- bzw. Temporallappen und Hirnstamm aus (**Abb. 4**). Im späten Stadium wurden bei einigen Patient:innen charakteristische Veränderungen

(T1 Hyperintensitäten) in den Basalganglien festgestellt (**Abb.4**). Auffällig war zudem, dass die Regionen, die am weitesten von den ursprünglichen Regionen entfernt liegen, am wenigsten betroffen waren. Hierbei waren insbesondere die lateralen Kleinhirnhemisphären und der Okzipitalpol zu nennen. (Finck et al., 2020)

Es ist weitestgehend ungeklärt, wie das Virus überhaupt in das ZNS gelangt und sich von dort ausbreitet. In einigen Tierstudien wurde die Theorie der intranasalen Virusübertragung, die retrograd in das Gehirn erfolgen soll, aufgestellt (Gosztonyi, 2008, Kupke et al., 2019). Diese Theorie konnte in der neuroradiologischen Studie nicht belegt werden. Der Nervus olfactorius lässt im MRT schlecht darstellen, deshalb wurde der Gyrus rectus, der entlang des Nervus olfactorius verläuft, begutachtet. Bei Betrachtung des Gyrus rectus fiel eine deutliche Entzündung auf. Dennoch scheint sich das Virus im Verlauf eher sekundär von den Basalganglien auszubreiten und nicht andersherum. Infolgedessen wurde von den Autoren der Studie die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass es sich eventuell um eine hämatogenen statt einer retrograden Ausbreitung handeln könnte. (Finck et al., 2020)

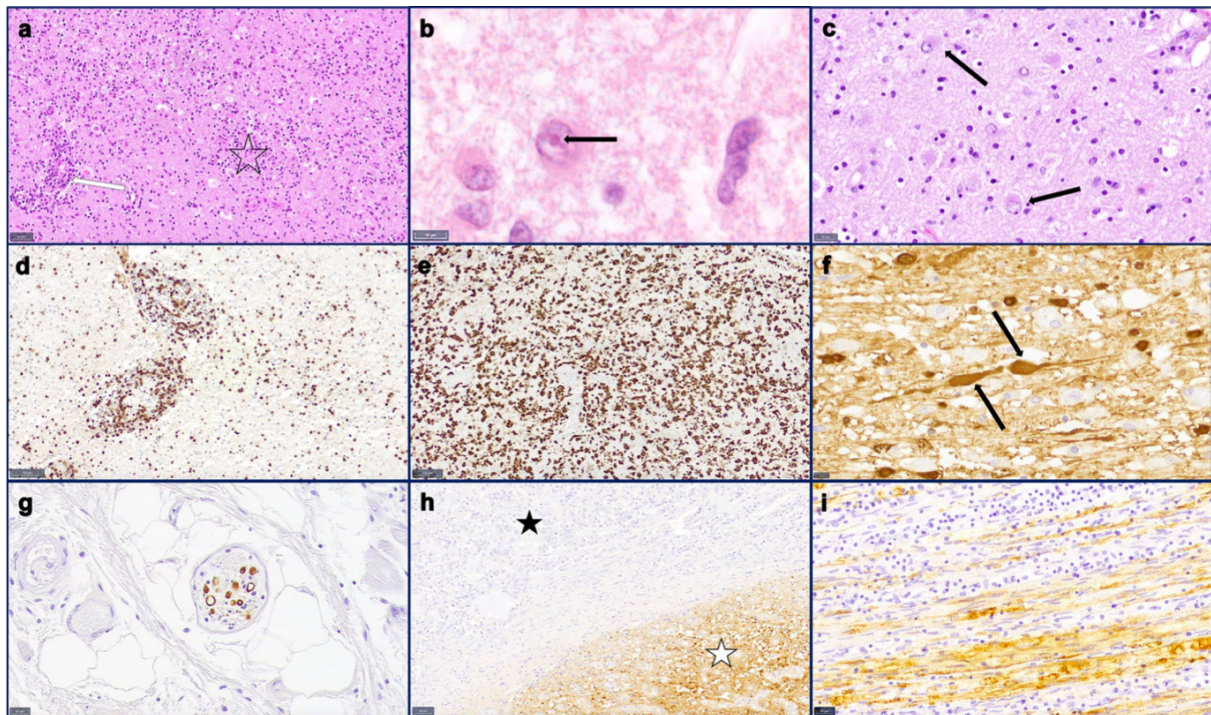


**Abbildung 4: MRT-Charakteristik im Verlauf**

Piktogramm mit einem farbbasierten Intensitätsmuster ausgewählter Hirnregionen. Dargestellt für den ersten Scan und den Folgescan. T1-Hyperintense Transformation der Basalganglien. *Abbildung aus (Finck et al., 2020).*

In der histopathologischen Studie, die erstmalig die Morphologie beim Menschen untersuchte, konnte ein erster systematischer Überblick über die Gewebeverteilung und das Läsionsmuster gegeben werden. Dabei zeigten sich alle untersuchten Gehirne histopathologisch als eine sklerosierende, lymphozytäre Panenzephalomyelitis mit Ausbildung von Mikroglia-Knötchen und Nachweis intranukleärer Einschlusskörperchen. Durch in-situ Hybridisierung der BoDV-1-RNA kombiniert mit immunhistochemischer Zelltypmarkierung konnten Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten als BoDV-1-infizierte Zelltypen identifiziert werden. Makrophagen und Lymphozyten hingegen zeigten keine BoDV-1-RNA. Immunhistochemisch konnte das BoDV-1-Nukleoprotein in allen untersuchten Gehirnproben einschließlich dem Rückenmark nachgewiesen werden. In Neuronen fand man BoDV-1

in Zellkörpern sowie den neuritischen Fortsätzen. (Liesche et al., 2019) In **Abbildung 5** sind die histopathologischen Veränderungen dargestellt.



**Abbildung 5: Mikroskopische Veränderungen der humanen Bornavirus-Enzephalitis**

Die Abbildung **a** zeigt die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H&E) mit perivaskulären (weißer Pfeil) und diffusen lymphozytären Infiltraten. Darüber hinaus sind Mikroglia-Knoten (Stern) und eine ausgeprägte reaktive Astroglie zu sehen. In Abbildung **b** (H&E) erkennt man die typischen Joest-Degen'schen Kerneinschlusskörperchen. In Abbildung **c** (H&E) sieht man eine ausgeprägte Astroglie. Abbildung **d** CD3 Immunhistochemie (IHC) zeigt die lymphozytäre Verteilung mit perivaskulärer Betonung. In Abbildung **e** (Iba1-IHC) zeigt sich eine starke Aktivierung der Mikrogliazellen und Makrophagen. Die beiden schwarzen Pfeile in Abbildung **f** (Bo18-IHC) zeigen den axonalen Virusbefall eines Neurons. In Abbildung **g** erkennt man den Befall eines Nervs im Ösophagus. Abbildung **h** (Bo18-IHC) zeigt auf der einen Seite eine starke Positivität der Neurohypophyse (weißer Stern) und der anderen Seite die Adenohypophyse (schwarzer Stern) mit keinem Virusprotein Nachweis. Abbildung **i** (Bo18-IHC) zeigt einen Virusproteinnachweis im Nervus ischiadicus. *Abbildung aus (Liesche et al., 2019).*

Durch die lange Bekanntheit der Erkrankung vor allem bei Pferden und Schafen wurden histopathologische Untersuchungen immer wieder durchgeführt und so in einer vergleichenden Studie aus dem Jahr 1998 aussagekräftig beschrieben.

Hierbei zeigten die Pferde und Schafe eine mononukleäre Panenzephalitis mit Prädilektion der rostralen Hirnareale und des Hippocampus. Bei den Pferden war im Gegensatz zu den Schafen häufiger eine neuronale Degeneration und eine ausgeprägte reaktive Astroglie zu finden. BoDV-1-Antigen wurde bei Schafen hauptsächlich in den Neuronen gefunden und war im Hirnstamm und Kleinhirn ausgespart. Bei Pferden war BoDV-1 sowohl in den Neuronen als auch intranukleär und zytoplasmatisch in Astrozyten nachweisbar. Bei beiden Spezies waren im Großteil der Fälle intranukleäre Einschlusskörperchen zu finden. Die Entzündungsreaktion war hauptsächlich lymphozytär durch CD3-positive-T-Lymphozyten geprägt. (Caplazi and Ehrensperger, 1998)

#### 2.5.4. Diagnostik

Für die Diagnostik unklarer Enzephalitiden, die potenziell durch BoDV-1 ausgelöst sein könnten, wurde mit Ziel einer frühzeitigen Diagnose ein kürzlich validierter, diagnostischer Ablauf vorgeschlagen (Eisermann et al., 2021). Hierbei werden die Liquor- und Serumproben bei einem Verdacht auf BoDV-1-Enzephalitis durch einen indirekten Immunfluoreszenz-Antikörpertest (IFAT) auf Bornavirus-reaktives IgG untersucht. Dabei wird eine mit BoDV-1-infizierte Zelllinie und eine nicht-infizierte Zelllinie als Kontrolle verwendet. Die dafür eingesetzten Zellen sind Vero-Zellen oder Crandell-Rees-Katzen-Nierenzellen. Im Falle eines positiven IFAT wird das Ergebnis in der Studie durch einen Immunoblot (Lineblot) mit rekombinantem VSBV-1 und BoDV-1-Phosphoproteinen bestätigt. Daneben ist eine Verifizierung auch mit einem validierten Western-Blot oder Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) mit infizierten Zellen möglich. (Eisermann et al., 2021)

Wie in einigen Studien gezeigt werden konnte, sind frühere und höhere Antikörpertiter eher im Serum als im Liquor nachweisbar (Schlottau et al., 2018, Coras et al., 2019, Niller et al., 2020). Die Serokonversion während einer humanen BoDV-1-Enzephalitis ist variabel. Einige Patient:innen haben schon zu Beginn des Krankenhausaufenthaltes nachweisbare Antikörpertiter, während andere Patient:innen erst kurz vor dem Tod einen Antikörperanstieg entwickeln. (Schlottau et al., 2018, Niller et al., 2020)

#### 2.5.5. Virostatische Therapiemöglichkeiten

Im Falle eines Verdachtes oder Nachweises einer BoDV-1-Enzephalitis gibt es noch keine zugelassene Behandlung oder Postexpositionsprophylaxe (PEP) (Reinmiedl et al., 2022). In einer 2017 veröffentlichten in vitro Studie zeigten die zwei Medikamente Ribavirin (1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-carboxamide, ein Guanosin-Analogon) und Favipiravir (T-705; 6-Fluoro-3-Hydroxypyrazin-2-Carboxamid, eine synthetische Guanidin-Nukleobase) eine vielversprechende Wirksamkeit gegen BoDV-1. Sowohl Favipiravir, als auch Ribavirin wirken auf die virale Polymerase und inhibieren somit die Replikation des RNA-Virus. Damit können sie die virale RNA-Konzentration verringern, wobei Favipiravir eine insgesamt höhere Effizienz aufwies. (Tokunaga et al., 2017) Bisher gibt es keine veröffentlichten in vivo Tierversuche zur Wirksamkeit von Favipiravir und BoDV-1 (Reinmiedl et al., 2022). Das Medikament Favipiravir wurde in Studien gegen das Rabiesvirus, das ebenfalls wie BoDV-1 zu der Gruppe der *Mononegavirales* gehört, als wirksam getestet. Es konnte dabei gezeigt werden, dass Favipiravir an der Inokulationsstelle und bei Replikation im ZNS das Rabiesvirus wirkungsvoll hemmt. (Yamada et al., 2019)

In Studien zu Ribavirin mit BoDV-1-infizierten Ratten konnte durch eine intrathekale Applikation eine klinische Verbesserung erzielt werden (Solbrig et al., 2002). Zur Liquorpenetration von Favipiravir gibt

es beim Menschen bisher keine Daten (Reinmiedl et al., 2022). Ribavirin und Favipiravir wurden beide in wenigen Fällen bei Menschen experimentell gegen die BoDV-1-Enzephalitis eingesetzt und haben bisher keine eindeutige Wirkung gezeigt. Ein möglicher Grund hierfür könnte die späte Applikation der Medikamente in einem bereits zu weit fortgeschrittenen Erkrankungsstadium sein. Damit stehen neben der supportiven und immunsuppressiven Behandlung zwei potenziell wirksame Medikamente zur spezifischen Behandlung der BoDV-1-Enzephalitis zur Verfügung. Weitere Untersuchungen und eine klinischen Evaluation des Krankheitsverlaufs sollten bei einem frühzeitigem Einsatz der Virostatika erfolgen. (Reinmiedl et al., 2022, Grosse et al., 2023)

## **2.6. Zielsetzung**

Die Bornavirus-Enzephalitis ist eine beim Menschen erst kürzlich entdeckte und zu meist tödlich verlaufende Zoonose, die seit über 200 Jahren bei Tieren bekannt ist (Durrwald and Ludwig, 1997, Meyer et al., 2022). Ein Großteil der unklaren Enzephalitiden im Endemiegebiet könnten durch das Bornavirus ausgelöst sein (Niller et al., 2020). Mangelnde Erkenntnisse zur Übertragung und zur Eintrittspforte verzögern die Diagnostik und damit auch potenzielle Therapiemöglichkeiten. Die hier vorliegende Arbeit adressiert das Ziel des dezierten Vergleichs und der Unterscheidung der topographischen Verteilung von BoDV-1 und der Entzündungsreaktionen im ZNS zwischen Menschen und Tieren. Dabei werden die betroffenen Gehirne von Menschen und Säugetieren, darunter Pferde, Schafe und Alpakas immunhistochemisch und histomorphologisch betrachtet. Zudem sollen die klinischen Daten der Patient:innen in Beziehung zu den neuropathologischen Befunden gesetzt werden, um die Pathogenese besser zu verstehen und gegebenenfalls Rückschlüsse auf mögliche Therapieansätze und eine denkbaren Eintrittspforte ziehen zu können. Zudem sollen Beobachtungen einer möglichen Saisonalität der Erkrankung diskutiert werden. Das Erreichen dieser Ziele wird maßgeblich zu einem besseren Verständnis der Unterschiede und Gemeinsamkeit der Pathologien zwischen Menschen und Tieren beitragen und darüber hinaus wichtige Erkenntnisse für den therapeutischen Einsatz einer Immunsuppression zur Bekämpfung dieser seltenen Erkrankung liefern.

### 3. Material und Methodik

#### 3.1. Materialien

Die Experimente wurden sowohl am Institut für Pathologie im Fachbereich für Neuropathologie der TUM im Labor der Arbeitsgruppe von Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Jürgen Schlegel und Frau Priv.-Doz. Dr. med. Friederike Liesche-Starnecker, als auch am Institut für Tierpathologie im Fachbereich der Tierneuropathologie an der LMU im Labor von Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. Kaspar Matiasek durchgeführt. Insgesamt wurden 19 Gehirne von Patient:innen bzw. Tieren mit BoDV-1-Infektion untersucht (siehe **Tab. 2**), wobei pro Gehirn im Mittelwert 8 (Range 4-10; Median 8), wie in **Tabelle 1** dargestellt, eingeschlossen wurden. Für jede Hirnregion wurden sechs Schnittpräparate im Rotationsmikrotom angefertigt. Diese wurden dann immunhistochemisch mit den Markern CD3, CD20, CD45 und Bo18 angefärbt.

**Tabelle 1: Untersuchte Gehirnregionen**

Fall-ID	FL	OL	Str	Hc	IL	Me	Po	Mo	Cb	So
M1	X	X	X	X		X		X	X	
M2	X	X	X	X		X	X	X	X	
M3	X	X		X					X	
M4		X	X	X		X	X	X	X	
M5	X	X	X				X	X	X	
M6	X	X	X			X	X	X	X	X
M7	X	X	X	X	X		X		X	
M8	X	X	X	X	X		X	X	X	X
P1	X		X	X		X	X	X	X	X
P2	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
P3	X		X	X	X	X	X	X	X	X
P4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
P5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
S1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
S2	X	X	X	X		X	X	X	X	X
S3	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
S4	X	X	X	X			X	X		X
A1	X	X	X	X	X	X	X		X	X
A2	X	X	X	X		X		X	X	X

FL = Frontaler Cortex, OL = Occipitaler Cortex, Str= Striatum, Hc = Hippocampus, IL = Inselcortex, Me = Mesencephalon, Po = Pons, Mo = Medulla oblongata, Cb = Kleinhirn, So = Stria olfactoria

### 3.1.1. Patient:innenkollektiv

In dieser retrospektiven Studie wurde Autopsiematerial von 19 bestätigten BoDV-1-Fällen einbezogen. Dieses Kollektiv setzt sich aus acht humanen Verstorbenen, die zwischen 2013 und 2022 erkrankt waren, und 11 tierischen Fälle, davon fünf Pferde, vier Schafe und zwei Alpakas aus den Jahren 1995 bis 2018, zusammen. Das mittlere Erkrankungsalter der humanen Patient:innen lag bei 43 Jahren (12 - 74 Jahre), mit einem Median von 43. Bei Tieren lag das mittlere Erkrankungsalter bei 6 Jahren (1 - 17 Jahre), mit einem Median von 4. In **Tabelle 2** sind alle 19 eingeschlossenen Fälle aufgeführt. Vier humane Fälle kamen aus dem Klinikum Augsburg, ein Fall aus dem Klinikum Nürnberg, ein Fall aus dem Klinikum Altötting und zwei weitere Fälle aus dem Klinikum rechts der Isar. Die Fälle M1, M2 und M7 wurden bereits in den Studien von *Liesche et al.* und *Finck et al.* beschrieben (Liesche et al., 2019, Finck et al., 2020).

**Tabelle 2: Kollektiv der erkrankten Menschen und Tiere**

Fall-ID	Spezies	Alter (Jahren)	Geschlecht	Erkrankungsmonat	Krankheitsdauer (Tage)
M1	Mensch	74	w	August	94
M2	Mensch	21	w	Februar	40
M3	Mensch	43	w	Januar	26
M4	Mensch	70	m	November	23
M5	Mensch	12	m	August	31
M6	Mensch	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
M7	Mensch	13	w	November	33
M8	Mensch	71	w	Juli	29
P1	Pferd	1	w	Juni	k.A.
P2	Pferd	9	w	März	k.A.
P3	Pferd	6	w	März	k.A.
P4	Pferd	10	w	April	k.A.
P5	Pferd	17	m	September	k.A.
S1	Schaf	4	m	Januar	k.A.
S2	Schaf	2	m	März	k.A.
S3	Schaf	2	w	Juli	k.A.
S4	Schaf	2	w	Juni	k.A.
A1	Alpaka	4	m	April	k.A.
A2	Alpaka	7	w	Juni	k.A.



### **3.1.2. Gewebe**

Die hier erfolgten Untersuchungen wurden an Gewebeproben durchgeführt, die im Rahmen der Gehirnobduktion entnommen, in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet (FFPE) wurden. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommissionen der Technischen Universität München (TUM) und der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) als verantwortliche Ethikkommission des Universitätsklinikums Augsburg genehmigt. Die humanen Proben wurden im Rahmen der mitunter retrospektiven Diagnostik ätiologisch bis dato unklarer Enzephalitiden aus der Pathologie Rosenheim, der Pathologie des Universitätsklinikums Augsburg, der Neuropathologie der Ludwig-Maximilians-Universität und der Pathologie der Technischen Universität München zur Verfügung gestellt. Die tierischen Gehirnmaterialien wurden von niedergelassenen Tierärzten und Tierkliniken an die tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, der Abteilung für Tierneuropathologie zur spezifischen Untersuchung und Diagnostik übermittelt.

## **3.2. Methoden**

### **3.2.1. Aufarbeitung des Gewebes**

Zur Fixierung der Gewebeproben wurde 10% neutral gepuffertes Formalin in physiologischem PBS Puffer (10% NBF) verwendet. Das gesamte Gehirn wurde über einen Zeitraum von mindestens drei Wochen standartmäßig fixiert, um auch eine Inaktivierung von Mikroorganismen und eine Stabilisierung des Gewebes zu gewährleisten (Reinmiedl et al., 2022). Nach einer kurzen Spülung mit Wasser konnte anschließend die Gehirnobduktion nach standardisiertem Procedere durchgeführt werden, einschließlich der Entnahme der Proben. Die Proben wurden dann erneut in Formalin eingelegt, damit sie vor dem Austrocknen geschützt werden. Für den nächsten Schritt wurden die fixierten Gewebeproben durch Spülen mit Wasser von der Formalin-Lösung gereinigt. Da sich Paraffin nicht mit Wasser mischt, musste das Wasser unter Einbringung eines Zwischenmediums (Xylol) durch eine aufsteigende Alkoholreihe entfernt werden. Die Gewebeproben wurden im Anschluss mit erhitztem und verflüssigtem Paraffin durchtränkt und wurden dann heruntergekühlt. Die Proben wurden nach diesem Schritt als FFPE (formalin fixed paraffin embedded) Gewebe bezeichnet. Diese Methodik wurde durch Mitarbeiter der Pathologien der LMU und TUM durchgeführt. Alle weiteren methodischen Verfahren und Schritte der vorliegenden Doktorarbeit wurden nach der Einarbeitung durch Mitarbeiter des Labors der Neuropathologie (Sandra Bauer, Christian Schustetter und Lisa Pichel) von mir durchgeführt.

### 3.2.2. Anfertigung der Schnitte

Zur Beurteilung der Gewebeproben unter dem Mikroskop, muss das Gewebe in 2-3 µm dünnen Schnitten vorliegen. Das FFPE Gehirnmateriale wurde im ersten Schritt auf einer Kühlplatte für circa 20 min heruntergekühlt und anschließend in das Rotationsmikrotom eingespannt. Im zweiten Schritt wurde das Gewebe in 2 bis 3 µm dünne Paraffinstreifen herunterschnitten und zur Entfaltung kurz in ein 42°C warmes Wasserbecken gelegt. Im dritten Schritt wurde der entfaltete Paraffinstreifen auf einen speziell für die Immunhistochemie hergestellten polarisierten Objektträger aufgezogen. Abschließend wurden die Schnitte bei 55°C getrocknet.

### 3.2.3. Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ist ein Verfahren, das zum Nachweis und Lokalisation von Gewebe und zelltypischen Antigenen eingesetzt wird. Grundlage hierfür ist die Antigen-Antikörper Reaktion. Dabei findet eine Färbung von Zell- und Gewebsstrukturen durch an Antikörper gekoppelte Farbstoffe statt.

#### 3.2.3.1. Vorbereitung der Paraffinschnitte

Zu Beginn wurden das Gewebe durch ein 3x 10-minütiges Xylol-Bad entparaffiniert. Das Xylol wiederum wird durch die absteigende Alkoholreihe aus dem Gewebe entfernt. Dabei wurden die Schnitte für 2x5 min in Isopropanol, 5 min in 96% Ethanol, 5 min in 70% Ethanol und danach nochmal 5 min in destilliertes Wasser zur Rehydrierung gestellt. Die darauffolgende Vorbehandlung zur Demaskierung der Epitope erfolgte je nach Antikörper und Färbedurchlauf unterschiedlich. Bei CD3 erfolgte die Demaskierung in der Mikrowelle mit TRIS/EDTA (siehe **Tab. 11** im Anhang **8.1.2. Chemikalien**) mit einem pH-Wert von 9.0 für 2x 10min bei 700 Watt. Bei CD20 wurde keine Vorbehandlung durchgeführt. Die Epitope von Bo18 und CD45 wurden durch einen Citratpuffer bei einem pH-Wert von 6.0 im Dampfgerar für 20 min demaskiert. Im Anschluss wurden bei beiden Verfahren die Puffer mit dem Gewebe für 20 min abgekühlt. Im nächsten Schritt wurde die endogene Peroxidase gehemmt, um eine unspezifische Anfärbung im Verlauf zu verhindern. Dafür wurde das Gewebe für 30 min in 3%-igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (verdünnt in aqua dest) behandelt und anschließend mit PBS/TBS gespült.

#### 3.2.3.2. Anfärbung der Antigene

Die eigentliche Immunhistochemie beginnt mit dem Anfärben der Gewebsantigene. Damit es zu keiner unspezifischen Bindung durch den Primärantikörper kommt, wurden die Proteinbindestellen durch eine 30-minütige Inkubation mit 2,5% Ziegen Serum mit Avidin oder 1:20 Ziegen Serum mit TBS

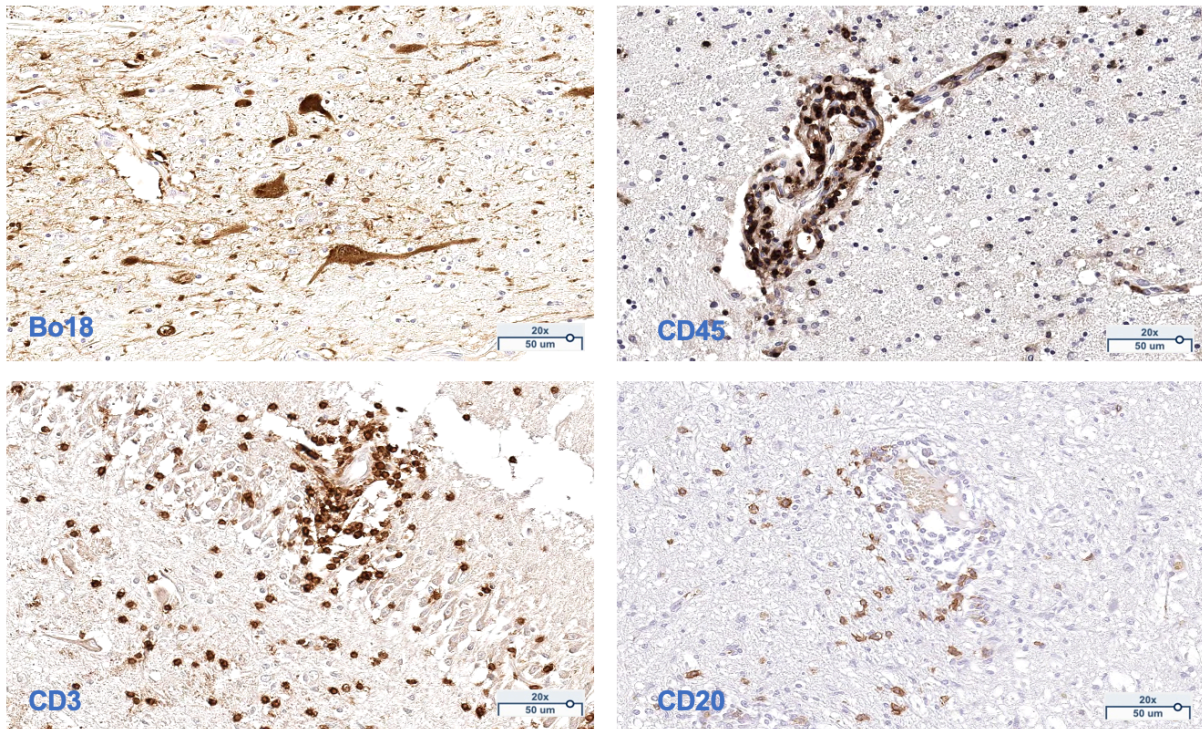
blockiert. Nach diesem Schritt erfolgte die Inkubation der Gewebsschnitte in einer feuchten Kammer mit dem verdünnten Primärantikörper bei CD3/CD20 für 60 min bei Raumtemperatur und bei Bo18/CD45 über Nacht bei 4°C. Im Anschluss wurde der primäre Antikörper mit TBS/PBS abgewaschen und der biotinylierte Sekundärantikörper verdünnt in Blocking Buffer (siehe **Tab. 12** im Anhang **8.1.3. Puffer und Lösungen** ) bei Raumtemperatur für 50 min bei Bo18/CD45 und für 30 min bei CD3/CD20 aufgetragen.

Anschließend wurde erneut mit TBS/PBS gespült und das Gewebe mit ABC-Kit für 30 min inkubiert. Durch das ABC-Kit findet eine Minimierung der Hintergrundfärbung und eine Signalverstärkung statt. Nachfolgend wurde das Gewebe erneut mit TBS/PBS gespült. Danach wurden die Gewebsschnitte mit ImmPACT DAB unter Sichtkontrolle für ca. 2 min entwickelt und im Anschluss 5 min unter Leitungswasser oder Aqua dest. gespült.

### **3.2.3.3. Fertigstellung der Gewebsschnitte**

Zum Abschluss der Immunhistochemie erfolgte zur besseren morphologischen Orientierung die Gegenfärbung der Zellkerne und des Gewebshintergrundes mit saurem Meyer's Hämalaun. Nachfolgend werden die Gewebsschnitte für 5 min mit Leitungswasser gespült.

Im letzten Schritt mussten die Gewebsschnitte aufgrund des hydrophoben Eindeckelmediums durch die aufsteigende Alkoholreihe entwässert werden. Dies erfolgte 3 min bei 70% Ethanol, 2x 3 min bei 96% Ethanol und 5 min in Xylol. Direkt im Anschluss wurden die Gewebeschnitte mit Pertex eingedeckelt. In **Tabelle 3 und 4** sind die einzelnen Schritte für die unterschiedlichen Marker jeweils aufgelistet. Nach dem Färbvorgang können die unterschiedlichen Färbungen unter dem Mikroskop morphologisch untersucht werden. Dabei markiert der Bo18-Antikörper die BoDV-1 infizierten Neuroglia. Die braune Färbung zeigt die Verteilung des Virusantigens. Anti-CD45-Antikörper werden als Pan-Leukozyten Marker in menschlichen Gehirnen verwendet. Die CD3- und die CD20-Marker werden in dieser Studie bei Tieren verwendet und zeigen eine parenchymale lymphozytäre Verteilung mit perivaskulärer Akzentuierung. Ein Beispiel der unterschiedlichen Marker ist in **Abbildung 6** zu sehen.



**Abbildung 6: Exemplarische Bilder der immunhistochemischen Färbungen**

Die Abbildungen zeigen jeweils eine 200-fache Vergrößerung mit einem Skalenbalken von 50 µm. Zu sehen sind die unterschiedlichen Marker Bo18, CD45, CD3 und CD20.

