

**Institut für Zoomorphologie,
Zellbiologie u. Parasitologie**

Prof. Dr. Heinz Mehlhorn



Heinrich-Heine-Universität
D-40225 Düsseldorf
Universitätsstr. 1

An das
BMLEV und BLE

53168 Bonn



Tel: 0211/8113052
Fax: 0211/8114499
Telex 8 587 348 uni d
E-Mail: mehlhorn@uni-duesseldorf.de

Düsseldorf, den 31.07.2008

Abschlussbericht

zum Forschungsprojekt (06HS041- 046)

***„Entomologische Untersuchungen zur Bekämpfung der
Blauzungenkrankheit“***

Prof. Dr. H. Mehlhorn

Federführend für die Arbeitsgruppen

Inhalt

1. Aufgabenstellung

2. Ergebnisse

2.1.: Ergebnisse aus Nordrhein-Westfalen, Saarland und Rheinland-Pfalz
(AG Mehlhorn, Schaub)

2.2.: Ergebnisse aus Niedersachsen, Hamburg, Bremen und Schleswig-Holstein (AG Kiel)

2.3.: Ergebnisse aus Niedersachsen (AG Liebisch)

2.4.: Ergebnisse aus Thüringen (AG Werner)

2.5.: Ergebnisse aus Hessen (AG Bauer)

2.6.: Ergebnisse aus Berlin und Brandenburg (AG Bauer und Clausen)

2.7.: Ergebnisse aus Bayern (AG Geier)

3. Bewertung der Ergebnisse

3.1. Trät *Culicoides imicola* im Fanggebiet auf?

3.2. Welche Arten herrschten vor?

3.3. Waren die Bestimmungen innerhalb der Arbeitsgruppen einheitlich?

3.4. Gab es gnitzenfreie Zeiten?

3.5. Welchen Einfluß haben Temperaturen auf die Gnitzen?

3.6. Welche Übereinstimmungen bzw. Unterschiede gab es bei den Fängen in 2007 und 2008?

3.7. Wann fanden sich 2007 die ersten Bluetongue – Viren in Gnitzen auf den beprobten Höfen?

3.8. Welche Gnitzen-Arten erwiesen sich als viruspositiv?

3.9. Gab es 2007 und 2008 gleichzeitig positive Gnitzen und kranke Tiere auf den beprobten Höfen?

3.10. Methodenkritik

4. Schlussfolgerungen

5. Notwendige weitere Untersuchungen

1. Aufgabenstellung

Im August des Jahres 2006 brach im Bereich der Grenzgebiete von Belgien, Holland und Deutschland die virusinduzierte Blauzungenkrankheit (Bluetongue disease) bei Wiederkäuern aus. Das Friedrich Löffler Institut (FLI) auf der Insel Riems stellte sehr schnell fest, daß es sich hierbei um den Serotyp 8 des Bluetongue-Virus handelte, der zuvor noch nie in Europa in Erscheinung getreten war. Allerdings gab es Auftritte von 5 anderen Serotypen dieses Virus in Südeuropa. In Kooperation mit dem FLI konnte die Arbeitsgruppe Mehlhorn (Düsseldorf) noch im Jahre 2006 zeigen, daß als **Vektor** offenbar Gnitzen der Art/des Komplex *Culicoides obsoletus* agierten, denn es fanden sich sowohl viruspositive Pools von **gesogenen** als auch **ungesogenen** Weibchen dieser Art auf zwei Höfen im Endemiegebiet (nach Dauerfang der Gnitzen über 5 Monate). Zudem traten die Gnitzen bis in den Januar hinein auf, wenn auch in geringen Anzahlen (Mehlhorn et al. 2007).

Da sich dieser Virus noch in 2006 massiv in NRW ausbreitete, war zu befürchten, daß es ganz Deutschland und die Nachbarländer erfassen würde.

Der mögliche Vektor (*C. obsoletus*) war nun 2006 aber eben nur auf den beiden beprobten Bauernhöfen im Raum Aachen nachgewiesen werden. Somit erhoben sich folgende Fragen:

1.1. Fragen

1. Inwieweit ist *C. obsoletus* in Deutschland verbreitet?
2. Welche Arten kommen noch vor, mit welchen Quantitäten ist zu rechnen?
3. Treten *C. obsoletus* und die anderen Arten ganzjährig auf?
4. Gibt es evtl. eine gnitzenfreie Zeit in Deutschland?
5. Hat es die afrikanische und auch im Süden Europas auftretende Art *C. imicola* geschafft, nordwärts zu wandern, und ist sie ggfs. als Vektor aktiv?
6. Können neben *C. obsoletus* noch andere Arten/Komplexe als Vektoren agieren?
7. Gibt es überhaupt die sog. Artenkomplexe oder sind diese Beschreibungen lediglich auf mangelhafte Kriterien bei diesen sehr kleinen (0,8 – 3mm) Blutsaugern zurückzuführen?
8. Welche Abwehrmaßnahmen/Vorbeugemaßnahmen könnten sich aus der Untersuchung des Auftretens der *Culicoides* – Arten ergeben?
9. Welche Beschränkungen des Tiertransports bzw. deren Haltung sind aus der Kenntnis der Biologie und Vektorenschaft der Gnitzen abzuleiten?

1.2. Auftragserteilung

Diese und andere Fragen haben die EU und das Bundesministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Verbraucherschutz (BMLEV) bewogen, ein Forschungsprojekt zum Gnitzenmonitoring mit nachfolgendem Virusnachweis aufzulegen.

Es wurden folgende Schritte eingeleitet, nachdem am 23.01.07, 12.02.07 sowie am 23.02.07 jeweils Expertentreffen mit dem zuständigen Abteilungsleiter des Ministeriums (Dr. Bätza) stattgefunden hatten:

- Aufgabenbeschreibung vom 09.03.2007 seitens des Ministeriums,
- Angebot vom 15.03.2007 mit ergänzendem Schreiben vom 26.03.2007 seitens der Forschergruppen,
- Bestätigung der Kooperationsbereitschaft vom 26.03.2007,
- Sitzungsprotokoll der Besprechung in Bonn (23.02.2007) vom 26.02.2007,
- E-Mail von Hrn. Dr. Conraths, FLI, vom 24.02.2007,
- E-Mail von Hrn. Dr. Bätza, BMEL V, vom 16.03.2007,
- Abgestimmtes Sitzungsprotokoll der Besprechung in Wusterhausen (04.04.2007) vom 07.04.2007,
- Studienprotokoll vom 23.04.2007,
- Offizielle Auftragserteilung am 24.04.07,
- Vorabbeginn des Projekts bereits am Ende März 2007 (Beschaffung und Aufstellung der Geräte, 1. Beprobung ab 26.03.07),
- Das Projekt war zunächst befristet bis 28.02.2008, wurde dann per Schreiben des BLE vom 01.02.08 bis zum 30.06.08 verlängert.

1.3. Aufgabendurchführung

Die verschiedenen Untersuchungsgruppen (06HS041-046) hatten die folgenden Aufgaben:

1. Anbringen von Insektenfallen und Wetterstationen auf den von den Länderinstitutionen ausgewählten Bauernhöfen. Diese Höfe waren bundesweit verteilt nach Planquadraten von 45 x 45 km Seitenlänge.
2. Information der Bauern seitens der Arbeitsgruppen zusammen mit den zuständigen Amtstierärzten.
3. Versorgung der Bauern mit ausreichenden Mengen an 70% Ethanol, Plastikflaschen und Päckchen zum Versand der Proben an die jeweiligen Institute.

4. Untersuchung der von Bauern an die Institute eingesandten Fänge (gewonnen jeweils in der 1. bis 8. Nacht jeden Monats mit Hilfe der aufgestellten UV-Lichtfallen).
5. Trennung der Gnitzen von den anderen (zahlreichen) Insekten des Beifangs.
6. Artbestimmung der Insekten und Trennung nach Arten, Männchen, Weibchen (gesogen und ungesogen) und Versand der *Culicoides*-Arten in frischem Alkohol an das FLI (Insel Riems).
7. Reparaturen ausgefallener Fallen. Dies war in einigen Arbeitsgruppen sehr aufwendig, denn alle Proben mussten ja zum gleichen Zeitpunkt genommen werden. Es mussten weitere Fallen/Batterien/Ersatzteile nachgekauft und aufgestellt werden.
8. Nachversorgung der Bauern im Sommer 2007 mit Alkohol für die Fallen plus Ausgabe von bereits frankiertem Packmaterial.
9. Auslesen der Wetterstationen vor Ort im Sommer 2007.
10. Fortsetzung der Arbeiten nach Ablauf der 1. Bewilligung am 28.02.2008.
11. Abbau der Fallen und Wetterstationen sowie deren Auslesen am Ende der bewilligten Beprobungszeit (31.05.08).
12. Erstellung von Abschlußberichten
13. Finanzielle Abrechnung

3. Bewertung der Ergebnisse

Diese Bewertung erfolgte durch den Organisator des abgeschlossenen Monitorings (Prof. Dr. H. Mehlhorn) auf Basis der von den 8 Arbeitsgruppen gelieferten Daten, die nach Vorgaben des Organisations einheitlich gegliedert wurden und im Original dem Bericht beiliegen. Es versteht sich, daß möglicherweise nicht alle Teilnehmer des Monitorings in allen Punkten übereinstimmen, aber die wesentlichen Fakten sind sicher unumstritten, anderes kann bei Abfassung von Publikationen ausdiskutiert werden.

3.1. Trat *Culicoides imicola* im Fanggebiet auf?

Diese Art, die in Afrika als Hauptvektor des Blauzungenvirus auftritt, auch am nördlichen Rand des Mittelmeeres zu finden ist und dort für die Verbreitung von 5 anderen Serotypen des Blauzungenvirus sorgt, fand sich **in Deutschland nicht**. Dies gilt auch für die **publizierten Fänge** aus Nordfrankreich, England, Holland, Belgien, Luxemburg, Österreich und der Tschechei. Somit hat es **keine klimabedingte Nordwärtswanderung** und Ausbreitung dieses Hauptvektors gegeben. Dies schließt allerdings nicht aus, daß in irgendeinem Schiffscontainer in Belgien oder Holland eine größere Anzahl infizierter *C. imicola* Gnitzen angelandet sein konnte und dann von ihnen aus die Epidemie eingeleitet wurde.

3.2. Welche Arten herrschten vor?

Die Beprobung von 90 Höfen in Deutschland zeigte was die Artenanzahl und Individuenanzahl betrifft ein homogenes Bild. Es ließen sich im Prinzip **keine signifikanten geographischen Unterschiede** im Auftreten feststellen.

Wie bereits im Jahre 2006 auf 2 Höfen festgestellt (Mehlhorn et al. 2007) war die nur 0,8-1mm große Art/Komplex ***Culicoides obsoletus*** mit Abstand die **häufigste**. Sie machte im Durchschnitt etwa 70% aller gefangenen (und ausgezählten) Individuen aus. Auf manchen Höfen erreichte sie sogar bis zu 90% der Anteile. In einigen wenigen Höfen überwogen zu bestimmten Terminen allerdings die Vertreter der **zweit-häufigsten Art (*C. pulicaris*)**, die mit einer Größe von ca. 3 mm sich deutlich von *C. obsoletus* unterschied.

Sie machte im Durchschnitt etwa 20% der Fänge aus. So blieben für eine weitere Anzahl von Arten – manche Gruppe (z.B. AG Liebisch und Werner) hatten bis 26,

andere Gruppen (z.B. Mehlhorn) hatten etwa 10 Arten bestimmt – noch insgesamt 10% der Anteile des gesamten Gnitzenaufkommens.

Diese Verteilung der Arten stimmt im Prinzip mit den Berichten aus den Benelux-Ländern, aus Österreich und aus der Tschechei überein, repräsentiert somit den zentraleuropäischen Status.

Die Art ***Culicoides dewulfi***, die im Jahre 2007 von Saegermann et al. (2008) auch als BTV – positiv per PCR getestet worden war, kam z.B. in einigen der untersuchten Gebiete Deutschlands überhaupt nicht vor oder nur in sehr geringen Mengen.

Sie ist daher sicher nicht besonders bedeutend im Übertragungsgeschehen.

3.3. Waren die Bestimmungen innerhalb der Gruppen einheitlich?

Die Bestimmung der Arten/Komplexe erfolgte im wesentlichen nach der Flügelädung und der Flügelmaserung (Beispiele s. Bericht Mehlhorn), was von Boorman 1993 und später von den englischen Kollegen in Pirbright sowie französischen Untersuchern vorgeschlagen worden war.

Daneben hat Frau Dr. Werner noch einige Individuen aus diesen Pools von seitens der Gruppen bereits bestimmten Gnitzen mit Hilfe von morphologischen Kriterien (Spermatheken, Beborstung etc.) nachbestimmt. Dabei wurde die von den Gruppen des Monitoring vorgenommene Bestimmung der wichtigsten Arten bestätigt.

Dies wurde zusätzlich noch **molekularbiologisch bestätigt**, als Dr. Hoffmann und PD Dr. Beer (beide FU, Riems) determinierte Pools von *C. obsoletus* und *C. pulicaris* molekularbiologisch mit Daten aus der Datenbank verglichen.

Da bei manchen Individuen aus dem *C. obsoletus* Art/Komplex die Flügelmerkmale nur schwach ausgebildet waren und so bei mikroskopischer Betrachtung die Zuordnung zu *C. obsoletus* nicht völlig eindeutig möglich war, hat die Arbeitsgruppe Mehlhorn von einigen zweifelhaften und einigen eindeutigen Pools von *C. obsoletus* die ITS-1 Werte bestimmt.

Dabei zeigten sich die in Abb. 1 (Anlage) dargestellten Verwandtschaftsbeziehungen. Daraus lässt sich erkennen, daß die *C. obsoletus* – Varianten 16 -19 alle *C. obsoletus* darstellen und daß vorerst das Vorhandensein eines Artenkomplex **nicht eindeutig ist**. Die *C. obsoletus* Varianten der Nummer 17 fielen nachträglich heraus, weil sich herausstellte, daß es sich hierbei versehentlich um ein Gemisch von einigen Gnitzen von verschiedenen Arten handelte.

