Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie u. Parasitologie

Prof. Dr. Heinz Mehlhorn

HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

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. Trat 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 diesease) 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 Organisators 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 Artenauftreten 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 zweithäufigsten 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 Flügeläderung 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 Vorraussetzungen 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 Idividuen 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 <u>vor</u> 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 Blauzungenkrankheit 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 wielange geschützt?

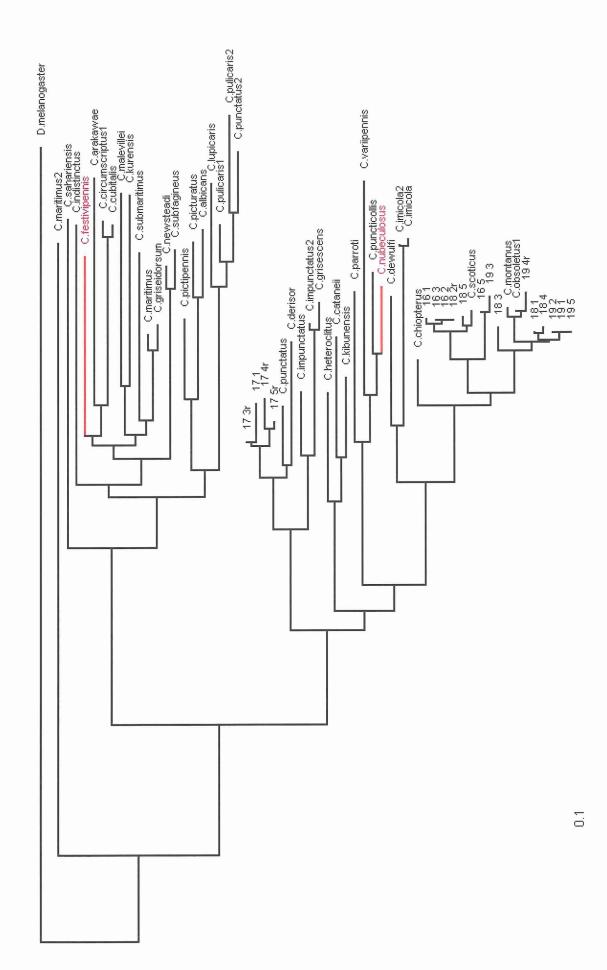
Tabelle 1: Zeit des Auftretens und die Anzahl positiver Gnitzenpools innerhalb der Fangperiode im Jahre 2007

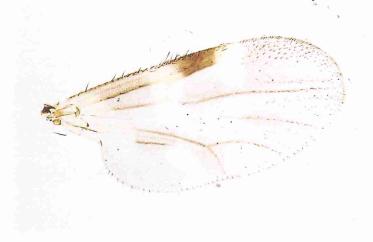
November	10	0		0		3				9	0	0
Nov			Na									
Oktober	41	287		8		9			39	4	0	2
September	44	31							33	0	50	2
August	6	13		0		0			1	1	0	0
Juli	0	0		0		0			0	0	0	0
Länder	NRW	Rheinland-	Pfalz/Saarland	Niedersachsen	(Liebisch)	Niedersachsen,	Schleswig	(Kiel)	Hessen	Berlin (Clausen)	Thüringen	Bavern

Tabelle 2: Anzahl und Arten positiver Gnitzen - Pools

Tabelle 2. Anzami und Artem positivei Uniteen	ing Witch bosins			
	Anzahl der	Anzahl positiver Gnitzenpools	Anzahl positiver Gnitzenpools	Anzahl positiver
Länder	Höfe			Gnitzenpools bei Fängen
		bei C. obsoletus - Fängen	bei C. pulicaris - Fängen	anderer Arten

		gesogen	nagesogen	gesogen	nngesogen	gesogen	nngesogen
NRW	19	76	3	2	1		0
Rheinland-Pfalz-	12	316	10	5	0	3	0
Saarland					A damage		
Niedersachsen	4	4	5	0	0	0	0
(Liebisch)							
Niedersachsen,	16	6	0	1	0	0	0
Schleswig							
(Kiel)							
Berlin/Brandenburg	15	9	2	2	1	0	0
(Clausen)							
Hessen	11	70	1		0	0	0
Thüringen	5	0	50	0	0	0	0
Bayern	6	1	2	<b>,</b>	0	0	0