**Tabelle 3: Immunhistochemie CD3 und CD20**

Ablauf/Schritte	Puffer/Lösungen	Erklärung	Dauer
Vorbehandlung	CD3 TRIS/ EDTA pH-Wert 9,0 Mikrowelle 700 Watt CD20 keine Vorbehandlung	Demaskierung der Epitope	2x 10 min
Abkühlung		Abkühlen auf Raumtemperatur	20 min
Spülen	Aqua dest.		5 min
Blockieren	3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Blockierung der endogenen Peroxidase	30 min
Spülen	TBS		5 min
Blockieren	Normales Ziegenerum und TBS	Blockierung unspezifischer Bindungen	30 min
Bindung	Primärantikörper und TBS	Bindung an das Antigen im Zielgewebe	60 min
Spülen	TBS		5 min
Bindung	Sekundärantikörper und TBS	Mehrere Bindungen am primären Antikörper möglich, Signalverstärkung	50 min
Spülen	TBS		5 min
Verstärkung	Avidin-Biotin-Komplex und TBS	Minimierung der Hintergrundfärbung Signalverstärkung	30 min
Spülen	TBS		5 min
Anfärbung	DAB	Enzymatisch katalysierte Farbreaktion	
Spülen	Leitungswasser		5 min

Gegenfärbung	Hämalaun	Besseren morphologischen Orientierung	5 min
Spülen	Leitungswasser		5 min
Dehydrierung	70% Ethanol		3 min
Dehydrierung	2x 96% Ethanol		2x 3 min
Dehydrierung	Xylol		5 min
Eindeckeln	Pertex	Sicherung des gefärbten Gewebes	

**Tabelle 4: Immunhistochemie Bo18 und CD45**

Ablauf/Schritte	Puffer/Lösungen	Erklärung	Dauer
Vorbehandlung	CD45: Citratpuffer pH-Wert 6,0 Dampfgerar; BiDV-1: keine Vorbehandlung	Demaskierung der Epitope	20 min
Abkühlung		Abkühlen auf Raumtemperatur	20 min
Spülen	Aqua dest.		5 min
Blockieren	3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Blockierung der endogenen Peroxidase	30 min
Spülen	3x PBS		3x5 min
Blockieren	2,5 % Normales Ziegen Serum und Avidin (1 Tropfen pro ml Blocking-Puffer)	Blockierung unspezifischer Bindungen und Minimierung der Hintergrundfärbung	30 min
Spülen	1x PBS		5 min
Bindung	Primärantikörper. Verdünnung des Antikörpers in Blocking- Puffer mit 2,5% Normalem Ziegen Serum und Biotin (1 Tropfen pro ml Blocking-Puffer) Im Kühlschrank über Nacht inkubieren bei 4°C	Bindung an das Antigen im Zielgewebe	Über Nacht
Spülen	3x PBS		3x 5 min
Bindung	Korrespondierender Sekundärantikörper verdünnt mit Blocking-Puffer	Mehrere Bindungen am primären Antikörper möglich, Signalverstärkung	30 min
Spülen	3x PBS		3x 5 min
Verstärkung	Avidin-Biotin-Komplex	Minimierung der Hintergrundfärbung Signalverstärkung	30 min
Spülen	3x PBS		3x 5 min
Anfärbung	DAB	Enzymatisch katalysierte Farbreaktion	
Spülen	2x Aqua dest.		2x 3 min
Gegenfärbung	Hämalaun	Besseren morphologischen Orientierung	5 min
Spülen	Leitungswasser		5 min
Dehydrierung	70% Ethanol		3 min
Dehydrierung	2x 96% Ethanol		2x 3 min
Dehydrierung	Xylol		5 min
Eindeckeln	Pertex	Sicherung des gefärbten Gewebes	

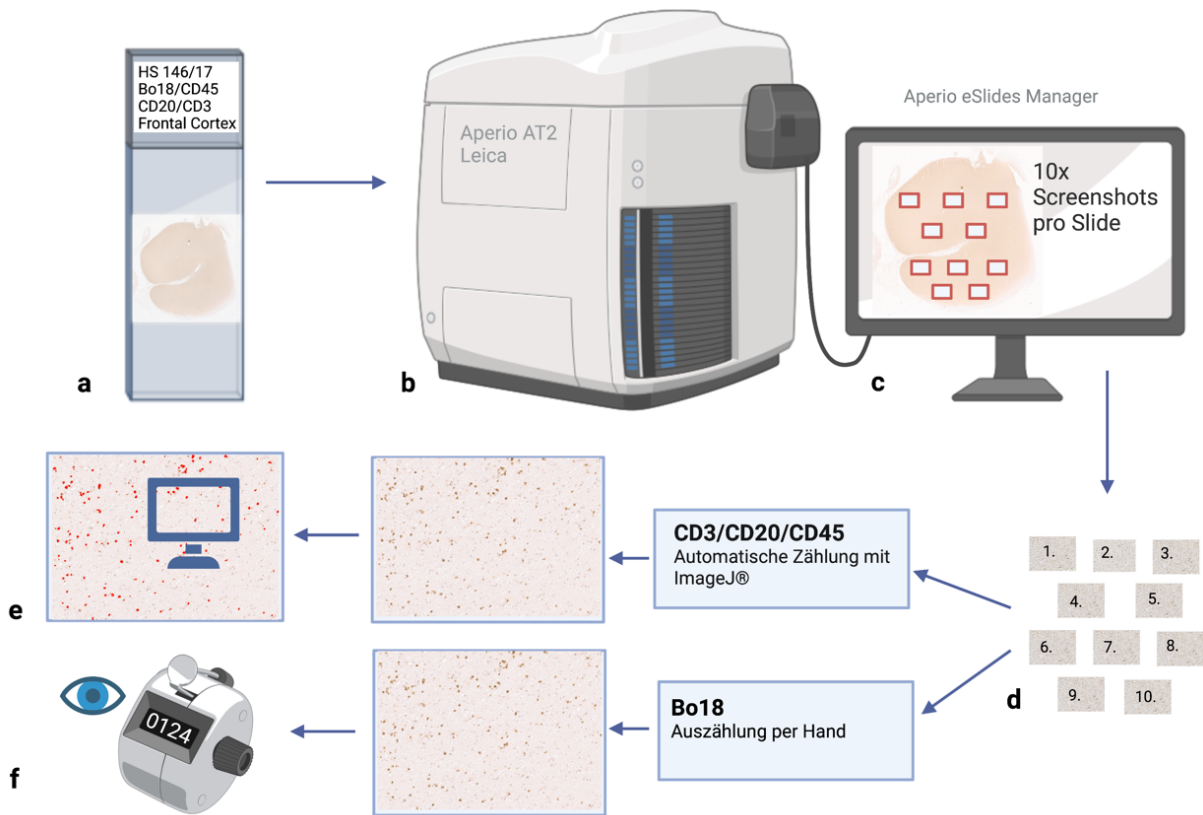
### 3.2.3. Bildanalyse und Auszählung

Die immunhistochemisch gefärbten Slides wurden durch den Aperio AT2 Scanner von Leica digitalisiert. Die digitalisierten Slides wurden in einer bis zu 200-fachen Vergrößerung aufgenommen und in den Aperio eSlides Manager hochgeladen. Es wurden randomisiert in einem gleichen Muster pro gefärbtem Slide 10 Screenshots à 924x638 Pixel in 200-facher Vergrößerung aufgenommen (siehe **Abb. 7**). Die Größe eines Screenshots lag bei 925x640 µm und damit bei 0,6 mm<sup>2</sup>. Die Screenshots wurden mit dem Bildverarbeitungsprogramm ImageJ<sup>®</sup> ausgewertet. Mit ImageJ wurden bei jedem einzelnen Marker (CD20/CD3/CD45) Parameter wie Helligkeit, Sättigung, Farbton und jeweils Größe und Zirkularität angepasst, um die zu untersuchenden positiven Entzündungszellen automatisch detektieren zu können. Diese Methode funktionierte gut bei den Markern CD45/CD3/CD20. Stichprobenartig sind regelmäßige händische Nachzählungen erfolgt. Der spezifische Marker Bo18, der zur Detektion von Virusantigen eingesetzt wurde, konnte trotz etwaigen Bemühungen aufgrund der interindividuellen Abweichungen des Färbekontrastes nicht in ImageJ etabliert werden. Deshalb fand händisch sowohl eine Zählung der positiven, als auch der negativen glialen Zellen und Neurone pro Screenshot statt. Bei beiden Methoden wurde aus den zehn Screenshots pro Slide ein Mittelwert gebildet. Für die Auswertung der Lymphozytenzahl wurde die Angabe „\*Anzahl der Lymphozyten\* pro Mittelwert von 10 Screenshots (pMSS)“ verwendet. Die Zählmethoden der unterschiedlichen Marker ist in **Tab. 5** erklärt.

**Tabelle 5: Zählmethode der unterschiedlichen immunhistochemischen Marker**

Zielantigen	Gefärbte Strukturen	Gehirnmaterial	Zählmethode
Bo18	BoDV-1-infizierte Zellen	Menschen/Pferde/Schafe/Alpaka	Zählung der BoDV-1 positiven Gliazellen und Neurone an der Gesamtzellzahl in Prozent
CD45	Pan-Leukozyten Marker (B- und T-Lymphozyten)	Menschen	*Anzahl der Lymphozyten* pro Mittelwert von 10 Screenshots (pMSS)
CD3	T-Lymphozyten	Pferde/Schafe/Alpaka	*Anzahl der Lymphozyten* pro Mittelwert von 10 Screenshots (pMSS) (CD3+CD20)
CD20	B-Lymphozyten	Pferde/Schafe/Alpaka	Absolute Zählung der Lymphozyten und Summe aus B- und T-Lymphozyten (CD3+CD20)

## Bildanalyse und Auszählung



**Abbildung 7: Bildanalyse und Auszählung**

Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung vom gefärbten Gewebeschnitt bis hin zur Auszählung des Screenshots. Der Schritt **a** zeigt einen vollständig gefärbten Gehirnschnitt auf einem Objektträger. Im Schritt **b** wird der Objektträger im Aperio AT2 Slidescanner von Leica über Nacht eingescannt und in das Programm Aperio eSlide Manager **c** geladen und zur Bearbeitung freigegeben. Innerhalb dieses Programms werden dann händisch die 10 Screenshots pro Slide erstellt **d**. Bei den Färbungen mit den Markern CD3/CD20/CD45 erfolgt eine automatische Auszählung durch das Bildverarbeitungsprogramm ImageJ **e**. Bei dem Marker Bo18 wird die Auszählung per Hand und manuellen Zählgerät durchgeführt **f**. (Grafik erstellt durch BioRender.com).

### 3.2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm IBM SPSS Statistics Version 27.0 für Apple Mac verwendet. Die Daten des Patient:innenkollektivs sind nicht normalverteilt. Zur Analyse von zwei Variablen wurde der nicht parametrische Mann-Whitney-U-Test angewendet. Beim Vergleich von mehr als zwei Variablen wurde der Kruskal-Wallis-H-Test durchgeführt. Korrelationen wurden mit dem Spearman-Rho-Test berechnet. Das Signifikanzniveau wurde jeweils bei  $p \leq 0,05$  festgelegt.

## 4. Ergebnisse

Zur besseren Veranschaulichung werden die Ergebnisse der Menschen und Tieren in jeweils eigenständigen Kapiteln abgehandelt (**Kapitel 4.1.** Menschen und **Kapitel 4.2.** Tiere) und die Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen Menschen und Tiere in **Kapitel 4.3.** beschrieben.

### 4.1. Untersuchung der BoDV-1- und Entzündungsverteilung im humanen Gehirngewebe

#### 4.1.1. Korrelation der Lymphozytenanzahl im Gehirn in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der immunsuppressiven Therapie

Damit die Fälle untereinander vergleichbar sind, wird im Folgenden der Symptombeginn als einheitlicher Startpunkt der Erkrankung gewählt.

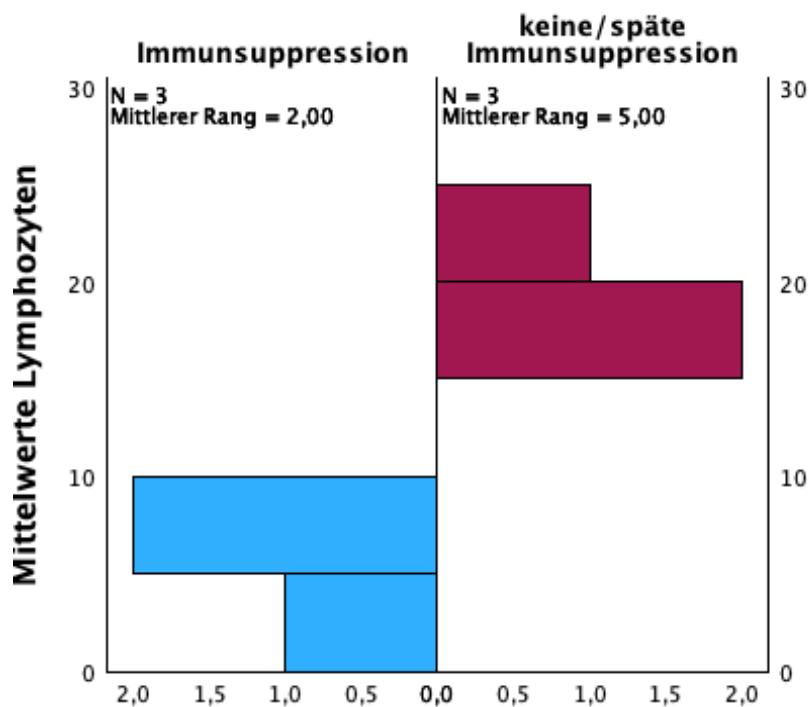
Zur besseren Beurteilung der neuropathologischen Lymphozytenverteilung wurde die zeitliche Gabe und die Dosis der immunsuppressiven Medikamente im Krankheitsverlauf berücksichtigt. Die am häufigsten verwendete Immunsuppression, welche im klinischen Verlauf bei den Patient:innen eingesetzt wurde, war ein Steroidstoß bei Verdacht auf eine Autoimmunenzephalitis mit Hochdosis Methylprednisolon (in 5 von 7 Fällen 1g pro Tag i.v., bei einem Fall 0,5 g pro Tag, bei einem Fall Dosis nicht dokumentiert) über 5 Tage mit anschließender low dose Steroidtherapie über mehrere Tage. Diese wurden bei M2, M3, M5, M7 und M8 im Krankheitsverlauf eingesetzt (siehe **Abb. 10**). Interindividuelle Unterschiede im neuropathologischen Korrelat zeigten sich besonders bei Patient:innen ohne oder mit einer erst im späten Krankheitsverlauf applizierten immunsuppressiven Therapie. Dadurch variiert die absolute Anzahl von Lymphozyten in diesen Gehirnen.

In den Fällen M2, M3 und M7 wurde frühzeitig (an Tag 13 nach Symptombeginn) ein Steroidstoß gegeben (roter Pfeil in **Abb. 12, 13** und **16**). Bei allen drei Patient:innen wurden im Mittelwert unter 7,1 Lymphozyten pMSS über alle Regionen hinweg gefunden. Verglichen mit den übrigen Verstorbenen waren damit in diesen Gehirnen eine sehr geringe Anzahl an Lymphozyten zu finden.

Im Gegensatz dazu wurden bei M4 (**Abb. 14**), der keine immunsuppressive Therapie erhalten hatte, bei M5 (**Abb. 15**) der erst an Tag 20 einen späten Steroidstoß bekommen hatte, und bei M8 (**Abb. 17**), der an Tag 16 ebenfalls erst spät einen Steroidstoß mit einer geringer Dosierung von 500 mg i.v. pro Tag erhalten hatte, deutliche Entzündungsreaktionen mit einer Vielzahl von Lymphozyten gefunden. Bei M4 wurden in fast allen Regionen über 15 Lymphozyten pMSS pro Region entdeckt, im okzipitalen Cortex über 28 Lymphozyten pMSS. Bei M5 wurden ebenfalls in fast allen Regionen im Mittelwert über 21 Lymphozyten pMSS ausgezählt. Auch hier war der okzipitale Cortex mit 40 Lymphozyten pMSS deutlich betroffen. Bei M8 wurden im Mittel 19,5 Lymphozyten pMSS ausgezählt, besonders betroffen waren hierbei der Pons und die Medulla oblongata mit über 32 Lymphozyten pMSS.

In der **Abb. 8** sieht man im Mann-Whitney-U-Test einen deutlichen Unterschied zwischen den zwei Gruppen, der jedoch aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht signifikant war ( $p=0,1$ ).



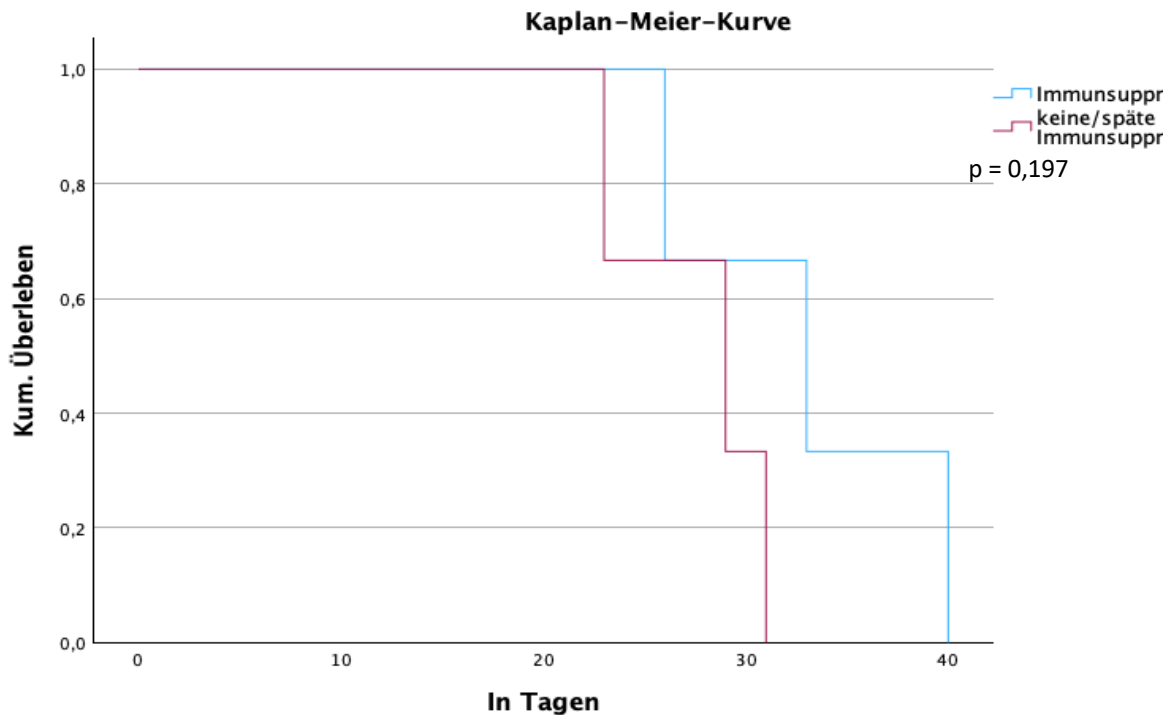


**Abbildung 8: Mann-Whitney-U-Test**

Vergleich zwischen einer Immunsuppression und keiner/späten Immunsuppression. Auf der x-Achse sind die Häufigkeiten von 0-2 dargestellt. Auf der y-Achse die Mittelwerte des mittleren Lymphozytenausmaßes eines Falles.

Das Überleben der drei Patient:innen, die einen frühzeitigen Steroidstoß bis Tag 13 nach Symptombeginn erhalten hatten (M2, M3, M7), zeigte sich im Gegensatz zu den drei Patient:innen, die keinen oder nur einen späten Steroidstoß erhalten hatten (M4, M5, M8), nur gering verlängert (**Abb. 9**).

So überlebten M2, M3, M7 im Mittel nach Symptombeginn 33 Tage (95% Konfidenzintervall (KI) [25.1, 40.9]). M4, M5, M8 überlebten nach Symptombeginn 6 Tage weniger und damit im Mittel 27,6 Tage (95% KI [23.0, 32.4]). Das mediane Überleben lag hier bei einer Immunsuppression bei 33 Tagen (95% KI [21.8, 44.2]) und bei keiner oder einer späten Immunsuppression bei 29 Tagen (95%KI [19.3, 36.6]). Im Gesamtvergleich ergab der Log Rank Test, der auf die Gleichheit der Überlebensverteilung auf den verschiedenen Stufen testet, ein p-Wert von 0,197 und war damit nicht signifikant. In der Kaplan-Meier-Kurve in der **Abb. 9** sieht man trotz der geringen Fallzahl einen Unterschied im Überleben zwischen den beiden Gruppen.



**Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve**

Die x-Achse zeigt das Überleben in Tagen, während die y-Achse das kumulative Überleben darstellt. Die Blaue Kurve markiert die Patient:innen, die eine frühe Immunsuppression ab Tag 13 nach Symptombeginn erhalten hatten. Die rote Kurve markiert keine oder eine späte immunsuppressive Therapie.

M1, verursachte Bornavirus-Enzephalitisfall nach Nierentransplantation, stellt hierbei eine besondere Situation dar. Die Patientin erhielt bis 3 Monate vor Symptombeginn Tacrolimus und ab Tag 34 nach Symptombeginn, aufgrund der Annahme eines Tacrolimus-induzierten Guillain-Barré-Syndroms, eine Umstellung auf Ciclosporin und Prednisolon. Fünf Tage ante mortem wurde aufgrund einer palliativmedizinischen Therapiezieländerung alle Therapeutika bis auf die analgetische Medikation abgesetzt (siehe **Abb. 10** und **11**). In der immunhistochemischen Färbung konnte in fast allen Hirnregionen ein massiver Befall von Lymphozyten festgestellt werden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die Reaktivierung des Immunsystems. Im Mittelwert wurden 50 Lymphozyten pMSS ausgezählt. Hierbei war der Frontalcortex mit 71 Lymphozyten pMSS am stärksten befallen.

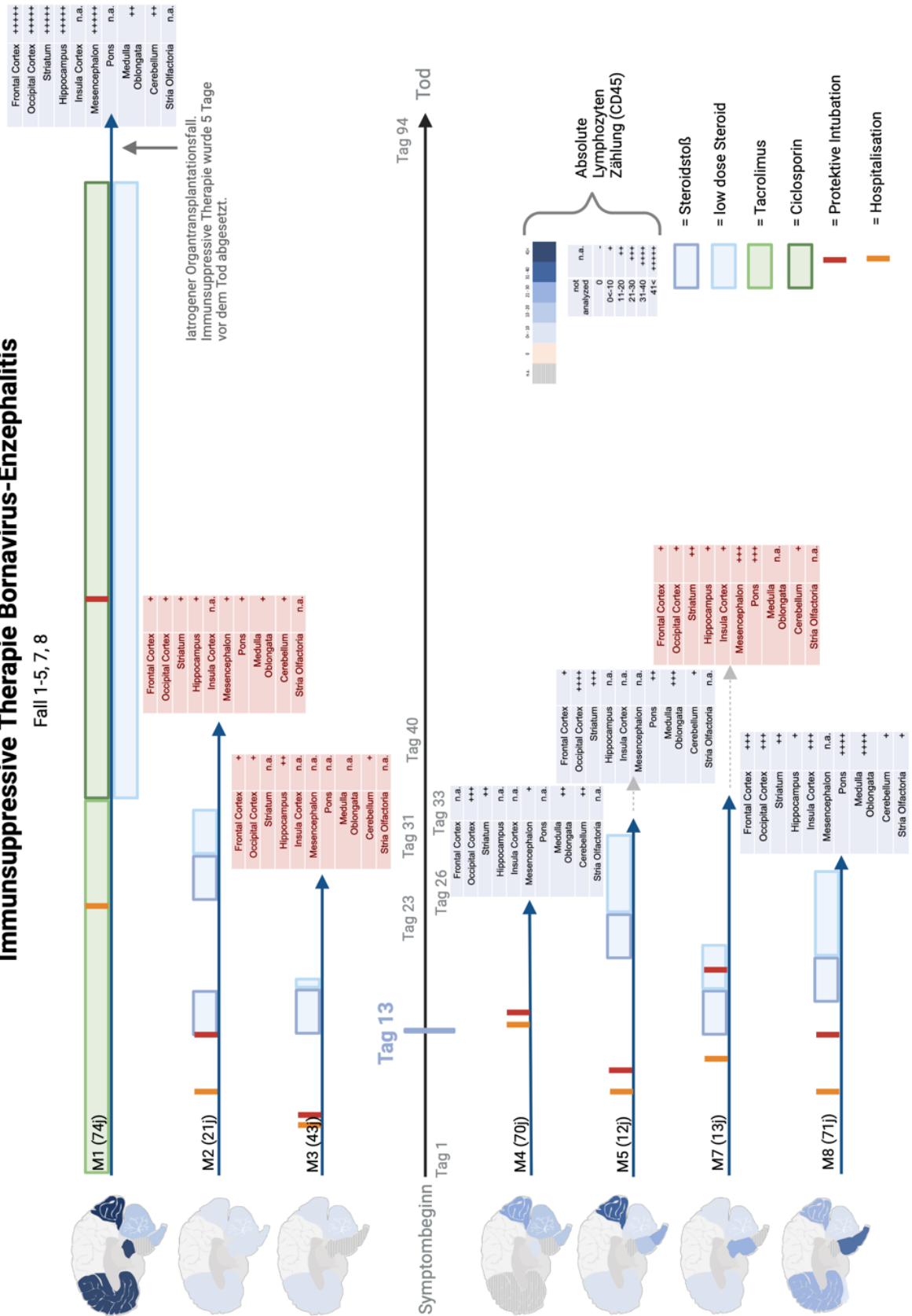
Nun gilt es zu untersuchen, ob durch den frühzeitigen Steroidstoß bei den Patient:innen M2, M3 und M7 eine klinische Verbesserung bemerkt werden konnte.

Klinisch wurde nur bei M7 nach dem Steroidstoß eine leichte Symptomverbesserung beschrieben. Die 13-jährige Patientin erhielt von Tag 13 bis Tag 17 nach Symptombeginn hochdosiert Methylprednisolon mit anschließender Ausschleichtherapie (**Abb. 16**). Ab Tag 14 verschlechterte sich der Zustand der Patientin, sodass sie unter High-flow-CPAP Therapie nicht-invasiv beatmet werden musste. An Tag 17, dem fünften Tag der Hochdosis-Steroidtherapie war die Patientin wieder spontan atmend und konnte bis zu Tag 19 mit einer Sauerstoffmaske versorgt werden. Klinisch zeigte sich eine

minimale Befundverbesserung mit Augenöffnung und angedeutetem Händedruck. Dennoch erfolgte wegen zunehmend fehlender Schutzreflexe und reichlichem Sekret ab Tag 19 die Schutzintubation. Diese wurde zu Beginn ohne Sedierung toleriert, aber bei zunehmend wacher erscheinender Patientin musste im Verlauf mit einer leichten Sedierung (Dexmedetomidin) begonnen werden. An Tag 23 wurde die Patientin aufgrund eines einsetzenden Hustenstoßes extubiert. Der Hustenreflex und -stoß war dennoch weiterhin insuffizient, sodass die Patientin zwei Tage später re-intubiert werden musste. Anhand dieses Falles zeigt sich, dass eine klinische Verbesserung durch eine frühzeitige Hochdosis Steroidtherapie möglich sein kann.

# Immunsuppressive Therapie Bornavirus-Enzephalitis

Fall 1-5, 7, 8

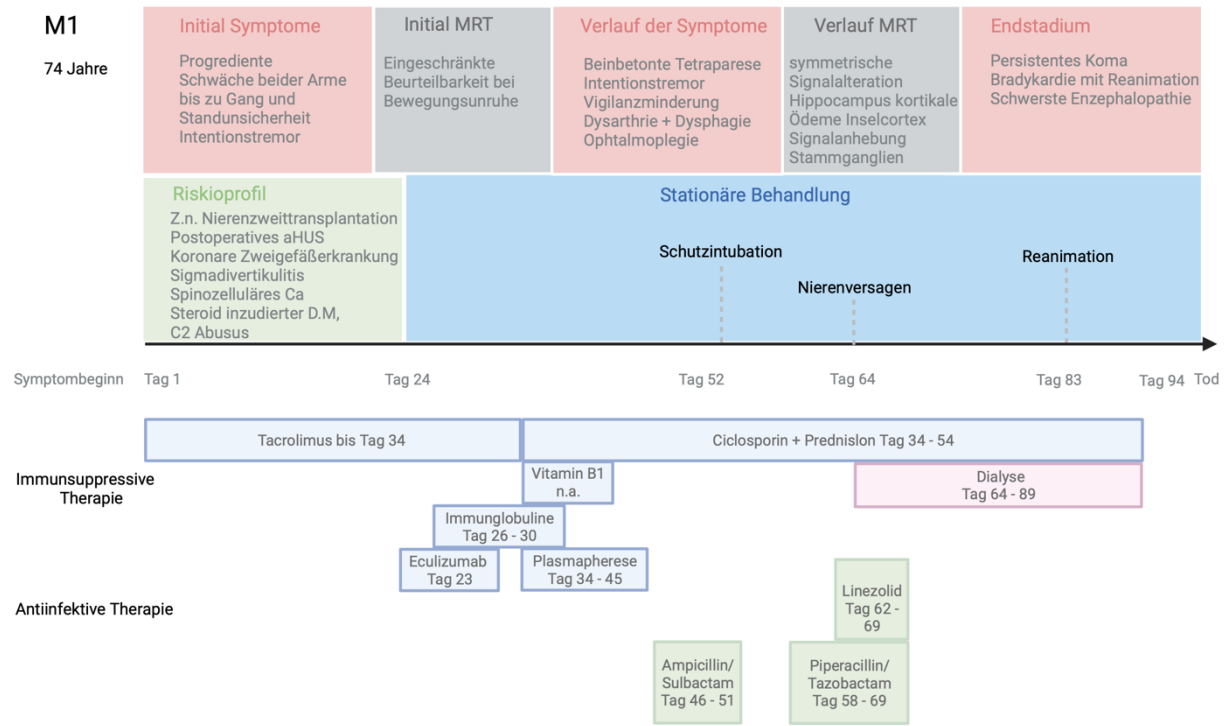


**Abbildung 10: Immunsuppressive Therapie**

Darstellung der menschlichen Fälle M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8 in einer Abbildung in Bezug auf immunsuppressiver Therapie, Hospitalisierung, Schutzintubation und gegebenenfalls der individuellen experimentellen Therapie mit Favipiravir. (Grafik erstellt durch BioRender.com).

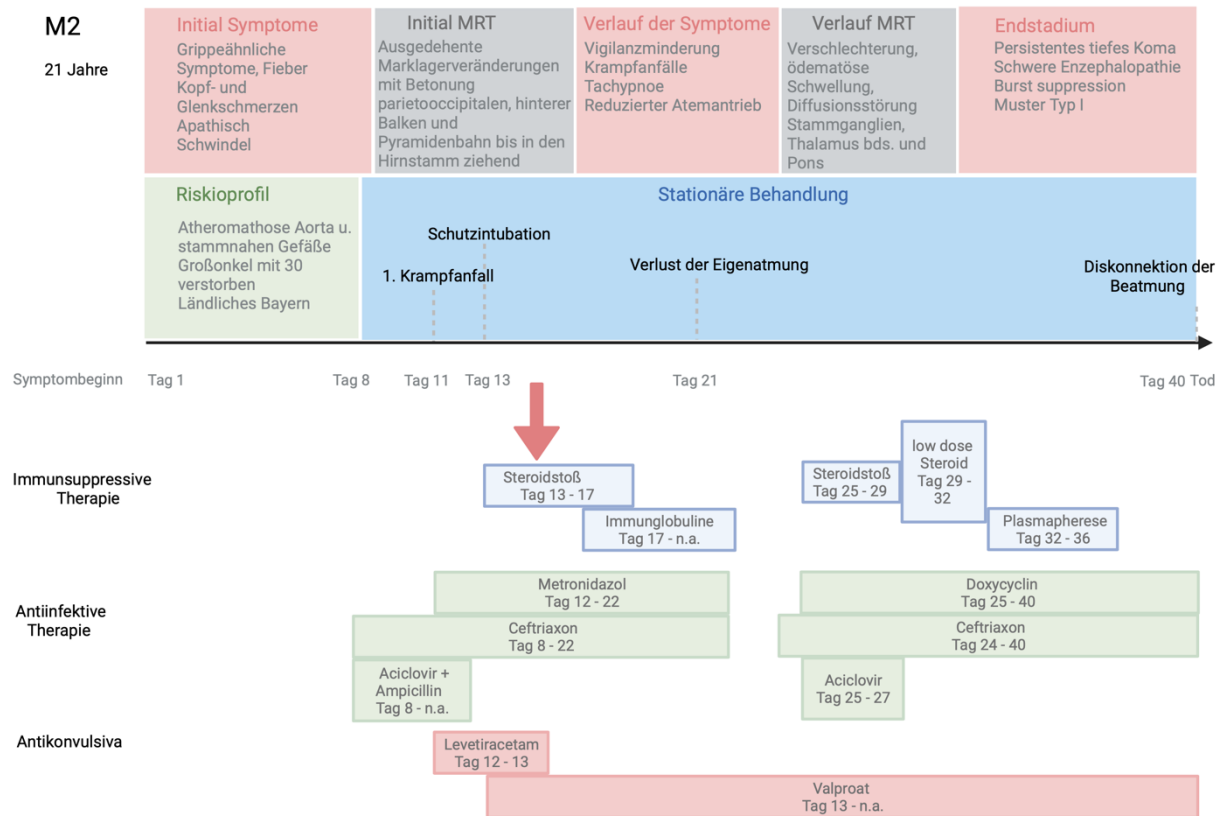
## Abbildungen 11-17

Zusammenfassung des klinischen Verlaufs und Evaluation der Immunsuppressiven Therapeutika nach Symptombeginn bis zum Tod von M1-M5, M7 und M8. (Grafiken erstellt durch BioRender.com)



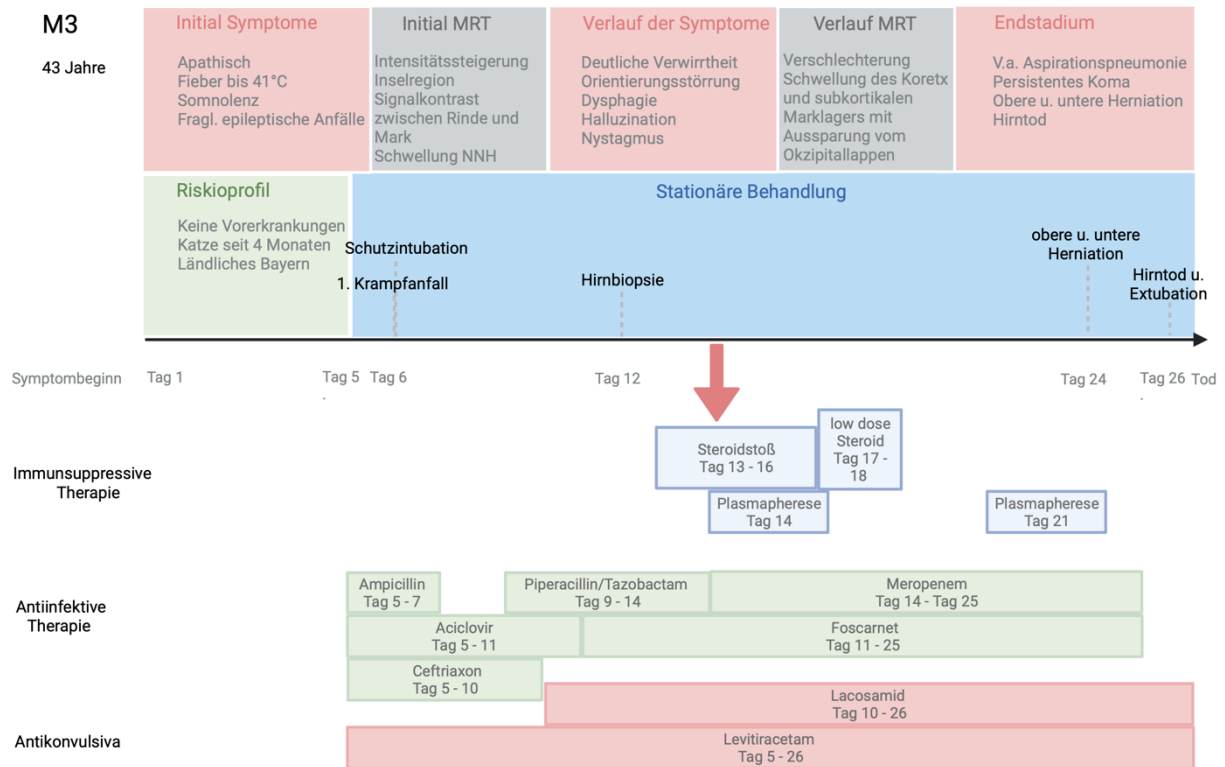
**Abbildung 11: Klinischer Verlauf M1**

M1 ist der iatrogene durch eine Nierentransplantation infizierte Fall. Die Patientin hatte einen sehr langen Krankheitsverlauf (94 Tage ab Symptombeginn). Durch die aufsteigende Guillain-Barré-Syndrom ähnliche Symptomatik unterschied sich der Krankheitsverlauf von den anderen Patient:innen der Studie.