Auch sollten diese ersten molekularbiologischen Vergleiche der ITS-1 Sequenzen nicht überbewertet werden, weil weitere Untersuchungen zu anderen Markern ausstehen und zudem von anderen Parasiten bekannt ist, daß Individuen von relativ sicher bestimmten Arten (- sie sind auch per Lebenszyklus eindeutig -) in ihren ITS-1, ITS-2, 18 ssu etc. stark variieren können, ohne gleich eine andere Art zu repräsentieren.

Da die morphologischen Kriterien auch nicht unumstritten sind bzw. zumindest viel Raum zum Diskutieren lassen sowie die Daten zum Lebenszyklus der hier betroffenen vermeintlichen Arten/Rassen des *C. obsoletus* Komplex faktisch unbekannt sind, ist weder die Existenz von **Artenkomplexen** noch die von **scharf abgetrennten** eigenen **Arten eindeutig bewiesen**.

Hier besteht **Forschungsbedarf**, weil Rassen einer Art sicher eher zur gemeinsamen Übertragung von definierten Erregern geeignet sind als die Vertreter von scharf getrennten Arten, weil diese mit einem evtl. völlig anderen Lebenszyklus und verschiedenen Aktivitäten dann andere Voraussetzungen hätten für die Adaptation einer Virenreproduktion.

3.4. Gab es gnitzenfreie Zeiten?

Nein! *C. obsoletus* kam es offenbar ganzjährig vor, obwohl natürlich ihre Anzahlen in den Monaten Dezember bis hin zum April deutlich reduziert waren. Da die Fallen ja immer nur einen geringen Teil der tatsächlich vorhandenen Gnitzen enthielten, kann aber davon ausgegangen werden, daß auch die Höfe, deren Fallen in den winterlichen Beprobungszeiten leer blieben, auch dann einige wenige Gnitzen aufwiesen. Diese wenigen Exemplare könnten ausreichen, um das Virus über den Winter zu bringen und es bei Beginn der Freilandsaison wieder zu verbreiten.

Bei den im Winter angetroffenen Arten handelte es sich meistens um *C. obsoletus*, was in Anbetracht der im Jahresverlauf auftretenden Quantitäten von Individuen dieser Art nicht besonders verwunderlich ist.

3.5. Welchen Einfluß haben die Temperaturen auf die Gnitzen?

Die Jahresisobaren in Deutschland zeigen eine Variation von ungefähr 5 Grad im Mittel an, wobei etwa 11-12 °C, als Durchschnittstemperaturen im Rheintal auftreten und eben nur 7-8°C an der Ostgrenze Deutschlands bzw. in bergigen Gebieten.

Da die Arten *C. obsoletus* und *C. pulicaris* in **ganz Deutschland** auftraten, können die an einzelnen Fallenstandorten beobachteten Schwankungen gefangener Gnitzen lediglich auf örtliche variable Geschehnisse zurückgeführt werden, wobei der Wind sicher ein bedeutender Faktor sein dürfte. Der Vergleich der Fänge in den Monaten April/Mai 2007 mit denen von April/Mai 2008 zeigte nämlich, daß bei den eindeutig niedrigeren Tagesecktemperaturen (niedrigster und höchster Wert) in 2008 auch weniger Gnitzen ausgebildet werden, was sicher an der verzögerten Larvalentwicklung liegt. Da die Larvalentwicklung bei niedrigen Temperaturen definitiv langsamer läuft, wäre bei langanhaltend niedrigeren Temperaturen mit einer geringeren Generationenanzahl zu rechnen. Da aber die Durchschnittstemperaturen von Juni an sicher wieder auf das Vorjahresniveau angestiegen sein dürften, ist in 2008 lediglich mit einer gewissen Verspätung der höchsten Gnitzenanzahl zu rechnen, aber nicht mit einem Einbruch.

3.6. Welche Übereinstimmungen gab es in den Gnitzenfängen der Jahre 2007 und 2008?

Die Artenverteilung war in beiden Jahren gleich, blieb aber in 2008 bis Mai auf relativ niedrigem Niveau und entsprach im übrigen auch der Verteilung im Jahre 2006 auf zwei Höfen in NRW. Hier herrschen somit relativ feste Zyklen, die lediglich lokale und temperaturbedingte Variationen von Hof zu Hof erfahren. Um dies weiter zu belegen, reichen aber die wenigen bisher gewonnenen Daten nicht aus.

3.7. Wann fanden sich im Jahre 2007 die ersten Bluetongue-Viren in Gnitzen auf den beprobten Höfen?

Hier zeigte sich, daß die ersten positiven Pools im August angetroffen wurden, gefolgt von einigen wenigen im August. Die viruspositiven Gnitzenpools nahmen dann im September und Oktober weiter zu, aber im November kam es wieder zu einem deutlichen Rückgang (Tabelle 1).

3.8. Welche Arten waren 2007 und 2008 viruspositiv?

Es zeigte sich, daß 2007 bundesweit die überwiegende Anzahl an viruspositiven Pools von *C. obsoletus* gestellt wurde, während 2008 (aus den Monaten Januar bis Mai) kein Gnitzenpool positiv war.

Bei den positiven Befunden bei *C. obsoletus* überwogen allerdings bei weitem die Pools mit gesogenen Weibchen, während die positiven Pools mit ungesogenen Weibchen nur relativ spärlich auftraten und auch deutlich seltener auftraten als in 2006 (Mehlhorn et al. 2007). Bemerkenswert ist aber, daß in der Fangperiode 2007 **auch positive Pools bei *C. pulicaris* Gnitzen** auftraten, wozu sogar zwei Pools mit ungesogenen Weibchen (Berlin, NRW). Ob die in NRW und in Rheinland-Pfalz-Saarland nachgewiesenen Pools mit positiven Gnitzen „**anderer Arten**“ tatsächlich andere Arten beinhalteten oder nur variabel aussehende *C. obsoletus*-Stadien repräsentierten, bleibt vorerst ungeklärt, weil sie nachträglich nicht mehr mit Hilfe der PCR-Technik überprüft werden können. Bei den relativ wenigen Exemplaren der Art ***Culicoides dewulfi*** gab es keine positiven Fälle. **Somit ergibt sich nach der Datenlage der Fänge des Jahres 2007, daß der hauptsächliche Vektor des Blauzungenvirus *C. obsoletus* sein dürfte.**

3.9. Gab es 2007 positive Gnitzen und kranke Tiere auf den beprobten Höfen?

Wie war die Situation 2008?

Im Jahre **2007** fanden sich auf den Rinderbauernhöfen eine Reihe von leicht bis schwer erkrankten Tieren. Es starben im Durchschnitt allerdings unter 1%. Bei den wenigen Höfen mit Schafen waren die Verluste bei dieser Tierart deutlich höher. Die Seropositivität lag bei den beprobten Tieren relativ hoch, häufig waren fast alle beprobten Tiere auch seropositiv.

Die Krankheitsfälle traten aber stets mindestens 1-2 Monate vor den ersten positiven Gnitzenpools auf. Dieses Faktum muß beim Übertragungsgeschehen durchdacht und in geeigneten Experimenten analysiert werden.

Im Jahre **2008** traten von Januar bis Ende Mai keine viruspositiven Gnitzenpools auf, auch waren auf den Höfen keine eindeutig kranken Tiere zu verzeichnen.

3.10. Methodenkritik

Die Ergebnisse, die auf den 90 Höfen binnen 14 Monaten erzielt wurden, leiden natürlich trotz allgemeiner großer Anstrengungen – unter bestimmten Mängeln.

- a) Es wurden nur in 2 Monaten aufeinander folgenden Jahren beprobt, daher fehlen die Vergleiche bei den anderen Monaten.
- b) Die Poolgrößen der artmäßig bestimmten Gnitzen waren möglicherweise zu groß, um noch einzelne, infizierte und daher übertragungsfähige Gnitzen molekularbiologisch zu erfassen.
- c) Um das quantitative Auftreten von Arten und deren Entwicklungszeit in der Saison richtig zu erfassen, wäre es sicher notwendig gewesen, durchgehend zu beproben.
- d) Es wurden aus arbeitstechnischen und letztlich auch aus Kostengründen nicht alle Proben von den Gruppen durchbestimmt und ans FLI gesandt. Allerdings dürfte die Probenauswahl in den Perioden mit den extrem hohen Fangzahlen durchaus repräsentativ gewesen sein.
- e) Auch wurde aus dem unter d) zitierten Grund nicht das gesamte Material molekularbiologisch untersucht, so daß weitere positive Gnitzenpools möglicherweise übersehen wurden.

Daher bleiben einige der dennoch in großer Anzahl erzielten Ergebnisse mit einem leichten Fragezeichen versehen. Dies gilt insbesondere für die Fragen, ob es Artkomplexe gibt, wie viele positive Gnitzen notwendig sind, um die Blauzungkrankheit in einem Bestand zu etablieren. An der Klärung derartiger Fragen hängt aber letztlich auch der Erfolg von Bekämpfungsmaßnahmen und der gesetzlichen Regulationen ab.

4. Schlussfolgerungen

Das in seiner Art bisher einmalige Monitoring-Projekt zeigte eindeutig, daß *C. obsoletus* und *C. pulicaris* mit Abstand die häufigsten bundesweiten Gnitzenarten darstellen. Sie sind offenbar von der Dämmerung abends bis zur Morgendämmerung aktiv. Das schließt aber nicht aus, daß nicht auch tagaktive Gnitzen als **echte Vektoren** und andere Insekten als **mechanische Überträger** agieren könnten. *C. obsoletus* und *C. pulicaris* wurden als Überträger identifiziert, wobei die Anzahl positiver Pools von *C. obsoletus* überwog. Da die Gnitzen der positiven Pools überwiegend in unmittelbarer Nähe des Stalls oder sogar im Stall gefangen wurden (z.B. 7 von 11 bei der Berliner Gruppe), kann man davon ausgehen, daß die Übertragung der Viren auch im Stall besonders begünstigt ist. Da aber die Lebenszyklen der als Überträger in Frage kommenden Gnitzen weitgehend unbekannt sind, ist dort dringender Forschungsbedarf geboten wie auch bei der Suche nach weiteren Übertragungsmöglichkeiten (s.u.).

5. Notwendige weitere Untersuchungen

Das Gnitzenmonitoringprojekt der Jahre 2007 und 2008 hat zwar erstmals belastungsfähige Daten zum Auftreten der Gnitzen in ganz Deutschland erbracht, aber ebenso viele Fragen aufgeworfen.

Es zeigte sich zwar, daß zwei Arten/Komplex die häufigsten sind auch offenbar als Vektoren sind, es blieb aber unklar, wo sie leben und wie ihr Lebenszyklus im einzelnen abläuft. Somit müßten unbedingt folgende Fragen geklärt werden:

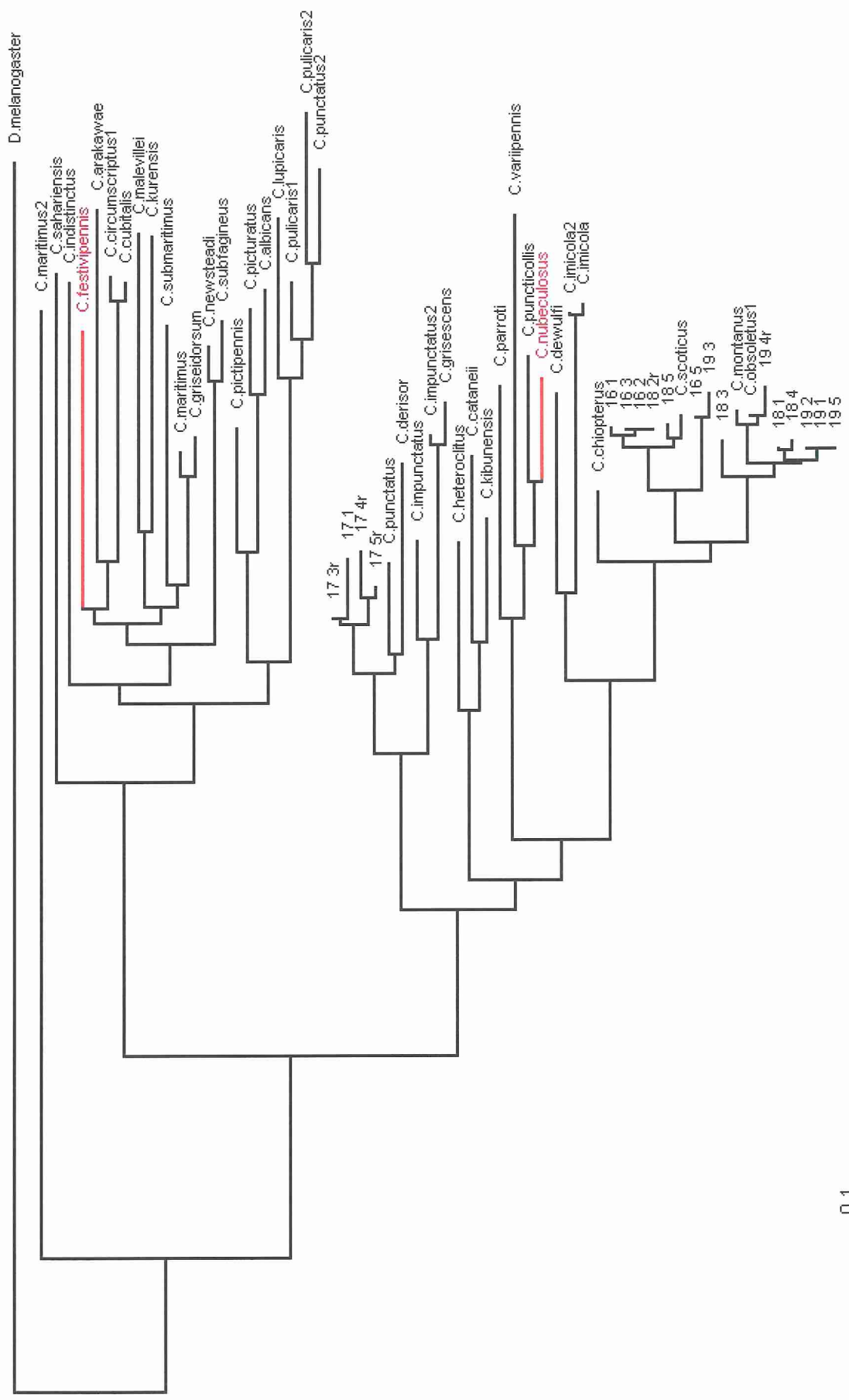
- 5.1.** Wo leben die Arten *C. obsoletus* und *C. pulicaris*?
- 5.2.** Sind einige Teilpopulationen von ihnen in der Lage, sich ganzjährig im Stall zu vermehren?
- 5.3.** Wieviele Individuen dieser Arten bzw. anderer *Culicoides*-Arten halten sich silvestrisch in Nähe von Wildwiederkäuern auf, die ja bekanntlich auch Vektoren des BTV sein können.
- 5.4.** Wie erklärt sich die relativ kleine Anzahl von Pools mit virustragenden Gnitzen bei einer extrem hohen Anzahl seropositiven Wiederkäuern im Jahre 2007?
- 5.5.** Kommen andere Blutsauger oder leckende Insekten als mechanische Vektoren in Frage?
- 5.6.** Ist es tatsächlich ausgeschlossen, daß virushaltiger Schleim aus dem Mundbereich infizierter Tiere andere Wiederkäuer mit „Läsionen“ an den Lippen infiziert?
- 5.7.** Können die auftretenden leichten Wunden an den Zitzen beim automatischen Melken Virusmaterial abgeben, das dann von den Innenflächen der Sauger an die jeweils nächste Kuh weitergegeben wird?
- 5.8.** Wie sind Ställe und Weiden vor Gnitzen zu schützen?
- 5.9.** Welchen Einfluß hat die Impfung auf die weitere Ausbreitung der BTD?
- 5.10.** Ab welchem Serotiter ist ein Tier für wie lange geschützt?