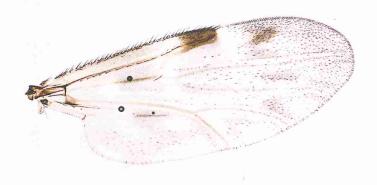




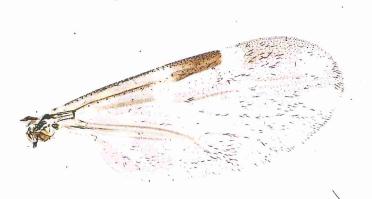
## C. obsoletus



## C. pulicaris



## C. nubeculosus



Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie u. Parasitologie

Prof. Dr. Heinz Mehlhorn

HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DUSSELDORF

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

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

EINGANG
21. Nov. 2008
Sachbearbeiter....

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 va. 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 zunahmen. 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 Blauzungenkrankheit in einem Bestand zu etablieren. An der Klärung derartiger Fragen hängt aber letztlich auch der Erfolg von Bekämpfungsmaßnahmen und der gesetztlichen 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 <u>ungeeignet</u>, das Auftreten der Blauzungenkrankheit 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 wielange 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 occurence 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 1rst until 8<sup>th</sup> 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 BTD.
- 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 BTD will start later and probably at a low level, when less vectors are available. Thus BTD 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 Tierärzt 88: 9-15

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

Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie u. Parasitologie

Heinrich-Heine-Universität D-40225 Düsseldorf

Tel: 0211/8113052 Fax: 0211/8114499 Telex 8 587 348 uni d

Universitätsstr. 1

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 Blauzungenerkrankung 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 vertriftet werden.
- 3. Allerdings wurden in allen Fanggebieten erst ab August 2007 virenenthaltende 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 Windvertriftung 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 Tierärzt 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

3









#### **INSTITUT FÜR PARASITOLOGIE**

www.vetmed.uni-giessen.de/parasitologie/

Visiting Professor (Udayana University Bali, RI) **Dr. med. vet. Christian Bauer** DipEVPC

Rudolf-Buchheim-Straße 2

D - 35392 Gießen

Tel.: ++(0)641 / 99 - 38463 Fax: ++(0)641 / 99 - 38469

Email: christian.bauer@vetmed.uni-giessen.de

22.7.2008

## Forschungsvorhaben 06HS044

# "Entomologische Untersuchungen zur Bekämpfung der Blauzungenkrankheit" (in Hessen)

Endbericht der AG Bauer/Gießen –

Der vorliegende Bericht der AG Bauer/Gießen basiert auf Untersuchungsergebnissen mit Stand 22.7.2008.

#### 1 PERSONAL, VORBEREITUNG UND DURCHFÜHRUNG DES MONITORINGS

#### 1.1 Zusammensetzung der AG Bauer/Gießen

Dr. M. Lang (Tierärztin), Denis Wolf (Tierarzt), S. Leutner (Dipl.Biologin), Dr. J. Behrendt (Dipl.Biologe),

Dr. C. Bauer (Tierarzt); außerdem K. Becker (Laborant); alle: Inst. f. Parasitologie Gießen.

#### 1.2 Direkte Kooperationspartner der AG Bauer/Gießen

Dr. T. Fröhlich, HMULV Wiesbaden; an Veterinärämtern der involvierten Landkreise tätige Tierärztinnen und Tierärzte und andere Mitarbeiter(innen); Mitarbeiter(innen) des Hessischen Landeslabors Gießen:

Auswahl der geographischen Einheiten und teilnehmenden Betriebe, Logistik der Probenlieferung.

Dr. H.-J. Bätza, BMELV Bonn; Frau S. Zenk, Frau K. Deeg, BLE Bonn:

Abstimmung des Projekts.

Prof. Dr. H. Mehlhorn, H.-Heine-Universität Düsseldorf:

Projektkoordination.

- Frau P. Kranz, Dr. F. Conraths und Mitarbeiter(innen) des Inst. f. Epidemiologie, FLI Wusterhausen:

  Datenbank-Entwicklung und -Beratung, Beratung bei epidemiologischen Fragestellungen;

  Datenaufarbeitung..
- Dr. B. Hoffmann, Dr. M. Beer und Mitarbeiter(in en) des Inst. f. Virusdiagnostik, FLI Riems: Virologische Untersuchungen.
- Frau Dr. D. Werner, Deutsches Entomologisches Institut, Müncheberg:
  Einarbeitung in und Beratung bei Gnitzenbestimmung, Feinbestimmung.