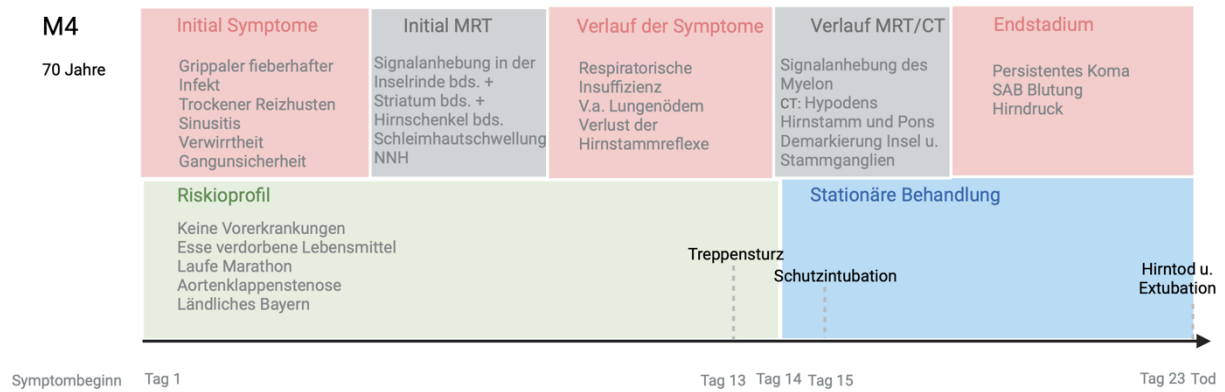
**Abbildung 12: Klinischer Verlauf M2**

M2 war eine 21-jährige Patientin, die ein eher ungewöhnliches Risikoprofil aufweist. Bei der Patientin wurde bei der Obduktion eine Atheromathose der Aorta und der stammnahen Gefäße festgestellt, zudem ein grenzwertig verdicktes Myokard des linken Ventrikels. In der Biopsie einer abheilenden Wunde am Trochanter Major konnte kein Bo18 Antigen detektiert werden. Die Patientin erhielt frühzeitig ab Tag 13 einen Hochdosis-Steroidstoß und überlebte mit 40 Tagen deutlich länger als die Patient:innen, die keine oder eine späte Immunsuppression erhalten hatten (mittleres Überleben dieser Patient:innen von 27 Tagen).

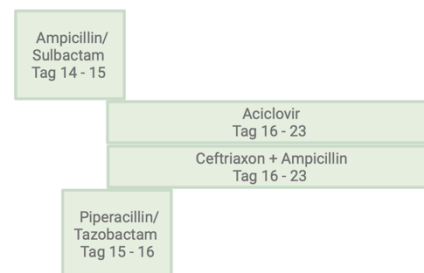


**Abbildung 13: Klinischer Verlauf M3**

Patientin M3 hatte 4 Monate vor dem Beginn der Erkrankung eine Katze aus Griechenland bekommen. Desweiteren lebte Sie, wie fast alle Patient:innen der Studie im ländlichen Bayern. Trotz der relativ frühzeitigen immunsuppressiven Therapie (Steroidstoß ab Tag 13 nach Symptombeginn), überlebte die Patientin aufgrund eines zentralen Regulationsversagens infolge eines ausgeprägten Hirnödems nur 26 Tage.



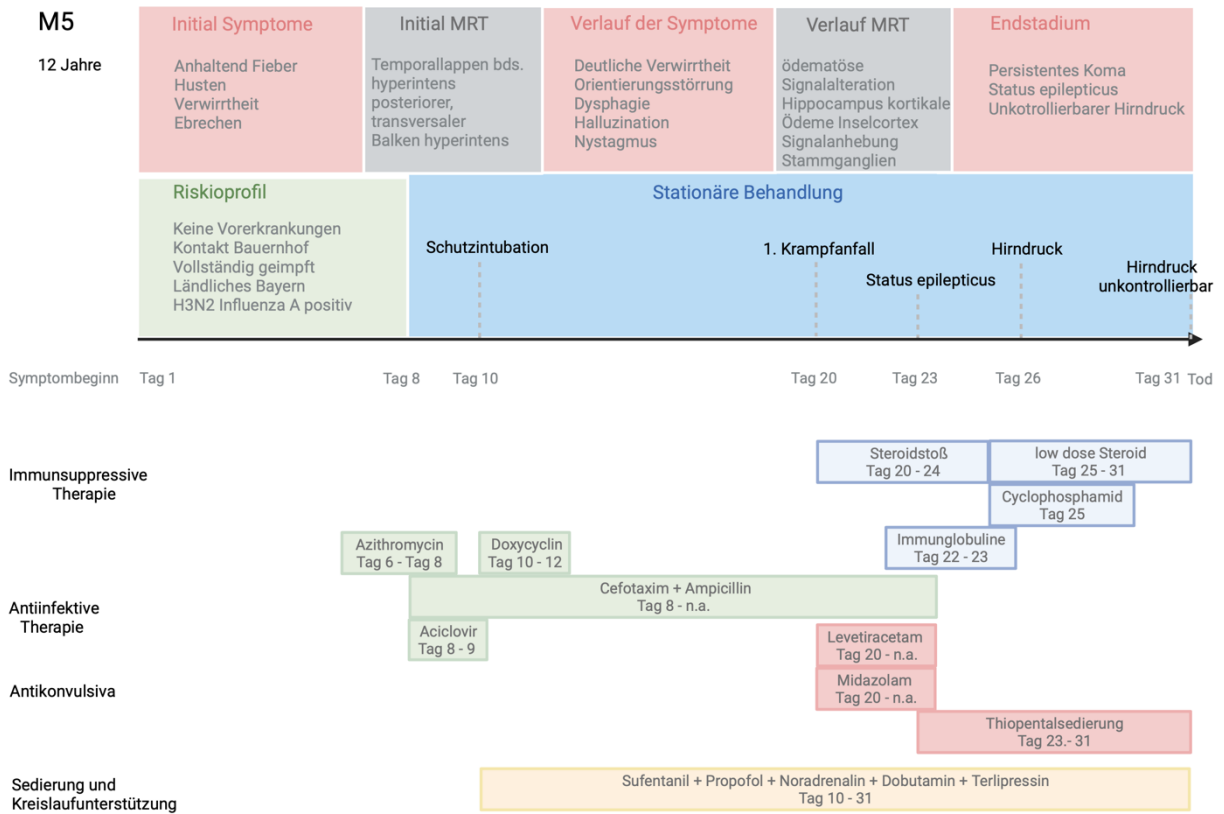
Antinfektive Therapie



#### Abbildung 14: Klinischer Verlauf M4

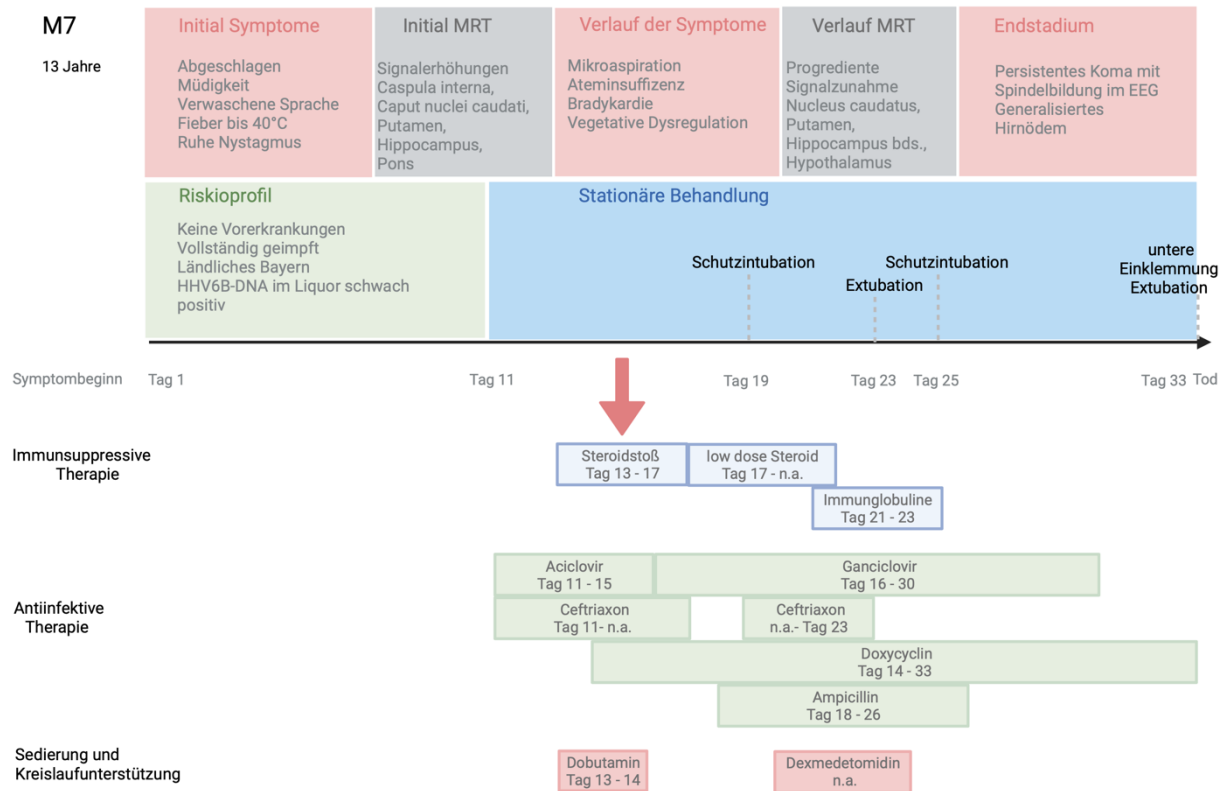
Patient M4 war ein 70-jähriger Mann, der außer einer Aortenklappenstenose keine Vorerkrankungen aufwies. Er habe immer wieder verdorbene Lebensmittel gegessen. Besonders auffällig bei diesem Patienten war, dass er erst spät (Tag 14 nach Symptombeginn) hospitalisiert wurde. Im weiteren klinischen Verlauf hatte der Patient keinerlei immunsuppressive Therapeutika erhalten. Er verstarb mit 23 Tagen nach Symptombeginn sehr früh.





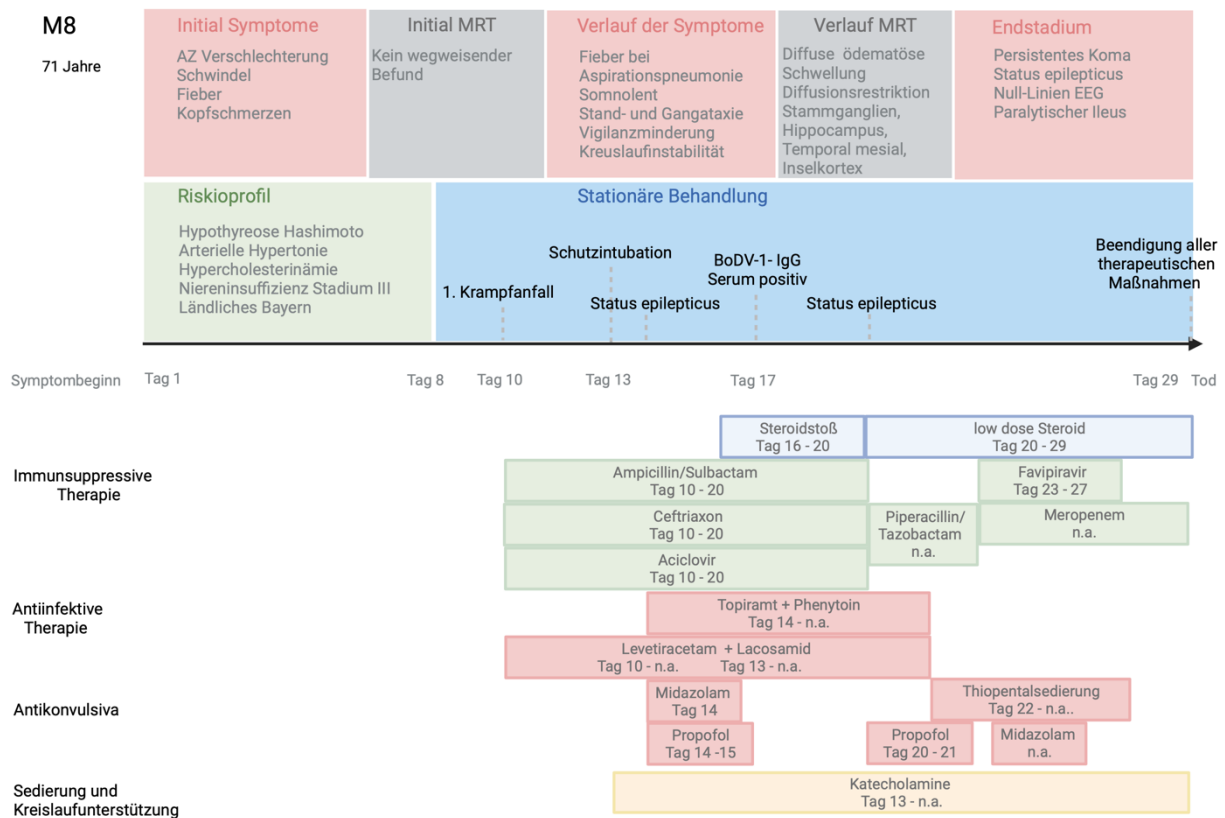
**Abbildung 15: Klinischer Verlauf M5**

M5 war ein 12-jähriger Junge, der in den Ferien auf einem Bauernhof in Südbayern ausgeholfen habe, wo er auch Kontakt zu Tieren, darunter Kühen, gehabt hatte. Er hatte keine Vorerkrankungen und war vollständig geimpft. Der Patient erhielt erst an Tag 20 nach Symptombeginn eine Immunsuppression durch einen Steroidstoß über 5 Tage. Im Rachenabstrich war der Patient zusätzlich Influenza A (H3N2)-positiv.



**Abbildung 16: Klinischer Verlauf M7**

M7 war eine 13-jährige Patientin, die keine Vorerkrankungen hatte und vollständig geimpft war. Sie erhielt einen frühzeitigen Steroidstoß ab Tag 13 und überlebte bis zum Tag 33 nach Symptombeginn. Im Liquor konnte HHV6B-DNA gefunden werden.



**Abbildung 17: Klinischer Verlauf M8**

M8 war eine 71-jährige Patientin, die unter einer Hashimoto-Thyreoiditis litt. Zudem war bei der Patientin eine arterielle Hypertonie, sowie eine Hypercholesterinämie und eine Niereninsuffizienz bekannt. Die Patientin erhielt erst spät einen Steroidstoß (Tag 16 nach Symptombeginn). Sie wurde kurz vor Ihrem Tod mit dem Virostatikum Favipiravir behandelt. Sie überlebte 29 Tage nach Symptombeginn.

#### 4.1.2. Verteilungsmuster von BoDV-1-positiven Zellen und Lymphozyten im ZNS

Zur Darstellung der Entzündungszellen wurde bei der immunhistochemischen Färbung der humanen Hirngewebe der Panlymphozytenmarker CD45 eingesetzt. Die Lymphozyten wurden absolut gezählt, das bedeutet Lymphozyten pMSS (Zählmethode siehe **Tab. 5**).

Zur Darstellung der Infektion von BoDV-1 am Nervengewebe wurde der Antikörper Bo18, der gegen das Nukleoprotein des Virus gerichtet ist (Haas et al., 1986), verwendet. Der Anteil BoDV-1-positiver Gliazellen und Neuronen an der Gesamtzellzahl wurde in Prozent berechnet, um die Hirnregionen aufzuzeigen, die am stärksten infiziert sind (Zählmethode siehe **Tab. 5**).

Betrachtet man zu Beginn die spartiale Verteilung der Lymphozyten in den unterschiedlichen Hirnregionen der acht humanen Fälle, sieht man, dass bei M2 und M3 der Hippocampus (6,6 und 16,2 Lymphozyten pMSS) und bei M3, M4 und M5 der Occipitalcortex (9,6/28,9/40 Lymphozyten pMSS) besonders entzündet waren. M1 und M6 zeigen den Entzündungsfokus auf dem Frontalcortex (71,7 und 44,4 Lymphozyten pMSS) und bei M7 und M8 liegt dieser auf dem Hirnstamm (im Mittel 25,5 und 34 Lymphozyten pMSS). Die restlichen Regionen erscheinen eher als ein diffuses Muster. Grafisch

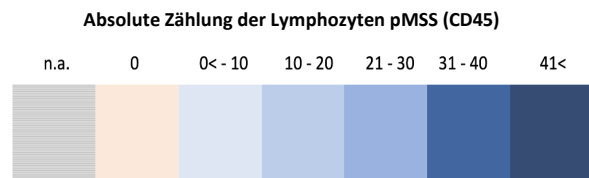
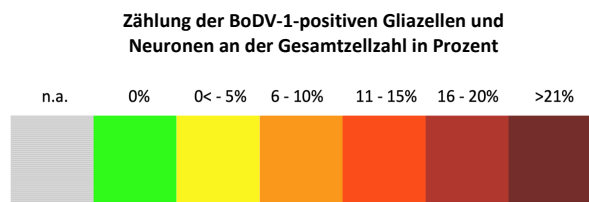
aufgearbeitet sind die unterschiedlichen lymphozytären Verteilungsmuster in den **Abbildungen 19 und 20** zu sehen.

Im Gegensatz dazu fällt bei der Betrachtung der BoDV-1-postiven Gliazellen und Neurone auf, dass bei den menschlichen Fällen dieser Studie eine massive Virusbeteiligung im Hirnstammes vorliegt. Wie in den **Abbildungen 19 und 20** ersichtlich, zeigt sich bei fast allen Menschen der Hirnstamm deutlich beteiligt. Einschränkend sind bei M3 und M7 diese Regionen teilweise nicht asserviert worden.

Betrachtet man nun die Regionen innerhalb des Hirnstammes genauer, fällt bei M1, M4 und M6 auf, dass umso caudaler die Region gelegen ist, desto stärker ist diese beteiligt. Vor allem die Medulla oblongata sticht besonders hervor. Diese Region ist bei M1, M4, M5, M6 und M8 die Region mit dem ausgeprägtesten BoDV-1-Nachweis. Bei M2, M4, M6 ist über 20% der Gesamtzellzahl (Median 24%) in der Medulla oblongata infiziert und damit deutlich betroffen. M7 hingegen zeigt die stärkste Beteiligung im Striatum.

Exemplarisch sei an dieser Stelle M2 genannt, mit dem am stärksten infizierten Gehirn (siehe **Abb. 19**). Dabei handelt es sich um die Patientin, die mit 40 Tagen nach Symptombeginn (ausgeschlossen der iatrogen nachgewiesene Infektionsweg bei M1) am längsten überlebt hat. Man erkennt eine starke Beteiligung des Hippocampus mit 37% und des Striatums mit 34% BoDV-1-positiver Zellen.

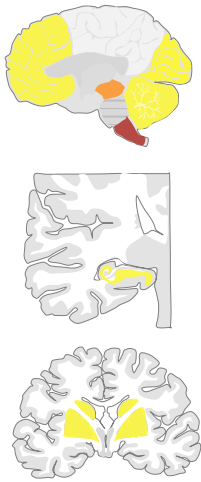
Auch eine starke Beteiligung des Hirnstammes (Medulla oblongata 23%, Pons 25%, Mesencephalon 21% an BoDV-1-infizierten Gliazellen und Neuronen gemessen an der Gesamtzellzahl) ist festzustellen. Die mintunter am geringsten infizierte Region ist bei M1, M2, M3, M4, M5 und M7 das Cerebellum. Der Mittelwert dieser 6 Patient:innen liegt bei 1,4%. Im Gegensatz dazu ist das Cerebellum bei M6 mit 11,5% und bei M8 mit 0,87% im Vergleich zu anderen Regionen dieser Menschen stärker beteiligt.



not analyzed	n.a.
0	-
0<-5%	+
6-10%	++
11-15%	+++
16-20%	++++
>21%	+++++

**Abbildung 18: Legende zu den Abbildungen 19 und 20**

### M1

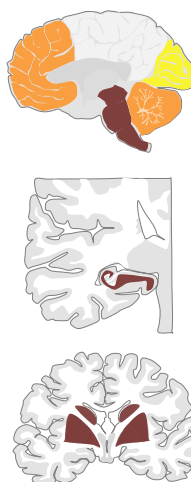


Frontal Cortex	+
Occipital Cortex	+
Striatum	+
Hippocampus	+
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	++
Pons	n.a.
Medulla Oblongata	+++
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.

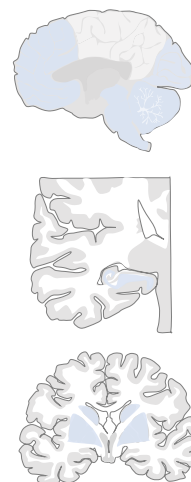


Frontal Cortex	+++++
Occipital Cortex	+++++
Striatum	+++++
Hippocampus	+++++
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	+++++
Pons	n.a.
Medulla Oblongata	++
Cerebellum	++
Stria Olfactoria	n.a.

### M2

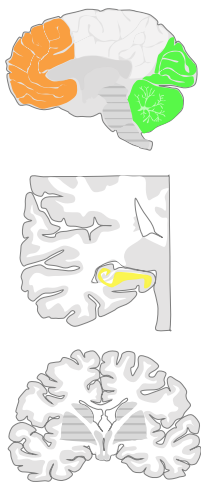


Frontal Cortex	++
Occipital Cortex	+
Striatum	+++++
Hippocampus	+++++
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	+++++
Pons	+++++
Medulla Oblongata	+++++
Cerebellum	++
Stria Olfactoria	n.a.

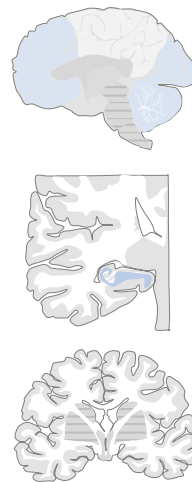


Frontal Cortex	+
Occipital Cortex	+
Striatum	+
Hippocampus	+
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	+
Pons	+
Medulla Oblongata	+
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.

### M3

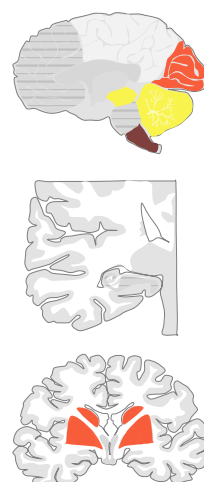


Frontal Cortex	++
Occipital Cortex	-
Striatum	n.a.
Hippocampus	+
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	n.a.
Pons	n.a.
Medulla Oblongata	n.a.
Cerebellum	-
Stria Olfactoria	n.a.

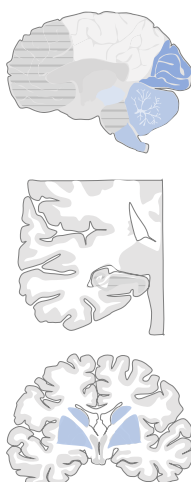


Frontal Cortex	+
Occipital Cortex	+
Striatum	n.a.
Hippocampus	++
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	n.a.
Pons	n.a.
Medulla Oblongata	n.a.
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.

### M4



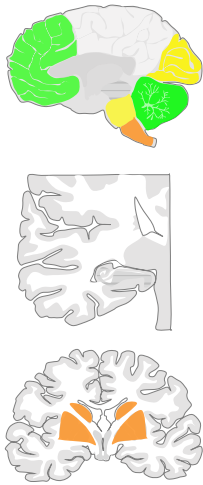
Frontal Cortex	n.a.
Occipital Cortex	+++
Striatum	+++
Hippocampus	n.a.
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	+
Pons	n.a.
Medulla Oblongata	+++++
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.



Frontal Cortex	n.a.
Occipital Cortex	+++
Striatum	++
Hippocampus	n.a.
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	+
Pons	n.a.
Medulla Oblongata	++
Cerebellum	++
Stria Olfactoria	n.a.

Abbildung 19: BoDV-1- und Lympozyten-Verteilung M1-M4

M5

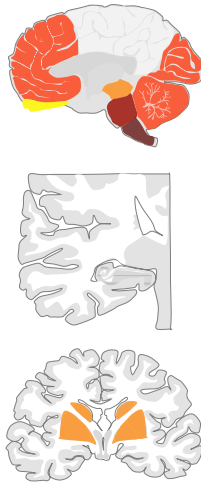


Frontal Cortex	-
Occipital Cortex	+
Striatum	++
Hippocampus	n.a.
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	n.a.
Pons	+
Medulla Oblongata	++
Cerebellum	-
Stria Olfactoria	n.a.



Frontal Cortex	+
Occipital Cortex	++++
Striatum	+++
Hippocampus	n.a.
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	n.a.
Pons	++
Medulla Oblongata	+++
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.

M6

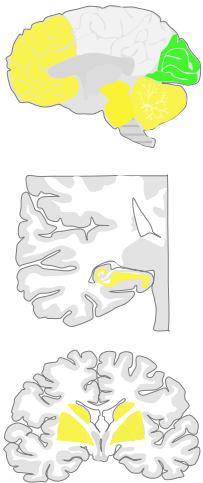


Frontal Cortex	+++
Occipital Cortex	+++
Striatum	++
Hippocampus	n.a.
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	++
Pons	++++
Medulla Oblongata	+++++
Cerebellum	+++
Stria Olfactoria	+



Frontal Cortex	+++++
Occipital Cortex	+
Striatum	-
Hippocampus	n.a.
Insula Cortex	n.a.
Mesencephalon	++
Pons	+
Medulla Oblongata	++
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	++

M7



Frontal Cortex	+
Occipital Cortex	-
Striatum	+
Hippocampus	+
Insula Cortex	-
Mesencephalon	+
Pons	+
Medulla Oblongata	n.a.
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.

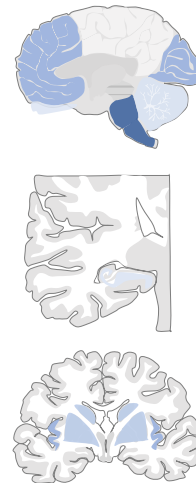


Frontal Cortex	+
Occipital Cortex	+
Striatum	++
Hippocampus	+
Insula Cortex	+
Mesencephalon	+++
Pons	+++
Medulla Oblongata	n.a.
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	n.a.

M8



Frontal Cortex	-
Occipital Cortex	-
Striatum	+
Hippocampus	+
Insula Cortex	+
Mesencephalon	n.a.
Pons	+
Medulla Oblongata	+
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	+



Frontal Cortex	+++
Occipital Cortex	+++
Striatum	++
Hippocampus	+
Insula Cortex	+++
Mesencephalon	n.a.
Pons	++++
Medulla Oblongata	+++++
Cerebellum	+
Stria Olfactoria	+

Abbildung 20: BoDV-1- und Lymphozyten-Verteilung M5-M8

Zusammenfassend sieht man bei den humanen Fällen bei der Entzündungsverteilung ein uneinheitliches Bild mit einem Fokus von jeweils zwei Fällen auf dem Frontalcortex (M1 und M6), dem Hippocampus (M2 und M3) und dem Hirnstamm (M7 und M8). Bei drei weiteren Fällen präsentiert sich die Entzündung auf dem Occipitalcortex (M3, M4 und M5).

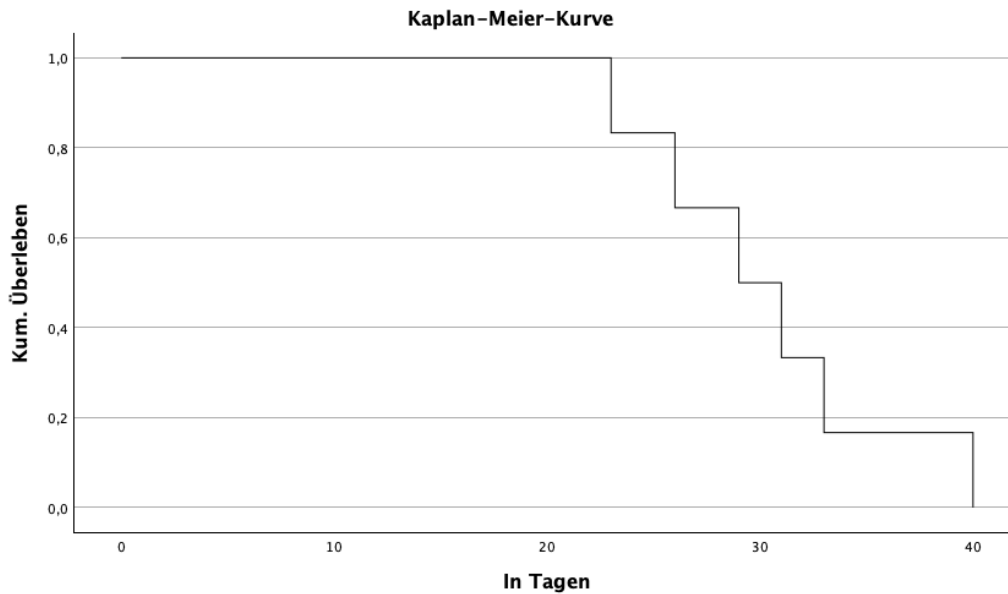
Der Fokus der BoDV-1-Virusverteilung liegt bei M4, M5, M7 und M8 auf der Medulla oblongata und den Basalganglien. Bei M2 zeigt sich die Verteilung besonders im Hippocampus, den Basalganglien und dem Hirnstamm. M1 und M6 zeigen eine diffuse Verteilung mit Beteiligung des Hirnstammes. Die Aussagekraft bei M3 ist mit vier vorhanden Regionen nur sehr eingeschränkt. Darüber hinaus lassen sich die humanen Fälle, bezogen auf den Mittelwert der insgesamt ausgezählten BoDV-1-positiven Zellen über alle Regionen in zwei Gruppen einteilen. M1, M3, M5, M7 und M8 zeigen im Schnitt über allen Regionen nur unter 5% infizierte Gliazellen und Neurone. Im Gegensatz dazu zeigen sich bei M2, M4 und M6 deutlich höhere Werte mit über 10% infizierter Gliazellen und Neurone. Bei M2 sind über allen Regionen hinweg im Mittel über 20% infizierte Gliazellen und Neuronen ausgezählt worden.

#### **4.1.3. Symptome und Überleben der Menschen**

Die humanen Fälle zeigten zu Beginn unspezifische grippeähnliche Symptome mit hohem Fieber. Die Symptome variierten individuell. Besonders häufig beklagten die Patient:innen Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Husten, Kopfschmerzen, Schwindel bis hin zum apathischen Verhalten und Verwirrtheit. Die zweite Phase, die geprägt ist von neurologischer Symptomatik, zeigte eine deutliche Vigilanzminderung, Orientierungsstörungen, Ataxien, Halluzinationen bis hin zu Krampfanfällen mit Einschränkung der Hirnstammfunktion (siehe **Abb. 11-17**). Im Mittel wurden die Patient:innen an Tag 9 (5 - 14) hospitalisiert. Die meisten Patient:innen entwickelten im Durchschnitt an Tag 12 (Range 6 - 20) den ersten Krampfanfall. An Tag 13 (Range 6 - 19) mussten die meisten Patient:innen schutzintubiert werden. Im Endstadium zeigte sich bei allen Patient:innen ein persistentes tiefes Koma mit elektroenzephalografischen Zeichen einer schweren Enzephalopathie, sowie teilweise Symptome eines erhöhten Hirndrucks. In einigen Fällen war in der finalen Phase die Erhöhung des Hirndrucks unkontrollierbar, sodass es zu einer tonsillären Herniation mit zentralem Regulationsversagen kam. Im Mittelwert sind die Patient:innen 30 Tage (Range 26 - 40; 95%KI [25.6, 35.1]) nach Symptombeginn verstorben. Im Median 29 Tage (95% KI [23.0, 35.0]; **Abb. 21**).

Diese Angaben beziehen sich auf M2, M3, M4, M5, M7, M8. M1 gehört zu dem iatrogen infizierten Transplantationscluster (Schlotta et al., 2018).





**Abbildung 21: Kaplan-Meier-Kurve**

Kaplan-Meier-Kurve von M1-M5, M7 und M8. Auf der x-Achse ist das Überleben in Tagen und auf der y-Achse das kumulative Überleben.

## 4.2. Untersuchung der Verteilung in Tieren

### 4.2.1. Verteilungsmuster der Lymphozyten im ZNS der Pferde, Schafe und Alpakas

Alle Tiere zeigen deutliche Entzündungsreaktionen und teilweise eine sehr hohe Anzahl an diffusen Lymphozyten in der immunhistochemischen Färbung für CD3 und CD20. Dabei ist die Expression von CD3 und damit T-Lymphozyten deutlich häufiger zu finden als die Expression von CD20 und damit der B-Lymphozyten. 9 der 11 Tiere wurden bei deutlicher Symptomausprägung euthanasiert. Ein Tier ist an der Erkrankung noch in der Klinik verstorben und die Todesursache eines weiteren Tieres ist nicht vollständig dokumentiert worden (siehe **Tab. 6**).

Die meisten absolut gezählten Lymphozyten wurden bei den vier Schafen (siehe **Abb. 23**), nachfolgend bei den zwei Alpakas und den fünf Pferden gefunden. Die Schafe zeigten vor allem in der Stria olfactoria im Mittel über 61 Lymphozyten pMSS und im Frontalcortex im Mittel über 56 Lymphozyten pMSS (siehe Zählmethode **Tab. 5**). Die am wenigsten beteiligten Regionen der Schafe sind der Pons und das Cerebellum.