Tabelle 1: Zeit des Auftretens und die Anzahl positiver Gnitzenpools innerhalb der Fangperiode im Jahre 2007

Länder	Juli	August	September	Oktober	November
NRW	0	9	44	41	10
Rheinland-Pfalz/Saarland	0	13	31	287	0
Niedersachsen (Liebisch)	0	0	1	8	0
Niedersachsen, Schleswig (Kiel)	0	0	1	6	3
Hessen	0	1	33	39	1
Berlin (Clausen)	0	1	0	4	6
Thüringen	0	0	50	0	0
Bayern	0	0	2	2	0

Tabelle 2: Anzahl und Arten positiver Gnitzen - Pools

Länder	Anzahl der Höfe	Anzahl positiver Gnitzenpools bei <i>C. obsoletus</i> - Fängen		Anzahl positiver Gnitzenpools bei <i>C. pulicaris</i> - Fängen		Anzahl positiver Gnitzenpools bei Fängen anderer Arten	
		gesogen	ungesogen	gesogen	ungesogen	gesogen	ungesogen
NRW	19	97	3	2	1	1	0
Rheinland-Pfalz-Saarland	12	316	10	5	0	3	0
Niedersachsen (Liebisch)	4	4	5	0	0	0	0
Niedersachsen, Schleswig (Kiel)	16	9	0	1	0	0	0
Berlin/Brandenburg (Clausen)	15	6	2	2	1	0	0
Hessen	11	70	1	1	0	0	0
Thüringen	5	0	50	0	0	0	0
Bayern	9	1	2	1	0	0	0

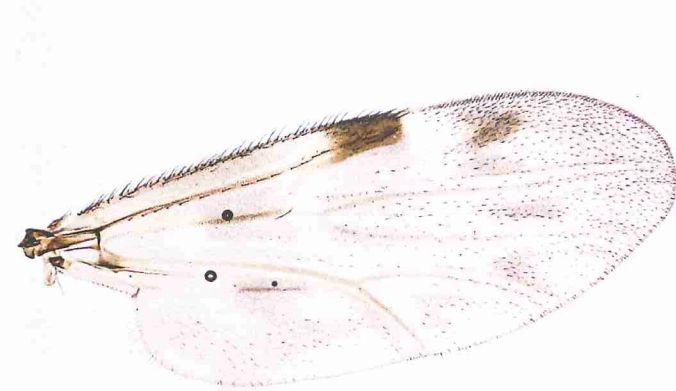




C. obsoletus



C. pulicaris



C. nubeculosus



C. festivipennis

An die
Bundesanstalt für Landwirtschaft und
Ernährung (BLE)
Projektträger Agrarforschung
53168 Bonn

Tel: 0211/8113052
Fax: 0211/8114499
Telex 8 587 348 uni d
E-Mail: mehlhorn@uni-duesseldorf.de



Düsseldorf, den 24.11.08

Kurzgefasster Abschlußbericht
(längere Version wurde bereits abgesandt)

**Entomologische Untersuchungen zur Bekämpfung der
Blauzungenkrankheit**

Vorhaben 06 HS 041

1. Ziele und Aufgabenstellung des Vorhabens

Im Sommer des Jahres 2006 wurde aus Holland bzw. Belgien kommend im Raum Aachen das Blauzungenvirus vom Serotyp 8 vom Friedrich Löffler Institut (FLI) nachgewiesen, und zwar sowohl im Blut von Rindern und Schafen als auch in Gnitzen der Art *Culicoides obsoletus*, die von der Arbeitsgruppe Mehlhorn im Auftrag des MNLUV Düsseldorf auf zwei Höfen gefangen worden waren (Mehlhorn et al. 2007).

Auf Betreiben des BMLEV in Bonn (Dr. Bätza) wurde dann Anfang 2007 eine Expertengruppe zusammengestellt, die von März 2007 an bundesweit auf 90 Höfen Gnitzen fangen, sortieren, bestimmen und zur Virusanalyse zum Friedrich-Löffler-Institut senden sollte.

Nach Erstellung eines Arbeitsplans, der Erteilung der Vorabgenehmigung des Arbeitsbeginns (wegen des beginnenden Gnitzenflugs) im März 2007 wurde dann am 24.04.07 das Projekt 06HS041 „Entomologische Untersuchungen zur Bekämpfung der Blauzungenkrankheit“ vom Projektträger BLE genehmigt, und zwar aufgeteilt an die Arbeitsgruppen:

- 06HS041 Prof. Dr. H. Mehlhorn (Uni Düsseldorf für NRW) und Prof. Schaub (Uni Bochum für Rheinland-Pfalz und Saarland)
- 06HS402 PD Dr. Clausen (FU Berlin, Brandenburg und Teile Niedersachsens)
- 06HS043 Dr. Liebisch, Labor Klin. Diagnostik (Niedersachsen)
- 06HS044 Dr. Bauer (Uni Gießen für Hessen)
- 06HS045 Prof. Dr. Kiehl (Uni Oldenburg für Niedersachsen, HH, Schleswig sowie Frau Dr. Werner, Thüringen)
- 06HS046 Dr. Geier (Uni Regensburg für Baden-Württemberg und Bayern)

Dieser Bescheid galt zunächst bis Februar 2008, wurde dann aber am Ende dieser Periode bis zum 30.06.2008 verlängert.

1.1. Ziele dieses Projekts waren:

1. Aufstellung von Insektenfallen und Wetterstationen auf 90 Bauernhöfen im Bundesgebiet, wobei diese Höfe in flächendeckenden Planquadraten von 45 x 45 km liegen sollten und von den lokalen Amtsveterinären der entsprechenden Kreise vorgeschlagen wurden.
2. Fang von Insekten mit nachts aktivierten UV-Lichtfallen und Aufzeichnung der entsprechenden Wetterbedingungen während der Fangzeit mit Hilfe von aufgestellten elektronischen Wetterstationen.
3. Bestimmung der gefangenen Insekten, Isolierung der im Fang enthaltenen Gnitzen (Gattung *Culicoides*) sowie deren Artbestimmung und Trennung in Männchen sowie Weibchen, wobei letztere wiederum nach „gesogen“ und „ungesogen“ sortiert werden sollten.
4. Nach Bestimmung der Gnitzen sollten diese in sauberen 70%igem Ethanol ins FLI auf der Insel Riems gesandt werden, um dort die Gnitzen in Pools zu 50 Tieren mit der PCR-Methode auf Viren - RNA zu untersuchen zu lassen.
5. **Hintergrund** dieser Aktivitäten war, die bereits von der Gruppe Mehlhorn und dem FLI im Jahre 2006 erhobenen Befunde zu bestätigen oder zu ergänzen, was die Vektoren des Blauzungenvirus und die Verteilung der Gnitzenarten betrifft. So galt es zu klären:

- a) Sind *C. imicola* – Gnitzen (Überträger in Südeuropa) aufgetreten? Finden sie sich in anderen Gebieten, wenn schon nicht im Westen Deutschlands? Gibt es *C. dewulfi* in den Fängen?
- b) Ist die Art *Culicoides obsoletus* wiederum mit 70% - 90% der Fänge die häufigste Art auf den anderen Höfen des Bundesgebiets?
- c) Werden nur die Weibchen von *C. obsoletus* wie 2006 als viruspositiv angetroffen? Gibt es noch andere Arten, die das Virus übertragen können?

Nach der Vorabgenehmigung wurden von der Arbeitsgruppe Mehlhorn Fallen und Wetterstationen beschafft, wobei die Uni Düsseldorf mit weit über 100.000 Euro in Vorlage trat. Die Insektenfallen wurden dann von den jeweiligen Herstellerfirmen direkt an die Arbeitsgruppen ausgeliefert, so daß die Fallen und Wetterstationen noch Ende März 2007 auf den ausgewiesenen Bauernhöfen (Details s. umfangreicher Bericht) von den Gruppen aufgestellt werden könnten, was eine umfangreiche Fahraktivität erforderte, die durch defekte Fallen vielfach verdoppelt oder gar verdreifacht werden musste.

Es wurde mit den Bauern verabredet, daß die Fallen jeweils von 1. bis 8. Tag jedes Monats von der Abend- bis zur Morgendämmerung in Betrieb sein sollten und daß die Bauern dann die Insekten in den von den jeweiligen Gruppen angelieferten Gefäßen mit dem ebenfalls bereitgestellten Paketmaterial an die Arbeitsgruppen schicken sollten.

Dies hat auch – bis auf wenige Ausnahmen durch Fallenversagen bzw. Postfehler funktioniert. Im jeweiligen Labor erfolgte dann die sofortige Bestimmung der zahlreichen Insekten.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Die Versuche wurden entsprechend eines experimentellen Versuchsdesigns durchgeführt, das in ähnlicher Weise sowohl im Ausland (Südafrika, Italien, Spanien) bei entsprechenden Blauzungenausbrüchen funktionierte und sich zudem auch im Aachener Raum in Kooperation der Gruppen Mehlhorn und des FLI (Mehlhorn et al. 2007) bewährt hatte.

Zwar wurden bei allen entsprechenden vorhergegangenen Versuchen unterschiedliche Fallen als im hiesigen Gnitzenmonitoring verwendet, die zwar unterschiedliche Insektenmengen erbrachten, aber dennoch prinzipiell das gleiche Insektenspektrum erfassten.

2. Material und Methoden

Die Fallen (Fa. Biogents, Regensburg) arbeiteten mit UV – Licht, das ab Abenddämmerung automatisch eingeschaltet wurde und dann die Insekten anlockte. Sobald sich die Insekten dem Licht näherten, wurden sie durch einen per Ventilator erzeugten Luftstrom in ein Gefäß mit 70% Ethanol gesogen, getötet und dann für 1-8 Tage (je nach Fangmenge) im Fanggefäß aufbewahrt. Am Ende der 8 - tägigen Fangperiode jeden Monats (von April 2007 bis Mai 2008) wurden die Insekten dann im Alkohol liegend zu den Instituten gesandt, dort unter Stereolupen sortiert, nach der Flügelzeichnung bestimmt und nach Arten getrennt (sowie in gesogen, und ungesogen unterteilt) in sauberem 70% Ethanol zum FLI verschickt.

Dort wurden Pools von 50 Gnitzen vorbereitet und per Real-time-PCR auf die Viren RNA untersucht. Die Ergebnisse wurden dann den jeweiligen Gruppen schriftlich mitgeteilt sowie in eine Datenbank beim FLI aufgenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Wichtige Befunde

1. Wie im Jahr 2006 auf zwei Höfen im Aachener Raum (bei durchgehender Beprobung von August 2006 bis Januar 2007) wurde die sehr kleine Art *Culicoides obsoletus* (ca. 0,8 mm) auf fast allen Höfen als die absolut häufigste Art ermittelt. Sie stellte oft 70-90% aller gefangenen Gnitzen.
2. Die in Afrika und Südeuropa auftretende Art *C. imicola* fand sich in keiner aller Proben. Ein Nordwärtswandern dieser Art als Folge des Klimawandels hatte also nicht stattgefunden.
3. Die Art *C. dewulfi* (Kotbrüter) fand sich nur in einzelnen Individuen auf einzelnen Höfen. Sie spielt in Deutschland offenbar keine Rolle.
4. Die zweithäufigste Art in den Fängen war stets *C. pulicaris*, deren Adulte mit einer Länge von 3 mm deutlich größer sind als die von *C. obsoletus*. Sie machte im Durchschnitt ca. 20% in den Fängen aus.
5. Wie in Österreich und in Tschechien fanden sich zahlreiche Gnitzenarten, allerdings stets in sehr geringen Anzahlen. Zwei Gruppen von Untersuchern notierten in unserem Projekt

bis zu 26 Gnitzenarten, von anderen Gruppen wurden bis zu 10 Arten „identifiziert“, wobei aber unbewiesen bleibt, ob es sich in allen Fällen um eigenständige Arten handelt. Erste molekularbiologische Untersuchungen wiesen auf die Existenz weniger Arten hin.

6. Es gab offenbar **keine gnitzenfreien Zeiten**. Zwar stiegen die Gnitzenzahlen von Mai bis Mitte November stark an, aber auch in den Monaten Dezember bis April fanden sich Gnitzen, die offenbar im Stall oder stallnah lebten. Zwar waren wegen der deutlich kühleren Temperaturen in den Monaten Januar bis April 2008 verglichen mit der entsprechenden Zeit in 2007 zunächst wenige Gnitzen unterwegs, aber ab Mai 2008 erreichten diese die Individuen-Zahlen von 2007. Somit ergibt sich die Vermutung, daß *C. obsoletus* stallnah brütet.

7. Es zeigte sich, daß Blauzungenviren nicht in 2008 sondern nur in den Fängen des Jahres 2007 auftraten, wobei in 2007 zunächst viruspositive Pools vereinzelt erst im August auftraten und in ihrer Anzahl dann in den Monaten September und Oktober dann deutlich zunahmten. Diese Monate wurden aber in 2008 nicht mehr beprobt.