#### 1.3 Teilnahme an Arbeitstreffen mit anderen Monitoring-AGs

23.1.07	Bonn, BMELV
12.2.07	Berlin, Inst. f. Parasitologie FU
23.2.07	Bonn, BMELV
13.3.07	Düsseldorf, Inst. f. Zoomorphologie, Zellbiologie u. Parasitologie, HHeine-Universität
3.4.07	Wusterhausen, Inst. f. Epidemiologie FLI
6.6.07	Celle, DVG-Tagung Parasitologie
18.9.07	Bonn, BMELV
1112.10.07	Bochum, Ruhr-Universität, DGMEA-Tagung
2324.4.08	Greifswald, FLI Riems

Seitens der AG Bauer/Gießen nahm Dr. C. Bauer an allen Treffen teil, zusätzlich am 13.3.07 Dr. M. Lang und D. Wolf sowie am 11.10.07 Dr. J. Behrendt.

#### 1.4 Durchführung des Monitorings

Die Durchführung des Forschungsvorhabens erfolgte gemäß dem vereinbarten Studienprotokoll vom 23.4.2007 auf 10 hessischen Rinderbetrieben im Zeitraum 31.3.2007 bis 31.5.2008.

#### 1.4.1 Teilnehmende Betriebe und Fallenstandorte

Vor Projektbeginn wurde das Bundesland Hessen eingeteilt in 10 geographische Einheiten, die jeweils einen Landkreis oder mehrere Landkreise umfassen und eine Größe von ca. 1.300 – 2.800 km² besitzen. In jedem dieser geographischen Einheiten wurde auf freiwilliger Basis der Betriebsinhaber ein Rinder haltender Betrieb für das Monitoring ausgewählt (Abbildung I). Vier der 10 Betriebe waren 2006 als BTV-Ausbruchsbetriebe identifiziert worden (Tabelle I; Anlage 1).

Auf jedem Betrieb wurden eine BG-Sentinel-UV-Lichtfalle (Fa. Biogents GmbH, Regensburg) sowie eine Wetterstation (Hobo Pro TH/Temp, Typ H08-032-08, Fa. Prosorb, Gottenheim) gemäß Vorhabe des Studienprotokolls installiert. In 8 Betrieben wurde die Lichtfalle in Nähe des Stallgebäudes installiert und mit Netzstrom versorgt; in 2 Betrieben ("HE KB"; "HE RÜD") war die Lichtfalle auf der Weide an eine Autobatterie angeschlossen.

#### 1.4.2 Fangmethodik und Wetterdatensammlung

Den teilnehmenden Landwirten wurden vor Projektbeginn ein "Merkblatt zum Gebrauch der Gnitzenfalle" sowie notwendiges Equipment (Alkohol, Versandgefäße) in ausreichender Menge ausgeteilt.

Als Fixationsmedium für gefangene Gnitzen wurde mit Methylethylketon vergällter 70–75 %iger Alkohol (Ethanol 642 MEK) verwendet. Dieser beeinflusst nach einem Vorversuch die Stabilität *Culicoides*-RNA/-DNA nicht negativ (Bericht B. Hoffmann, FLI Riems, vom 6.5.2007).

Jede Lichtfalle wurde am Anfang jeden Monats für 7 Nächte (1./2. – 7./8. Tag) "scharf" gestellt. Wenn eine Lichtfalle in der einen oder anderen Nacht versagte, wurde die Nacht an die jeweilige Fangperiode angehängt, um einen siebentägigen Fangzeitraum zu gewährleisten. Die Lichtfallen wurden in der ersten Fangperiode (30.3.-7.4.2007) nur an deren Ende einmal ("Wochenfangprobe"), mit Beginn der zweiten Fangperiode (Mai 2007) bis zum Studienende aber während der Fangperioden täglich ("Tagesfangproben") geleert.