Bei den Alpakas ist A2 im Gesamten eindeutig stärker entzündet als A1, ersichtlich in **Abb. 24**. Bei beiden Tieren sind jeweils Teile des Hirnstamms am deutlichsten entzündet. Dabei sind bei A1 der Pons mit > 43 Lymphozyten pMSS und bei A2 die Medulla oblongata mit > 66 Lymphozyten pMSS deutlich beteiligt. Auch bei den Alpakas erscheint wie bei den Schafen, das Cerebellum gering infiziert zu sein. Die Pferde zeigen im Hippocampus das stärkste Lymphozytenaufkommen, mit im Mittel > 45 Lymphozyten pMSS, gefolgt von den Basalganglien mit > 26 Lymphozyten pMSS (siehe **Abb. 22**). Die geringste Beteiligung zeigen der Pons und der Inselcortex mit jeweils < 11 Lymphozyten pMSS.

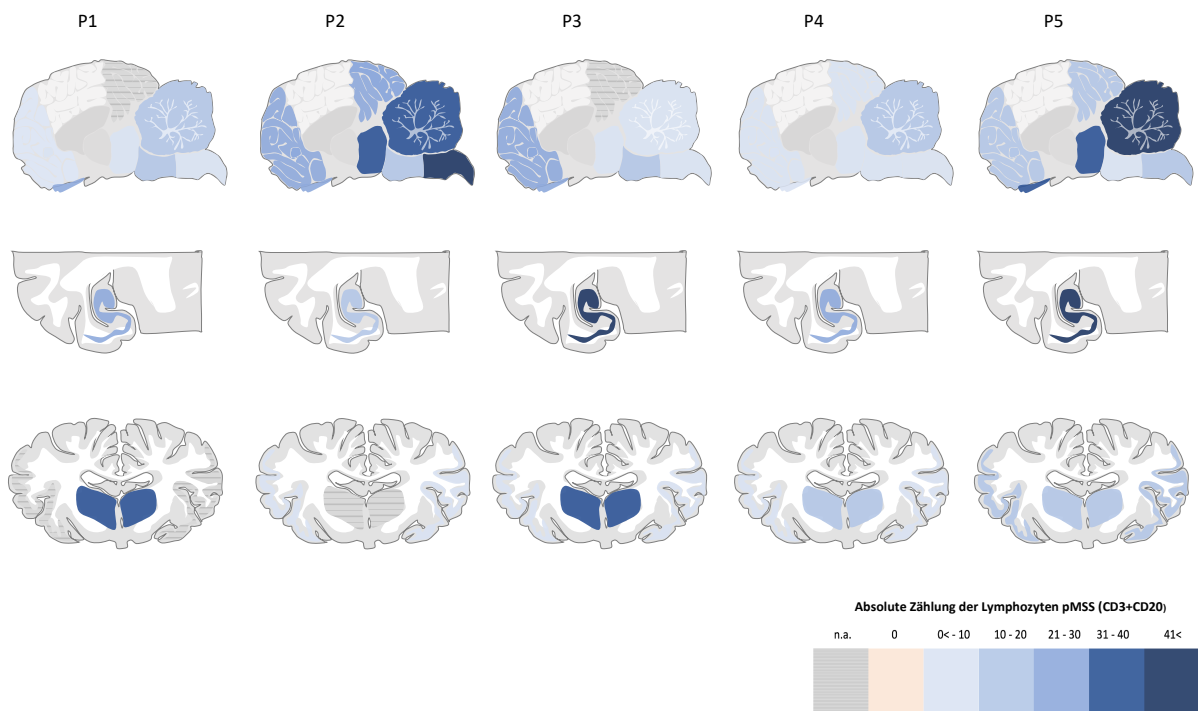


Abbildung 22: Lymphozytenverteilung P1-P5

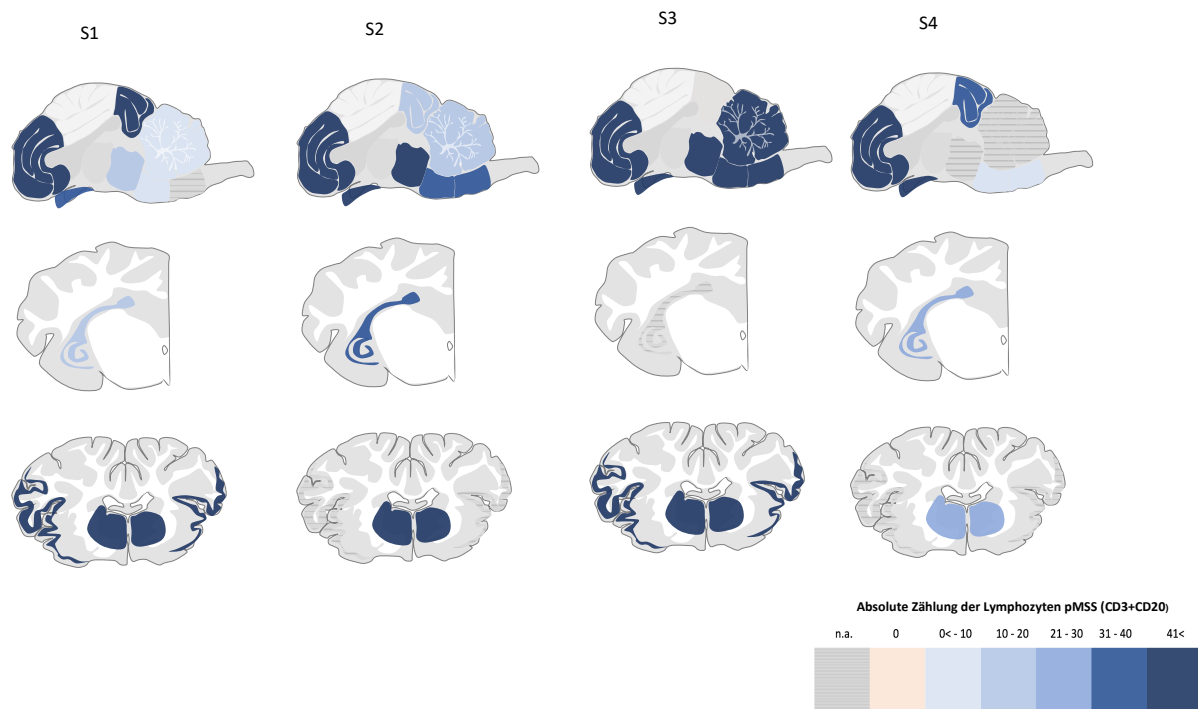
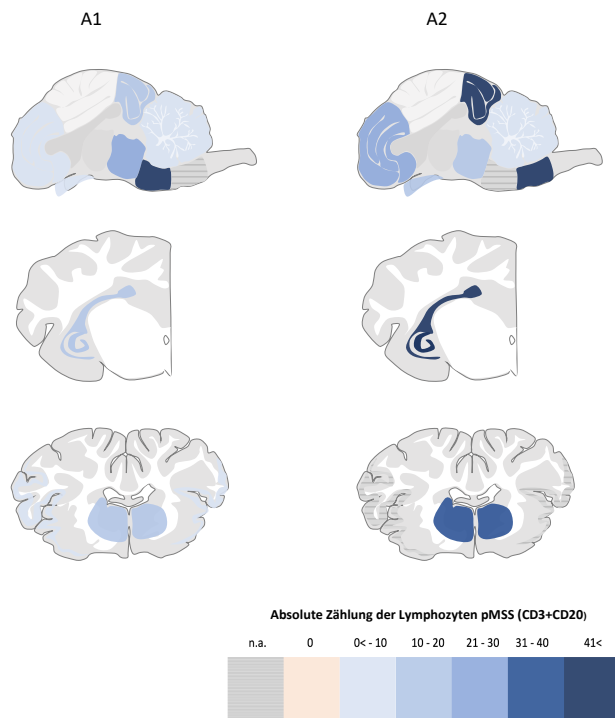


Abbildung 23: Lymphozytenverteilung S1-S4



**Abbildung 24: Lymphozytenverteilung A1 und A2**

Vergleichend lässt sich sagen, dass bei den Pferden der Hippocampus und die Basalganglien die stärksten entzündeten Regionen sind. Bei den Schafen sind die Stria olfactoria, der Frontalcortex und auch die Basalganglien betroffen. Eine allgemeine Aussage ist bei einem Kollektiv von nur zwei Alpakas nicht zu treffen, dennoch zeigt sich in beiden Fällen eine starke Beteiligung von Hirnstamm, Basalganglien und Hippocampus.

#### **4.2.2. Verteilung von BoDV-1-positiven Gliazellen und Neuronen im ZNS von Pferden, Schafen und Alpakas**

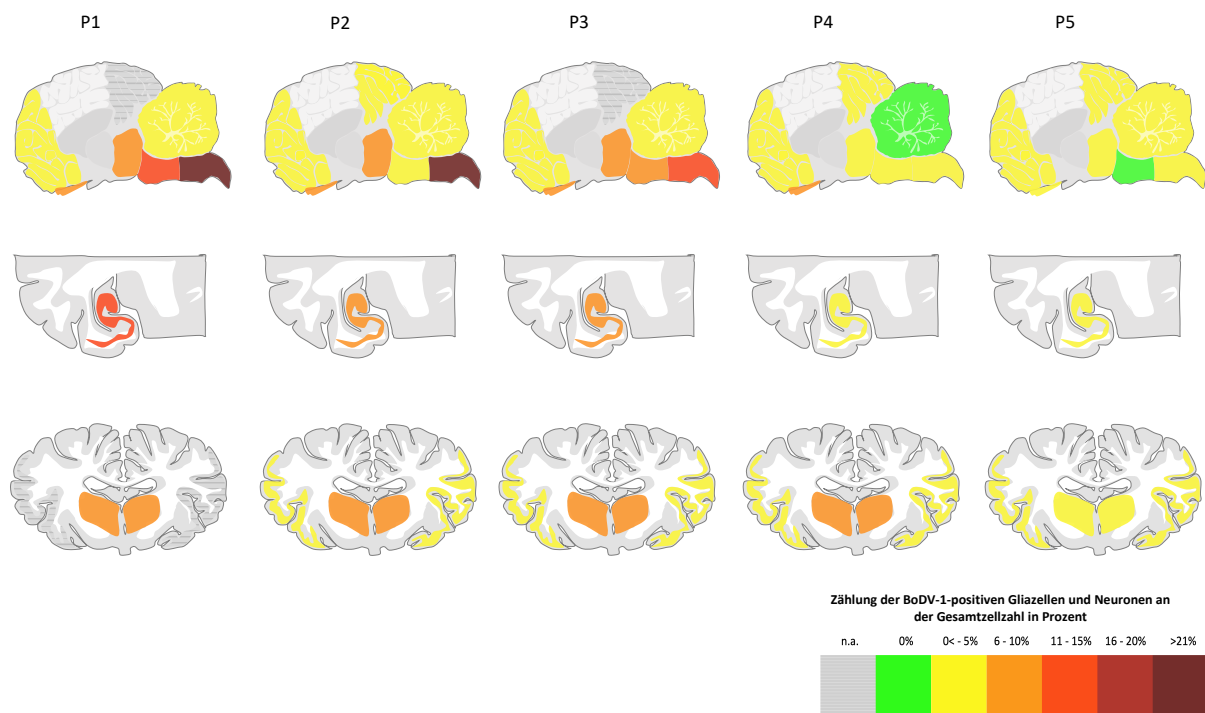
Die Tiere zeigen im Gesamten einen geringen Anteil an BoDV-1-positiver Gliazellen und Neuronen gemessen an der Gesamtzellzahl, mit Ausnahme von A1.

In den Alpakas sind dadurch die meisten infizierten Gliazellen und Neuronen zu finden, nachfolgend die Pferde und anschließend die Schafe (siehe **Abb. 25-27**). Die Stria olfactoria ist bei A1 mit > 18% an der Gesamtzellzahl stark infiziert (siehe Zahlmethode **Tab. 5**). Darauf folgen das Mesencephalon und der Pons mit > 16%. Die am geringsten mit BoDV-1 infizierte Region ist der Okzipitalcortex mit 2%. A2 weist nur im Hippocampus eine Infektion von 2% auf. Eine minimale Beteiligung der Gliazellen und Neurone ist mit 0,5% im Okzipitalcortex zu sehen.

Die Pferde zeigen mehr infizierte Gliazellen und Neuronen als die Schafe. Die im Mittelwert am stärksten infizierte Region bei den Pferden ist die Medulla oblongata mit > 12%. Dieser Region folgt

der Hippocampus, die Stria olfactoria und das Striatum mit > 6% (siehe **Abb. 25**). Die am geringsten infizierten Regionen sind das Cerebellum und der Occipitalcortex mit < 0,6%.

Bei den Schafen erkennt man im Mittelwert, dass ein Großteil der infizierten BoDV-1 Gliazellen und Neuronen im Frontalcortex mit > 5% vorkommen (siehe **Abb. 26**), gefolgt von Hippocampus, Medulla oblongata und Cerebellum mit < 4%. Die geringste Anzahl bildet das Striatum und das Cerebellum mit < 0,9%.



**Abbildung 25: BoDV-1 Verteilung P1-P5**

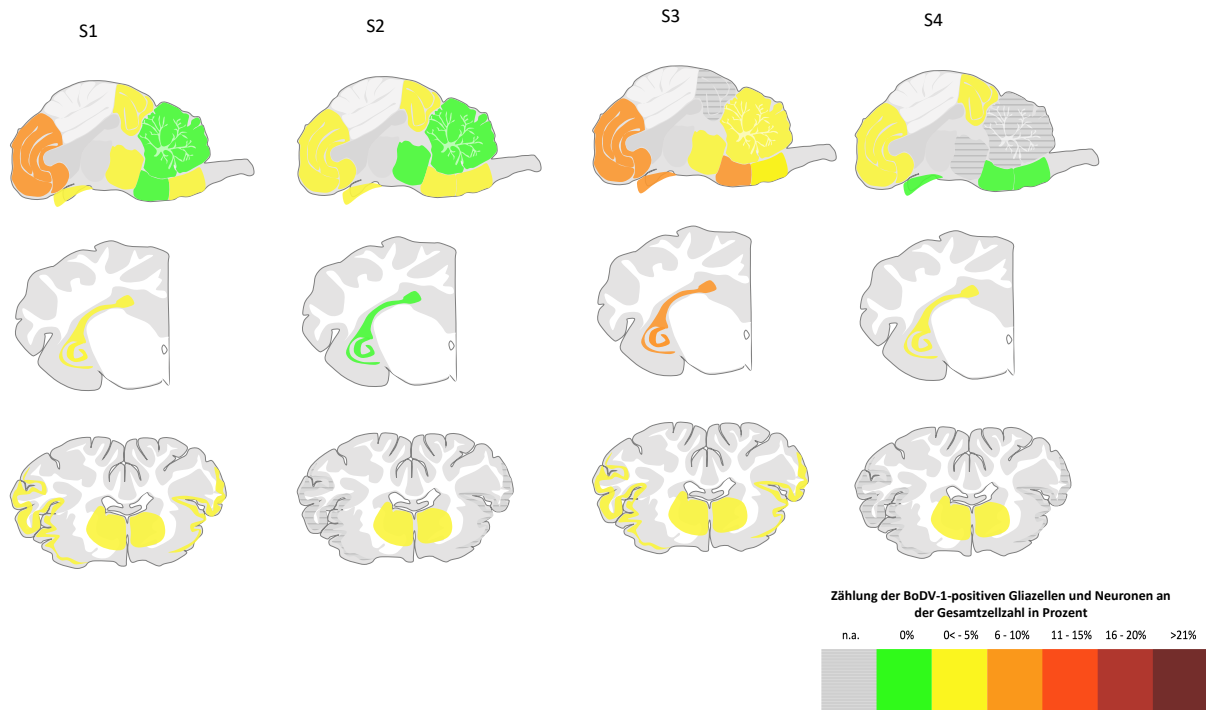


Abbildung 26: BoDV-1 Verteilung S1-S4

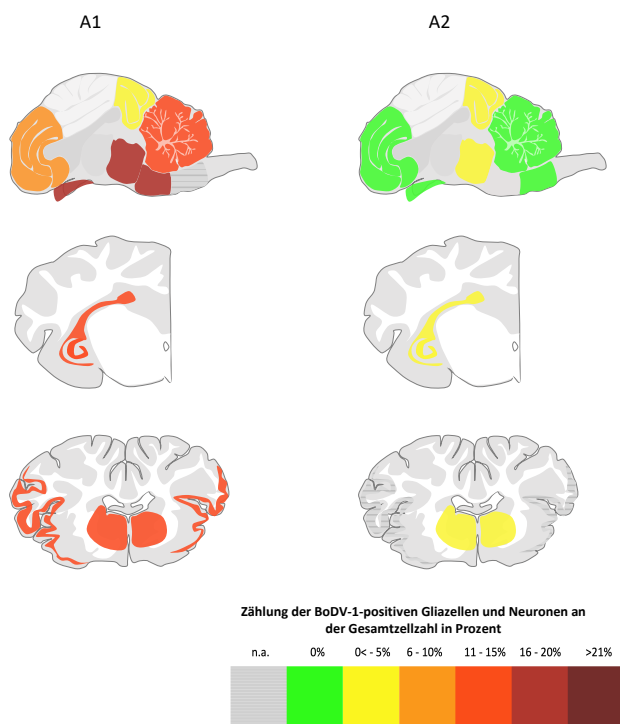


Abbildung 27: BoDV-1 Verteilung A1 und A2

Zusammenfassend zeigt sich bei den Pferden eine deutliche Beteiligung der BoDV-1-infizierten Gliazellen und Neuronen im Hirnstamm, Hippocampus und den Basalganglien. Cerebellum, Frontal-, Occipital- und Inselcortex sind dagegen eher ausgespart.

Bei den Schafen sieht man einen Fokus auf den Frontalcortex und Hippocampus. Die Basalganglien und das Cerebellum zeigen sich ausgespart. Die Alpakas lassen sich aufgrund des kleinen Kollektivs nicht verallgemeinern.

#### **4.2.3. Symptome der Tiere**

Die Tiere wurden nach Beginn der offensichtlichen neurologischen Krankheitszeichen symptomatisch behandelt. 9 der 11 Tiere wurden euthanasiert. Ein Tier starb aufgrund der Erkrankung und zu einem weiteren Tier gibt es keine Angaben.

Leider sind die Daten zum Krankheitsverlauf bei den Tieren nur unzureichend vorhanden, weshalb kein allgemeiner Konsens davon abgeleitet werden konnte. Folgende Daten sollen trotzdem einen Einblick in die Symptomatik der Bornaschen Krankheit bei Tieren geben (siehe **Tab. 6**).

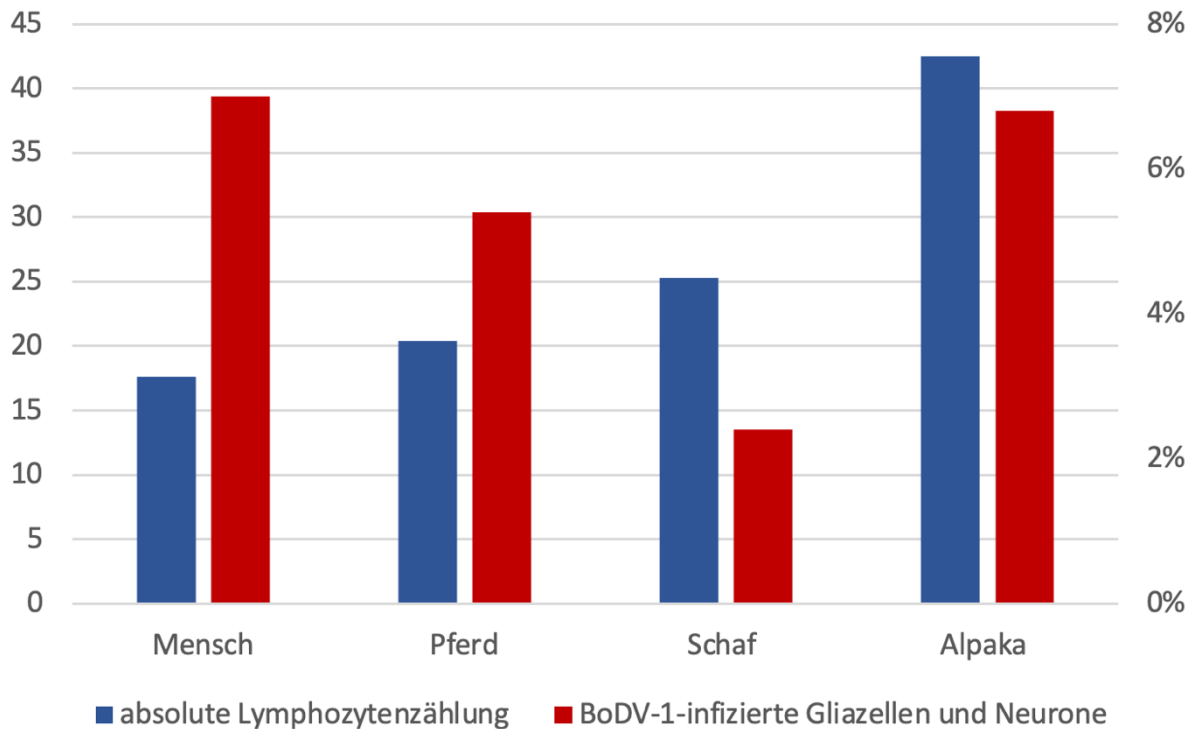
Fieber und Kreiswandern wurde bei P2 berichtet. Bei P3 stand die Ataxie und Verhaltensstörungen im Vordergrund. Zwei Wochen vor dem Tod wurde bei S2 zentralnervöse Symptome wie Vorwärtsdrängen, Kreislaufen und somnolente Phasen beobachtet. Eine Absonderung der Herde zeigte sich bei S4 eine Woche vor der Euthanasie. Zudem war das Schaf matt, apathisch und lief in der Stallbox im Kreis an der Wand entlang, stand zum Teil in einer Ecke, kaute phasenweise leer oder hatte Stroh im Maul stecken. Die Ohrabwehr war rechtsseitig verzögert und die Augenlider waren teilweise fest verschlossen. Bei Alpaka 1 (A1) waren ein fehlender Kot- und Harnabsatz, sowie Inappetenz mit einer steten Verschlechterung des Allgemeinzustandes auffällig. Im weiteren Verlauf lag das Alpaka in Seitenlage und verfiel in ein Koma. A2 wurde keuchend in Rückenlage aufgefunden und ist daraufhin in der Tierklinik verstorben. Diese und ähnliche Symptome wurden auch in der Literatur bei anderen Tieren, die an einer Bornavirus-Enzephalitis erkrankt sind, beschrieben (siehe **Tab. 6**). (Grabner and Fischer, 1991, Durrwald and Ludwig, 1997, Richt et al., 2000)

**Tabelle 6: Symptome der Tiere**

Tiere	Todesart	Symptome	Symptome in der Literatur
Pferd 1	Euthanasie	n.a.	Frühstadium Verhaltens-/Bewusstseinsstörungen, gestörte Nahrungsaufnahme, Fieber, rhythmisch wiederholende motorische Aktivitäten, Ängstlichkeit, Somnolenz, Stupor, Hypokinese, Dysphagie, Speichelfluss, Nystagmus, zwanghaftes Kreislaufen, Schiefhals, Krämpfe, Konvulsionen mit Kopfdrücken, Lähmung, komatöser Zustand (Grabner and Fischer, 1991, Durrwald and Ludwig, 1997, Richt et al., 2000)
Pferd 2	Euthanasie	Fieber, Kreiswandern	
Pferd 3	Euthanasie	n.a.	
Pferd 4	Euthanasie	Ataxie Hinterhand, Verhaltensstörung	
Pferd 5	Euthanasie	n.a.	
Schaf 1	Euthanasie	Vorwärtsdrängen, Somnolenz, Nystagmus	
Schaf 2	n.a.	Vorwärtsdrängen, Kreislaufen, somnolente Phasen	
Schaf 3	Euthanasie	Abmagerung, ZNS Störungen, Ataxie	
Schaf 4	Euthanasie	Apathie, matt, Absonderung von der Herde, Kreislaufen, kaut phasenweise leer, Ohrabwehr verzögert, Augenlider fest zusammengepresst, Lämmer saufen ungestört an der Mutter	
Alpaka 1	Euthanasie	Fehlender Kot- und Harnabsatz, V.a. Ileus, Zähneknirschen, Inappetenz, stete Verschlechterung, Seitenlage, Koma	
Alpaka 2	Natürlich	Frühs keuchend in Rückenlage, Exitus in der Klinik	

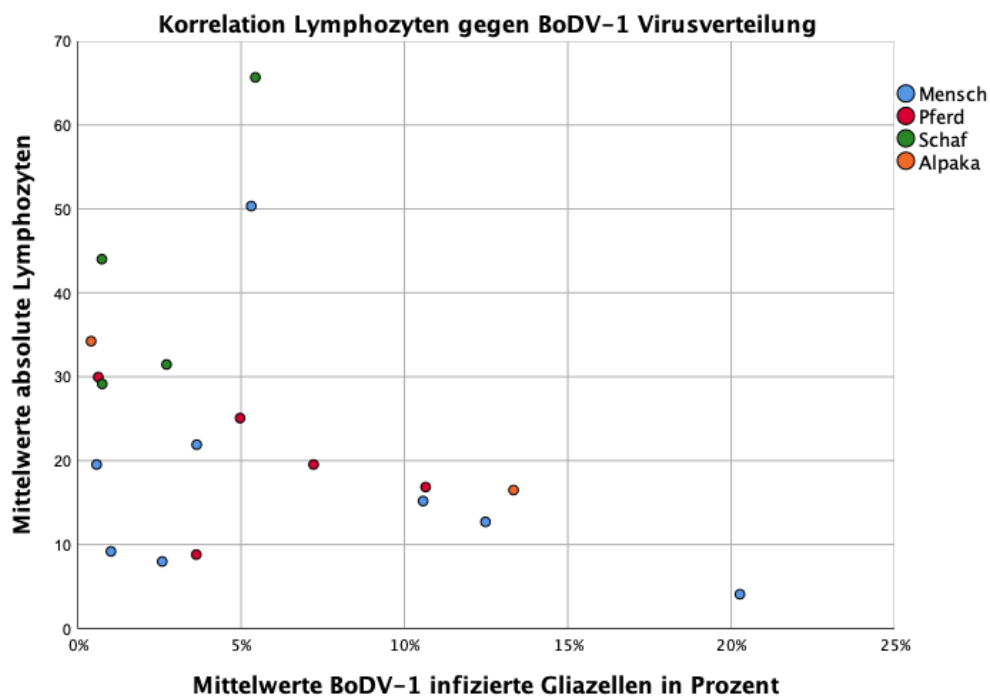
### 4.3. Vergleich des Verteilungsmusters zwischen Mensch und Tier

Vergleicht man die humanen mit den tierischen Präparaten, erkennt man in **Abbildung 28**, dass die Menschen über den Mittelwert aller Regionen mit 7% die meisten BoDV-1-infizierten Gliazellen und Neuronen, gemessen an der Gesamtzellzahl, aufweisen. Nachfolgend sind die Alpakas mit 6,8%, gefolgt von den Pferden mit 5,4% und den Schafen mit 2,4%. Bei den Lymphozyten ist ein umgekehrter Trend zu erkennen. Die absolute Zählung der Lymphozyten ergibt bei den Schafen einen sehr hohen Wert von 42,5 Lymphozyten pMSS im Schnitt über allen Regionen, gefolgt von den Alpakas mit 25,3 Lymphozyten pMSS, den Pferden mit 20,4 Lymphozyten pMSS und den Menschen mit 17,6 Lymphozyten pMSS. Insgesamt stellt man fest, dass bei hohen Lymphozytenzahlen geringe Werte an BoDV-1 infizierten Gliazellen und Neuronen vorkommen. Genau umgedreht ist es bei niedrigen Lymphozytenzahlen, bei denen wiederum hohe Zahlen an BoDV-1-infizierten Gliazellen und Neuronen zu finden sind. Statistisch lässt sich eine negative Korrelation mit mittlerer Stärke berechnen ( $p=0,104$ ) (siehe **Abb. 29** und **Tab. 7**). Eine Ausnahme bildet A1 mit einer hohen Lymphozytenzahl und einer gleichzeitig hohen Anzahl an infizierte BoDV-1-positiven Zellen.



**Abbildung 28: Vergleich der Lymphozyten mit den BoDV-1-infizierten Zellen**

In dieser Abbildung wurden die Mittelwerte, sowohl der absoluten Lymphozytenzählungen als auch der BoDV-1-postiven Gliazellen und Neurone aus den 10 Hirnregionen eines Falls gebildet. Im Anschluss wurde der Mittelwert aus allen Fällen einer Spezies ermittelt.



**Abbildung 29: Korrelation der Lymphozyten gegen die BoDV-1 Virusverteilung**

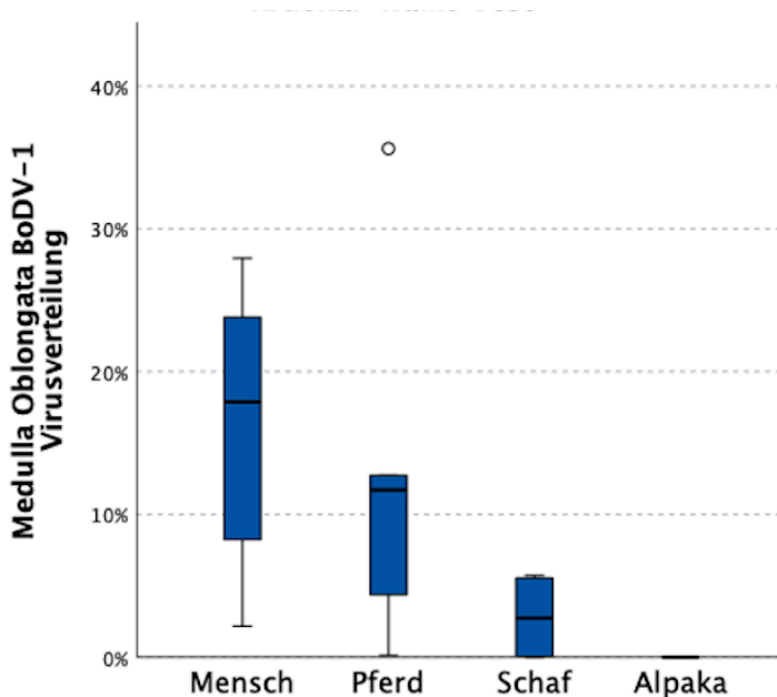
Diese Abbildung zeigt die Korrelation zwischen den Mittelwerten absoluter Lymphozytenzahlen (y-Achse) gegen die Mittelwerte BoDV-1-infizierter Gliazellen und Neurone in Prozent (x-Achse).



**Tabelle 7: Korrelation nach Spearman's rho**

Korrelationsanalyse			Mittelwerte BoDV-1 Virusverteilung	Mittelwerte Lymphozyten
<b>Spearman's rho</b>	Mittelwerte BoDV-1	Correlation Coefficient	1,000	-,384
	Virusverteilung	Sig. (2-tailed)	.	,104
		N	19	19
	Mittelwerte Lymphozyten	Correlation Coefficient	-,384	1,000
	Virusverteilung	Sig. (2-tailed)	,104	.
		N	19	19

In den humanen und equinen Präparaten zeigten sich die Gliazellen und Neuronen der Medulla oblongata besonders stark mit BoDV-1 infiziert. Deshalb wurde mit dem Kruskal-Wallis Test berechnet (siehe **Abb. 30** und **Tab. 8**), ob die unterschiedlichen Gruppen der Studie (Menschen, Pferde, Schafe, Alpakas) einen Einfluss auf die BoDV-1 Virusverteilung der Gliazellen und Neuronen dieser Region haben. Dabei hat der Kruskal-Wallis Test ergeben, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,079$ ) gibt. Dennoch ist dieser Wert nahe dem statistisch signifikanten Wert von  $p=0,05$  und sollte deshalb bei einer größeren Anzahl  $n$  erneut getestet werden.



**Abbildung 30: BoDV-1 Verteilung in der Medulla oblongata**

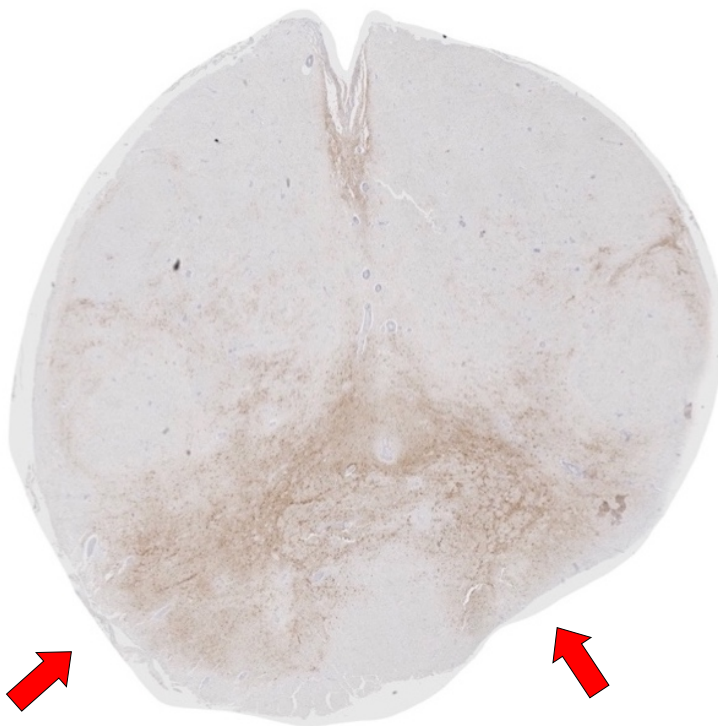
Die Abbildung zeigt die Verteilung der unterschiedlichen Gruppen Mensch, Pferd, Schaf und Alpaka (x-Achse) mit den BoDV-1-infizierten Gliazellen und Neurone der Medulla Oblongata auf der y-Achse.