8. Die Weibchen der Art *C. obsoletus* wurden (gesogen sowie auch ungesogen) wurden mit Abstand am häufigsten als viruspositiv angetroffen. Als nächste folgte die Art *C. pulicaris* und mit einigem Abstand einzelne Pools von nicht näher bestimmten Arten. Die in Holland positiv gemeldete Art *C. dewulfi* war nicht dabei. Somit zeigte sich, daß auch die offenbar kürzer als *C. obsoletus* lebende Art *C. pulicaris* auch als potentieller Überträger gelten muß.

9. Fakt war, daß unter den gegebenen Untersuchungsmethoden (PCR-Analyse von Pools von 50 Gnitzen) erste positive Gnitzenfunde fast 2 Monate später als klinische Befunde bei den befallenen Wirten auftraten.

3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Ergebnisse, die auf den 90 Höfen binnen 14 Monaten erzielt wurden, leiden natürlich trotz allgemeiner großer Anstrengungen – unter bestimmten Mängeln.

- a) Es wurden nur in 2 Monaten von aufeinander folgenden Jahren beprobt, daher fehlen die Vergleiche bei den anderen Monaten.
- b) Die Poolgrößen der artmäßig bestimmten Gnitzen waren möglicherweise zu groß, um noch einzelne, infizierte und daher übertragungsfähige Gnitzen molekularbiologisch zu erfassen.
- c) Um das quantitative Auftreten von Arten und deren Entwicklungszeit in der Saison richtig

zu erfassen, wäre es sicher notwendig gewesen, durchgehend zu beproben.

- d) Es wurden aus arbeitstechnischen und letztlich auch aus Kostengründen nicht alle Proben von den Gruppen durchbestimmt und ans FLI gesandt. Allerdings dürfte die Probenauswahl in den Perioden mit den extrem hohen Fangzahlen durchaus repräsentativ gewesen sein.
- e) Auch wurde aus dem unter d) zitierten Grund nicht das gesamte Material molekularbiologisch untersucht, so daß weitere positive Gnitzenpools möglicherweise übersehen wurden.

Daher bleiben einige der dennoch in großer Anzahl erzielten Ergebnisse mit einem leichten Fragezeichen versehen. Dies gilt insbesondere für die Fragen, ob es Artkomplexe gibt, wie viele positive Gnitzen notwendig sind, um die Blauzungkrankheit in einem Bestand zu etablieren. An der Klärung derartiger Fragen hängt aber letztlich auch der Erfolg von Bekämpfungsmaßnahmen und der gesetzlichen Regulationen ab.

Dennoch erbrachte diese Studie sehr großen Nutzen, da erstmals bewiesen wurde, daß adulte Gnitzen offenbar ganzjährig auftreten, es somit keine „Virenpause“ gibt. Zudem zeigte sich, daß die in großer Anzahl vorhandenen einheimischen Gnitzen als Vektoren geeignet sind, was sie möglicherweise dann auch bei anderen Erregern (Afrikan. Pferdesterben, Rift-Valley-Fieber etc.) leisten können.

Die erweiterten Kenntnisse der Lebenszyklen erlauben nunmehr auch gezielte Prophylaxemaßnahmen bzw. Maßnahmen zur Bekämpfung. Allerdings erwiesen sich die vorgenommene PCR-Analyse der Gnitzenfänge als ungeeignet, das Auftreten der Blauzungkrankheit in einem Gebiet vorherzusagen.

4. Zusammenfassung

Das in seiner Art bisher einmalige Monitoring-Projekt in den Jahren 2007-2008 zeigte eindeutig, daß *C. obsoletus* und *C. pulicaris* mit Abstand die häufigsten bundesweiten Gnitzenarten darstellen. Sie sind offenbar von der Dämmerung abends bis zur Morgendämmerung aktiv. Das schließt aber nicht aus, daß nicht auch tagaktive Gnitzen als **echte Vektoren** und andere Insekten als **mechanische Überträger** agieren könnten. *C. obsoletus* und *C. pulicaris* wurden als **Überträger** identifiziert, wobei die Anzahl positiver Pools von *C. obsoletus* überwog. Da die Gnitzen der positiven Pools überwiegend in unmittelbarer Nähe des Stalls oder sogar im Stall gefangen wurden (z. B. 7 von 11 bei der

Berliner Gruppe), kann man davon ausgehen, daß die Übertragung der Viren auch im Stall besonders begünstigt ist. Da aber die Lebenszyklen der als Überträger in Frage kommenden Gnitzen weitgehend unbekannt sind, ist dort dringender Forschungsbedarf geboten wie auch bei der Suche nach weiteren Übertragungsmöglichkeiten (s.u.).

5. Gegenüberstellung geplanter und erreichter Ziele

Das Projekt kann bei allen methodenbedingten Mängeln durchweg als Erfolg gewertet werden, denn es wurden faktisch alle geplanten Ziele auch erreicht. Zudem haben die Gruppen darüberhinaus noch weitere umfangreiche Ergebnisse im Einzelstudien (z. B. auf molekularbiologischem Sektor) erzielt, die Anlaß zu mehreren Publikationen sein werden.

6. Notwendige weitere Untersuchungen

Das bisher einzigartige Gnitzenmonitoringprojekt der Jahre 2007 und 2008 hat zwar erstmals belastungsfähige Daten zum Auftreten der Gnitzen in ganz Deutschland erbracht, aber ebenso viele Fragen aufgeworfen.

Es zeigte sich zwar, daß zwei Arten/Komplexe die häufigsten sind auch offenbar als Vektoren dienen, es blieb aber unklar, wo sie leben und wie ihr Lebenszyklus im Einzelnen abläuft. Somit müßten unbedingt die folgenden Fragen geklärt werden:

6.1 Wo leben die Arten *C. obsoletus* und *C. pulicaris*?

Wie stehen die Arten in den sog. Komplexen zueinander?

6.2 Sind einige Teilpopulationen von ihnen in der Lage, sich ganzjährig im Stall zu vermehren?

6.3 Wieviele Individuen dieser Arten bzw. anderer *Culicoides*-Arten halten sich silvestrisch in Nähe von Wildwiederkäuern auf, die ja bekanntlich auch Vektoren des BTV sein können.

6.4 Wie erklärt sich die relativ kleine Anzahl von Pools mit virustragenden Gnitzen bei einer extrem hohen Anzahl von seropositiven Wiederkäuern im Jahre 2007?

6.5 Kommen andere Blutsauger oder leckende Insekten als mechanische Vektoren in Frage?

6.6 Ist es tatsächlich ausgeschlossen, daß virushaltiger Schleim aus dem Mundbereich infizierter Tiere andere Wiederkäuer mit „Läsionen“ an den Lippen infiziert?

6.7 Können die auftretenden leichten Wunden an den Zitzen beim automatischen Melken Virusmaterial abgeben, das dann von den Innenflächen der Sauger an die jeweils nächste Kuh weitergegeben wird?

6.8 Wie sind Ställe und Weiden vor Gnitzen zu schützen?

6.9 Welchen Einfluß hat die Impfung auf die weitere Ausbreitung der BTD?

6.10 Ab welchem Serotiter ist ein Tier für wie lange geschützt?

Diese Untersuchungen sind insbesondere daher wichtig, weil der Serotyp 6 des Virus bereits im Bundesgebiet angekommen ist (Stand November 2008) und der Serotyp 1 sich von Südfrankreich bis auf die Höhe von Nantes vorgearbeitet hat.

7. Literaturverzeichnis

Mehlhorn H, Walldorf V, Klimpel S, et al.: First occurrence of *Culicoides obsoletus* – transmitted bluetongue virus epidemic in central Europe. Parasitol Res. 2007; 101: 213-228.

Purse BV, Mellor PS, Rogers DJ, Samuel AR, Merlens PPC, Baylis M.: Climate change and the recent emergence of the bluetongue in Europe. Nat Rev Microbiol. 2005; 3: 171-181.

Saegerman C, Berkvens D, Mellor PS.: Bluetongue epidemiology in the European Union. Emerg Infect Dis. 2008; 14: 538-544.

SUMMARY

BMLEV-Program: Entomological studies to control Bluetongue disease (BTD)

In August 2006 BTD was introduced from Belgium and / or the Netherlands to Western Germany from where it spread within 1 year to most other regions of Germany. The Friedrich-Löffler-Institute (FLI) recognized that the virus belonged to the serotype 8 – one of other 20 occurring in South Africa. The permanent catching of midges during the year 2006 of the group of the Düsseldorf University and the PCR-analysis of these insects at the FLI on the island Riems resulted in the finding that the very tiny species *Culicoides obsoletus* (0.8 mm in length) is the vector of the imported Bluetongue virus (Conraths et al. 2007, Mehlhorn et al. 2007).

As reaction of the intense spreading of the virus all over Germany the BMLEV Bonn (Dr. Bätza) established a monitoring program asking a group of experts (organized by Prof. Dr. Mehlhorn, Düsseldorf) to catch midges by UV-light traps at 90 farms all over Germany.

Traps and weather stations were placed close to stables of selected farms each being situated in regions of 45 square km. This program started in March 2007 and ran until June 2008. The UV-traps were activated during the nights of the 1st until 8th day of every month and resulted in the catch of large amounts of ethanol preserved insects. The catch was send monthly to the different institutes at Düsseldorf, Bochum, Oldenburg, Großburgwedel, Gießen, Regensburg and Berlin. There the multiheaded research groups selected the midges from the other insects and determined the species according to their wing characteristics. The diagnosed *Culicoides* species were sorted into groups of males and females. Furthermore the latter became differentiated according to their feeding status (fed, unfed) and were finally sent within in fresh ethanol to the FLI at Riems for PCR- increase of virus-RNA. This very intensive cooperation resulted in the following findings:

1. There was **no** climate change - based migration of African or South European known vectors of BTD (such as *Culicoides imicola*). In all cases the two endemic species *Culicoides obsoletus* (70-90% of the catches) and *C. pulicaris* (10-20% of the catches) were predominant, as had been shown already by Mehlhorn et al. (2007) for the year 2006.
2. The PCR-studies at the FLI showed that predominantly *C. obsoletus* – pools (50 specimens were investigated together) turned out to be viruspositive. However, viruspositive pools were also found among the caught *C. pulicaris* specimens. Catches of *C. dewulfi* were very scarce and thus no positive pool was detected.

3. Viruspositive pools of midges occurred only in catches beginning in August 2007 and lasted until end of November with clear peaks in September and October. In 2008 no positive pool was detected in the catches of January until Mai.

4. Clinical symptoms in infected ruminants occurred mostly 1.5-2 months earlier than viruspositive midges in the test. **Thus it was proven that the monitoring of insects is not a helpful means to predict outbreaks of BTB.**

5. The catches of midges indicated that these bloodsuckers breed close by or even inside the stables or may stay for long inside the stable, respectively. Therefore there was no midge-free period recorded indicating that the adult females may become infected even during winter time at indoor-blood meals on infected ruminants. **This finding is epidemiologically important, since it supports the scenario of the survival of the virus in an endemic region.**

6. The recording of the occurrence and large amounts of midges in the period of August-October and the finding that the temperatures during January until Mai 2008 were up to 4°C colder than during the same months in 2007 showed that in cooler years BTB will start later and probably at a low level, when less vectors are available. Thus BTB will occur probably in yearly waves with different amplitudes.

7. The vaccination (having started in Mai 2008) and the use of insecticides will limit the propagation of BTV but will not lead to its extinction in Germany since wild ruminants turned out to be infected, too.

Conclusions:

This worldwide unique monitoring project – when considering length and intensity – reached all goals intended and was able to illuminate the background of the ongoing BTV-epidemic in Germany. Of course it could not be determined, how the virus came to Europe, but the whole scenario made it clear that in times of globalization similar outbreaks of diseases must be (daily) expected since all vectors needed are already present and must not be imported.

Literature:

1. Mehlhorn H, Walldorf V, Klimpel S, Jahn B, Jäger F, Eschweiler J, Hoffmann B, Beer M (2007) First occurrence of *Culicoides obsoletus* transmitted bluetongue virus epidemic in Central Europe. Parasitol Res 101: 219-228
2. Conraths FJ, Kramer M, Freuling C, Hoffmann B, Staubach C, Teifke J, Mettenleiter TC, Beer M (2007) Bluetongue disease in Germany: clinical aspects, diagnosis and epidemiology. Prakt Tierarzt 88: 9-15

Prof. Dr. H. Mehlhorn (technical coordinator of the project)

Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie u. Parasitologie

Heinrich-Heine-Universität

D-40225 Düsseldorf

Universitätsstr. 1

Tel: 0211/8113052

Fax: 0211/8114499

Telex 8 587 348 uni d

E-Mail: mehlhorn@uni-duesseldorf.de

KURZFASSUNG

BMLEV-Projekt: Entomologische Untersuchungen zur Bekämpfung der Blauzungenkrankheit

Im Sommer des Jahres 2006 wurde der Ausbruch der Blauzungenkrankheit im Westen Deutschlands – kommend von Belgien und / oder Holland - festgestellt. Das Friedrich-Löffler-Institut (FLI) wies sehr schnell nach, daß das Erregervirus zum Serotyp 8 gehört, der nie zuvor in Europa aufgetreten war. Dieser Serotyp gehört zu 19 anderen, die in Südafrika heimisch sind, wo wilde Wiederkäuer zwar infiziert sind, aber kaum klinische Symptome zeigen.

Die ersten Gnitzenfängen der Arbeitsgruppe Mehlhorn (Düsseldorf) ergaben nach Analysen im FLI, daß die mit 0,8 mm sehr kleine Art *Culicoides obsoletus* offenbar als Vektor fungierte. Da sich das Virus noch im Jahre 2006 im Bundesgebiet sehr stark ausbreitete, berief das BMLEV Bonn (Dr. Bätza) Anfang 2007 eine von Prof. Dr. Mehlhorn (Düsseldorf) organisierte Expertengruppe, um bundesweit Gnitzen zu fangen, diese zu bestimmen und im FLI auf Virenbefall untersuchen zu lassen.