Grundsätzlich wurden alle Gnitzen und der Beifang zahlenmäßig erfasst und Gnitzen grobdifferenziert (*Culicoides obsoletus*-Komplex, *Culicoides pulicaris*-Komplex, Rest-Gnitzen). Bei Fangproben mit >>500 Gnitzen wurden Aliquots untersucht und dann die Gnitzenzahl in der Gesamtprobe hochgerechnet. Bei grobdifferenzierten Gnitzenproben mit >50 weiblichen Exemplaren wurden ca. 85–90 % direkt zur virologischen Untersuchung (FLI Riems) gesandt und 10–15 % erst nach Feinbestimmung (D. Werner, DEI) zur virologischen Untersuchung weitergeleitet. Bei Proben mit <50 Exemplaren wurden zuerst alle Gnitzen feinbestimmt und dann zur virologischen Untersuchung weitergeleitet. Männliche Gnitzen wurden zur Feinbestimmung ans DIE gesandt und verblieben dort.

Wetterdaten wurden Ende Juli 2007, Ende Januar 2008 sowie Ende Mai 2008 abgelesen und sichergestellt.

Ergebnisse der Grobbestimmung von Gnitzen sowie Wetterdaten des gesamten Zeitraums wurden in die Datenbank zur folgenden Datenverarbeitung durch das FLI Wusterhausen eingegeben.

#### 2 ERGEBNISSE

#### 2.1 Gnitzenzahlen und Artenspektrum

Die Gnitzenzahlen, ihre Höchstwerte und ihr jahreszeitlicher Verlauf variierten zwischen den 10 Betrieben beträchtlich, wobei ein von der Geographie abhängiges Muster nicht erkennbar war (Anlagen 2 und 3). In der Mehrzahl der Betriebe lagen die Gnitzenzahlen während der Monate Mai/Juni bis September/Oktober auf einem hohen Niveau. Im Betrieb "HE GI" wurden wiederholt in einzelnen Nächten der Monate Mai bis August hohe Gnitzenzahlen (15.000–16.000 Exemplare) notiert. Die mit 25.000 bzw. 31.000 Exemplaren/Nacht umfangreichsten Gnitzenfänge wurden in zwei August-Nächten im Betrieb "HE DA" festgestellt. Ab Dezember wurden nur noch wenige Gnitzen mit den an ihrem ursprünglichen Standort verbliebenen Fallen gefangen, doch waren einzelne Exemplare in einigen Standorten auch über den Winter 2007/08 nachweisbar. Im Mai 2008 war ein sprunghafter, im Vergleich zum Vorjahr allerdigs wesentlich geringerer Anstieg der *Culicoides-*Zahlen zu vermerken (Anlagen 2 und 3).

Die mittels morphologischer Kriterien durchgeführte Feinbestimmung der in den 10 hessischen Rinderbetrieben gefangenen Gnitzen ergab – neben Arten der Gattung *Forcipomyia* – eine Liste von 26 *Culicoides*-Arten (Tabelle II).

# 2.2 Nachweis von BTV-Genomen in Gnitzen

Dem Berichterstatter liegen Ergebnisse der durch das FLI Riems durchgeführte PCR-Untersuchungen Gnitzen für die Monate April bis November 2007 vor. BTV-Genome wurden erstmals in einem feinbestimmten *Culicoides pulicaris*-Exemplar im Juni nachgewiesen. Im August, September, Oktober und November gelang der Nachweis von BTV-Genomen in 1, 33, 39 bzw. 1 grobbestimmten Gnitzenpool(s). Insgesamt wurden in 8 der 10 hessischen Monitoringbetriebe BTV-positive *Culicoides*-Pools nachgewiesen (Anlage 4).

### 2.3 Weitere Ergebnisse

Von allen Rindern des zum Projektbeginn BTV-unauffälligen Betriebs "HE DA" wurden Mitte Januar 2008 Blutproben genommen und mittels ELISA auf BTV-Antikörper untersucht (FLI Riems). In Proben von 15 (20 %) der 75 untersuchten Milchkühe sowie in 2 von 5 Kälbern wurden BTV-spezifische Antikörper nachgewiesen. Die beiden seropositiven Kälber stammten von seropositiven Kühen ab; mittels BTV-PCR erwiesen sich beide Mutterkühe als viruspositiv, während ihre Kälber negativ waren, was für den Nachweis maternaler Antikörper spricht. Die 3 seronegativen Kälber hatten seronegative Mütter (Untersuchungsbefund des FLI Riems vom 22.1.2008; Mail von B. Hoffmann vom 25.1.2008).