**Tabelle 8: Kruskal-Wallis Test zur Virusverteilung in der Medulla oblongata**

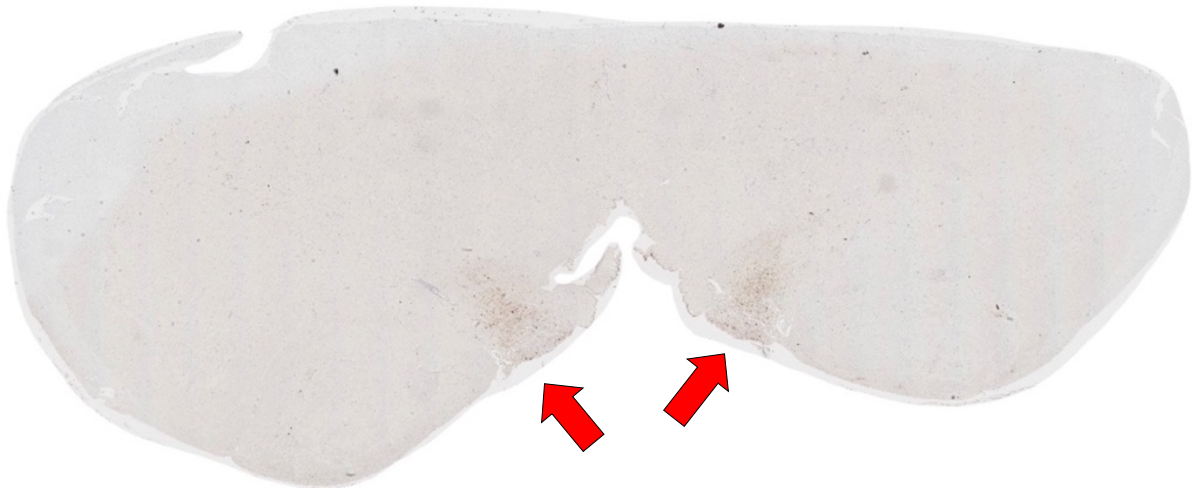
**Kruskal-Wallis Test Medulla oblongata  
BoDV-1-Virusverteilung**

Total N	16
Test Statistic	6,794
Degree of Freedom	3
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,079

Bei der Untersuchung des Gewebes ist bei M5 und P2 im Horizontalschnitt aus der Medulla oblongata und am Übergang der Medulla oblongata zum Rückenmark (RM), erkennt man durch die roten Pfeile gekennzeichnete bräunliche, strukturelle Färbung der Nuclei tractus solitarii auf beiden Seiten (siehe **Abb. 31 und 32**). Die bräunlichen Färbungen zeigen BoDV-1-infizierte Gliazellen und Neuronen. Diese Auffälligkeit sollte in Bezug auf mögliche Eintrittspforten diskutiert werden.



**Abbildung 31: Übergang Medulla oblongata ins Rückenmark M5**  
Horizontalschnitt der Medulla Oblongata BoDV-1-Immunhistochemie bei M5. Rote Pfeile zeigen auf die Nuclei tractus solitarii.

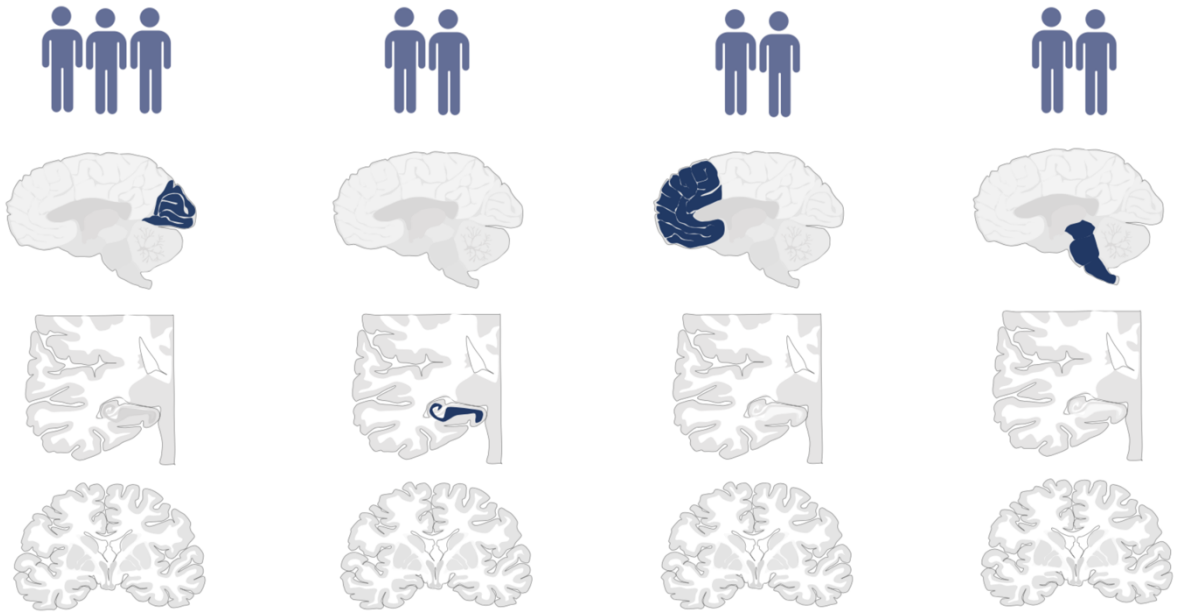


**Abbildung 32: Medulla oblongata P2**

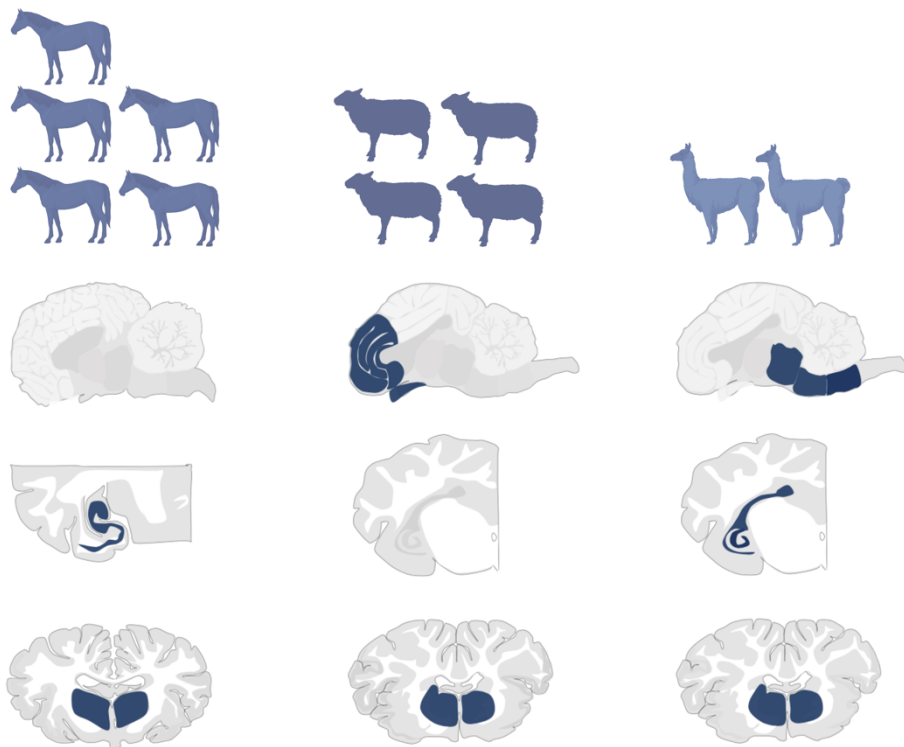
Horizontalschnitte der Medulla Oblongata BoDV-1 Immunhistochemie bei P2. Rote Pfeile zeigen auf die Nuclei tractus solitarii.

Betrachtet man jetzt das Verteilungsmuster zwischen den Spezies sieht man, dass es sowohl Gemeinsamkeiten als auch Unterschiede gibt. Die humanen Fälle weisen im Gegensatz zu den Tieren bei der Lymphozytenverteilung, als auch bei der BoDV-1 Virusverteilungen ein uneinheitliches Bild auf.

Der Fokus der Lymphozytenverteilung präsentiert sich bei drei humanen Fällen (M3, M4, M5) auf dem Occipitalcortex, bei zwei Fällen (M1 und M6) auf dem Frontalcortex, bei zwei Fällen (M2, M3) auf dem Hippocampus und bei zwei weiteren (M7, M8) wiederum auf dem Hirnstamm (siehe **Abb. 33**). Die fünf Pferde bilden einen eher einheitlichen Fokus der Entzündung auf ebenfalls dem Hippocampus und zusätzlich noch teilweise auf den Basalganglien. Schafe zeigen vor allem eine Häufung der Lymphozyten im Frontalcortex, in den Basalganglien und in der Stria olfactoria (siehe **Abb. 35**). Somit gibt es Gemeinsamkeiten, sowohl zwischen den humanen Fällen als auch zu den Pferden. Bei den Alpakas ist es aufgrund von nur zwei Fällen schwierig eine einheitliche Aussage zu treffen. Dennoch erkennt man bei den beiden Fällen eine ähnliche Konfiguration im Hirnstamm, Basalganglien und im Hippocampus.

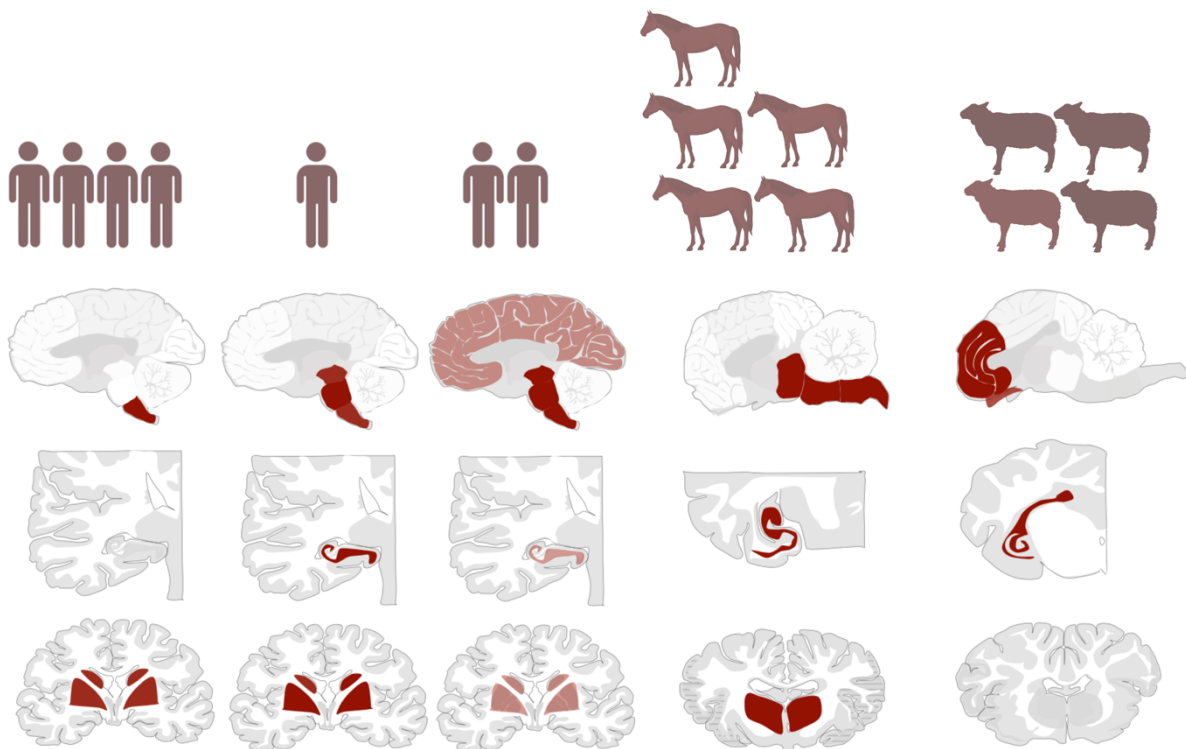


**Abbildung 33: Übersicht der Lymphozytenverteilung im ZNS der humanen Fälle**  
 (Grafik erstellt durch BioRender.com)



**Abbildung 34: Übersicht der Lymphozytenverteilung im ZNS der Tiere**  
 (Grafik erstellt durch BioRender.com)

Die Verteilung der BoDV-1-positiven Gliazellen und Neurone zeigt bei den vier humanen Fällen (M4, M5, M7, M8) einen Infektionsherd auf der Medulla oblongata und den Basalganglien, bei M1 und M6 auf dem Hirnstamm und in einem eher diffusen Bild. Bei dem Fall M2 präsentiert sich die Infektion auf dem Hippocampus, den Basalganglien und dem Hirnstamm. Dasselbe Ausbreitungsmuster wie bei M2 ist auch bei den Pferden zu finden. Wobei ein starker Fokus bei P1, P2 und bei P3 auf der Medulla oblongata liegt. Bei den Schafen sieht man die Virusverteilung im Frontalcortex und bei zwei Schafen S3 und S4 ebenfalls im Hippocampus. Die Fallzahl mit zwei Fällen bei den Alpakas ist zu klein und die beiden Alpakas sind in der Verteilung der BoDV-1-positiven Gliazellen und Neurone zu unterschiedlich, um einen Schluss daraus ziehen zu können. Eine Übersicht der BoDV-1 Virusverteilung der humanen Fälle und der tierischen Fälle ist in **Abbildung 35** zu sehen.



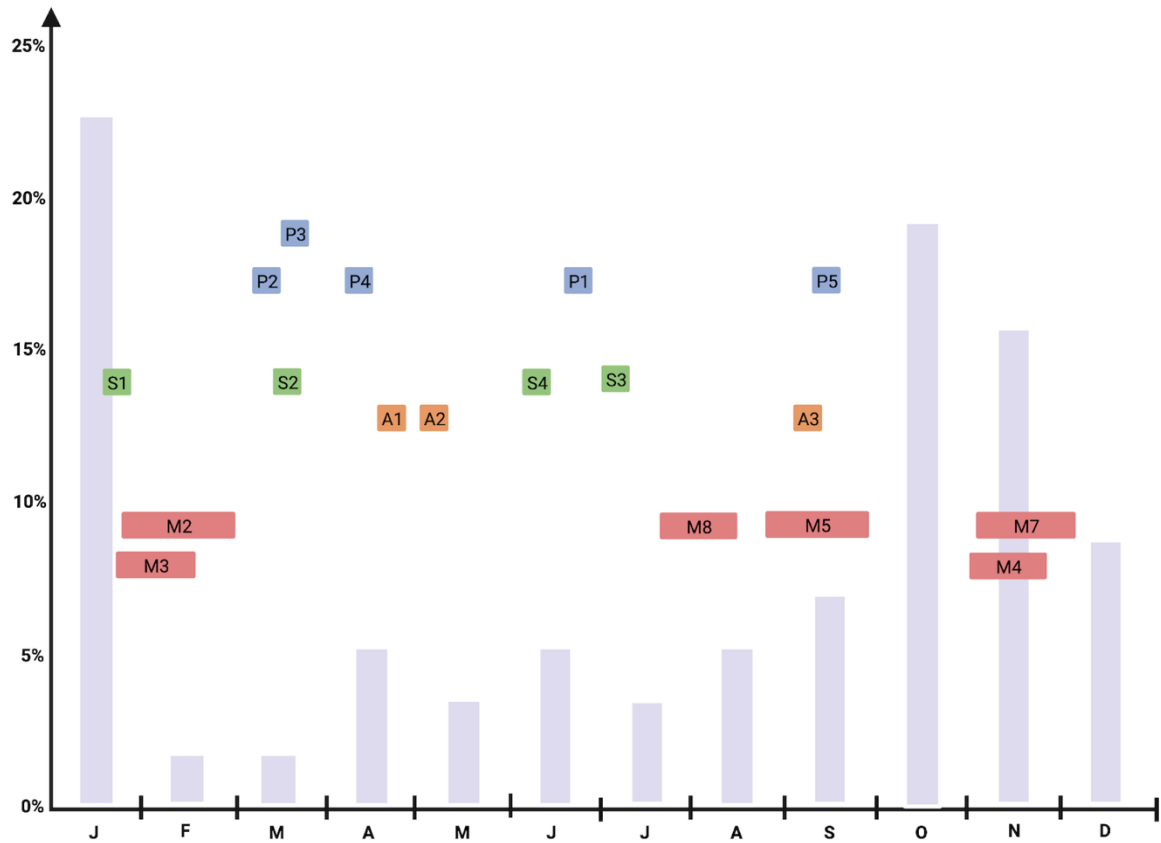
**Abbildung 35: Übersicht der BoDV-1 Virusverteilung im ZNS**  
(Grafik erstellt durch BioRender.com)

#### 4.4. Saisonalität der Bornavirus-Enzephalitis

In der Studie von *Durrwald et al.* wurde gezeigt, dass die Inzidenz der Bornavirus-Enzephalitis Inzidenz bei Tieren abhängig ist von der Populationsdynamik der zweifarbigen Weißzahnspeizmaus *Crocidura leucodon* (siehe **Abb.1**), welche wiederum jährlich variiert und stark vom Nahrungsangebot abhängt (Durrwald et al., 2014). Die moderne Landwirtschaft und die dadurch resultierende Einschränkung der Lebensräume tragen aller Wahrscheinlichkeit nach dazu bei, dass sich die Population verändert. In der

Studie wurden zwischen 2005 und 2010 50 zweifarbige Weißzahnspeitzmäuse, die zufällig gefunden oder gefangen wurden, gesammelt. Dabei zeigte sich eine Häufung der gefangenen Mäuse zwischen Herbst und frühem Winter. Das deutet auf einen verstärkten Kontakt der Speitzmäuse mit menschlichen Siedlungen und Ställen hin. Zu Beginn scheint es kontrovers, dass sich die meisten Fälle der Bornavirus-Enzephalitis bei Pferden und Schafe vermehrt im Mai/Juni mit einem Tiefpunkt zwischen September bis November zeigen (Kolodziejek et al., 2005). Die Daten aus unterschiedlichen Studien bei Tieren deuten jedoch darauf hin, dass die Inkubationszeit zwischen 2-5 Monaten bei Tieren liegen könnte (Jacobsen et al., 2010, Priestnall et al., 2011).

Die **Abbildung 33**, die aus der Publikation von *Durrwald et al.* Figure 2 entnommen wurde und durch das Patient:innen- und Tierkollektiv dieser Studie ergänzt wurde, zeigt unter den Tieren eine Häufung zwischen Anfang März und Anfang Juli (Durrwald et al., 2014). Der beschriebene Tiefpunkt zwischen September und November, präsentiert sich unter den untersuchten Fällen von Ende September bis Mitte Januar. Die meisten Fälle humaner Bornavirus-Enzephalitiden dieser Studie traten zwischen Ende Oktober und Ende Januar auf, während oder kurz nach der Zeit, in der auch die meisten Mäuse in menschlichen Siedlungsräumen gefangen wurden (Durrwald et al., 2014). Dies trifft auf M7, M4, M2 und M3 zu. M8 und M5 erkrankten vor dieser Zeit, zwischen Ende Juli und September. M1 wurde aus dieser Abbildung ausgeschlossen, da dieser Fall eindeutig nachgewiesen iatrogenen Ursprungs ist und sich aufgrund dieser besonderen Umstände eine Saisonalität nicht direkt ableiten lässt (Schlotta et al., 2018).



**Abbildung 36: Saisonalität von BoDV-1**

Relative Fanghäufigkeit (%; Y-Achse) der gesammelten zweifarbigigen Weißzahnschnecken zwischen 2005-2010, dargestellt in den Monaten von Januar - Dezember (X-Achse). Gesamtanzahl 57 (von einer Maus war der zeitliche Fund nicht genau dokumentiert). Die Grafik wurde durch M2, M3, M4, M5, M7, M9, P1, P2, P3, P4, S1, S2, S3, S4, A1, A2, A3 und A4 ergänzt. *Abbildung adaptiert nach (Durrwald et al., 2014) und erstellt durch BioRender.com.*

## 5. Diskussion

Die erst kürzlich beim Menschen entdeckte Bornavirus-Enzephalitis ist eine verheerende lymphozytäre, sklerosierende Panenzephalitis, die in den meisten Fällen tödlich endet (Liesche et al., 2019, Böhmer et al., 2022). Weder die Eintrittspforte, noch die Inkubationszeit sind bisher bekannt (Böhmer et al., 2022). Therapeutisch steht neben der Immunsuppression allein ein individuell experimenteller Therapieversuch mit Favipiravir und Ribavirin zu Verfügung (Stitz et al., 2002, Tokunaga et al., 2017, Böhmer et al., 2022). Erste Studien konnten charakteristische Bildgebungsanomalien im MRT zeigen und kennzeichnende neuropathologische Befunde vorweisen (Liesche et al., 2019, Finck et al., 2020, Liesche-Starnecker et al., 2022). In Anbetracht der bereits lange bestehenden Bekanntheit bei Tieren, wie Pferden, Schafen und Alpakas, ist es von besonderem Interesse, einen detaillierten Vergleich der neuropathologischen Veränderungen in Tieren und Menschen aufzustellen. Darüber hinaus ist ein klinisch-neuropathologisches Korrelat wichtig, um Hinweise für zukünftige therapeutische Empfehlungen zu eruieren.

### 5.1. Einfluss der Immunsuppression auf das Lymphozytenausmaß

Neuropathologisch findet man bei der Bornavirus-Enzephalitis typischerweise diffuse parenchymatöse lymphozytäre Infiltrate und Ausbildung von Mikrogliaknötchen (Liesche et al., 2019). Die Zytotoxizität der Bornavirus-Infektion wird durch BoDV-1-spezifische CD8-positive T-Lymphozyten vermittelt (Stitz et al., 1991, Hausmann et al., 1999, Chevalier et al., 2011). Es konnte im experimentellen Nagermodell gezeigt werden, dass eine frühzeitige Suppression oder Depletion von T-Lymphozyten die Immunpathologie erfolgreich verhindern kann (Stitz et al., 1992, Noske et al., 1998, Hallensleben et al., 1998). Die 74-jährige Patientin (M1), die Teil des Clusters von drei Organempfängern ist, zeigte durch die immunsuppressive Therapie mitunter das längste Überleben (Schlottau et al., 2018). Auch in der vorliegenden Studie konnten bei drei Patient:innen M2, M3 und M7 durch eine frühzeitige, an Tag 13 nach Symptombeginn verabreichte immunsuppressive Therapie im neuropathologischen Korrelat Unterschiede festgestellt werden. Die immunsuppressive Therapie wurde bei den Patient:innen aufgrund des Verdachts einer Autoimmunenzephalitis gestartet. Dabei wurde bei den meisten Patient:innen jeweils über 5 Tage Methylprednisolon hochdosiert verabreicht. Betrachtet man die Lymphozytenauswertung der drei Patient:innen, sieht man über allen Regionen einen deutlich geringeren Anteil, als bei den Patient:innen, die keine (M4) oder eine sehr späte immunsuppressive Therapie (M5) oder eine unzureichende Dosierung (M8) erhielten. M5 erhielt erst 20 Tage nach Symptombeginn einen Steroidstoß und damit 7 Tage später als M2, M3 und M7. Klinisch wurde nur bei M7 nach dem Steroidstoß eine leichte Symptomverbesserung beschrieben. In einer erst kürzlich veröffentlichten Publikation konnte bei einem 6-jährigen Patienten gezeigt werden, dass eine



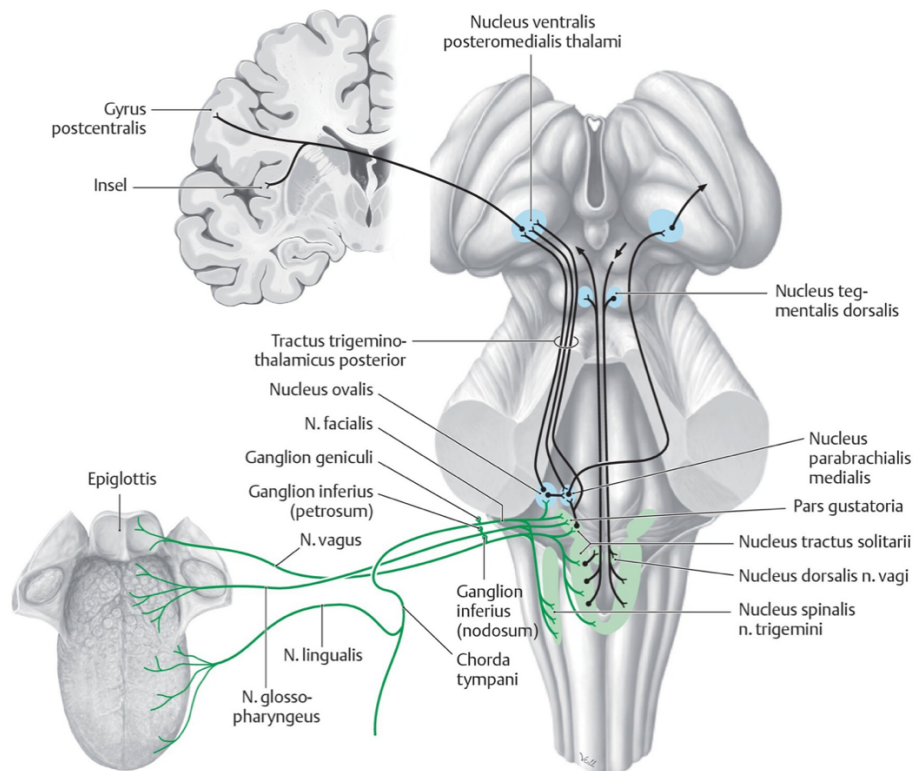
frühzeitige, in diesem Fall an Tag 7 nach Symptombeginn, begonnene starke immunsuppressive und virostatische Therapie, übergangsweise zu einer deutlichen klinischen Verbesserung führen konnte (Grosse et al., 2023).

Sowohl die klinischen als auch neuropathologischen Erkenntnisse dieser Studie und die vorbeschriebenen Befunde scheinen, wie in experimentellen Nagermodellen von *Noske et al.*, *Stitz et al.* und *Hallensleben et al.*, darauf hinzuweisen, dass eine frühzeitige immunsuppressive Therapie die Symptomatik verbessern und das Überleben beeinflussen könnte (Stitz et al., 1992, Noske et al., 1998, Hallensleben et al., 1998).

## 5.2. Hypothese zur Eintrittspforte

Bei den BoDV-1-positiven Gliazellen und Neuronen fiel bei den humanen Präparaten eine besonders starke und in dieser Form bisher nicht beschriebene Beteiligung des Hirnstamms auf (Liesche et al., 2019, Finck et al., 2020). Besonders die Region der Medulla oblongata war bei M1, M3, M4, M5, M7, M8, P1, P2, P3 am stärksten infiziert. Bei M3 und M7 fehlte teilweise der Hirnstamm. Die Resultate dieser Untersuchung legen die Frage nahe, ob nicht zusätzlich zu der Theorie der intranasalen Übertragung von *Gosztonyi, Kupke et al.*, *Ludwig* und *Grosse* weitere Eintrittspforten in das ZNS zu diskutieren sind (Gosztonyi, 2008, Ludwig, 2008, Kupke et al., 2019, Grosse et al., 2023).

Betrachtet man **die Abbildungen 31 und 32**, Horizontalschnitte aus der Medulla oblongata und den Übergang der Medulla oblongata zum Rückenmark (RM), erkennt man durch die roten Pfeile gekennzeichnete bräunliche, strukturelle Färbung der Nuclei tractus solitarii auf beiden Seiten. Diese Beobachtung gibt Anlass zur Vermutung, dass die Geschmacksbahn, die über den Nucleus tractus solitarius verschaltet ist, eine weitere Eintrittspforte von BoDV-1 sein könnte. Die afferenten Fasern der Geschmacksbahn werden über drei Hirnnerven (N. facialis, N. glossopharyngeus und N. vagus) weitergeleitet (siehe **Abb. 37**). Dabei werden die afferenten Fasern der vorderen zwei Drittel der Zunge über den N. lingualis an die Chorda tympani und dann im Ganglion geniculi des N. facialis weitergegeben. (Benninghoff and Drenckhahn, 2014, Schünke et al., 2015, Trepel, 2017)



**Abbildung 37: Verschaltung der Geschmacksbahn**

Afferente Geschmacksbahnen, die in den Hirnnerven VII (N. facialis), IX (N. glosso-pharyngeus), X (N. vagus) verlaufen. *Abbildung aus (Schünke et al., 2015).*

Die afferenten Fasern der hinteren Drittel der Zunge werden über das Ganglion inferius (Ganglion petrosus) des N. glosso-pharyngeus geleitet. Die afferenten Fasern der Epiglottis werden für den N. vagus im Ganglion inferius (Ganglion nodosum) übermittelt. Diese zentralen Anteile der drei Hirnnerven leiten die Geschmacksinformation zur Pars gustatoria der Nuclei tractus solitarii und bilden damit das 1. afferente Neuron der Geschmacksbahn. In der Pars gustatoria des Nuclei tractus solitarii findet dann die Umschaltung auf das 2. Neuron statt. Diese Axone laufen dann ipsi- und kontralateral im Tractus trigeminothalamicus zum Nucleus ventralis posteromedialis (VPM) des Thalamus. Die Verschaltung des 3. Neuron ist im VPM, der wiederum auf den primären gustatorischen Cortex projiziert. Dieser ist im Operculum frontale des Gyrus frontalis inferior, sowie in der anterioren Insula lokalisiert. Teile des primären gustatorischen Cortex ziehen zu sekundären Bereichen im orbitofrontalen Cortex und verbinden damit den Geschmackssinn mit dem Geruchsinn. (Benninghoff and Drenckhahn, 2014, Schünke et al., 2015, Trepel, 2017) Zu diskutieren hierbei wäre eine mögliche Ausbreitung des Virus nach dem hypothetischen Eintritt über den Mundraum ab dem VPM in aufsteigende Fasern des Thalamus, die durch die Capsula interna ziehen und ihren Weg zwischen den Basalganglien, Putamen und Nucleus caudatus fortsetzen. (Benninghoff and Drenckhahn, 2014, Trepel, 2017)

In der Studie von *Finck et al.* sind nach 10 bis 11 Tagen die ersten Auffälligkeiten der Bornavirus-

Enzephalitis im MRT vom Kopf des Nucleus caudatus, der Insula, dem posteromedialen Thalamus und Operculum ausgegangen (Finck et al., 2020). Auch die neuropathologischen Daten dieser Studie zeigen, dass neben der Medulla oblongata das Striatum einer der am stärksten infizierten Regionen bei den humanen Präparaten war. Außerdem wurde in dieser Studie eine eher sekundäre Beteiligung des Gyrus rectus, der entlang der Riechbahn verläuft, diskutiert. (Finck et al., 2020)

Verfolgt man die Theorie der Geschmacksbahn, wäre dies damit erklärt, dass Anteile des primär gustatorischen Cortex zum frontoorbitalen Cortex und damit sekundär in die Richtung des olfaktorischen Systems ziehen. (Benninghoff and Drenckhahn, 2014, Trepel, 2017)

Diese Hypothese könnte bei den Fällen in Betracht gezogen werden, bei denen kein klarer Fokus auf dem limbischen und olfaktorischen System liegt, sondern eher auf den Basalganglien, Thalamus und dem Inselcortex (Hilbe et al., 2006, Gosztonyi, 2008, Ludwig, 2008, Kupke et al., 2019, Grosse et al., 2023). Diese Hypothese sollte durch weitere Untersuchungen, vor allem zu einem möglichen Eintritt über das erste afferente Neuron der drei Hirnnerven überprüft werden.

Eine weitere Theorie, die eine starke Hirnstammeteiligung erklären würde, ist die Möglichkeit eines ähnlichen Mechanismus zur Tollwuterkrankung. Eine periphere Verletzung könnte dabei die Eintrittspforte darstellen und über eine aufsteigende Virusausbreitung den Hirnstamm erreichen und sich von dort ausbreiten. (Hemachudha et al., 2013)

Die in **Abbildung 31 und 32** dargestellten Auffälligkeiten in der Medulla oblongata und am Übergang, könnten sich prinzipiell auch auf diesem Ausbreitungsweg erklären lassen. Leider waren nur in zwei Fällen Rückenmarksregionen abgebildet, was zur Untermauerung dieser Hypothese nicht ausreichend ist.

Dennoch kann der theoretische Vergleich wichtige Hinweise zur Virusausbreitung der BoDV-1-Enzephalitis liefern.

#### **5.4. Verteilungsmuster in den Tieren**

Im Einklang mit der vorbeschriebenen Literatur wurde bei P1, P2, P3, P5 und bei S3, S4 und A2 eine starke Beteiligung des Hippocampus mit BoDV-1-positiven Gliazellen und Neuronen gefunden (Gosztonyi and Ludwig, 1984, Caplazi and Ehrensperger, 1998). Auch die Stria olfactoria wies bei P2, P4, P5, S2 und bei A1, ebenfalls wie in der Literatur beschrieben, eine starke Beteiligung mit BoDV-1-positiven Gliazellen und Neuronen auf (Seifried and Spatz, 1930, Gosztonyi and Ludwig, 1984). Auffällig ist, dass bei den Schafen eine besonders geringe Ausbreitung BoDV-1-positiver Gliazellen und Neuronen in den Basalganglien zu finden ist und der Fokus hier eher im Frontalcortex und im Hippocampus liegt.