Im Rahmen dieses Projekts, das von Ende März 2007 bis zum 30.06. 2008 lief, wurden nachtaktive UV-Lichtfallen und elektronische Wetterstationen auf 90 Bauernhöfen aufgestellt, wobei sich diese jeweils einzeln in Planquadraten von 45 x 45 km befanden, um so möglichst flächendeckend die Gnitzenpopulation in der Bundesrepublik zu erfassen. Bis auf wenige Gebiete in Sachsen und Bayern, die bis dato noch nicht von der Blauzungenenerkrankung betroffen waren, konnten somit alle Länder ins Monitoringnetz einbezogen werden.

Die Fänge erfolgten jeweils vom 01.-08. jeden Monats. Die gesamte Ausbeute wurde monatlich von den Landwirten an die beteiligten Institute in Düsseldorf, Bochum, Gießen, Oldenburg, Regensburg, Großburgwedel und Berlin eingesandt und dort mit Hilfe des Mikroskops sortiert. Die gefangenen Gnitzen wurden nach der Flügeläderung bestimmt und nach Arten, Geschlecht und Saugzustand (mit oder ohne aufgenommenes Wirtsblut) zur Virusanalyse an das FLI auf der Insel Riems eingeschickt.

Es ergaben sich folgende Befunde:

1. Es fanden sich **keine** klimabedingten Nordwärtswanderungen von afrikanischen bzw. südeuropäischen Gnitzenarten (z.B. *Culicoides imicola*), sondern die einheimischen Arten *C. obsoletus* (70-90% der Fänge) und *C. pulicaris* (10-20% der Fänge) erwiesen sich bundesweit vorherrschend, wie es schon von Mehlhorn et al. (2007) 2006 im Aachener Raum berichtet worden war.

2. Diese beiden Arten erwiesen sich bei PCR-Untersuchungen auch als die BTV-Träger in Deutschland. Da diese Gnitzen sehr klein sind, können infizierte Individuen leicht mit dem Wind vertrifft werden.

3. Allerdings wurden in allen Fanggebieten erst ab August 2007 virenhaltende Pools (von jeweils 50 Gnitzen) ermittelt. Die Anzahl dieser Pools nahm bis Ende Oktober 2007 massiv zu, während in den Fängen im Jahre 2008 (bis Mai) wie im Vorjahr in dieser Jahreszeit keine positiven Gnitzenpools auftraten.

4. Klinische Symptome bei befallenen Tieren (wie auch PCR – Nachweise in deren Blut) waren aber bereits 1,5-2 Monate vor dem Nachweis virusbefallener Gnitzenpools ermittelt worden.

Somit ist die Virussuche in Gnitzen kein geeignetes Mittel, den Ausbruch einer Blauzungenepidemie vorherzusagen.

5. Die Gnitzenfänge zeigten, daß diese Insekten stallnah oder sogar im Stall brüten bzw. sich dort länger aufhalten. Auch gab es im Jahresverlauf keine gnitzenfreie Zeit, denn selbst in den Monaten Dezember bis März wurden adulte Gnitzen- wenn auch in geringer Anzahl- in den stallnah aufgehängten Fallen beobachtet.

Dies ist ein epidemiologisch ganz wichtiger Befund, weil somit davon ausgegangen werden kann, daß die Virenfracht auch im Winter bei adulten Gnitzen erhalten bleibt und sich diese Insekten bei virentragenden Wiederkäuern auch noch in dieser Zeit neu infizieren können.

6. Die erhobenen Daten zur Gnitzenverbreitung (Hauptzeit von August bis Ende Oktober) sowie die Wetterdaten – im Januar 2008 war es faktisch auf allen Höfen bis zu 4°C kälter als 2007 – weisen daraufhin, daß das in Deutschland die Blauzungenviren längerfristig persistieren werden und die Krankheit jährlich in unterschiedlich starken Wellen auftreten wird. Die Intensität ist aber abhängig von der Tatsache, daß längere, höhere Temperaturen im Frühjahr mehrere Gnitzengenerationen entstehen lassen, was dann das Übertragungspotential jeweils erhöht.

7. Möglichst flächendeckende Impfmaßnahmen und der zusätzliche Schutz von Schafen und Rindern durch Insektizide werden das Auftreten des Virus zwar einschränken, aber wegen des nachgewiesenen Befalls von Wildwiederkäuern nicht eliminieren.

Fazit: Dieses weltweit in seiner Intensität und Länge einmalige Monitoring - Projekt hat alle gesetzten Ziele erreicht und den Hintergrund des Übertragungsgeschehens überzeugend beleuchtet. Es konnte naturgemäß die Einwanderung des Virus nach Holland und Belgien nicht erklären, erbrachte Hinweise zur West-Ost Ausbreitung der Blauzungenkrankheit u. a. durch Windverfrachtung von infizierten Gnitzen und belegt, daß Europa in Zeiten der Globalisierung noch von zahlreichen anderen Erregern befallen werden wird, denn die Vektoren und Wirte sind allemal in ausreichender Anzahl vorhanden.

Literatur:

1. Mehlhorn H, Walldorf V, Klimpel S, Jahn B, Jäger F, Eschweiler J, Hoffmann B, Beer M (2007) First occurrence of *Culicoides obsoletus* transmitted bluetongue virus epidemic in Central Europe. Parasitol Res 101: 219-228

2. Conraths FJ, Kramer M, Freuling C, Hoffmann B, Staubach C, Teifke J, Mettenleiter TC, Beer M (2007) Bluetongue disease in Germany: clinical aspects, diagnosis and epidemiology. Prakt Tierarzt 88: 9-15

Prof. Dr. H. Mehlhorn (technical coordinator of the project)

Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie u. Parasitologie

Heinrich-Heine-Universität

D-40225 Düsseldorf

Universitätsstr. 1

Tel: 0211/8113052

Fax: 0211/8114499

Telex 8 587 348 uni d

E-Mail: mehlhorn@uni-duesseldorf.de



Entomologische Untersuchungen zur Bekämpfung der Blauzungenkrankheit in Niedersachsen

Abschlussbericht der AG 3 (Liebisch)

13. Juli 2008

ZeckLab
Labor für klinische Diagnostik und Prüfung
Dr. Gabriele Liebisch / Prof. Dr. Arndt Liebisch
Up'n Kampe 3
D-30938 Burgwedel

Tel. 05139-892447
Fax 05139-892448
E.mail: Liebisch@zecklab.de



Inhalt

1. PERSONAL, VORBEREITUNG UND DURCHFÜHRUNG DES MONITORINGS

- 1.1. Mitarbeiter der AG Liebisch /ZeckLab
- 1.2. Kooperationspartner der AG Liebisch /ZeckLab
- 1.3. Teilnahme an Arbeitstreffen mit anderen Monitoring-AG's
- 1.4. Durchführung des Monitorings
 - 1.4.1. Betriebe und Fallenstandorte

2. ERGEBNISSE

- 2.1. Briefumfrage der Landwirte
- 2.2. Gnitzenfänge
- 2.3. Nachweis von BTV-Genomen in Gnitzen
- 2.4. Artenspektrum

1. PERSONAL, VORBEREITUNG UND DURCHFÜHRUNG DES MONITORINGS

1.1. Mitarbeiter der AG Liebisch /ZeckLab

Prof. Dr. A. Liebisch

Dr. G. Liebisch

Dr. Sandra Heine

Patricia Hinrichs (Techn. Assistentin)

1.2. Kooperationspartner der AG Liebisch /ZeckLab

Veterinärämter der betreffenden Landkreise:

- Amtstierarzt Dr. Wichern, Landkreis Hildesheim, Bischof-Jansen-Str. 31, 31134 Hildesheim
- Amtstierarzt Dr. Vogel, Veterinäramt der Region Hannover, Ref. Tierseuchen, Hildesheimer Str. 20, 39169 Hannover
- Amtstierarzt Dr. H. Even, Landkreis Schaumburg, Bahnhofstr. 25, 31675 Bückeburg
- Amtstierärztin Dr. Leonhard, Landkreis Celle, Trift 26, 29221 Celle

1.3. Teilnahme an Arbeitstreffen mit anderen Monitoring-AG's

23.01.2007	Bonn, BMELV (Liebisch)
12.02.2007	Berlin, FU Inst. F. Parasitologie (Liebisch/Liebisch)
23.02.2007	Bonn, BMELV (Liebisch/Liebisch)
19.03.2007	Düsseldorf Heinrich Heine-Universität, Inst für Parasitologie Prof. Mehlhorn
03.04.2007	FLI, Inst f. Epidemiologie, Wusterhausen, PD Dr. Conraths
15.05.2007	Vortrag, Dr. R. Meiswinkel, FLI, Wusterhausen
06.06.2007	DVG Tagung Celle (Liebisch/Liebisch)
18.09.2007	Bonn, BMELV (Liebisch)
23.04.2008	Abschlussmeeting, FLI Riems (Liebisch/Liebisch)

1.4. Durchführung des Monitorings

Die Durchführung des Forschungsvorhabens erfolgte laut Studienprotokoll vom 23.04.2007 in 4 Rinderbeständen in Niedersachsen (Hannover, Hildesheim, Celle und Schaumburg-Lippe) im Zeitraum vom 31.03.2007 bis 30.06.2008

1.4.1. Betriebe und Fallenstandorte

Nr.	Falle	Bundesland	Landkreis	Tierhalter
1	NI HI	Niedersachsen	Hildesheim	Lehr- und Forschungsgut Ruthe, Schäferberg1 31157 Sarstedt
2	NI H	Niedersachsen	Hannover	H. Hanne Hagenkamp 44 30982 Vardegötzen
3	NI CE	Niedersachsen	Celle	Georg Rahlfs Hannoversche Str. 158 29352 Adelheidsdorf
4	NI SHG	Niedersachsen	Schaumburg	Eckert Ostermeier Hauptstr. 21 31675 Scheie

Die Standorte sind in Anlage 5 markiert dargestellt

2. ERGEBNISSE

2.1. Briefumfrage der Landwirte im Rahmen des Gnitzenfangprogramms 2007-2008

Die Angaben der Landwirte sind in Anlage 1 angefügt.

2.2. Gnitzenfänge

Die Ergebnisse der laut Study Protocol vorgesehenen Fangperioden sind in Anlage 2 Tabellen 1-8 und Anlage 3 Tabellen 1-8 aufgeführt.

Im Untersuchungszeitraum vom 15.03.2007 bis zum 30.06.2008 wurden insgesamt 86.433 Gnitzen mit Biogents Fallen gefangen. Hierbei entfielen 68.115 Gnitzen (78.8%) auf den C.obsoletus-Komplex, 8.983 Gnitzen (10.4%) auf den C.pulicaris-Komplex und 9.335 Gnitzen (10.8%) auf andere Arten.

Tabelle 1 und 2 geben eine Übersicht der Gnitzenfänge auf dem Hof Nr. 1 (NI HI), Tabelle 3 und 4 eine Übersicht der Gnitzenfänge auf dem Hof Nr. 2 (NI H), Tabelle 5 und 6 eine Übersicht der Gnitzenfänge auf dem Hof Nr. 3 (NI CE) und die Tabelle 7 und 8 auf dem Hof Nr. 4 (SHG) in den Jahren 2007 und 2008. Fänge von männlichen Gnitzen anderer Arten blieben unberücksichtigt.

Die höchsten Fangzahlen konnten im Jahr 2007 in allen Fällen in den Monaten Juli bis Oktober ermittelt werden, wobei im Monat September ein Einbruch der Fangzahlen zu verzeichnen war. Die Fangzahlen gingen dann im November und Dezember deutlich zurück.

Im Januar 2008 konnte an keinem der Standorte Gnitzen gefangen werden. Im Februar waren einzelne Exemplare in Standort 1 (NI HI), Standort 2 (NI H) und Standort 3 (NI CE) vorhanden. Lediglich in Standort 4 (NI SHG) konnten von Dezember bis März keine Gnitzen nachgewiesen werden.

2.3. Nachweis von BTV – Genomen in Gnitzen

Im Untersuchungszeitraum vom 15. März bis zum 30. Juni 2008 wurden insgesamt 36.146 Gnitzen an das FLI zur Virusisolierung übersandt. Hierbei entfielen 25.516 (70,6%) auf den *C.obsoletus* Komplex, 6.875 (19,1%) auf den *C.pulicaris*-Komplex und 3.755 (10,4%) Gnitzen auf andere Arten. Eine Übersicht der positiven Befunde gibt Anlage 4 Tabelle 1

Von den an das FLI eingesandten Gnitzen (total 36.146) wurden alle auf BT-Virus untersucht. Es konnte im Oktober 2007 erstmals in 5 Pools aus Falle 1 (Standort NI HI) BT Virusmaterial nachgewiesen werden. Die dabei ermittelten ct Werte der Pools lagen bei 34,72 – 37,47. Bei den Gnitzen handelte es sich hierbei um frisch vollgesogene Weibchen aus dem *C.obsoletus* Komplex. (FLI Proben Nr. 317/7 A-E). Im September 2007 konnte in 1 Pool und im Oktober in 3 Pools aus Falle 4 (Standort NI SHG) BT Virusmaterial nachgewiesen werden. Die ermittelten ct Werte der Pools lagen bei 28,18 – 31,65. Bei den Gnitzen handelte es sich hierbei um gravide Weibchen aus dem *C.obsoletus* Komplex (FLI Proben Nr. 18/156B, 18/158A, 18/159A und C).



2.4. Artenspektrum

Insgesamt konnten während des gesamten Untersuchungszeitraums an allen 4 Standorten Gnitzten aus 29 Arten nachgewiesen werden. Das Artenspektrum an den einzelnen Standorten (NI HI, NI H, NI CE und NI SHG) werden in Tabellen 1-4 dargestellt.