In der Studie von *Bilzer et al.* wird berichtet, dass bei Pferden neben dem Hippocampus eine starke Virusexpression auch in der Medulla oblongata zu sehen ist (Bilzer et al., 1995). Außerdem sieht man

im Hippocampus eine Korrelation der starken Virusexpression mit der lymphozytären Entzündung. Dies trifft in der Studie *Bilzer et al.* von nicht auf die Medulla oblongata zu (Bilzer et al., 1995). Trotz starker Virusexpression zeigt sich hier nur eine geringe Entzündung. Dieselbe Beobachtung konnten wir auch über unsere Analysen machen. Der Hippocampus bei P1, P3, P4, P5 und A2 gehörte zu der am stärksten lymphozytär entzündeten Region. P1, P2, P3 und S1 zeigten eine äußerst starke BoDV-1-Positivität der Medulla oblongata, während hingegen die lymphozytäre Entzündung deutlich geringer in dieser Region ausfiel (abgesehen von P2). Einheitlich zeigt sich bei allen humanen und tierischen Präparaten, dass die am geringsten mit BoDV-1-infizierte Region das Cerebellum war (Caplazi and Ehrensperger, 1998). Das Striatum, und damit die Basalganglien zeigen bei Tieren in der BoDV-1-Positivität eine eher untergeordnete Rolle.

## **5.5. Virusverteilungsmuster in Mensch und in Tier**

Die vorliegende Studie gibt erstmals einen direkten detaillierten Vergleich der Neuropathologie zwischen der Bornavirus-Enzephalitis in Mensch und Tier.

Eindeutig festzustellen war fast bei dem kompletten Kollektiv eine Aussparung BoDV-1-infizierter Gliazellen und Neurone im Cerebellum. Auffällig war bei den humanen und equinen Fällen die ausgeprägte BoDV-1-Beteiligung der Medulla oblongata, bei der jedoch statistisch innerhalb der unterschiedlichen Gruppen (Menschen, Pferde, Schafe, Alpakas) in dieser Region keinen signifikanten Einfluss auf die Virusverteilung festgestellt werden konnte.

Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob sich aus der Ausbreitung des Virus in der Medulla oblongata Rückschlüsse auf Infektionsweg und Eintrittspforte ziehen lassen. Hier richtet sich die Frage insbesondere auf die zuvor genannten Möglichkeiten eines Eintritts über das olfaktorische System, sowie einer bei der Tollwut vorkommenden, retrograden und anterograden Ausbreitung. Durch den neuropathologischen Endzustand (post mortem untersuchtes Gewebe) ist jedoch nicht auszuschließen, dass es sich nicht um den Eintritt, sondern um eine sekundäre Beteiligung der Medulla oblongata handeln könnte. Eine Begründung dafür könnte sein, dass in dem Endzustand die Erkrankung schon so weit fortgeschritten ist, dass die Regionen, die in einem frühen Stadium betroffen waren, nur noch eine geringe Viruslast aufweisen, da diese schon massiv mit Lymphozyten durchsetzt und der Virus dadurch in andere Regionen verdrängt und zerstört wurde.

Die humanen Präparate zeigten in vier Fällen den Fokus des Virus in den Basalganglien und der Medulla oblongata. In zwei Fällen ließ sich eine diffuse Verteilung feststellen und in einem Fall zeigte sich sowohl eine starke Beteiligung des Hippocampus sowie der Basalganglien und des Hirnstamms. Bei den Pferden war die Virusausbreitung ebenfalls auf dem Hippocampus, den Basalganglien und dem Hirnstamm fokussiert. Der Vergleich der Befunde deutet darauf hin, dass sich in equinen Präparaten eine ähnliche Virusverteilung zeigte wie in humanen.

Unterschiede fanden sich bei den Schafshirnpräparaten. Diese zeigten einen Fokus des Virus im Frontalcortex und dem Hippocampus mit einer gleichzeitigen Aussparung der Basalganglien. Ursächlich dafür wäre eine alternative Eintrittspforte zu diskutieren.

Die Lymphozytenverteilung bei den humanen Fällen zeigte sich nicht einheitlich. Bei drei Fällen fokussierte sich die Entzündung auf den Occipitalcortex, bei zwei Fällen auf den Frontalcortex. Der Hirnstamm und der Hippocampus waren bei jeweils zwei weiteren Fällen beteiligt. Erklärend könnten hier unterschiedliche immunsuppressive Therapiestrategien sein, die diese Lymphozytenverteilungen verändern könnten. Darüber hinaus wären unterschiedliche Eintrittspforten ebenfalls denkbar.

Im Gegensatz dazu zeigten die equinen Präparate einen eher einheitlicheren Fokus der Lymphozytenausbreitung auf den Hippocampus und die Basalganglien. Die Schafspräparate zeigten wiederum eine lymphozytäre Ausbreitung im Bereich der Stria olfactoria, des Frontalcortex und der Basalganglien. Bei den Alpakapräparaten lässt sich aufgrund von nur zwei Fällen kein Konsens ableiten, dennoch zeigte sich eine Vermehrung der Lymphozyten im Hirnstamm, den Basalganglien und dem Hippocampus.

Außerdem konnte über allen Regionen und Fällen hinweg eine negative Korrelation mittlerer Stärke zwischen dem Auftreten BoDV-1-positiver Zellen zur Anzahl der Lymphozyten festgestellt werden. Man sieht bei den Menschen insgesamt einen höheren Wert BoDV-1-positiver Gliazellen und Neurone als bei Pferden und Schafen. Die absoluten Lymphozytenzahlen wiederum sind bei humanen Fällen deutlich geringer als bei den Tieren. Eine mögliche Erklärung für diese Konstellation der Befunde könnte die deutlich längere Überlebenszeit der Menschen durch die intensivmedizinischen und immunsupprimierenden Maßnahmen sein. Aufgrund einer fehlenden effektiven, virostatistischen Therapie konnte die Virusreplikation bei den untersuchten Patient:innen nicht gestoppt werden und sich deshalb über den längeren Krankheitsverlauf deutlich ausbreiten. Massive Entzündungen mit einer hohen Anzahl an Lymphozyten wurden vor allem bei den Schafen und teilweise bei den Alpakas gefunden.

Abschließend kann nicht verallgemeinert gesagt werden, dass die neuropathologische Verteilung in humanen und tierischen Fällen wesentliche Unterschiede aufweisen. In einigen Punkten, insbesondere in der Virusverteilung zwischen Menschen und Pferden, zeigen sich Überschneidungen. Unterschiede innerhalb der humanen Fälle und im Gegensatz zu tierischen Fällen finden sich am ehesten in der Verteilung der Lymphozyten.

## **5.6. Vergleich der Bornavirus-Enzephalitis mit der Tollwut**

Die Virusverteilung der Bornavirus-Enzephalitis zeigt sich gehäuft in bestimmten Regionen, wie den Basalganglien, dem Hippocampus und im Hirnstamm. Die Ausbreitung des Virus ist daher wahrscheinlich entscheidend abhängig von der jeweiligen Eintrittspforte in den Körper und damit

verbunden dem Eintritt in das ZNS. Durch die erst kürzlich entdeckte Humanpathogenität des Bornavirus sind die Mechanismen der Virusausbreitung gänzlich unerforscht.

Die Tollwut-Enzephalitis, die seit Jahrhunderten beim Menschen bekannt ist und seit Jahrzehnten im Fokus der Wissenschaft steht, könnte vor allem durch die gut erforschten Mechanismen der Virusausbreitung, wesentlich zur Erforschung der Bornavirus-Enzephalitis beitragen.

Die Tollwut-Enzephalitis weist in einigen Punkten starke Parallelen zur Bornavirus-Enzephalitis auf und wie das Bornavirus wird auch das Rabiesvirus (RABV) zu der Ordnung der *Mononegavirales* gezählt. (Franka, 2015, Robert Koch-Institut, 2022, International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2022)

Ursächlich für die Zoonose wird das RABV über Speichel bei vor allem Hundebissen übertragen. Darüber hinaus ist die Übertragung durch Gewebe- und Organtransplantation, aerosolisiertem RABV, Kontaminationen von offenen Wunden, Kratzern, Schürfwunden und über Schleimhäute möglich. (Hemachudha et al., 2002)

Die Effektivität der Übertragung hängt von der Virusinokulation und dem Gewebstropismus ab, ist aber am wahrscheinlichsten nach tiefen Hundebissen, die bis in den Muskel reichen. Die Aufnahme des Virus findet dann nur über die motorische Endplatte an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren über den motorischen Weg statt und nicht durch sensorische und sympathische Nervenfasern. (Lentz et al., 1982, Baer et al., 1990, Tang et al., 1999, Lewis et al., 2000, Graf et al., 2002, Morcuende et al., 2002, Lafon, 2005, Ugolini et al., 2006, Rathelot and Strick, 2006, Ugolini, 2011)

Dabei kommt es zu keiner Virämie (Reaves et al., 2012). Oberflächliche Hautverletzungen durch RABV-infizierte-Fledermäuse können sich im Gegensatz zu Hunde-RABV-Varianten in den epidermalen Zellen *in vitro* vermehren und eine Übertragung über das sensorische oder sympathische System erscheint plausibel (Hemachudha and Phuapradit, 1997, Hemachudha et al., 2002, Ugolini, 2011).

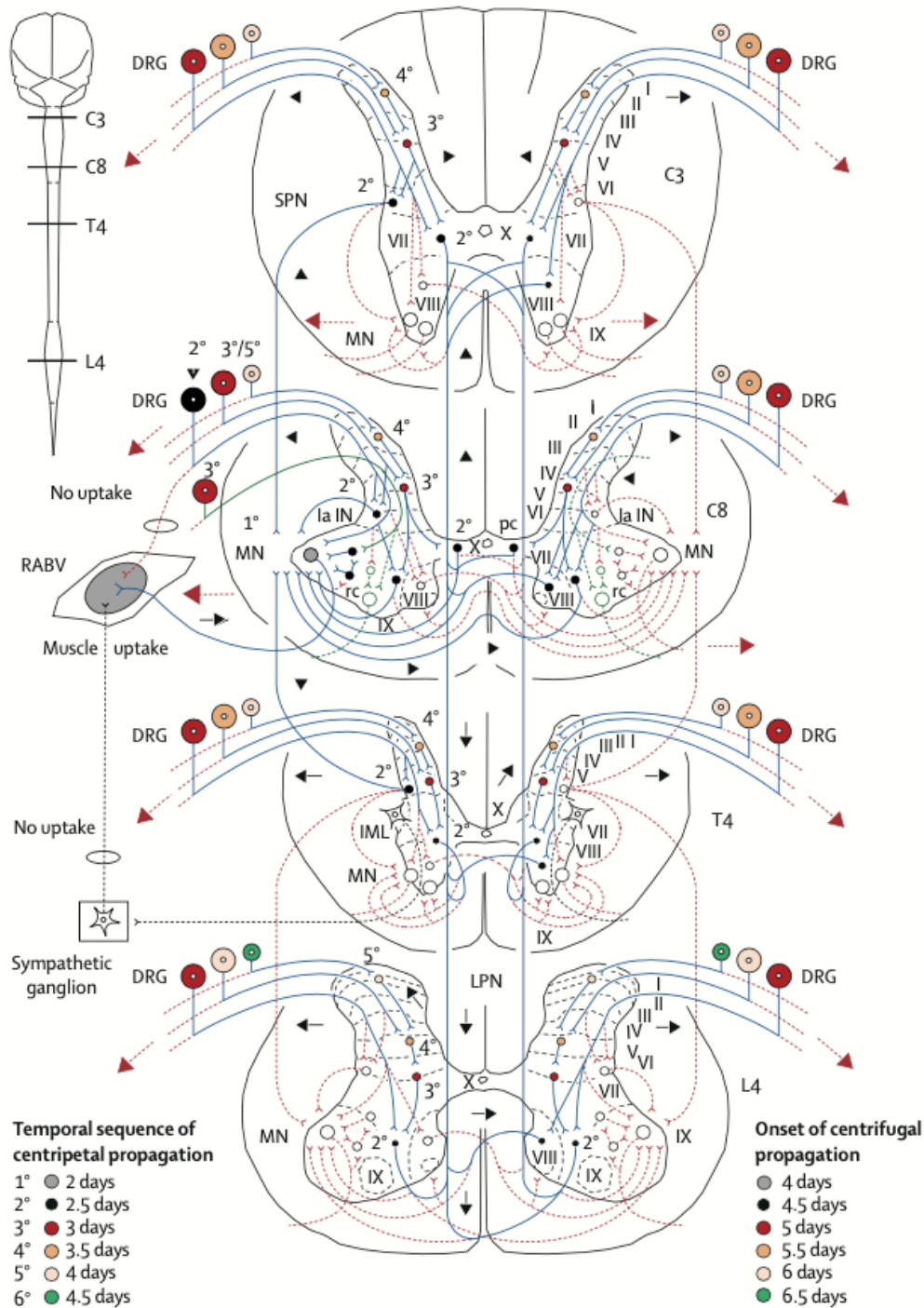
Die Inkubationszeit dauert im Schnitt 1-2 Monate, kann aber auch zwischen Wochen oder Jahren liegen. Diese hängt aber nicht, wie oft angenommen, von der klinischen Form oder von der Bissstelle ab. (Hemachudha et al., 2002, Hemachudha et al., 2013)

Während der Inkubation liegt RABV die längste Zeit im Muskel als schwelende Infektion mit niedriger Replikationsrate vor (Charlton et al., 1997). Dabei scheint die Erkennung durch dendritische Zellen des Immunsystems nur unzureichend zu sein (Becker, 2003, Sarmiento et al., 2005, Li et al., 2008, Kuang et al., 2009).

Nach der Inkubationszeit im infizierten Muskel erfolgt die zentripetale Ausbreitung von RABV ausschließlich durch den motorischen Weg, über den retrograd transneuronalen Transfer und erfolgt mit hoher Geschwindigkeit. Jede synaptische Verbindung wird in ca. 12 Stunden zurückgelegt, unabhängig von der Distanz (siehe **Abb. 36**). (Wacharapluesadee and Hemachudha, 2001, Ugolini, 2011) Nach dem Befall der Motoneurone breitet sich die Infektion weiter über die angeschlossenen

spinalen Interneurone und in die ipsilateralen Spinalganglien aus (Charlton et al., 1996, Stepien et al., 2010).

Im Anschluss daran befällt RABV große Neurone der Spinalganglien und große myelinisierte Afferenzen und nach kurzer Zeit auch kleine Neurone und Afferenzen. Im weiteren Verlauf erfolgt die Ausbreitung über eine Infektion der Interneuronenbahnen zu den kontralateralen, zervikalen, thorakalen und lumbosakralen Spinalganglien (Murphy et al., 1973b, Charlton et al., 1996). Über den retrograden Transfer erreicht das Virus in kürzester Zeit den Hirnstamm, cortikospinale Bahnen und ZNS-Areale höherer Ordnung (Murphy and Bauer, 1974, Charlton et al., 1996, Tang et al., 1999, Rathelot and Strick, 2006, Ugolini, 2010, Ugolini, 2011). Bei den ersten Prodromalzeichen wie grippeähnlichen Symptomen und Fieber hat sich das Virus bereits im ZNS ausgebreitet (Laothamatas et al., 2003, Mitrahakdi et al., 2005). Nach Beginn der retrograden Ausbreitung kommt es nach Infektion der Neuronen zu einer langsamen zentrifugalen anterograden Ausbreitung von RABV (siehe **Abb. 36**). Dies führt zu einer Infektion der ventralen und dorsalen Wurzeln und zu einer Ausbreitung über die sensorischen Innervationen der extraneuralen Organe. (Murphy et al., 1973b, Murphy et al., 1973a, Murphy and Bauer, 1974, Charlton et al., 1997, Jackson et al., 1999) Dabei gelangt das Virus über große Spinalganglien zu Muskelspindeln, über kutane Afferenzen zur Haut, über kleine Spinalganglien zu Immun- und Viszeralorganen, Speicheldrüsen, sowie Herz- und Blutgefäßen (Jackson et al., 1999). Aufgrund der Ineffizienz der anterograden axonalen Ausbreitung, kann es Wochen dauern, bis weit entfernte Organe infiziert werden. (Ugolini, 2010, Ugolini, 2011)



**Abbildung 38: Wege der Ausbreitung von RABV**

Die Abbildung zeigt die Ausbreitung von RABV ins RM und aus dem RM nach einem Biss durch ein tollwütiges Tier an der linken Hand. Die Übersichtsgrafik oben links zeigt die Lage der Wirbelsäulensegmente. Die Grenzen der Rückenmarkslaminae nach Rexed werden durch feine schwarze Linien dargestellt. Wie in Kapitel 5.3 beschrieben, erfolgt die Aufnahme von RABV aus dem Muskel ausschließlich über den motorischen Weg. Die blauen Linien markieren die schnelle zentripetale Ausbreitung zum RM. Die schwarzen Pfeile zeigen die Transportrichtung. Die langsame zentrifugale anterograde Ausbreitung von RABV aus dem RM heraus wird durch die gestrichelten roten Linien und roten Pfeile markiert. DRG=Dorsalwurzelganglien, Ia IN=Ia inhibitorische Interneurone, IML= intermediolaterale Zellgruppe, LPN= Lange propriospinale Neurone, MN= motorische Neurone, pc= Teilungszellen, rc= Renshaw-Zellen, SPN= kurze propriospinale Neurone. (Murphy et al., 1973a, Murphy et al., 1973b, Murphy and Bauer, 1974, Jankowska, 1992, Charlton et al., 1997, Tang et al., 1999, Jankowska and Edgley, 2010, Ugolini, 2010, Stepien et al., 2010, Ugolini, 2011, Coulon et al., 2011, Hemachudha et al., 2013). *Abbildung aus (Hemachudha et al., 2013).*



Die Inkubationszeit der Bornavirus-Enzephalitis ist bei Menschen bislang ungeklärt. Einige Fälle und Daten deuten jedoch darauf hin, dass es sich ebenfalls um Wochen bis Monate handeln könnte (Jacobsen et al., 2010, Priestnall et al., 2011, Meyer et al., 2022). Bisher konnten Katzen, die Kontakt zu BoDV-1-infizierten Spitzmäusen haben nicht als Risikofaktor identifiziert werden (Portner et al., 2023). Dennoch scheint es plausibel zu sein, dass Katzen oder andere Haustiere als Zwischenwirt fungieren könnten. Kleine Kratzer und Bissverletzungen, die Wochen oder gar Monate zurückliegen, könnten ursächlich der Auslöser einer Bornavirus-Enzephalitis sein. Der Transportweg von BoDV-1 ins ZNS könnte wie bei der Tollwut über den motorischen zentripetalen retrograden Weg ablaufen. Daraufhin könnte die außergewöhnlich starke Beteiligung des Hirnstammes hindeuten (siehe **Abb. 10, 12, 16, 18 und 19**). Weitere Untersuchungen zur Beteiligung des RM sollten Gegenstand der zukünftigen neuropathologischen Studien zur Bornavirus-Enzephalitis sein.

Ein weiterer Anhaltspunkt, der bei der Bornavirus-Enzephalitis auf einen wie bei der Tollwut beschriebenen zentrifugalen anterograden Mechanismus hindeutet, ist die Studie von *Grosse et al.* Ein 6-jähriger Junge, der an einer BoDV-1-Enzephalitis erkrankt war, zeigte zu Beginn (Tag 17 nach Symptombeginn) kein Virusnachweis in jeglichen Ausscheidungen. Dennoch konnte nach einigen Wochen (Tag 48 nach Symptombeginn) in der PCR sowohl in der Tränenflüssigkeit als auch im Speichel das Virus nachgewiesen werden (Grosse et al., 2023). Wie auch bei der Tollwut beschrieben, kann der zentrifugale anterograde Ausbreitungsweg, aufgrund der langsamen Ausbreitungsgeschwindigkeit Wochen dauern, bis periphere Organe darunter auch Tränen- und Speicheldrüsen infiziert sind (Jackson et al., 1999, Ugolini, 2010, Ugolini, 2011).

Neben dem Ausbreitungsweg zeigen auch neuropathologische Untersuchungen Gemeinsamkeiten. Die Tollwut-Enzephalitis zeigt sich durch perivaskuläre Infiltrate, die vor allem aus Lymphozyten und Monozyten bestehen und überwiegend im Rückenmark, dem Pons, der Medulla oblongata, den Basalganglien und im Cortex vorkommen. Zudem werden Läsionen in ventromedialen Kerngebieten des Hypothalamus und im limbischen System beschrieben. (Lang and Alexander, 2000)

Neuropathologisch sind die Negri-Körper ein pathognomonisches Merkmal zur Identifikation der Tollwutinfektion. Hierbei handelt es sich um kugelförmige, eosinophile, 2-10 µm große Einschlusskörper, die insbesondere in den Pyramidenzellen im Ammonshorn des Hippocampus zu finden sind. (Negri, 1903, Miyamoto and Matsumoto, 1965, Albertini et al., 2008)

Die Bornavirus-Enzephalitis hingegen führt zu einer lymphozytären sklerosierenden Panenzephalitis mit ebenfalls typischen eosinophilen, kugelförmigen, intranuklearen Joest-Degen-Einschlusskörperchen vom Cowdry Typ B (Joest and Degen, 1911, Cowdry EV, 1934, Pospischil, 1981, Liesche et al., 2019). Die Verteilung der Lymphozyten zeigt sich bei den Menschen, wie oben beschrieben, eher diffus, wohingegen die Virusverteilung sich in bestimmten Gehirnregionen häuft, wie den Basalganglien, dem Hippocampus und sich teilweise im Hirnstamm, wahrscheinlich abhängig von

der jeweiligen Eintrittspforte.

Wie hier beschrieben zeigen sich einige charakteristische Parallelen der beiden viralen Enzephalitiden. Deshalb sollten weiterhin in zukünftigen Borna-Forschungen die Parallelität zu Modellen und Methoden der bisher deutlich weiter erforschten Tollwut-Erkrankung herangezogen werden.

**Tabelle 9: Direkter Vergleich von Rabies und BoDV-1**

	<b>Tollwut (Rabies)</b>	<b>BoDV-1</b>	<b>Quellen</b>
Ordnung	<i>Mononegavirales</i>	<i>Mononegavirales</i>	(International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2022, Rubbenstroth et al., 2021)
Vorkommen	Weiten Teilen der Welt, v.a. in den tropischen Ländern, wie Asien und Afrika	Hauptsächlich in Deutschland, vereinzelt an der Grenze zur Schweiz, Liechtenstein und Österreich	(Fooks et al., 2017, World Health, 2018a, Durrwald et al., 2014)
Reservoir	Grundsätzlich alle Säugetiere, hauptsächlich Hunde, Füchse, Maderhunde, Waschbären und Stinktiere	Zweifarbige Weißzahnspitzmaus <i>Crocidura leucodon</i>	(Hilbe et al., 2006, Lackay et al., 2008, Durrwald et al., 2014)
Übertragung	Tierbisse (v.a. Hundebisse), Gewebe- und Organtransplantation, aerosolisiertem RABV, Kontamination von offenen Wunden, Kratzern, Schürfwunden und Schleimhäute	Unbekannt, Gewebe- und Organtransplantation. Evtl. über das olfaktorische Netzwerk	(Hemachudha et al., 2002, Schlottau et al., 2018, Grosse et al., 2023)
Letalität bei Symptombeginn	An die 100%	An die 100%	(Robert Koch-Institut, 2022)
Inkubationszeit	1-2 Monate, Wochen bis Jahre	Wochen bis Monate	(Hemachudha et al., 2002, Jacobsen et al., 2010, Priestnall et al., 2011, Hemachudha et al., 2013, Meyer et al., 2022)
Ausbreitung	Schneller retrograder transneuroner Transfer zum ZNS und langsame anterograde Ausbreitung	Unbekannt	(Ugolini, 2011, Wacharapluesadee and Hemachudha, 2001)
Symptomatik	Kopf- und Muskelschmerzen, Fieber, enzephalitische- und paralytische Form, Hydrophobie, Krämpfe der Schlundmuskulatur, Koma	Grippeähnliche Symptome, Kopfschmerzen, Fieber, Ataxien, Halluzinationen, Koma	(Jackson, 2018, Liesche et al., 2019, Finck et al., 2020, Niller et al., 2020)
Tod	Koma, Atemlähmung oder Lähmung der Herzmuskulatur	Koma, Hirndruck, Einklemmung	(Jackson, 2018, Liesche et al., 2019, Finck et al., 2020, Niller et al., 2020)
Diagnostik	Differentialdiagnostik, Tollwut RNA in Speichel Liquor und Nackenhautbiopsien, post mortem mittels Immunfluoreszenz-	Liquor und Seumproben mittels IFAT, Bestätigung durch einen Immunoblot, Hirnbiopsie und	(World Health, 2018a, World Health, 2018b, Niller et al., 2020, Eisermann et al., 2021, Robert Koch-Institut, 2022)

	test oder PCR aus dem Ammonshorn, Cerebellum und Hirnstamm	immunhistochemische Bestätigung, post mortem Diagnose	
Impfung	Impfstoff vorhanden	Wurde bis ins Jahr 1990 bei Pferden verimpft	(Robert Koch-Institut, 2022, Durrwald et al., 2022)
PEP	Schutzwirkung einer <i>lege artis</i> durchgeführten PEP ist bei 100%, PEP besteht aus Immunglobulinen und mehrfachen Impfung	Experimenteller Versuch mit Favipiravir	(World Health, 2018b, World Health, 2018a, Robert Koch-Institut, 2022, Reinmiedl et al., 2022)
Therapie bei Symptombeginn	Keine evidenzbasierte Therapieempfehlungen, einzelne publizierten Erfolge mit dem Milwaukee Protokoll gelten als höchst umstritten	Individueller experimenteller Heilversuch mit immunsuppressiven Therapeutika und Ribavirin und Favipiravir	(Tokunaga et al., 2017, Ledesma et al., 2020, Böhmer et al., 2022, Reinmiedl et al., 2022)

## 5.7. Evaluation der angewandten Methoden und Auswertungen

Die für diese Studie angewandte Technologie der Immunhistochemie ist eine etablierte Methode zur histopathologischen Charakterisierung von Entzündungszellen und zum Nachweis des Virusbefalls in Gliazellen und Neuronen. Sie ermöglicht in dieser Studie eine systematische Beurteilung der Verteilung über die verschiedenen Hirnregionen, sowohl in den humanen als auch in den tierischen Gehirnmaterialien. Die bei der Immunhistochemie verwendeten primären und sekundären Antikörper, die Färbe-Kits und die verwendeten Geräte werden bei der neuropathologischen Routinediagnostik standartmäßig eingesetzt. Leider war es bei Pferden, Schafen und Alpakas trotz etwaiger Bemühungen nicht möglich, den in der Humanmedizin eingesetzten Panlymphozytenmarker CD45 zu etablieren. Daher wurde auf die T-Zell- bzw. B-Zell-Marker CD3 und CD20 zurückgegriffen.

Bei der Bornavirus-spezifischen immunhistochemischen Färbung, die bei der Färbung aller Präparate verwendet wurde, fand händisch eine sowohl positive als auch negative Zählung aller glialen Zellen und Neurone pro Screenshot statt. Aufgrund der interindividuellen Kontraste und Intensitäten, war trotz aller Anpassungen der Einstellungen eine digitale Auswertung mit ImageJ nicht möglich. Durch mehrfachen Abgleich waren die Abweichungen zu groß und die Methode der digitalen Auswertung musste bei der BoDV-1-spezifischen immunhistochemischen Färbung verworfen werden.

## 5.8. Ausblick

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob sich die topographische Verteilung der Bornavirus-Enzephalitis innerhalb der infizierten Neurone und Mikrogliazellen und die der Entzündungsreaktion zwischen Menschen und Tieren unterscheidet. Unsere Ergebnisse konnten erstmalig zeigen, dass sich in den Punkten der Virusverteilung und der Entzündungsverteilung Überschneidungen, aber auch Unterschiede zwischen Menschen und Tieren ergeben. Die vorliegende Studie hat zudem

herausgefunden, dass die Zeitpunkte der therapeutischen Immunsuppression entscheidende Unterschiede im neuropathologischen Befund ergeben. Zudem konnten die Ergebnisse neue Hinweise über die bisher unerforschte Eintrittspforte liefern und Parallelen zu der gut erforschten Tollwut-Enzephalitis herstellen. Daher sollten für zukünftige Forschungsprojekte der Bornavirus-Enzephalitis auf den Ergebnissen dieser Studie aufgebaut werden. Es sollte angestrebt werden, die Aufmerksamkeit für die Erkrankung in den Endemiegebieten zu erhöhen, um die Krankheit frühzeitig diagnostizieren zu können. Darüber hinaus könnte die Erforschung der Eintrittspforte dazu beitragen, die Pathomechanismen der Erkrankung besser verstehen zu können, um damit die Erkrankung einerseits zu verhindern, aber andererseits auch weitere therapeutische Ansätze finden zu können.

## 6. Zusammenfassung

Das Bornavirus ist beim Fehlwirt Mensch, Pferd, Schaf und Alpaka eine Zoonose, die fast immer eine tödliche Enzephalitis auslöst. BoDV-1 ist seit mehreren hundert Jahren bei Tieren bekannt, aber erst seit dem Jahr 2018 als humanpathogen identifiziert (Schlottau et al., 2018).

So beschäftigt sich die vorliegende Arbeit erstmalig mit dem Vergleich der Neuropathologie der seit mehreren hundert Jahren bekannten Bornavirus-Enzephalitis bei Tieren zu der erst kürzlich entdeckten Erkrankung beim Menschen. Ein erster klinisch neuropathologischer Vergleich dieser Studie zeigt Hinweise auf die Veränderung der Immunpathologie durch eine immunsuppressive Therapie.

Die neuropathologische Untersuchung ist an Gehirnen von 19 an Bornavirus-Enzephalitis erkrankten Menschen und Tieren durchgeführt worden. Davon waren acht humane Gehirne, fünf Pferde, vier Schafe und zwei Alpakas miteingeschlossen. Die Entzündungsreaktion wurde immunhistochemisch mit den Markern CD45, CD3 und CD20 und die BoDV-1-infizierten Gliazellen und Neurone durch den Bo18-Antikörper dargestellt.

Bei den humanen Präparaten zeigte der Fokus der Entzündung individuelle Unterschiede und präsentierte sich jeweils auf dem Frontalcortex, dem Hippocampus, dem Hirnstamm und dem Occipitalcortex. Interessanterweise konnte im neuropathologisch-klinischen Korrelat festgestellt werden, dass sich bei den drei Patient:innen, die einen frühzeitigen, hochdosierten Steroidstoß erhalten hatten, im gesamten Gehirn eine deutlich geringere Lymphozytenanzahl zeigte verglichen mit den Patient:innen, die nur eine späte oder keine immunsuppressive Therapie erhalten hatten. Zudem überlebten diese Patient:innen im Durchschnitt 6 Tage länger nach Symptombeginn. Daraus lässt sich für zukünftige Fälle die Relevanz einer frühzeitigen immunsuppressiven Therapie, der eine schnelle Diagnosestellung vorangehen muss, unterstreichen.

Auch die Virusverteilung bei den humanen Fällen zeigte individuelle Unterschiede. Trotzdem waren die am stärksten infizierten Regionen die Basalganglien, der Hippocampus und der Hirnstamm mit der Medulla oblongata. Darüber hinaus konnte, wie vorbeschrieben, in fast allen Fällen eine Virusausparung im Cerebellum festgestellt werden. Bei den Pferden zeigte sich besonders die Region des Hippocampus und die der Basalganglien in fast allen Fällen besonders entzündet. Bei den Schafen lag der Entzündungsfokus der Lymphozyten stark auf der Stria olfactoria, dem Frontalcortex und auch den Basalganglien. Auch bei den Alpakas war der Hirnstamm, die Basalganglien und der Hippocampus stark entzündet. Die Virusverteilung bei den Pferden zeigte eine starke Hirnstamm- und Hippocampusbeteiligung. Cerebellum, Frontal, Okzipital- und Inselcortex zeigten sich tendenziell ausgespart. Die Virusverteilung der Schafe zeigte den Fokus auf dem Frontalcortex und dem Hippocampus, wohingegen die Basalganglien und das Cerebellum ausgespart waren.

Im Vergleich von Mensch zu Tier zeigte sich im Gesamten bei den tierischen Gehirnen eine höhere

Anzahl an Lymphozyten und eine geringe Viruslast. Ein möglicher Grund hierfür könnte bei Tieren die kürzere Lebenszeit durch die Euthanasierung und die im Gegensatz zu humanen Fällen nicht vorhandene intensivmedizinische Behandlung der Tiere sein. Über alle Fälle hinaus ließ sich allgemein eine besondere Virusaussparung des Cerebellums feststellen. Erwähnenswert bei Menschen und Pferden ist außerdem die starke BoDV-1 Beteiligung der Medulla oblongata. Aus diesem Grund sollten weitere Eintrittspforten wie die Geschmacksbahn, die über die Medulla oblongata ins ZNS eintritt und die Möglichkeit eines retrograden Aufstiegs des Virus über das Rückenmark in den Hirnstamm, wie es bei der Tollwut-Erkrankung der Fall ist, neben der bisherigen olfaktorischen Theorie, Gegenstand der zukünftigen Erforschung des Bornavirus sein.

## 7. Literaturverzeichnis

### Literatur

- ALBERTINI, A. A., SCHOEHN, G., WEISSEHORN, W. & RUIGROK, R. W. 2008. Structural aspects of rabies virus replication. *Cell Mol Life Sci*, 65, 282-94.
- AMSTERDAM, J. D., WINOKUR, A., DYSON, W., HERZOG, S., GONZALEZ, F., ROTT, R. & KOPROWSKI, H. 1985. Borna disease virus. A possible etiologic factor in human affective disorders? *Arch Gen Psychiatry*, 42, 1093-6.
- BAER, G. M., SHADDOCK, J. H., QUIRION, R., DAM, T. V. & LENTZ, T. L. 1990. Rabies susceptibility and acetylcholine receptor. *Lancet*, 335, 664-5.
- BECK, A. & FROHBÖSE, H. 1926. Die enzootische Encephalitis des Schafes. Vergleichende experimentelle Untersuchungen über die seuchenhafte Gehirnrückmarksentzündung der Pferde und Schafe. *Arch Tierheilk* 54, 84-110.
- BECKER, Y. 2003. Immunological and regulatory functions of uninfected and virus infected immature and mature subtypes of dendritic cells--a review. *Virus Genes*, 26, 119-30.
- BENNINGHOFF, A. & DRENCKHAHN, D. 2014. *Taschenbuch Anatomie*, München, Elsevier, Urban & Fischer.
- BERTRAND, A., LECLERCQ, D., MARTINEZ-ALMOYNA, L., GIRARD, N., STAHL, J. P. & DE-BROUCKER, T. 2017. MR imaging of adult acute infectious encephalitis. *Med Mal Infect*, 47, 195-205.
- BILZER, T., PLANZ, O., LIPKIN, W. I. & STITZ, L. 1995. Presence of CD4+ and CD8+ T cells and expression of MHC class I and MHC class II antigen in horses with Borna disease virus-induced encephalitis. *Brain Pathol*, 5, 223-30.
- BODE, L. 1995. Human infections with Borna disease virus and potential pathogenic implications. *Curr Top Microbiol Immunol*, 190, 103-30.
- BODE, L., FERSZT, R. & CZECH, G. 1993. Borna disease virus infection and affective disorders in man. *Arch Virol Suppl*, 7, 159-67.
- BODE, L., RIEGEL, S., LANGE, W. & LUDWIG, H. 1992. Human infections with Borna disease virus: seroprevalence in patients with chronic diseases and healthy individuals. *J Med Virol*, 36, 309-15.
- BODE, L., RIEGEL, S., LUDWIG, H., AMSTERDAM, J. D., LANGE, W. & KOPROWSKI, H. 1988. Borna disease virus-specific antibodies in patients with HIV infection and with mental disorders. *Lancet*, 2, 689.
- BODE, L., RIEGEL, S., RECKWALD, P. & LUDWIG, H. 1990. Improved and rapid serodiagnosis of Borna disease virus infections in animals and man. *Abstr. VIIIth Int. Congr. Virol., August 26-31, Berlin, Germany*, P31-064, p.302.
- BÖHMER, M., HARING, V., RUBBENSTROTH, D., BAUSWEIN, M., TAPPE, D., STERNJAKOB, A., PÖRTNER, K., FRANK, C., WUNDERLICH, S., ZIMMER, C., ANGSTWURM, K., WIESINGER, I., HERDEN, C., BEER, M., SCHMIDT, B. & ULRICH, R. 2022. Selten, aber tödlich: Bornavirus-Enzephalitis *Bayrisches Ärzteblatt*, 77, 434-437.
- BOURG, M., HERZOG, S., ENCARNACAO, J. A., NOBACH, D., LANGE-HERBST, H., EICKMANN, M. & HERDEN, C. 2013. Bicolored white-toothed shrews as reservoir for borna disease virus, Bavaria, Germany. *Emerg Infect Dis*, 19, 2064-6.
- BRADSHAW, M. J. & VENKATESAN, A. 2016. Herpes Simplex Virus-1 Encephalitis in Adults: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Neurotherapeutics*, 13, 493-508.
- BREITENBORN, K. 2007. Bornavirus: Kontroverse um Humanpathogenität. *Dtsch Arztebl*, 104, A1365-A1368.
- CADAR, D., ALLENDORF, V., SCHULZE, V., ULRICH, R. G., SCHLOTTAU, K., EBINGER, A., HOFFMANN, B., HOFFMANN, D., RUBBENSTROTH, D., ISMER, G., KIBBEY, C., MARTHALER, A., RISSLAND, J., LEYPOLDT, F., STANGEL, M., SCHMIDT-CHANASIT, J., CONRATHS, F. J., BEER, M., HOMEIER-BACHMANN, T. & TAPPE, D. 2021. Introduction and spread of variegated squirrel bornavirus 1 (VSBV-1) between exotic squirrels and spill-over infections to humans in Germany. *Emerg Microbes Infect*, 10, 602-611.

- CAPLAZI, P. & EHRENSPERGER, F. 1998. Spontaneous Borna disease in sheep and horses: immunophenotyping of inflammatory cells and detection of MHC-I and MHC-II antigen expression in Borna encephalitis lesions. *Vet Immunol Immunopathol*, 61, 203-20.
- CHARLTON, K. M., CASEY, G. A., WANDELER, A. I. & NADIN-DAVIS, S. 1996. Early events in rabies virus infection of the central nervous system in skunks (*Mephitis mephitis*). *Acta Neuropathol*, 91, 89-98.
- CHARLTON, K. M., NADIN-DAVIS, S., CASEY, G. A. & WANDELER, A. I. 1997. The long incubation period in rabies: delayed progression of infection in muscle at the site of exposure. *Acta Neuropathol*, 94, 73-7.
- CHEVALIER, G., SUBERBIELLE, E., MONNET, C., DUPLAN, V., MARTIN-BLONDEL, G., FARRUGIA, F., LE MASSON, G., LIBLAU, R. & GONZALEZ-DUNIA, D. 2011. Neurons are MHC class I-dependent targets for CD8 T cells upon neurotropic viral infection. *PLoS Pathog*, 7, e1002393.
- CORAS, R., KORN, K., KUERTEN, S., HUTTNER, H. B. & ENSSER, A. 2019. Severe bornavirus-encephalitis presenting as Guillain-Barre-syndrome. *Acta Neuropathol*, 137, 1017-1019.
- CORBET, G. & OVENDEN, D. 1980. *The mammals of Britain and Europe*, London, William Collins Sons & Co Ltd.
- COULON, P., BRAS, H. & VINAY, L. 2011. Characterization of last-order premotor interneurons by transneuronal tracing with rabies virus in the neonatal mouse spinal cord. *J Comp Neurol*, 519, 3470-87.
- COWDRY EV 1934. The problem of intranuclear inclusions in virus diseases. *Arch Pathol* 18, 527-542.
- CRAEMER, E. M. 2023. Übertragungswege neuropathogener Erreger – mögliche Mechanismen der Neuroinvasion. *Der Nervenarzt*, 94, 296-305.
- DANNER, K. 1978. Bornasche Krankheit. *Der Praktische Tierarzt*, 59, 748-752.
- DE LA TORRE, J. C., GONZALEZ-DUNIA, D., CUBITT, B., MALLORY, M., MUELLER-LANTZSCH, N., GRASSER, F. A., HANSEN, L. A. & MASLIAH, E. 1996. Detection of borna disease virus antigen and RNA in human autopsy brain samples from neuropsychiatric patients. *Virology*, 223, 272-82.
- DECKERT, M. 2012. Infektionen des ZNS. In: KLÖPPEL, G., KREIPE, H. H., REMMELE, W., PAULUS, W. & SCHRÖDER, J. M. (eds.) *Pathologie: Neuropathologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- DEXLER, H. 1900. Pathologisch-anatomische Untersuchungen über die Bornasche Krankheit. *Z Tiermed*, 4, 110-123.
- DIEFENBACH, R. J., MIRANDA-SAKSENA, M., DOUGLAS, M. W. & CUNNINGHAM, A. L. 2008. Transport and egress of herpes simplex virus in neurons. *Rev Med Virol*, 18, 35-51.
- DÜRRWALD, R. 1993. *Die natürliche Borna-Virus-Infektion der Einhufer und Schafe. Untersuchungen zur Epidemiologie, zu neueren diagnostischen Methoden (ELISA, PCR) und zur Antikörperkinetik bei Pferden nach Vakzination mit Lebendimpfstoff*. Freie Universität Berlin, Germany
- DÜRRWALD, R., KOLODZIEJEK, J., HERZOG, S. & NOWOTNY, N. 2007. Meta-analysis of putative human bornavirus sequences fails to provide evidence implicating Borna disease virus in mental illness. *Rev Med Virol*, 17, 181-203.
- DÜRRWALD, R., KOLODZIEJEK, J., OH, D. Y., HERZOG, S., LIEBERMANN, H., OSTERRIEDER, N. & NOWOTNY, N. 2022. Vaccination against Borna Disease: Overview, Vaccine Virus Characterization and Investigation of Live and Inactivated Vaccines. *Viruses*, 14.
- DÜRRWALD, R., KOLODZIEJEK, J., WEISSENBOCK, H. & NOWOTNY, N. 2014. The bicolored white-toothed shrew *Crocidura leucodon* (HERMANN 1780) is an indigenous host of mammalian Borna disease virus. *PLoS One*, 9, e93659.
- DÜRRWALD, R. & LUDWIG, H. 1997. Borna disease virus (BDV), a (zoonotic?) worldwide pathogen. A review of the history of the disease and the virus infection with comprehensive bibliography. *Zentralbl Veterinarmed B*, 44, 147-84.
- EISERMANN, P., RUBBENSTROTH, D., CADAR, D., THOME-BOLDUAN, C., EGGERT, P.,



- SCHLAPHOF, A., LEYPOLDT, F., STANGEL, M., FORTWANGLER, T., HOFFMANN, F., OSTERMAN, A., ZANGE, S., NILLER, H. H., ANGSTWURM, K., PORTNER, K., FRANK, C., WILKING, H., BEER, M., SCHMIDT-CHANASIT, J. & TAPPE, D. 2021. Active Case Finding of Current Bornavirus Infections in Human Encephalitis Cases of Unknown Etiology, Germany, 2018-2020. *Emerg Infect Dis*, 27, 1371-1379.
- ELLUL, M. & SOLOMON, T. 2018. Acute encephalitis - diagnosis and management. *Clin Med (Lond)*, 18, 155-159.
- EVEN, C., DOBBINS, J. G., SCHNEIDER, P. A. & LIPKIN, W. I. 1996. Borna disease virus in the Atlanta Chronic Fatigue Syndrome (CFS) case-control study. *Abstr. Xth Int. Congr. Virol, August 11-16, Jerusalem, israel PW34-6*, p.204.
- FINCK, T., LIESCHE-STARNECKER, F., PROBST, M., BETTE, S., RUF, V., WENDL, C., DORN, F., ANGSTWURM, K., SCHLEGEL, J., ZIMMER, C., WIESTLER, B., WIESINGER, I. & BORNAVIRUS-ENCEPHALITIS STUDY, G. 2020. Bornavirus Encephalitis Shows a Characteristic Magnetic Resonance Phenotype in Humans. *Ann Neurol*, 88, 723-735.
- HOOKS, A. R., CLIQUET, F., FINKE, S., FREULING, C., HEMACHUDHA, T., MANI, R. S., MULLER, T., NADIN-DAVIS, S., PICARD-MEYER, E., WILDE, H. & BANYARD, A. C. 2017. Rabies. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17091.
- FORRESTER, J. V., MCMENAMIN, P. G. & DANDO, S. J. 2018. CNS infection and immune privilege. *Nat Rev Neurosci*, 19, 655-671.
- FRANK, C., WICKEL, J., BRAMER, D., MATSCHKE, J., IBE, R., GAZIVODA, C., GUNTHER, A., HARTMANN, C., REHN, K., CADAR, D., MAYER, T. E., PORTNER, K., WILKING, H., SCHMIDT-CHANASIT, J. & TAPPE, D. 2022. Human Borna disease virus 1 (BoDV-1) encephalitis cases in the north and east of Germany. *Emerg Microbes Infect*, 11, 6-13.
- FRANKA, R. 2015. RABIES. *Control of Communicable Diseases Manual*.
- GENSERT 1896. Die Borna'sche Krankheit *Berl Thierärztl Wochenschr*, 12, 447-449.
- GOSZTONYI, G. 2008. Natural and experimental Borna disease virus infections--neuropathology and pathogenetic considerations. *APMIS Suppl*, 53-7.
- GOSZTONYI, G. & LUDWIG, H. 1984. Borna disease of horses. An immunohistological and virological study of naturally infected animals. *Acta Neuropathol*, 64, 213-21.
- GRABNER, A. & FISCHER, A. 1991. [Symptomatology and diagnosis of Borna encephalitis of horses. A case analysis of the last 13 years]. *Tierärztl Prax*, 19, 68-73.
- GRAF, W., GERRITS, N., YATIM-DHIBA, N. & UGOLINI, G. 2002. Mapping the oculomotor system: the power of transneuronal labelling with rabies virus. *Eur J Neurosci*, 15, 1557-62.
- GROSSE, L., LIEFTUCHTER, V., VOLLMUTH, Y., HOFFMANN, F., OLIVIERI, M., REITER, K., TACKE, M., HEINEN, F., BORGGRAEFE, I., OSTERMAN, A., FORSTNER, M., HUBNER, J., VON BOTH, U., BIRZELE, L., ROHLFS, M., SCHOMBURG, A., BOHMER, M. M., RUF, V., CADAR, D., MUNTAU, B., PORTNER, K. & TAPPE, D. 2023. First detected geographical cluster of BoDV-1 encephalitis from same small village in two children: therapeutic considerations and epidemiological implications. *Infection*, 1-16.
- HAAS, B., BECHT, H. & ROTT, R. 1986. Purification and properties of an intranuclear virus-specific antigen from tissue infected with Borna disease virus. *J Gen Virol*, 67 ( Pt 2), 235-41.
- HALLENSLEBEN, W., SCHWEMMLE, M., HAUSMANN, J., STITZ, L., VOLK, B., PAGENSTECHER, A. & STAEHELI, P. 1998. Borna disease virus-induced neurological disorder in mice: infection of neonates results in immunopathology. *J Virol*, 72, 4379-86.
- HAUSMANN, J., HALLENSLEBEN, W., DE LA TORRE, J. C., PAGENSTECHER, A., ZIMMERMANN, C., PIRCHER, H. & STAEHELI, P. 1999. T cell ignorance in mice to Borna disease virus can be overcome by peripheral expression of the viral nucleoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 9769-74.
- HEMACHUDHA, T., LAOTHAMATAS, J. & RUPPRECHT, C. E. 2002. Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges. *Lancet*

- Neurol*, 1, 101-9.
- HEMACHUDHA, T. & PHUAPRADIT, P. 1997. Rabies. *Curr Opin Neurol*, 10, 260-7.
- HEMACHUDHA, T., UGOLINI, G., WACHARAPLUESADEE, S., SUNGKARAT, W., SHUANGSHOTI, S. & LAOTHAMATAS, J. 2013. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet Neurol*, 12, 498-513.
- HILBE, M., HERRSCHE, R., KOLODZIEJEK, J., NOWOTNY, N., ZLINSZKY, K. & EHRENSPERGER, F. 2006. Shrews as reservoir hosts of borna disease virus. *Emerg Infect Dis*, 12, 675-7.
- HOFFMANN, B., TAPPE, D., HOPER, D., HERDEN, C., BOLDT, A., MAWRIN, C., NIEDERSTRASSER, O., MULLER, T., JENCKEL, M., VAN DER GRINTEN, E., LUTTER, C., ABENDROTH, B., TEIFKE, J. P., CADAR, D., SCHMIDT-CHANASIT, J., ULRICH, R. G. & BEER, M. 2015. A Variegated Squirrel Bornavirus Associated with Fatal Human Encephalitis. *N Engl J Med*, 373, 154-62.
- HUHNENDORF, M., JUHASZ, J., WATTJES, M. P., SCHILLING, A., SCHOB, S., KADEN, I., KLASS, G. & TAPPE, D. 2023. Magnetic resonance imaging of human variegated squirrel bornavirus 1 (VSBV-1) encephalitis reveals diagnostic pattern indistinguishable from Borna disease virus 1 (BoDV-1) encephalitis but typical for bornaviruses. *Emerg Microbes Infect*, 12, 2179348.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). 2022. *Subfamily: Alpharhabdovirinae; Genus: Lyssavirus* [Online]. Available: <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/lyssavirus> [Accessed 15.01. 2023].
- JACKSON, A. C. 2018. Rabies: a medical perspective. *Rev Sci Tech*, 37, 569-580.
- JACKSON, A. C., YE, H., PHELAN, C. C., RIDAURA-SANZ, C., ZHENG, Q., LI, Z., WAN, X. & LOPEZ-CORELLA, E. 1999. Extraneural organ involvement in human rabies. *Lab Invest*, 79, 945-51.
- JACOBSEN, B., ALGERMISSEN, D., SCHAUDIEN, D., VENNER, M., HERZOG, S., WENTZ, E., HEWICKER-TRAUTWEIN, M., BAUMGARTNER, W. & HERDEN, C. 2010. Borna disease in an adult alpaca stallion (*Lama pacos*). *J Comp Pathol*, 143, 203-8.
- JAIN, S., PATEL, B. & BHATT, G. C. 2014. Enteroviral encephalitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment advances. *Pathog Glob Health*, 108, 216-22.
- JANKOWSKA, E. 1992. Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Prog Neurobiol*, 38, 335-78.
- JANKOWSKA, E. & EDGLEY, S. A. 2010. Functional subdivision of feline spinal interneurons in reflex pathways from group Ib and II muscle afferents; an update. *Eur J Neurosci*, 32, 881-93.
- JENNISCHE, E., ERIKSSON, C. E., LANGE, S., TRYBALA, E. & BERGSTROM, T. 2015. The anterior commissure is a pathway for contralateral spread of herpes simplex virus type 1 after olfactory tract infection. *J Neurovirol*, 21, 129-47.
- JOEST, E. & DEGEN, K. 1909. Über eigentümliche Kerneinschlüsse der Ganglienzellen bei der enzootischen Gehirn-Rückenmarksentzündungen der Pferde. *Z Infkrkh Haustiere*, 6, 348-356.
- JOEST, E. & DEGEN, K. 1911. Untersuchungen über pathologische Histologie, Pathogenese und postmortale Diagnose der seuchenhaften Gehirn-Rückenmarksentzündung (Bornaschen Krankheit) des Pferdes. *Z Infkrkh Haustiere*, 9, 1-98.
- JOHNSON, R. T. 1999. NERVOUS SYSTEM VIRUSES. *Encyclopedia of Virology*, 1013-20.
- KENNEDY, P. G. 2004. Viral encephalitis: causes, differential diagnosis, and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75 Suppl 1, i10-5.
- KISHI, M., NAKAYA, T., NAKAMURA, Y., KAKINUMA, M., TAKAHASHI, T. A., SEKIGUCHI, S., UCHIKAWA, M., TADOKORO, K., IKEDA, K. & IKUTA, K. 1995a. Prevalence of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from blood donors. *Med Microbiol Immunol*, 184, 135-8.
- KISHI, M., NAKAYA, T., NAKAMURA, Y., ZHONG, Q., IKEDA, K., SENJO, M., KAKINUMA, M., KATO, S. & IKUTA, K. 1995b. Demonstration of human Borna disease virus RNA in human peripheral blood mononuclear cells. *FEBS Lett*, 364, 293-7.
- KITANI, T., KURATSUNE, H., FUKU, I., NAKAMURA, Y., NAKAYA, T., ASAHI, S., TOBIUME,

- M., YAMAGUTI, K., MACHII, T., INAGI, R., YAMANISHI, K. & IKUTA, K. 1996. Possible correlation between Borna disease virus infection and Japanese patients with chronic fatigue syndrome. *Microbiol Immunol*, 40, 459-62.
- KOHL 1896. Ueber die 'Borna'sche Krankheit' der Pferde. *Berl Thierärztl Wochenschr* 12, 462-464.
- KOŁODZIEJEK, J., DURRWALD, R., HERZOG, S., EHRENSPERGER, F., LUSSY, H. & NOWOTNY, N. 2005. Genetic clustering of Borna disease virus natural animal isolates, laboratory and vaccine strains strongly reflects their regional geographical origin. *J Gen Virol*, 86, 385-398.
- KÖNIGLICHE C(K)OMMISSION FÜR DAS VETERINÄRWESEN ZU DRESDEN 1879–1911. Meningitis cerebro(-)spinalis bei Pferden. Gehirn-Rückenmarksentzündung der Pferde. Gehirnentzündung der Pferde. Bericht über das Verterinärwesen im Königreich(e) Sachsen. v. *Zahn and Jaensch, Dresden*, 1879, 24, 121-129; 1880, 25, 71; 1886, 21, 90, 100-101; 1890, 69-71; 1891, 36, 86-87; 1892, 37, 95-96; 1894, 39, 171-175; 1896, 41, 121-131; 1897, 42, 120-131; 1898, 43, 105; 1899, 44, 76-80; 1900, 45, 36-40; 1901, 46, 35-38; 1902, 47, 45-51; 1903, 48, 50-58; 1904, 49, 57-64; 1905, 50, 52-58; 1906, 51, 44-51; 1907, 52, 49-58; 1908, 53, 40-44; 1909, 54, 47-51; 1910, 55, 45-49; 1911, 56, 52-55; 1912, 57, 68-72.
- KORN, K., CORAS, R., BOBINGER, T., HERZOG, S. M., LUCKING, H., STOHR, R., HUTTNER, H. B., HARTMANN, A. & ENSSER, A. 2018. Fatal Encephalitis Associated with Borna Disease Virus 1. *N Engl J Med*, 379, 1375-1377.
- KUANG, Y., LACKAY, S. N., ZHAO, L. & FU, Z. F. 2009. Role of chemokines in the enhancement of BBB permeability and inflammatory infiltration after rabies virus infection. *Virus Res*, 144, 18-26.
- KUHN, J. H., DURRWALD, R., BAO, Y., BRIESE, T., CARBONE, K., CLAWSON, A. N., DERISI, J. L., GARTEN, W., JAHRLING, P. B., KOŁODZIEJEK, J., RUBBENSTROTH, D., SCHWEMMLE, M., STENGLEIN, M., TOMONAGA, K., WEISSENBOCK, H. & NOWOTNY, N. 2015. Taxonomic reorganization of the family Bornaviridae. *Arch Virol*, 160, 621-32.
- KUPKE, A., BECKER, S., WEWETZER, K., AHLEMEYER, B., EICKMANN, M. & HERDEN, C. 2019. Intranasal Borna Disease Virus (BoDV-1) Infection: Insights into Initial Steps and Potential Contagiosity. *Int J Mol Sci*, 20.
- LACKAY, S. N., KUANG, Y. & FU, Z. F. 2008. Rabies in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 38, 851-61, ix.
- LAFON, M. 2005. Rabies virus receptors. *J Neurovirol*, 11, 82-7.
- LANG, W. & ALEXANDER, M. 2000. *Tropenmedizin in Klinik und Praxis*, Stuttgart [u.a.], Thieme.
- LAOTHAMATAS, J., HEMACHUDHA, T., MITRABHAKDI, E., WANNAKRAIROT, P. & TULAYADAECHANONT, S. 2003. MR imaging in human rabies. *AJNR Am J Neuroradiol*, 24, 1102-9.
- LEDESMA, L. A., LEMOS, E. R. S. & HORTA, M. A. 2020. Comparing clinical protocols for the treatment of human rabies: the Milwaukee protocol and the Brazilian protocol (Recife). *Rev Soc Bras Med Trop*, 53, e20200352.
- LENTZ, T. L., BURRAGE, T. G., SMITH, A. L., CRICK, J. & TIGNOR, G. H. 1982. Is the acetylcholine receptor a rabies virus receptor? *Science*, 215, 182-4.
- LEWIS, P., FU, Y. & LENTZ, T. L. 2000. Rabies virus entry at the neuromuscular junction in nerve-muscle cocultures. *Muscle Nerve*, 23, 720-30.
- LI, J., MCGETTIGAN, J. P., FABER, M., SCHNELL, M. J. & DIETZSCHOLD, B. 2008. Infection of monocytes or immature dendritic cells (DCs) with an attenuated rabies virus results in DC maturation and a strong activation of the NFkappaB signaling pathway. *Vaccine*, 26, 419-26.
- LIESCHE, F., RUF, V., ZOUBAA, S., KALETKA, G., ROSATI, M., RUBBENSTROTH, D., HERDEN, C., GOEHRING, L., WUNDERLICH, S., WACHTER, M. F., RIEDER, G., LICHTMANNEGGER, I., PERMANETTER, W., HECKMANN, J. G., ANGSTWURM, K., NEUMANN, B., MARKL, B., HASCHKA, S., NILLER, H. H., SCHMIDT, B., JANTSCH, J., BROCHHAUSEN, C., SCHLOTTAU, K., EBINGER, A., HEMMER, B.,

- RIEMENSCHNEIDER, M. J., HERMS, J., BEER, M., MATIASEK, K. & SCHLEGEL, J. 2019. The neuropathology of fatal encephalomyelitis in human Borna virus infection. *Acta Neuropathol*, 138, 653-665.
- LIESCHE-STARNECKER, F., SCHIFFERER, M., SCHLEGEL, J., VOLLMUTH, Y., RUBBENSTROTH, D., DELBRIDGE, C., GEMPT, J., LORENZL, S., SCHNURBUS, L., MISGELD, T., ROSATI, M., BEER, M., MATIASEK, K., WUNDERLICH, S. & FINCK, T. 2022. Hemorrhagic lesion with detection of infected endothelial cells in human bornavirus encephalitis. *Acta Neuropathol*, 144, 377-379.
- LUDWIG, H. 2008. The biology of bornavirus. *APMIS Suppl*, 14-20.
- LUDWIG, H., BODE, L. & GOSZTONYI, G. 1988. Borna disease: a persistent virus infection of the central nervous system. *Prog Med Virol*, 35, 107-51.
- MALBON, A. J., DURRWALD, R., KOLODZIEJEK, J., NOWOTNY, N., KOBERA, R., POHLE, D., MULUNEH, A., DERVAS, E., CEBRA, C., STEFFEN, F., PATERNOSTER, G., GERSPACH, C. & HILBE, M. 2022. New World camelids are sentinels for the presence of Borna disease virus. *Transbound Emerg Dis*, 69, 451-464.
- MEYDING-LAMADÉ, U., STANGEL, M. & WEBER, J. 2021. *Neuroinfektiologie*, Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg Springer.
- MEYDING-LAMADE, U. E. A. 2018. *Virale Meningoenzephalitis, S1-Leitlinie* [Online]. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie Deutsche Gesellschaft für Neurologie. Available: <https://dgn.org/leitlinien/II-030-100-virale-meningoenzephalitis-2018/> [Accessed 29.11. 2022].
- MEYER, T., TAPPE, D., HASAN, D., RUST, M., SCHULZ, J. B., SCHIEFER, J. & TAUBER, S. C. 2022. „Borna disease virus 1“(BoDV-1)-Enzephalitis eines 18-Jährigen außerhalb des bisher bekannten Endemiegebietes. *DGNeurologie*, 5, 300-304.
- MITRABHAKDI, E., SHUANGSHOTI, S., WANNAKRAIROT, P., LEWIS, R. A., SUSUKI, K., LAOTHAMATAS, J. & HEMACHUDHA, T. 2005. Difference in neuropathogenic mechanisms in human furious and paralytic rabies. *J Neurol Sci*, 238, 3-10.
- MIYAMOTO, K. & MATSUMOTO, S. 1965. The nature of the Negri body. *J Cell Biol*, 27, 677-82.
- MORALES, J. A., HERZOG, S., KOMPTER, C., FRESE, K. & ROTT, R. 1988. Axonal transport of Borna disease virus along olfactory pathways in spontaneously and experimentally infected rats. *Med Microbiol Immunol*, 177, 51-68.
- MORCUENDE, S., DELGADO-GARCIA, J. M. & UGOLINI, G. 2002. Neuronal premotor networks involved in eyelid responses: retrograde transneuronal tracing with rabies virus from the orbicularis oculi muscle in the rat. *J Neurosci*, 22, 8808-18.
- MORI, I., NISHIYAMA, Y., YOKOCHI, T. & KIMURA, Y. 2005. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J Neurovirol*, 11, 129-37.
- MURPHY, F. A. & BAUER, S. P. 1974. Early street rabies virus infection in striated muscle and later progression to the central nervous system. *Intervirology*, 3, 256-68.
- MURPHY, F. A., BAUER, S. P., HARRISON, A. K. & WINN, W. C., JR. 1973a. Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses. Viral infection and transit from inoculation site to the central nervous system. *Lab Invest*, 28, 361-76.
- MURPHY, F. A., HARRISON, A. K., WINN, W. C. & BAUER, S. P. 1973b. Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses: infection of the central nervous system and centrifugal spread of virus to peripheral tissues. *Lab Invest*, 29, 1-16.
- NEGRI, A. 1903. Contributo allo studio dell'eziologia della rabbia. *Bol. Soc. Med. Chir. Pavia*, 2, 88-114.
- NILLER, H. H., ANGSTWURM, K., RUBBENSTROTH, D., SCHLOTTAU, K., EBINGER, A., GIESE, S., WUNDERLICH, S., BANAS, B., FORTH, L. F., HOFFMANN, D., HOPER, D., SCHWEMMLE, M., TAPPE, D., SCHMIDT-CHANASIT, J., NOBACH, D., HERDEN, C., BROCHHAUSEN, C., VELEZ-CHAR, N., MAMILOS, A., UTPATEL, K., EVERT, M., ZOUBAA, S., RIEMENSCHNEIDER, M. J., RUF, V., HERMS, J., RIEDER, G., ERRATH, M., MATIASEK, K., SCHLEGEL, J., LIESCHE-STARNECKER, F., NEUMANN, B., FUCHS, K., LINKER, R. A., SALZBERGER, B., FREILINGER, T., GARTNER, L., WENZEL, J. J., REISCHL, U., JILG, W., GESSNER, A., JANTSCH, J., BEER, M. & SCHMIDT, B. 2020. Zoonotic spillover infections with Borna disease virus

- 1 leading to fatal human encephalitis, 1999-2019: an epidemiological investigation. *Lancet Infect Dis*, 20, 467-477.
- NOBACH, D., BOURG, M., HERZOG, S., LANGE-HERBST, H., ENCARNACAO, J. A., EICKMANN, M. & HERDEN, C. 2015. Shedding of Infectious Borna Disease Virus-1 in Living Bicolored White-Toothed Shrews. *PLoS One*, 10, e0137018.
- NOSKE, K., BILZER, T., PLANZ, O. & STITZ, L. 1998. Virus-specific CD4+ T cells eliminate borna disease virus from the brain via induction of cytotoxic CD8+ T cells. *J Virol*, 72, 4387-95.
- PORTNER, K., WILKING, H., FRANK, C., BOHMER, M. M., STARK, K. & TAPPE, D. 2023. Risk factors for Borna disease virus 1 encephalitis in Germany - a case-control study. *Emerg Microbes Infect*, 12, e2174778.
- POSPISCHIL, A. 1981. [Comparative light and electron microscopic demonstration of virus-induced inclusion bodies]. *Zentralbl Veterinarmed B*, 28, 789-807.
- PRIESTNALL, S. L., SCHONIGER, S., IVENS, P. A., EICKMANN, M., BRACHTHAUSER, L., KEHR, K., TUPPER, C., PIERCY, R. J., MENZIES-GOW, N. J. & HERDEN, C. 2011. Borna disease virus infection of a horse in Great Britain. *Vet Rec*, 168, 380b.
- RATHELOT, J. A. & STRICK, P. L. 2006. Muscle representation in the macaque motor cortex: an anatomical perspective. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 8257-62.
- REAVES, E. J., SALMON-MULANOVICH, G., GUEVARA, C., KOCHER, T. J., STEINBACH, T. J., BENTZEL, D. E. & MONTGOMERY, J. M. 2012. Susceptibility and lack of evidence for a viremic state of rabies in the night owl monkey, *Aotus nancymaae*. *Virology*, 9, 95.
- REINMIEDL, J., SCHULZ, H., RUF, V. C., HERNANDEZ PETZSCHE, M. R., RISSLAND, J. & TAPPE, D. 2022. Healthcare-associated exposure to Borna disease virus 1 (BoDV-1). *J Occup Med Toxicol*, 17, 13.
- RICHT, J. A., GRABNER, A. & HERZOG, S. 2000. Borna disease in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 16, 579-95, xi.
- ROBERT KOCH-INSTITUT. 2022. *Tollwut RKI-Ratgeber* [Online]. Available: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Tollwut.html;jsessionid=FC0F8889FD6CCA86BDF035D8AA5C044E.internet052#doc2392880bodyText25](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Tollwut.html;jsessionid=FC0F8889FD6CCA86BDF035D8AA5C044E.internet052#doc2392880bodyText25) [Accessed 15.01. 2023].
- RUBBENSTROTH, D., BRIESE, T., DURRWALD, R., HORIE 堀江真行, M., HYNDMAN, T. H., KUHN, J. H., NOWOTNY, N., PAYNE, S., STENGLEIN, M. D., TOMONAGA 朝長啓造, K. & ICTV REPORT, C. 2021. ICTV Virus Taxonomy Profile: Bornaviridae. *J Gen Virol*, 102.
- SAFAIN, M. G., ROGUSKI, M., KRYZANSKI, J. T. & WELLER, S. J. 2015. A review of the combined medical and surgical management in patients with herpes simplex encephalitis. *Clin Neurol Neurosurg*, 128, 10-6.
- SARMENTO, L., LI, X. Q., HOWERTH, E., JACKSON, A. C. & FU, Z. F. 2005. Glycoprotein-mediated induction of apoptosis limits the spread of attenuated rabies viruses in the central nervous system of mice. *J Neurovirol*, 11, 571-81.
- SAUDER, C., MULLER, A., CUBITT, B., MAYER, J., STEINMETZ, J., TRABERT, W., ZIEGLER, B., WANKE, K., MUELLER-LANTZSCH, N., DE LA TORRE, J. C. & GRASSER, F. A. 1996. Detection of Borna disease virus (BDV) antibodies and BDV RNA in psychiatric patients: evidence for high sequence conservation of human blood-derived BDV RNA. *J Virol*, 70, 7713-24.
- SCHLOTTAU, K., FORTH, L., ANGSTWURM, K., HOPER, D., ZECHER, D., LIESCHE, F., HOFFMANN, B., KEGEL, V., SEEHOFER, D., PLATEN, S., SALZBERGER, B., LIEBERT, U. G., NILLER, H. H., SCHMIDT, B., MATIASEK, K., RIEMENSCHNEIDER, M. J., BROCHHAUSEN, C., BANAS, B., RENDERS, L., MOOG, P., WUNDERLICH, S., SEIFERT, C. L., BARREIROS, A., RAHMEL, A., WEISS, J., TAPPE, D., HERDEN, C., SCHMIDT-CHANASIT, J., SCHWEMMLE, M., RUBBENSTROTH, D., SCHLEGEL, J., PIETSCH, C., HOFFMANN, D., JANTSCH, J. & BEER, M. 2018. Fatal Encephalitic Borna Disease Virus 1 in Solid-Organ Transplant Recipients. *N Engl J Med*, 379, 1377-1379.
- SCHLOTTAU, K., HOFFMANN, B., HOMEIER-BACHMANN, T., FAST, C., ULRICH, R. G.,