Tabelle 1 : Artenspektrum von Fallenstandort Hildesheim (NI HI)

	Apr	Mai	Juni	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez
C.albicans							X		
C.brunnigans			X						
C. chiopterus		X							
C.dewulfi		X							
C.festevipennis			X						
C.newsteady							X		
C.obsoletus	XX	XX	X	X	X	X	X		X
C.pulicaris	X	X				X			
C.punctatus	X	X				X	X	X	X
C.riethie			X						
C.scoticus					X			X	
C.simulatur		X							
Atrichopogon							X		
Forcipomyia	X	XX	X	X	X	X	X	X	

X für 2007

X für 2008



Tabelle 2: Artenspektrum von Fallenstandort Hannover (Ni H)

	Apr	Mai	Juni	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez
C.achrayi		X	X						
C.albicans		X			X				
C.brunnicans			X	X					
C.chiopterus		X	X	X					
C.circumscriptus		X	X	X	X				
C.clastrieri				X	X	X			
C.dewulfi		X		X					
C.fagineus			X		X				
C.festevipennis	X		X	X	X				
C.newsteady					X				
C.nubeculosus				X			X		
C.obsoletus	X	XX	X	X	X	X	X	X	X
C.properinghensis				X					
C.pulicaris	X			X	X	X			
C.punctatus	X	XX	X	X	X	X	X	X	
C.puncticollis					X				
C.scoticus	X				X		X	X	
C.simulator		X							
C.subfasciipennis					X				
C.truncorum			X						
Forcipomyia	X	X	X	X	X	X	X	X	

X für 2007 X für 2008

Tabelle 3: Artenspektrum von Fallenstandort Celle (NI CE)

	Apr	Mai	Juni	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez
C.achrayi						X			
C.albicans			X						
C.chiopterus		X			X	X			
C.circumscriptus				X	X				
C.clastrieri									
C.dewulfi		X			X				
C.impunctatus					X				
C.lupicaris				X					
C.newsteady					X				X
C.nubeculosus					X	X	X		
C.obsoletus	XX	XX	X	X		X	X	X	X
C.properinghensis			X						
C.pulicaris	X								
C.punctatus	X	X	X	X	X	X	X	X	
C.scoticus		X			X		X	X	
C.vexans			X						
Forcipomyia	X	XX	X	X	X	X	X	X	



Tabelle 4: Artenspektrum von Fallenstandort Schumburg (NI SHG)

	Apr	Mai	Juni	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez
<i>C.achrayi</i>			x	x					
<i>C.albicans</i>		x		x	x				
<i>C.brunnigans</i>		x	x	x					
<i>C.chiopterus</i>		x	x	x				x	
<i>C.dewulfi</i>		x							
<i>C.circumscriptus</i>				x	x				
<i>C.fagineus</i>			x	x					
<i>C.fasciipennis</i>				x					
<i>C.festevipennis</i>						x	x		
<i>C.lupicaris</i>		xx		x		x			
<i>C.newsteady</i>				x	x	x			
<i>C.nubeculosus</i>			x						
<i>C.obsoletus</i>	xx	xx	x	x	x	x	x	x	
<i>C.properinghensis</i>			x						
<i>C.pulicaris</i>		xx		x	x	x	x		
<i>C.punctatus</i>		xx		x	x	x	x	x	
<i>C.scoticus</i>				x	x		x		
<i>Forcipomyia</i>	x	xx	x	x	x	x	x	x	

X für 2007 X für 2008

Burgwedel, den 13. Juli 2008

Dr. Gabriele Liebisch

Prof. Dr. A. Liebisch

Anlage 1 (Briefumfrage)

Absender: (Landwirt)

Lehr- und Forschungsgut Ruthe
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
31157 Sarstedt Schäterberg 1
Tel. 0 50 66 / 60 08-0 Fax: -410

Labor ZeckLab
Dr. G. Liebisch
Üp'n Kampe 3
30938 Burgwedel

Datum: 09.07.2008

Betr.: Antworten zu Fragen im Rahmen des Gnitzenfangprogramms 2007-2008

1. Im Zeitraum März 2007 bis Mai 2008 hielten wir:

- a) Schafe, 190 Rinder
b) 125 im Stall, 65 auf der Weide bzw. beides

2. Wir hatten folgende Blauzungenfälle (Anzahl):

- a) Erkrankungen bei Schafen, dabei Todesfälle im Monat
b) Erkrankungen bei Rindern, dabei Todesfälle
c) 1 Anzahl seropositiver Tiere von 2 untersuchten Tieren
d) Die ersten Erkrankungen im Jahre 2007 traten im Monat auf, die
Todesfälle im Monat
e) Im Jahr 2008 traten die ersten Erkrankungen im Monat auf.
f) Im Jahr 2008 wurden seropositive Tiere bereits im Monat März gefunden bzw. es
wurde nicht untersucht
g) Unser Hof liegt etwa 40 m über dem Meer.

H. Mohwinkel

Unterschrift

Anlage 1 (Briefumfrage)

Absender: (Landwirt)

H. Hanne
Hagenkamp 44
30982 Vordöggen

Labor ZeckLab

Dr. G. Liebisch

Up'n Kampe 3

30938 Burgwedel

Datum: 14.07.2008

telefonisch erfragt

Betr.: Antworten zu Fragen im Rahmen des Gnitzenfangprogramms 2007-2008

1. Im Zeitraum März 2007 bis Mai 2008 hielten wir:

- a) Schafe, 256 Rinder
b) 30 im Stall, 83 auf der Weide bzw. 143 beides

2. Wir hatten folgende Blauzungenfälle (Anzahl):

- a) Erkrankungen bei Schafen, dabei Todesfälle im Monat
b) Erkrankungen bei Rindern, dabei Todesfälle
c) Anzahl seropositiver Tiere von untersuchten Tieren
d) Die ersten Erkrankungen im Jahre 2007 traten im Monat auf, die
Todesfälle im Monat
e) Im Jahr 2008 traten die ersten Erkrankungen im Monat auf.
f) Im Jahr 2008 wurden seropositive Tiere bereits im Monat gefunden bzw. es
wurde nicht untersucht
g) Unser Hof liegt etwa .. 73 .. m über dem Meer.

.....
Unterschrift

Anlage 1 (Briefumfrage)

Absender: (Landwirt)

..... **Rahfs**
Georg Rahfs junior
Hannoversche Straße 158
29352 Adelheidsdorf
Tel. 05085-92363 Fax 9560012

Labor ZeckLab

Datum: 07.07.08

Dr. G. Liebisch

Up'n Kampe 3

30938 Burgwedel

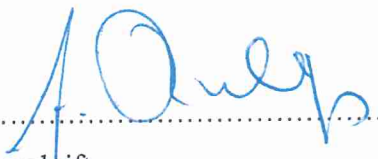
Betr.: Antworten zu Fragen im Rahmen des Gnitzenfangprogramms 2007-2008

1. Im Zeitraum März 2007 bis Mai 2008 hielten wir:

- a) Schafe, ⁵⁵⁰ Rinder
b) ⁴⁸⁰ im Stall, ⁷⁰ auf der Weide bzw. beides

2. Wir hatten folgende Blauzungenfälle (Anzahl):

- a) Erkrankungen bei Schafen, dabei Todesfälle im Monat.....
b) ⁰ Erkrankungen bei Rindern, dabei Todesfälle ⁰
c) Anzahl seropositiver Tiere von untersuchten Tieren
d) Die ersten Erkrankungen im Jahre 2007 traten im Monat ~~.....~~ auf, die
Todesfälle im Monat ⁰
e) Im Jahr 2008 traten die ersten Erkrankungen im Monat ^{.....} auf.
f) Im Jahr 2008 wurden seropositive Tiere bereits im Monat ⁰ gefunden bzw. es
wurde nicht untersucht ^{Ja}
g) Unser Hof liegt etwa ⁴¹ m über dem Meer.

.....

Unterschrift

Anlage 1 (Briefumfrage)

Absender: (Landwirt)

Eckert Ostermeier
Hauptstr 21
31675 Silberh.

Labor ZeckLab

Dr. G. Liebisch

Up'n Kampe 3

30938 Burgwedel

Datum: 14.7.08

telefonisch erfragt.

Betr.: Antworten zu Fragen im Rahmen des Gnitzenfangprogramms 2007-2008

1. Im Zeitraum März 2007 bis Mai 2008 hielten wir:

- a) Schafe, 90 Rinder
b) 34 im Stall, 16 auf der Weide bzw. 40 beides

2. Wir hatten folgende Blauzungenfälle (Anzahl):

- a) Erkrankungen bei Schafen, dabei Todesfälle im Monat
b) 1 Erkrankungen bei Rindern, dabei Todesfälle 1
c) Anzahl seropositiver Tiere von untersuchten Tieren
d) Die ersten Erkrankungen im Jahre 2007 traten im Monat September auf, die
Todesfälle im Monat 2.10.2007
e) Im Jahr 2008 traten die ersten Erkrankungen im Monat auf.
f) Im Jahr 2008 wurden seropositive Tiere bereits im Monat gefunden bzw. es
wurde nicht untersucht
g) Unser Hof liegt etwa 64 m über dem Meer.

.....
Unterschrift

Anlage 2

Tabelle 1: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2007 an dem Standort Nr. 1 NI HI

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Anzahl aller Gnitzen	30	973	466	2452	5041	1573	7947	553	17
Anzahl aller Weibchen/Männchen	30/0	962/11	458/8	2636/21	7309/72	1748/12	7963/164	555/6	17/0
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	29	914	436	2435	4949	1569	7738	491	16
Anzahl <i>C. obsoletus</i> / ♂	29/0	903/11	428/8	2414/21	4878/71	1557/12	7575/163	489/2	16/0
Anzahl gesogene ungesogene <i>C. obsoletus</i>	8 21	162 741	278 150	1898 516	4038 840	1276 281	6538 1037	418 71	13 3
Anzahl <i>C. pulicaris</i> / ♂	0/0	45/0	28/0	17/0	84/1	3/0	205/1	58/4	1/0
Anzahl gesogene ungesogene <i>C. pulicaris</i>	0 0	7 38	19 9	11 6	42 42	0 3	135 70	54 4	1 0
Anzahl anderer <i>Culicoides</i> Arten	1	14	1	0	7	1	3	0	0
Anzahl nicht näher bestimmt	0	29	138	158	2291	185	178	6	0
Temperaturbereich in der Fangperiode	2,5°-18° C	7,8°- 23,6° C	13,3°- 30,3° C	12,9°- 23,6° C	12,1°- 30,3° C	10,6°- 20,6° C	7°-18,3° C	4,2°-13,3° C	5,8°-12,9° C

Anlage 2

Tabelle 2: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2008 an dem Standort Nr. 1 NI HI

	Jan.	Feb.	März	April	Mai
Anzahl aller Gnitzen	0	1	3	6	3301
Anzahl aller Weibchen/Männchen	0/0	1/0	3/0	4/2	3210/91
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	0	1	3	6	2871
Anzahl <i>C. obsoletus</i> / ♂	0/0	1/0	3/0	4/2	2784/87
Anzahl gesogene ungesogene	0	1	2	0	1952
<i>C. obsoletus</i>	0	0	1	4	832
Anzahl <i>C. pullicaris</i> / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	426/4
Anzahl gesogene ungesogene	0	0	0	0	252
<i>C. pullicaris</i>	0	0	0	0	174
Anzahl anderer <i>Culicoides</i> Arten	0	0	0	0	0
Anzahl nicht näher bestimmt	0	0	0	0	6
Temperaturbereich in der Fangperiode	-3,3°C- 8,2°C	HOBO defekt	HOBO defekt	HOBO defekt	HOBO defekt

Anlage 2

Tabelle 3: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2007 an dem Standort Nr. 2 NI H

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Anzahl aller Gnitzen	2	795	1321	2329	12467	1127	4698	553	1
Anzahl aller Weibchen/Männchen	2/0	790/5	1307/14	2318/11	12438/29	1121/6	4683/15	547/6	1/0
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	2	487	684	2088	11278	1056	3669	491	1
Anzahl <i>C. obsoletus</i> ♀/♂	2/0	485/2	681/3	2078/10	11260/18	1052/4	3663/6	489/2	1/0
Anzahl gesogene ♀	0	113	562	1936	9712	826	3466	418	1
ungesogene ♀	2	370	119	142	1548	226	197	71	0
<i>C. obsoletus</i>									
Anzahl <i>C. pullicaris</i> ♀/♂	0/0	288/3	610/11	221/1	1145/11	68/2	1018/9	58/4	0/0
Anzahl gesogene ♀	0	10	300	153	770	38	851	54	0
ungesogene ♀	0	287	310	68	375	30	167	4	0
<i>C. pullicaris</i>									
Anzahl ♀ anderer Arten	0	17	16	19	33	1	2	0	0
Anzahl ♀ nicht näher bestimmt	0	25	109	42	648	37	8	24	0
Temperaturbereich in der Fangperiode	1,2°C- 16,7°C	3,3°C- 22,5°C	9,8°C- 27,1°C	12,1°C- 24°C	8,6°C- 28,3°C	8,9°C- 21,3°C	5°C-16,4°C	1,5°C- 13,5°C	4,6°C- 12,7°C

Anlage 2

Tabelle 4: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2008 2007 an dem Standort Nr. 2 NI H

	Jan.	Feb.	März	April	Mai
Anzahl aller Gnitzen	0	1	0	1	1600
Anzahl aller Weibchen/Männchen	0/0	1/0	0/0	1/0	1587/13
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	0	1	0	1	590
Anzahl <i>C. obsoletus</i> ♀/♂	0/0	1/0	0/0	1/0	584/6
Anzahl gesogene ♀	0	1	0	0	533
ungesogene ♀	0	0	0	1	51
<i>C. obsoletus</i>					
Anzahl <i>C. pulicaris</i> ♀/♂	0/0	0/0	0/0	0/0	993/7
Anzahl gesogene ♀	0	0	0	0	560
ungesogene ♀	0	0	0	0	433
<i>C. pulicaris</i>					
Anzahl ♀ anderer Arten	0	0	0	0	10
Anzahl ♀ nicht näher bestimmt	0	0	0	0	1
Temperaturbereich in der Fangperiode	-4°C-7,8°C	3,3°C-12,2°C	-0,2°C-12,6°C	1,6°C-17,1°C	4,2°C-21,3°C

Anlage 2

Tabelle 5: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2007 an dem Standort Nr.3 NI CE

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Anzahl aller Gnitzen	42	67	683	501	3257	206	1924	1457	9
Anzahl aller Weibchen/Männchen	37/5	63/2	664/19	488/13	3197/60	196/10	1912/12	1432/25	8/1
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	42	65	639	472	3155	192	1882	1248	7
Anzahl <i>C. obsoletus</i> ♀/♂	37/5	63/2	621/18	461/11	3105/50	183/9	1870/12	1229/19	6/1
Anzahl gesogene ♀	5	18	378	427	2434	134	1527	1159	6
ungesogene ♀	32	45	243	34	671	49	343	70	0
<i>C. obsoletus</i>									
Anzahl <i>C. pullicaris</i> ♀/♂	0/0	0/0	24/1	12/2	86/10	11/1	31/0	203/6	2/0
Anzahl gesogene ♀	0	0	18	9	57	8	22	198	2
ungesogene ♀	0	0	16	3	29	3	9	5	0
<i>C. pullicaris</i>									
Anzahl ♀ anderer Arten	0	2	19	15	6	2	1	0	0
Anzahl ♀ nicht näher bestimmt	0	0	246	107	1361	61	400	159	0
Temperaturbereich in der Fangperiode	9°C- 20,6°C	8,1°C- 25,6°C	16,3°C- 31,9°C	15,6°C- 24,8°C	14,4°C- 28,3°C	9,4°C- 20,6°C	7°C-18,3°C	4,2°C- 13,3°C	5,8°C- 12,9°C

Anlage 2

Tabelle 6: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2008 an dem Standort Nr.3 NI CE

	Jan.	Feb.	März	April	Mai
Anzahl aller Gnitzen	0	1	0	5	1603
Anzahl aller Weibchen/Männchen	0/0	1/0	0/0	4/1	1523/80
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	0	1	0	5	816
Anzahl <i>C. obsoletus</i> ♀/♂	0/0	1/0	0/0	4/1	751/65
Anzahl gesogene ♀ ungesogene ♀	0	1	0	3	698
<i>C. obsoletus</i>	0	0	0	1	53
Anzahl <i>C. pullicaris</i> ♀/♂	0/0	0/0	0/0	0/0	770/15
Anzahl gesogene ♀ ungesogene ♀	0	0	0	0	619
<i>C. pullicaris</i>	0	0	0	0	151
Anzahl ♀ anderer Arten	0	0	0	0	2
Anzahl ♀ nicht näher bestimmt	0	0	0	0	5
Temperaturbereich in der Fangperiode	-1,1°C- 8,6°C	3,7°C- 14,8°C	0,7°C- 12,9°C	4,6°C- 16,7°C	13,7°C- 25,9°C

Anlage 2

Tabelle 7: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2007 an dem Standort Nr.4 NI SHG

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Anzahl aller Gnitzen	73	3233	661	1568	2255	1219	6538	525	0
Anzahl aller Weibchen/Männchen	70/3	3186/47	647/14	1547/21	2207/48	1177/42	6209/329	472/53	0/0
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	69	3122	589	1454	2054	1169	6160	384	0
Anzahl <i>C. obsoletus</i> ♀/♂	66/3	3075/47	576/13	1433/21	2010/44	1131/38	5851/309	349/35	0/0
Anzahl gesogene ♀	1	133	424	1192	1796	1029	4792	341	0
ungesogene ♀	65	2942	152	241	214	102	1059	8	0
<i>C. obsoletus</i>									
Anzahl <i>C. pullicaris</i> ♀/♂	2/0	105/0	60/1	74/0	187/4	41/4	355/20	122/18	0/0
Anzahl gesogene ♀	0	3	30	49	142	36	209	119	0
ungesogene ♀	2	102	30	25	45	5	146	3	0
<i>C. pullicaris</i>									
Anzahl ♀ anderer Arten	2	6	11	40	10	5	3	1	0
Anzahl ♀ nicht näher bestimmt	0	5	426	489	1204	88	92	14	0
Temperaturbereich in der Fangperiode	1,2°C- 19,4°C	7,4°C- 24°C	12,5°C- 32,3°C	12,5°C- 23,6°C	14,1°C- 30,7°C	HOBO Defekt	HOBO Defekt	HOBO Defekt	4,1°C- 8,6°C

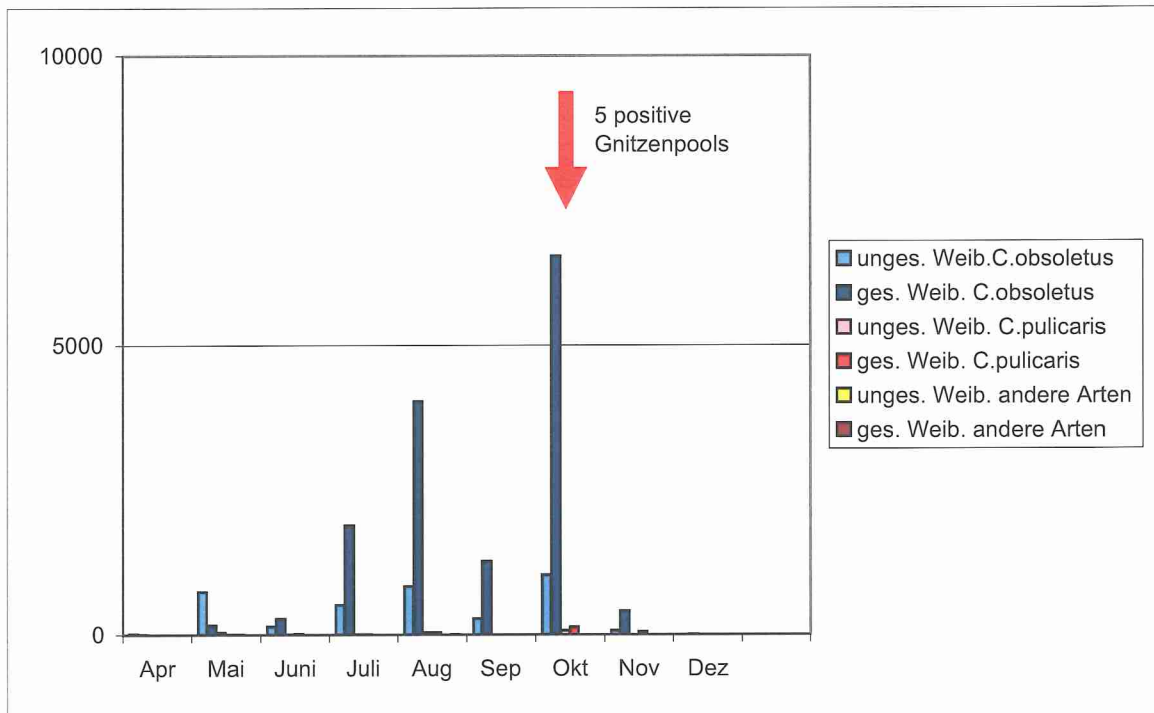
Anlage 2

Tabelle 8: Übersicht über die Gnitzen-Fänge im Jahre 2008 dem Standort Nr.4 NI SHG

	Jan.	Feb.	März	April	Mai
Anzahl aller Gnitzen	0	0	0	40	3969
Anzahl aller Weibchen/Männchen	0/0	0/0	0/0	39/1	3940/29
Anzahl <i>Culicoides obsoletus</i>	0	0	0	39	2553
Anzahl <i>C. obsoletus</i> ♀/♂	0/0	0/0	0/0	38/1	2531/22
Anzahl gesogene ♀ ungesogene ♀	0 0	0 0	0 0	22 16	2351 180
Anzahl <i>C. pulicaris</i> ♀/♂	0/0	0/0	0/0	0/0	1322/7
Anzahl gesogene ♀ ungesogene ♀	0 0	0 0	0 0	0 0	927 395
Anzahl ♀ anderer Arten	0	0	0	0	87
Anzahl ♂ anderer Arten	0	0	0	1	5
Temperaturbereich in der Fangperiode	-1°C-8,2°C	1,6°C-12,2°C	0°C-10,2°C	0,6°C-15,6°C	4,6°C-25,9°C

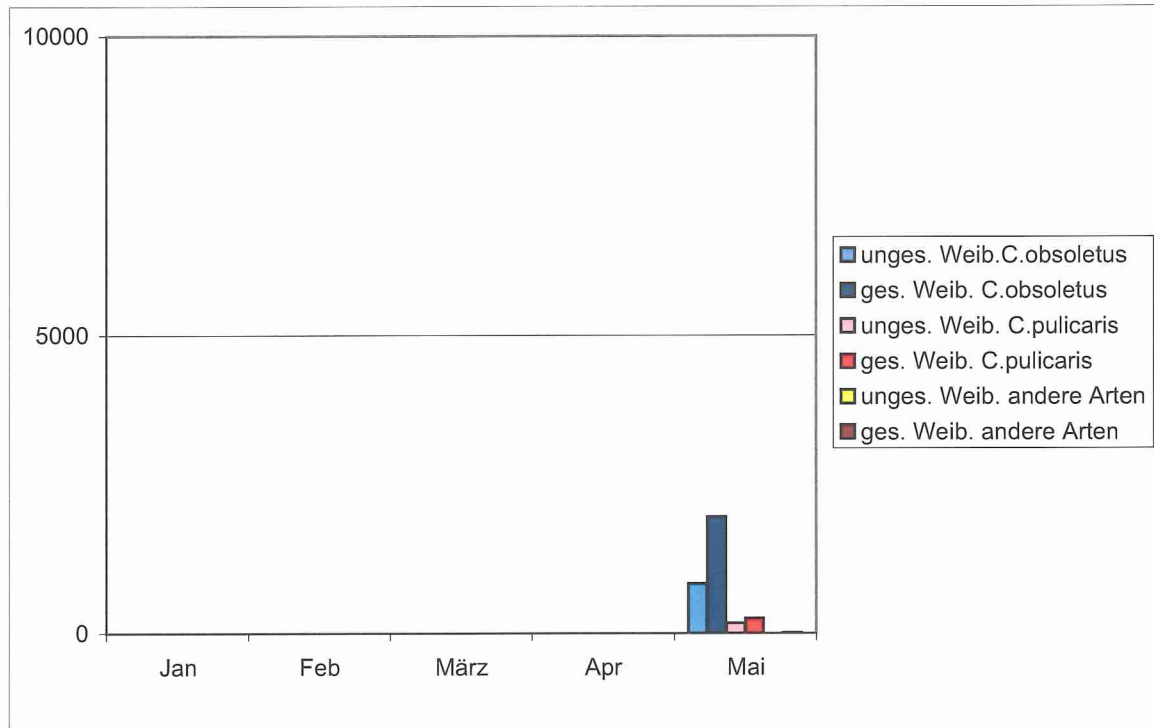
Anlage 3

Tabelle 1: Übersicht der im Jahre 2007 auf dem Hof Nr. 1 (NI HI) gefangener Gnitzen. Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von C.obsoletus und C.pulicaris gegenüber restlicher Arten



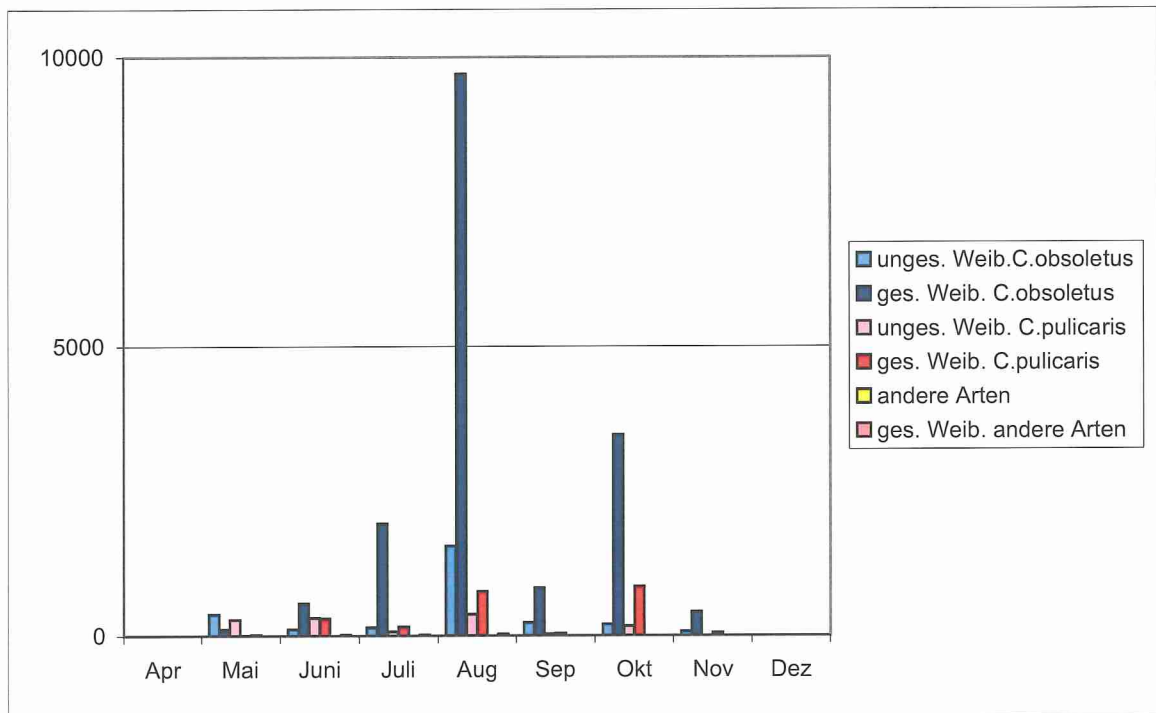
Anlage 3

Tabelle 2: Übersicht der im Jahre 2008 auf dem Hof Nr. 1 (NI HI) gefangener Gnitzen. Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber restlicher Arten