- BEER, M. & HOFFMANN, D. 2017a. Multiple detection of zoonotic variegated squirrel bornavirus 1 RNA in different squirrel species suggests a possible unknown origin for the virus. *Arch Virol*, 162, 2747-2754.
- SCHLOTTAU, K., JENCKEL, M., VAN DEN BRAND, J., FAST, C., HERDEN, C., HOPER, D., HOMEIER-BACHMANN, T., THIELEBEIN, J., MENSING, N., DIENDER, B., HOFFMANN, D., ULRICH, R. G., METTENLEITER, T. C., KOOPMANS, M., TAPPE, D., SCHMIDT-CHANASIT, J., REUSKEN, C. B., BEER, M. & HOFFMANN, B. 2017b. Variegated Squirrel Bornavirus 1 in Squirrels, Germany and the Netherlands. *Emerg Infect Dis*, 23, 477-481.
- SCHMUTZHARD, E. 2020. Infektionen des ZNS. In: SUERBAUM, S., BURCHARD, G.-D., KAUFMANN, S. H. E. & SCHULZ, T. F. (eds.) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- SCHULZE, V., LURZ, P. W. W., FERRARI, N., ROMEO, C., STEELE, M. A., MARINO, S., MAZZAMUTO, M. V., CALVIGNAC-SPENCER, S., SCHLOTTAU, K., BEER, M., ULRICH, R. G. & EHLERS, B. 2020. Search for polyoma-, herpes-, and bornaviruses in squirrels of the family Sciuridae. *Virol J*, 17, 42.
- SCHÜNKE, M., SCHULTE, E. & SCHMACHER, U. 2015. Prometheus LernAtlas der Anatomie *Kopf, Hals und Neuroanatomie* 4. Auflage ed. Stuttgart Georg Thieme Verlag Stuttgart New York.
- SEIFRIED, O. & SPATZ, H. 1930. Die Ausbreitung der enzephalitischen Reaktion bei der Bornaschen Krankheit der Pferde und deren Beziehung zu der Enzephalitis epidemica, der Heine-Medinschen Krankheit und der Lyssa des Menschen. Eine vergleichend-pathologische Studie. *Z ges Neurol Psychiat*, 124, 317-383.
- SHUKLA, N. D., TIWARI, V. & VALYI-NAGY, T. 2012. Nectin-1-specific entry of herpes simplex virus 1 is sufficient for infection of the cornea and viral spread to the trigeminal ganglia. *Mol Vis*, 18, 2711-6.
- SMITH, G. 2012. Herpesvirus transport to the nervous system and back again. *Annu Rev Microbiol*, 66, 153-76.
- SOLBRIG, M. V., SCHLABERG, R., BRIESE, T., HORSCROFT, N. & LIPKIN, W. I. 2002. Neuroprotection and reduced proliferation of microglia in ribavirin-treated bornavirus-infected rats. *Antimicrob Agents Chemother*, 46, 2287-91.
- SOLOMON, T., HART, I. J. & BEECHING, N. J. 2007. Viral encephalitis: a clinician's guide. *Pract Neurol*, 7, 288-305.
- SOLOMON, T., MICHAEL, B. D., SMITH, P. E., SANDERSON, F., DAVIES, N. W., HART, I. J., HOLLAND, M., EASTON, A., BUCKLEY, C., KNEEN, R., BEECHING, N. J., NATIONAL ENCEPHALITIS GUIDELINES, D. & STAKEHOLDER, G. 2012. Management of suspected viral encephalitis in adults--Association of British Neurologists and British Infection Association National Guidelines. *J Infect*, 64, 347-73.
- STEINER, I., BUDKA, H., CHAUDHURI, A., KOSKINIEMI, M., SAINIO, K., SALONEN, O. & KENNEDY, P. G. 2010. Viral meningoencephalitis: a review of diagnostic methods and guidelines for management. *Eur J Neurol*, 17, 999-e57.
- STEINER, I., SCHMUTZHARD, E., SELLNER, J., CHAUDHURI, A., KENNEDY, P. G., EUROPEAN FEDERATION OF NEUROLOGICAL, S. & EUROPEAN NEUROLOGIC, S. 2012. EFNS-ENS guidelines for the use of PCR technology for the diagnosis of infections of the nervous system. *Eur J Neurol*, 19, 1278-91.
- STEPIEN, A. E., TRIPODI, M. & ARBER, S. 2010. Monosynaptic rabies virus reveals premotor network organization and synaptic specificity of cholinergic partition cells. *Neuron*, 68, 456-72.
- STITZ, L., BILZER, T. & PLANZ, O. 2002. The immunopathogenesis of Borna disease virus infection. *Front Biosci*, 7, d541-55.
- STITZ, L., PLANZ, O., BILZER, T., FREI, K. & FONTANA, A. 1991. Transforming growth factor-beta modulates T cell-mediated encephalitis caused by Borna disease virus. Pathogenic importance of CD8+ cells and suppression of antibody formation. *J Immunol*, 147, 3581-6.
- STITZ, L., SOBBE, M. & BILZER, T. 1992. Preventive effects of early anti-CD4 or anti-CD8 treatment on Borna disease in rats. *J Virol*, 66, 3316-23.

- TANG, Y., RAMPIN, O., GIULIANO, F. & UGOLINI, G. 1999. Spinal and brain circuits to motoneurons of the bulbospongiosus muscle: retrograde transneuronal tracing with rabies virus. *J Comp Neurol*, 414, 167-92.
- TAPPE, D., FRANK, C., HOMEIER-BACHMANN, T., WILKING, H., ALLENDORF, V., SCHLOTTAU, K., MUNOZ-FONTELA, C., ROTTSTEGGE, M., PORT, J. R., RISSLAND, J., EISERMANN, P., BEER, M. & SCHMIDT-CHANASIT, J. 2019a. Analysis of exotic squirrel trade and detection of human infections with variegated squirrel bornavirus 1, Germany, 2005 to 2018. *Euro Surveill*, 24.
- TAPPE, D., FRANK, C., OFFERGELD, R., WAGNER-WIENING, C., STARK, K., RUBBENSTROTH, D., GIESE, S., LATTWEIN, E., SCHWEMMLE, M., BEER, M., SCHMIDT-CHANASIT, J. & WILKING, H. 2019b. Low prevalence of Borna disease virus 1 (BoDV-1) IgG antibodies in humans from areas endemic for animal Borna disease of Southern Germany. *Sci Rep*, 9, 20154.
- TAPPE, D., SCHLOTTAU, K., CADAR, D., HOFFMANN, B., BALKE, L., BEWIG, B., HOFFMANN, D., EISERMANN, P., FICKENSCHER, H., KRUMBHOLZ, A., LAUFS, H., HUHNENDORF, M., ROSENTHAL, M., SCHULZ-SCHAEFFER, W., ISMER, G., HOTOP, S. K., BRONSTRUP, M., OTT, A., SCHMIDT-CHANASIT, J. & BEER, M. 2018. Occupation-Associated Fatal Limbic Encephalitis Caused by Variegated Squirrel Bornavirus 1, Germany, 2013. *Emerg Infect Dis*, 24, 978-987.
- TOKUNAGA, T., YAMAMOTO, Y., SAKAI, M., TOMONAGA, K. & HONDA, T. 2017. Antiviral activity of favipiravir (T-705) against mammalian and avian bornaviruses. *Antiviral Res*, 143, 237-245.
- TREPEL, M. 2017. *Neuroanatomie*, München, Deutschland, Elsevier.
- TUNKEL, A. R., GLASER, C. A., BLOCH, K. C., SEJVAR, J. J., MARRA, C. M., ROOS, K. L., HARTMAN, B. J., KAPLAN, S. L., SCHELD, W. M., WHITLEY, R. J. & INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF, A. 2008. The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 47, 303-27.
- TYLER, K. L. 2018. Acute Viral Encephalitis. *N Engl J Med*, 379, 557-566.
- UGOLINI, G. 2010. Advances in viral transneuronal tracing. *J Neurosci Methods*, 194, 2-20.
- UGOLINI, G. 2011. Rabies virus as a transneuronal tracer of neuronal connections. *Adv Virus Res*, 79, 165-202.
- UGOLINI, G., KLAM, F., DOLDAN DANS, M., DUBAYLE, D., BRANDI, A. M., BUTTNER-ENNEVER, J. & GRAF, W. 2006. Horizontal eye movement networks in primates as revealed by retrograde transneuronal transfer of rabies virus: differences in monosynaptic input to "slow" and "fast" abducens motoneurons. *J Comp Neurol*, 498, 762-85.
- VENKATESAN, A., TUNKEL, A. R., BLOCH, K. C., LAURING, A. S., SEJVAR, J., BITNUN, A., STAHL, J. P., MAILLES, A., DREBOT, M., RUPPRECHT, C. E., YODER, J., COPE, J. R., WILSON, M. R., WHITLEY, R. J., SULLIVAN, J., GRANEROD, J., JONES, C., EASTWOOD, K., WARD, K. N., DURRHEIM, D. N., SOLBRIG, M. V., GUO-DONG, L., GLASER, C. A. & INTERNATIONAL ENCEPHALITIS, C. 2013. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: consensus statement of the international encephalitis consortium. *Clin Infect Dis*, 57, 1114-28.
- VEZZANI, A., FUJINAMI, R. S., WHITE, H. S., PREUX, P. M., BLUMCKE, I., SANDER, J. W. & LOSCHER, W. 2016. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathol*, 131, 211-234.
- VON SIND, J. B. 1767, 1781. *Der im Feld und auf der Reise geschwind heilende Pferdearzt, welcher einen gründlichen Unterricht von den gewöhnlichsten Krankheiten der Pferde im Feld und auf der Reise wie auch einen auserlesenen Vorrath der nützlichsten und durch die Erfahrung bewährteste Heilmitteln eröffnet*, Frankfurt und Leipzig bey Heinrich LUDWIG Brønner
- WACHARAPLUESADEE, S. & HEMACHUDHA, T. 2001. Nucleic-acid sequence based amplification in the rapid diagnosis of rabies. *Lancet*, 358, 892-3.
- WALTHER 1896. Gehirn-Rückenmarksentzündung der Pferde in der Amtshauptmannschaft Borna. In: Mitteilungen aus den Berichten der Bezirksthierärzte auf das Jahr 1896. *Ber Veterinärwesen Königreich Sachsen*, 41, 123-125.

- WALTHER 1897. Gehirn-Rückenmarksentzündung der Pferde in der Amtshauptmannschaft Borna. In: Mitteilungen aus den Berichten der Bezirksthierärzte auf das Jahr 1897. *Ber Verterinärwesen Königreich Sachsen*, 42, 122-123.
- WALTHER 1899. Gehirn-Rückenmarksentzündung bei Pferden und Schafen Amtshauptmannschaft Borna. In: Mitteilungen aus den Berichten der Bezirksthierärzte auf das Jahr 1899. *Ber Verterinärwesen Königreich Sachsen*, 44, 80.
- WEISSENBOCK, H., BAGO, Z., KOLODZIEJEK, J., HAGER, B., PALMETZHOFFER, G., DURRWALD, R. & NOWOTNY, N. 2017. Infections of horses and shrews with Bornaviruses in Upper Austria: a novel endemic area of Borna disease. *Emerg Microbes Infect*, 6, e52.
- WOLFF, T., HEINS, G., PAULI, G., BURGER, R. & KURTH, R. 2006. Failure to detect Borna disease virus antigen and RNA in human blood. *J Clin Virol*, 36, 309-11.
- WONG, S. H., JENKINSON, M. D., FARAGHER, B., THOMAS, S., CROOKS, D. & SOLOMON, T. 2010. Brain biopsy in the management of neurology patients. *Eur Neurol*, 64, 42-5.
- WORLD HEALTH, O. 2018a. Rabies vaccines: WHO position paper, April 2018 - Recommendations. *Vaccine*, 36, 5500-5503.
- WORLD HEALTH, O. 2018b. *WHO expert consultation on rabies: third report*, Geneva, World Health Organization.
- YAMADA, K., NOGUCHI, K., KIMITSUKI, K., KAIMORI, R., SAITO, N., KOMENO, T., NAKAJIMA, N., FURUTA, Y. & NISHIZONO, A. 2019. Reevaluation of the efficacy of favipiravir against rabies virus using in vivo imaging analysis. *Antiviral Res*, 172, 104641.
- ZWICK, W. 1939. Ueber die Bornsche Krankheit. *Z Infkrkh Haustiere*, 54, 1-7.
- ZWICK, W. & WITTE, J. 1931. Über die Widerstandsfähigkeit des Virus der Bornaschen Krankheit gegen Trocknung und über Schutzimpfungsversuche mit getrockneter virushaltiger Gehirnschubstanz. *Berl Tierärztl Wochenschr*, 47, 33-35.
- ZWICK, W. & WITTE, J. 1932. Zur Frage der Schutzimpfung und der Inkubationsfrist bei der Bornaschen Krankheit. *Arch Tierheilk*, 64, 116-124.



## 8. Anhang zu Materialien

### 8.1. Materialien

#### 8.1.1. Verwendete Antikörper

Tabelle 10: Primäre Antikörper

Zielantigen	Antikörperbeschreibung	Hersteller
Bo18	Maus Anti Borna	Nicht kommerzielle Verbreitung über das Friedrich-Löffler-Institut
CD45	Maus IgG	DCS Innovative Diagnostik-Systeme Dr. Christian Sartori GmbH&Co.KG, (Hamburg, Deutschland)
CD3	Polyklonal, Kaninchen	Dako, (Glostrup, Dänemark)
CD20	Polyklonal, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, (Waltham, USA)

Tabelle 11: Sekundäre Antikörper

Antikörper	Spezies	Hersteller
Biotinyliert Anti-Maus	Ziege	Vector Laboratories, (Burlingame, CA, USA)
Biotinyliert Anti-Kaninchen	Ziege	Vector Laboratories, (Burlingame, CA, USA)

#### 8.1.2. Chemikalien

Tabelle 12: Chemikalien

Substanzen	Formel	Hersteller
Citronensäuremonohydrat	$C_6H_{10}O_8$	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Kaliumchlorid	KCL	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Kaliumhydrogenphosphat	$KH_2PO_4$	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Natriumchlorid	NaCL	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Wasserstoffperoxid 30%	$H_2O_2$	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
di-Natriumhydrogenphosphat	$Na_2HPO_4$	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Natriumhydroxid	NaOH	Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)

ImmPACT DAB	Dako REAL Detection System Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse	Vektor Laboratory, (Bulingame, USA)
Avidin-Biotin Blocking Kit		Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
ABC Kit		Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Organo/Limonene Mount	Eindeckelmedium	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, (Steinheim, Deutschland)
Bovines Serumalbumin		Biochrom AG, (Berlin, Deutschland)
Normales Ziegenserum		Vector Laboratory, (Burlingame, USA)
Biotynlierter Ziege Anti-Maus IgG		Vector Laboratory, (Burlingame, USA)
Biotynlierter Ziege Anti-Kannichen IgG		Vector Laboratory, (Burlingame, USA)
Pertex		Histolab Products AB, (Göteborg, Schweden)
Meyer`s Hämalaun		Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Alkohole		Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Xylol		Carl Roth GmbH & Co. KG, (Karlsruhe, Deutschland)
Gelatine von Kaltwasserfischhaut		Sigma-Aldrich Chemie GmbH, (Steinheim, Deutschland)
Natriumchlorid	NaCL	Labochem International neoFroxx GmbH, (Einhausen, Deutschland)
TRIS	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	Biofroxx neoFroxx GmbH, (Einhausen, Deutschland)
EDTA pH 8.0		PanReac Appllichem, (Darmstadt, Deutschland)
Salzsäure 25%	HCl	Merck KGaA, (Darmstadt, Deutschland)

### 8.1.3. Puffer und Lösungen

**Tabelle 13: Puffer**

Inhalt	Dosierung
PBS-Puffer (10x, pH 7,4)	
NaCl	140mM
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10mM
KCL	2,7mM
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10mM
Blocking-Puffer	
PBS-Puffer	1 x
Gelatine von Kaltwasserfischhaut	0,2%
Normales Ziegenserum	2,5%

Triton X100	0,1%
Bovines Serumalbumin	1%
Citrat-Puffer (pH 6,0)	
Citronensäure-Monohydrat	2,1g
NaOH	auf pH 6 einstellen
Aqua dest.	0,5 l
TBS Puffer (10x, pH 7,6)	
Aqua dest.	1,0 l
Tris	121 g
NaCl	90 g
HCl 25%	auf pH 7,6 einstellen
TRIS/EDTA-Puffer (pH 9,0)	
EDTA-Lösung	0,5 M
Aqua dest.	1500ml
Tris	2,42
HCl 25%	auf pH 9,0 einstellen

#### 8.1.4. Kits

Tabelle 14: Kits

Kit	Hersteller
ABC-Kit	Vector Laboratory, (Burlingame, USA)
Avidin/Biotin Blocking Kit	Vector Laboratory, (Burlingame, USA)
ImmPACT DAB	Vector Laboratory, (Burlingame, USA)

#### 8.1.5. Arbeitsgeräte

Tabelle 15: Geräte

Gerät	Modell	Hersteller
Dampfgarer	TEFAL Steam cuisine	Groupe SEB Deutschland GmbH, (Frankfurt am Main, Deutschland)
Mikrotom	HM355S	Thermo Fisher Scientific Inc., (Waltham, USA)
pH Meter	EL- 30	Mettler-Toledo GmbH, (Gießen, Deutschland)
Vortexmischer	Minishaker MS1	IKA-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Deutschland)
Kühlplatte	COP 20	Medite GmbH, (Burgdorf, Deutschland)
Pipetten	Research	Eppendorf AG,

		(Hamburg, Deutschland)
Magnetrührer	RCT basic	IKA-Werke GmbH & Co. KG, (Staufen, Deutschland)
Lichtmikroskop	CH-2	Olympus, (Tokio, Japan)
Immunfärbeautomat	Benchmark XL	Ventana, Medical Systems, (Tucson, AZ, USA)
Digital Slide Scanner	Aperio AT2	Leica Biosystems Nussloch GmbH, (Nußloch, Deutschland)
Feinwaage	EMB 200-2	Kern & Sohn GmbH, (Balingen, Deutschland)
Wasserbad	Aqualine AL 12	Lauda Dr. R. Wobser GmbH &Co.KG, (Lauda-Königshofen, Deutschland)
Schüttelplatte	KS125basic	IKA-Werke GmbH & Co. KG, (Staufen, DE)
Zentrifuge	4K15	Sigma, (Deisenhofen, Deutschland)
Schüttelgerät	CAT RM5-30V	neoLab, (Heidelberg, Deutschland)

### 8.1.6. Verbrauchsmaterialien

Tabelle 16: Verbrauchsmaterialien

Material	Hersteller
Deckgläser	Thermo Fisher Scientific Gerhard Menzel B.V. & Co. KG, (Braunschweig, Deutschland)
Mikrotomklingen R35	Feather, (Osaka, Japan)
Objektträger Superfrost Plus	Thermo Fisher Scientific Gerhard Menzel B.V. & Co. KG, (Braunschweig, Deutschland)
Serologische Pipetten	Sarstedt AG & Co., (Nümbrecht Deutschland)
Reagenzröhrchen	Sarstedt AG & Co., (Nümbrecht Deutschland)

### 8.1.7. Software

Tabelle 17: Software

Software	Hersteller
Microsoft Office 365 Version 16.54	Microsoft, (Redmond, WA, USA)

---

ImageJ 1.53a	<i>public domain</i> , Open Source) Wayne Rasband, (National Institutes of Health, USA)
SPSS Statistics Version 27	IBM, (Armonk, NY, USA)
Aperio eSlide Manager Version 12.4.2.5010	Leica Biosystems, (Buffalo Grove, IL, USA)

---

## 9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zweifarbiges Weißzahnspitzmaus.....	8
Abbildung 2: Geografische Kartierung der gemeldeten BoDV-1 Infektionen.....	9
Abbildung 3: Darstellung des viralen Eintritts in das ZNS über eine hämatogene Infektion .....	11
Abbildung 4: MRT-Charakteristik im Verlauf .....	19
Abbildung 5: Mikroskopische Veränderungen der humanen Bornavirus-Enzephalitis .....	20
Abbildung 6: Exemplarische Bilder der immunhistochemischen Färbungen .....	28
Abbildung 7: Bildanalyse und Auszählung .....	31
Abbildung 8: Mann-Whitney-U-Test.....	33
Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve .....	34
Abbildung 10: Immunsuppressive Therapie .....	36
Abbildung 11: Klinischer Verlauf M1 .....	37
Abbildung 12: Klinischer Verlauf M2 .....	38
Abbildung 13: Klinischer Verlauf M3 .....	39
Abbildung 14: Klinischer Verlauf M4 .....	40
Abbildung 15: Klinischer Verlauf M5 .....	41
Abbildung 16: Klinischer Verlauf M7 .....	42
Abbildung 17: Klinischer Verlauf M8 .....	43
Abbildung 18: Legende zu den Abbildungen 19 und 20 .....	45
Abbildung 19: BoDV-1- und Lymphozyten-Verteilung M1-M4.....	46
Abbildung 20: BoDV-1- und Lymphozyten-Verteilung M5-M8.....	47
Abbildung 21: Kaplan-Meier-Kurve .....	49
Abbildung 22: Lymphozytenverteilung P1-P5 .....	50
Abbildung 23: Lymphozytenverteilung S1-S4 .....	50
Abbildung 24: Lymphozytenverteilung A1 und A2 .....	51
Abbildung 25: BoDV-1 Verteilung P1-P5.....	52
Abbildung 26: BoDV-1 Verteilung S1-S4 .....	53
Abbildung 27: BoDV-1 Verteilung A1 und A2 .....	53
Abbildung 28: Vergleich der Lymphozyten mit den BoDV-1-infizierten Zellen .....	56
Abbildung 29: Korrelation der Lymphozyten gegen die BoDV-1 Virusverteilung.....	56
Abbildung 30: BoDV-1 Verteilung in der Medulla oblongata .....	57
Abbildung 31: Übergang Medulla oblongata ins Rückenmark M5 .....	58
Abbildung 32: Medulla oblongata P2 .....	59
Abbildung 33: Übersicht der Lymphozytenverteilung im ZNS der humanen Fälle .....	60
Abbildung 34: Übersicht der Lymphozytenverteilung im ZNS der Tiere .....	60
Abbildung 35: Übersicht der BoDV-1 Virusverteilung im ZNS .....	61
Abbildung 36: Saisonalität von BoDV-1 .....	63
Abbildung 37: Verschaltung der Geschmacksbahn .....	66
Abbildung 38: Wege der Ausbreitung von RABV.....	72

## 10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Untersuchte Gehirnregionen .....	23
Tabelle 2: Kollektiv der erkrankten Menschen und Tiere.....	24
Tabelle 3: Immunhistochemie CD3 und CD20 .....	28
Tabelle 4: Immunhistochemie Bo18 und CD45 .....	29
Tabelle 5: Zählmethode der unterschiedlichen immunhistochemischen Marker .....	30
Tabelle 6: Symptome der Tiere.....	55
Tabelle 7: Korrelation nach Spearman's rho .....	57
Tabelle 8: Kruskal-Wallis Test zur Virusverteilung in der Medulla oblongata .....	58
Tabelle 9: Direkter Vergleich von Rabies und BoDV-1.....	74
Tabelle 10: Primäre Antikörper .....	89
Tabelle 11: Sekundäre Antikörper .....	89
Tabelle 12: Chemikalien.....	89
Tabelle 13: Puffer .....	90
Tabelle 14: Kits .....	91
Tabelle 15: Geräte .....	91
Tabelle 16: Verbrauchsmaterialien.....	92
Tabelle 17: Software.....	92

## 11. Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Yannik Vollmuth

Geburtsdatum: 01.07.1997

Geburtsort: Aschaffenburg

### Ausbildung

10/2023	Arzt in Weiterbildung Dr. von Haunersches Kinderspital LMU	München
2019 – 2023	Technische Universität München (Klinischer Abschnitt)	München
2016 - 2019	Ludwig-Maximilians-Universität (Vorklinik)	München
2008 - 2016	PTI Gymnasium Dieburg (Abitur: 1,0) Leistungskurs: Erdkunde und Biologie	Dieburg

### Berufliche Erfahrungen

12-04/2023	Praktisches Jahr (Chirurgie Uniklinik Heidelberg)
09-12/2022	Praktisches Jahr (Infektiologie Aarhus University Hospital Dänemark)
05-09/2022	Praktisches Jahr (Dr. von Haunerschen Kinderspital München)
09-10/2021	Famulatur (Kinderklinik Klinikum Aschaffenburg)
02-03/2021	Famulatur (Notaufnahme Klinikum Aschaffenburg)
09-10/2020	Famulatur (Kinderarztpraxis Dr. Scheuermeyer Haibach)
09-10/2019	Famulatur (Neonatologie, Kinderklinik Klinikum Aschaffenburg)
09-10/2018	Pflegepraktikum (Kinderklinik Klinikum Aschaffenburg)
03-04/2017	Pflegepraktikum (Kinder und Jugendpsychiatrie Klinikum Aschaffenburg)
07-08/2016	Pflegepraktikum (Allgemeinchirurgie Asklepios Klinik Seligenstadt)



## Veröffentlichungen

LIESCHE-STARNECKER, F., SCHIFFERER, M., SCHLEGEL, J., **VOLLMUTH, Y.**, RUBBENSTROTH, D., DELBRIDGE, C., GEMPT, J., LORENZL, S., SCHNURBUS, L., MISGELD, T., ROSATI, M., BEER, M., MATIASEK, K., WUNDERLICH, S. & FINCK, T. 2022. Hemorrhagic lesion with detection of infected endothelial cells in human bornavirus encephalitis. *Acta Neuropathol*, 144, 377-379.

GROSSE, L., LIEFTUCHTER, V., **VOLLMUTH, Y.**, HOFFMANN, F., OLIVIERI, M., REITER, K., TACKE, M., HEINEN, F., BORGGRAEFE, I., OSTERMAN, A., FORSTNER, M., HUBNER, J., VON BOTH, U., BIRZELE, L., ROHLFS, M., SCHOMBURG, A., BOHMER, M. M., RUF, V., CADAR, D., MUNTAU, B., PORTNER, K. & TAPPE, D. 2023. First detected geographical cluster of BoDV-1 encephalitis from same small village in two children: therapeutic considerations and epidemiological implications. *Infection*, 1-16.

## Engagement und Weiterbildung

- Preisträger beim TUM MEC OPEN Wettbewerb zur Verbesserung der medizinischen Lehre
- Kongressbeitrag 20th International Congress of Neuropathology 2023
- Kongressbeitrag 12th European Congress of Neuropathology 2021
- Kongressbeitrag 33<sup>rd</sup> ESVN-ECVN Symposium 2021
- Tätigkeit als Helfer in der Epidemie SARS-CoV2 (Gesundheitsamt/Impfzentrum Aschaffenburg)
- Organisation und Begleitung von Studenten im Mentoringprojekt MED ME der Fakultät für Medizin
- Tropenmedizin interaktiv einwöchige Fortbildung DTG Schloss Rauischholzhausen 2022
- Wahlfach Tropenmedizin LMU (Dr. Camilla Rothe), Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin
- Wahlfach internistische Sonographie TUM (Prof. Dr. Konrad Stock), DEGUM-Studenten Zertifikat

## Mitgliedschaften

- Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin e.V. (DGKJ)
- Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Infektiologie (DGI)
- Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI)
- Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin, Reisemedizin und Global Health (DTG)
- Mitglied im Leo Club Aschaffenburg (Jugendorganisation des Lions Club international)

## Fremdsprachenkenntnisse

Deutsch	Muttersprache
Englisch	C1
Dänisch	A1 (A2 im Lernprozess)

## Hobbys und Interessen

Segeln, Mountainbike, Joggen, Skifahren, Schach

## 12. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Priv.-Doz. Dr. med. Friederike Liesche-Starnecker, die mir nicht nur die Möglichkeit gegeben hat eine Dissertation über dieses spannende Thema der „Bornavirus-Enzephalitis“ anzufertigen, sondern mich auch so für die faszinierende Welt der Forschung und Wissenschaft begeistern konnte, dass diese ein wichtiger Teil meiner zukünftigen Laufbahn sein wird. Sie hat mit ihrer fachlichen Expertise, mit ihrer geduldigen und äußerst hilfsbereiten Art wesentlich zu dem Gelingen dieser experimentellen Arbeit beigetragen.

Des Weiteren danke ich herzlich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Jürgen Schlegel, der mich in sein Team aufgenommen, mich stets gefördert hat und mich immer beim Mittagessen durch kritisches Hinterfragen der Sachverhalte zum Weiterdenken angeregt hat.

Zudem danke ich besonders meinem Mentor Univ.-Prof. Dr. med. vet. Kaspar Matiasek, der mich auf der veterinärmedizinischen Seite meiner Arbeit jederzeit unterstützte und immer ein offenes Ohr für Fragen und Probleme hatte.

Ich möchte mich zudem bei Sandra Bauer, Christian Schustetter, Tomal Matt und Lisa Pichel für die Einführung in die spannende Welt der Laborarbeit und Immunhistochemie bedanken.

Diese Doktorarbeit möchte ich meinen lieben Eltern Tanja und Thomas Vollmuth widmen. Sie haben mich mein Leben lang ausnahmslos unterstützt und mich in schwierigen Situationen immer aufgemuntert und immer an mich geglaubt. Ihnen verdanke ich, dass ich heute Arzt bin. Vielen Dank für alles!! Meinem kleinen Bruder Nicolas möchte ich ebenfalls sehr danken, auch wenn ich dies nie so zeige.

Darüber hinaus danke ich besonders meinen Großeltern (Oma Uschi, Opa Ludwig, Oma Marga und Opa Hans) die ebenfalls wie meine Eltern, immer hinter mir standen und mich immer unterstützen haben.

Ein besonderer Dank geht an meine Münchner Freunde Leonhard Stark, Helena Staehler und Jean-François Siani, die mir während meines Studiums und auch neben meiner Doktorarbeit stets fachlich und als sehr gute Freunde zur Seite gestanden haben.

Nicht zuletzt möchte ich mich sehr bei meinen besten Freunden aus der Heimat Christoph Bathon, Gregor Lemke, Albert Lemke und Valentin Breitingner für euren besonderen Teil in meinem Leben bedanken.

# Anhang I

## Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die bei der promotionsführenden Einrichtung  
Fakultät für Medizin

---

der TUM zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel:

Vergleichende Neuropathologie der Bornavirus-Enzephalitis in Mensch und Tier und Korrelation mit dem klinischen Verlauf

---

in \_\_\_\_\_ dem  
Fachgebiet für Neuropathologie am Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie der Technischen  
Universität München

unter der Anleitung und Betreuung durch: Priv.-Doz. Dr. med. Friederike Liesche-Starnecker ohne sonstige Hilfe erstellt und  
bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Ab. 6 und 7 Satz 2 angebotenen Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von  
Dissertationen sucht, oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise  
erledigt.

Ich habe die Dissertation in dieser oder ähnlicher Form in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung  
vorgelegt.

Die vollständige Dissertation wurde in \_\_\_\_\_  
veröffentlicht. Die promotionsführende Einrichtung

---

hat der Veröffentlichung zugestimmt.

Ich habe den angestrebten Doktorgrad noch nicht erworben und bin nicht in einem früheren Promotionsverfahren für  
den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.

Ich habe bereits am \_\_\_\_\_ bei der Fakultät für \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ der  
Hochschule \_\_\_\_\_ unter  
Vorlage einer Dissertation mit dem Thema \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ die  
Zulassung zur Promotion beantragt mit dem Ergebnis: \_\_\_\_\_

Die öffentlich zugängliche Promotionsordnung der TUM ist mir bekannt, insbesondere habe ich die Bedeutung von § 28  
(Nichtigkeit der Promotion) und § 29 (Entzug des Doktorgrades) zur Kenntnis genommen. Ich bin mir der Konsequenzen einer  
falschen Eidesstattlichen Erklärung bewusst.

Mit der Aufnahme meiner personenbezogenen Daten in die Alumni-Datei bei der TUM bin ich

einverstanden,  nicht einverstanden.

Ort, Datum, Unterschrift