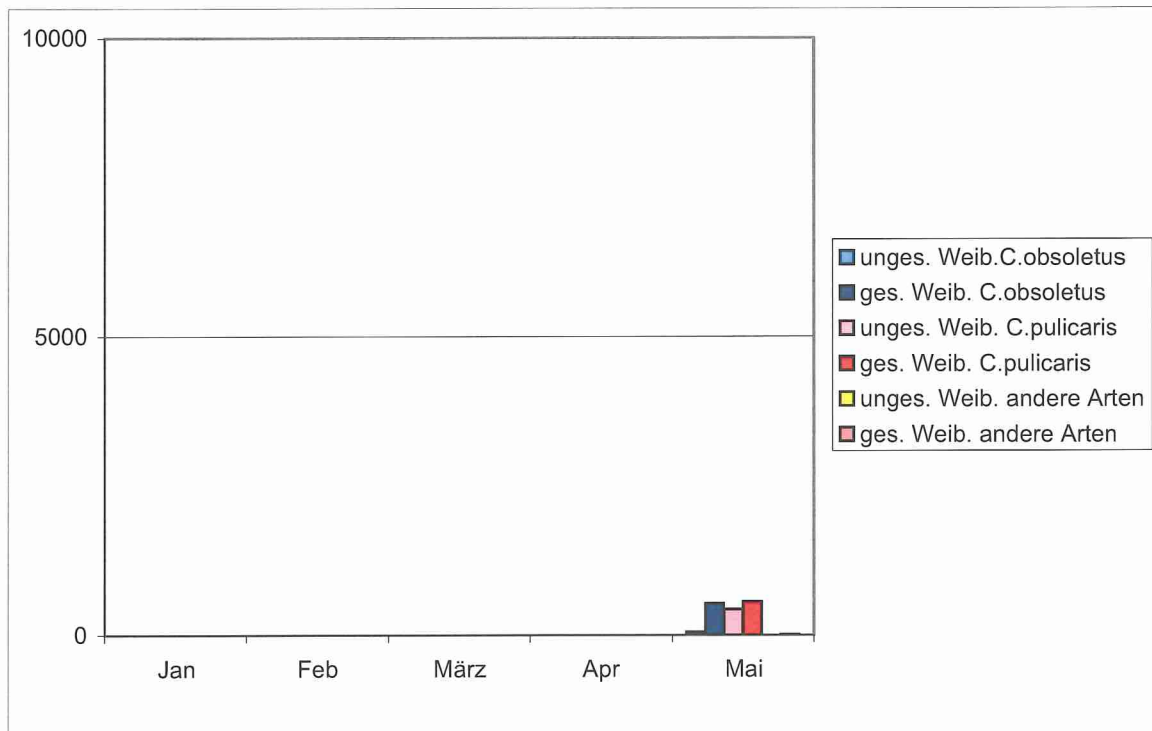
Anlage 3

Tabelle 3: Übersicht der im Jahre 2007 auf dem Hof Nr. 2 (NI H) gefangener Gnitzen.
Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber restlicher Arten



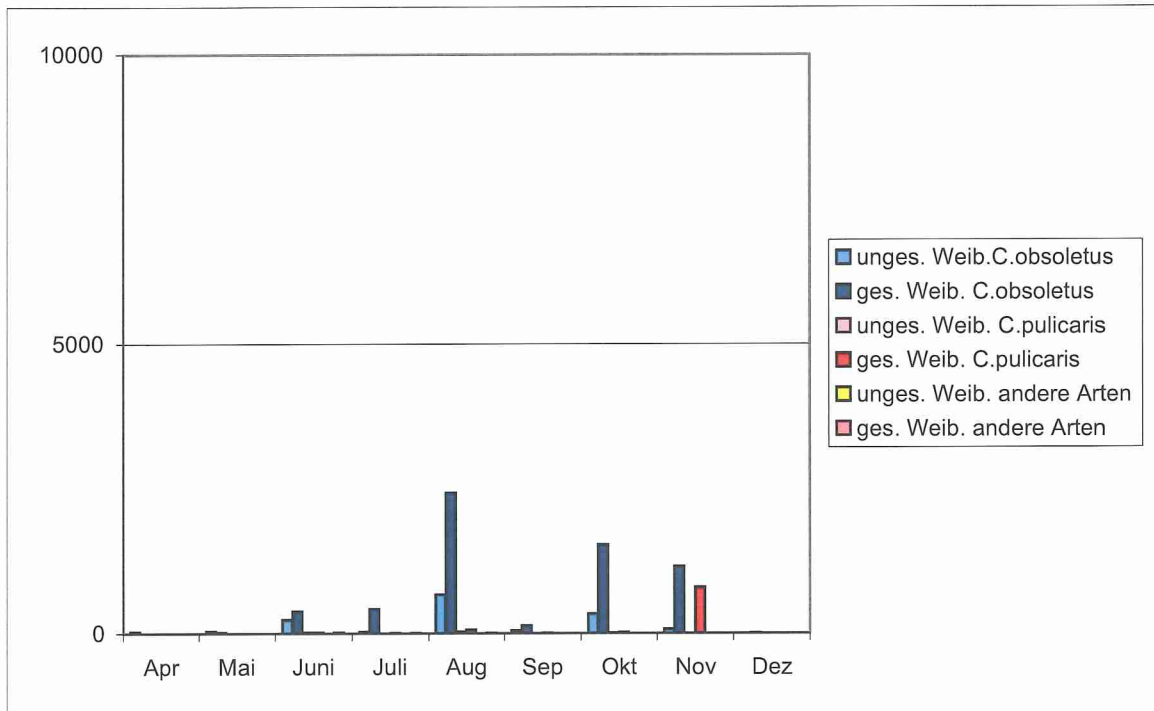
Anlage 3

Tabelle 4: Übersicht der im Jahre 2008 auf dem Hof Nr. 2 (NI H) gefangener Gnitzen. Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber restlicher Arten



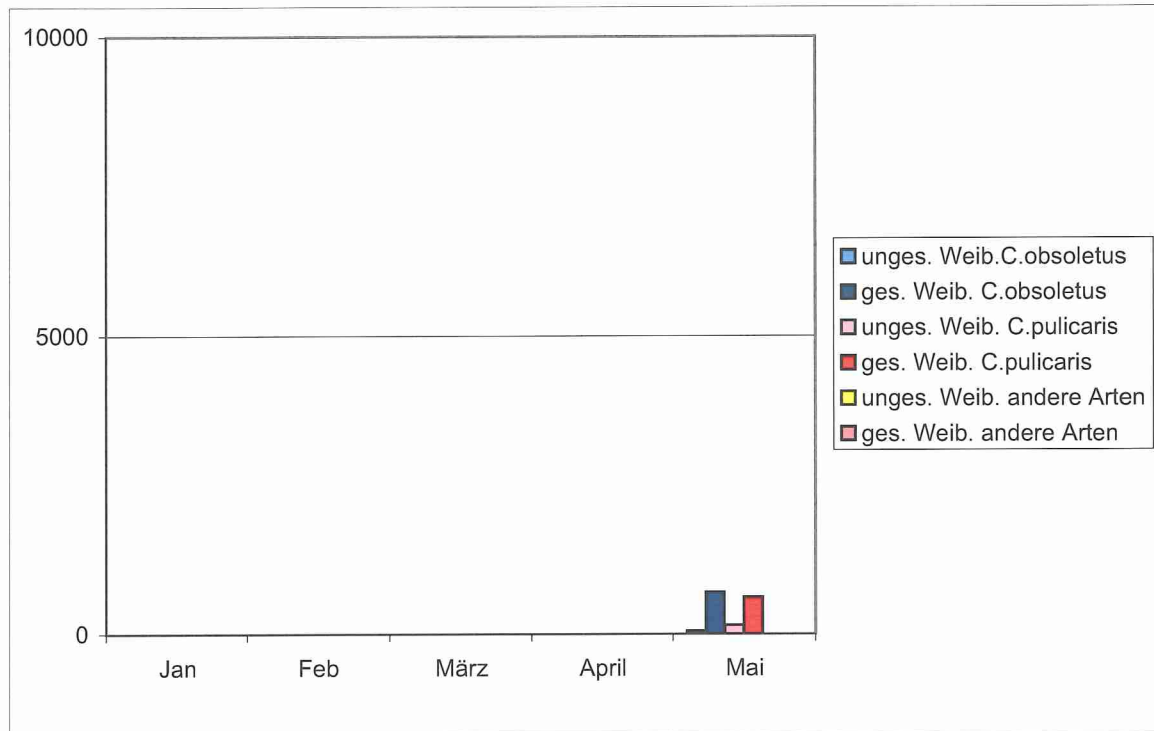
Anlage 3

Tabelle 5: Übersicht der im Jahre 2007 auf dem Hof Nr. 3 (NI CE) gefangener Gnitzen. Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber restlicher Arten



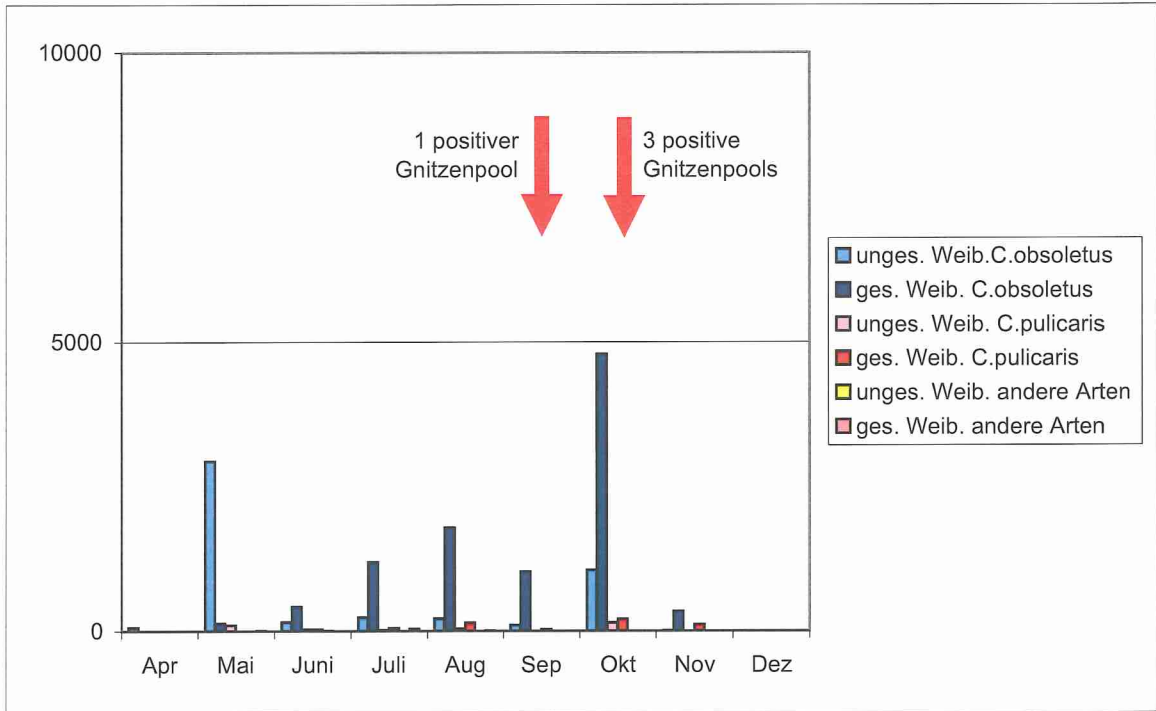
Anlage 3

Tabelle 6: Übersicht der im Jahre 2008 auf dem Hof Nr. 3 (NI CE) gefangener Gnitzen.
Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber Rest



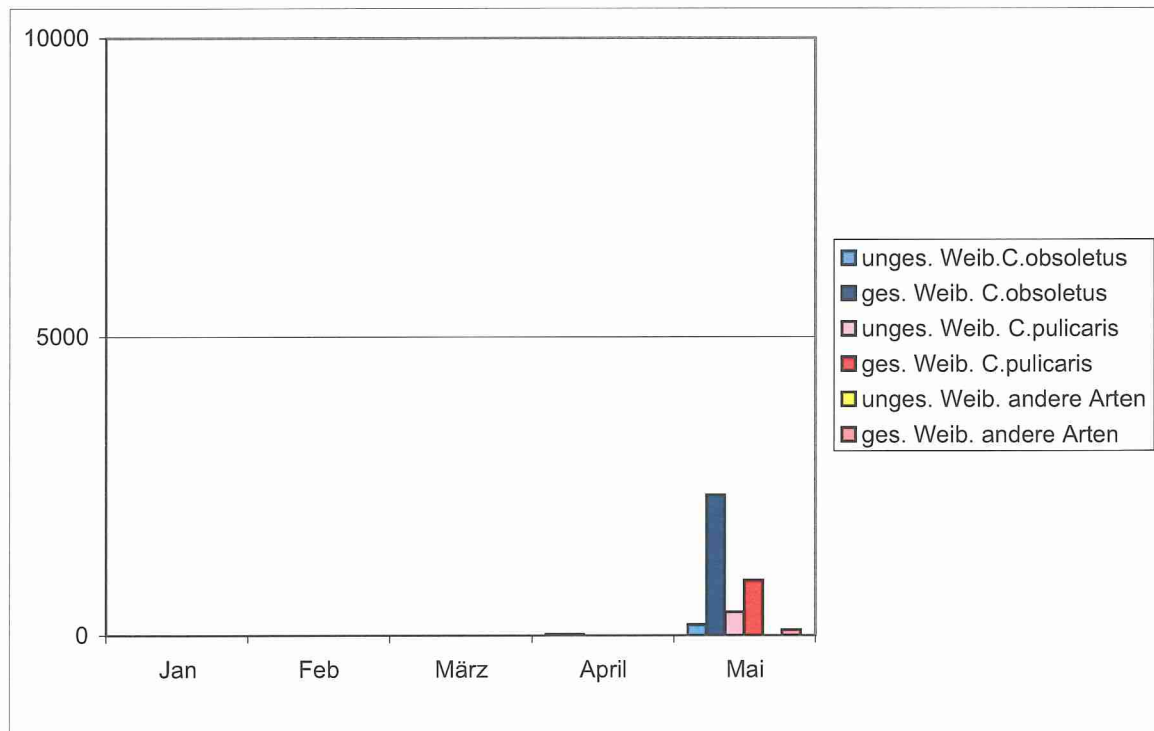
Anlage 3

Tabelle 7: Übersicht der im Jahre 2007 auf dem Hof Nr. 4 (NI SHG) gefangener Gnitzen. Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber restlicher Arten



Anlage 3

Tabelle 8: Übersicht der im Jahre 2008 auf dem Hof Nr. 4 (NI SHG) gefangener Gnitzen. Vergleich gesogene / ungesogene Weibchen von **C.obsoletus** und **C.pulicaris** gegenüber restlicher Arten



Osterholz-Scharmbeck

Rotenburg (Wümme)

Jerkeseesee Stuhr

Weyhe

Achim

Soltau

Uelze

Syke

Verden (Aller)

Walsrode

Niedersachsen



Nienburg (Weser)

Wedemark

Neustadt am Rübenberge

Burgwedel

Isernhagen

Burgdorf

Uetze

Gifhorn

Espelkamp

Petershagen

Wunnsdorf

Serz

Langenhagen

Lehrte

Lübbecke

Stadthagen

Barsinghausen

Ronnenberg

Sehnde

Peine

Löhne

Bad Oeynhausen

Binteln

Springe



Vlotho

Lemgo

Bückeburg

Lage

Bad Pyrmont

Alfeld (Leine)

Schloß Holte-Stukenbrock

Seesen

Goslar

Bar

k

Holzminde

Einbeck

Lzkotten

Höxter

Northeim

Osterode am Harz