Gießen, den 22.7.2008

(Dr. Christian Bauer)

the lun

Abbildung I: Standorte der Biogents-Lichtfallen im Bundesland Hessen.

 Tabelle I:
 Liste der 10 Monitoring-Rinderbetriebe in Hessen (Details siehe: ANLAGE 1).

Tabelle II: Liste der identifizierten Culicoides-Arten aus Fangproben der 10 hessischen Monitoring-

Betriebe (Feinbestimmung: ©D. Werner, DEI Müncheberg).

# **ANLAGEN:**

Anlage 1: Fragebogen Betrieb HE DA

Fragebogen Betrieb HE ERB

Fragebogen Betrieb HE FB

Fragebogen Betrieb HE FD

Fragebogen Betrieb HE GI

Fragebogen Betrieb HE HR

Fragebogen Betrieb HE KB

Fragebogen Betrieb HE KS

Fragebogen Betrieb HE LM

Fragebogen Betrieb HE RÜD

### Anlage 2: Tabelle 1:

Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE DA, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE FB, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE FB, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE FD, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE GI, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE HR, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE KB, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE KS, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE LM, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE LM, April – Dezember 2007 Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE RÜD, April – Dezember 2007 Tabelle 2:

Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE DA, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE ERB, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE FB, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE FD, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE GI, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE HR, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE KB, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE KS, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE LM, Januar – Mai 2008
Übersicht über Gnitzen-Fänge im Betrieb HE LM, Januar – Mai 2008

### Anlage 3: Tabelle 3:

Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE DA, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE ERB, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE FB, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE FD, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE GI, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE HR, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE KB, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE KS, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE LM, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE LM, April 2007 – Mai 2008 Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE RÜD, April 2007 – Mai 2008

### Anlage 4: Tabelle 4:

Übersicht über BTV-Genom-positive Gnitzenpools aus Hessen, April 2007 – Mai 2008

**Abbildung I:** Standorte der Biogents-Lichtfallen im Bundesland Hessen, April 2007 – Mai 2008.

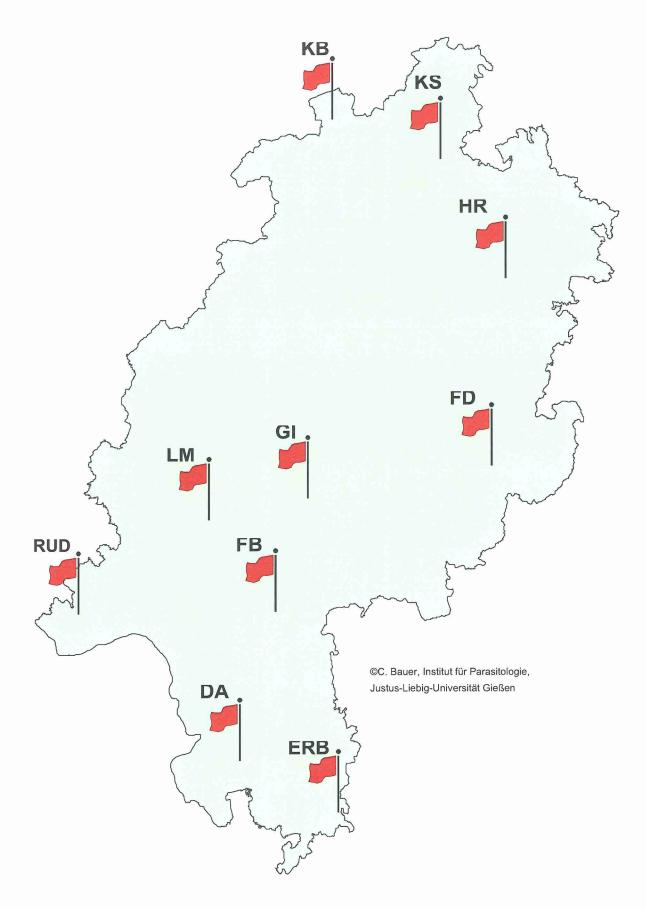


 Tabelle I:
 Liste der 10 Monitoring-Rinderbetriebe in Hessen (Details siehe: Anlage 1).

Land- kreis	Gemeinde	Betriebs- kürzel	Auswahlkriterien und Betriebskonditionen
DA	64319 Pfungstadt	HE DA	Milchkuhbetrieb, Offenstall
ERB	64319 Erbach-Erbuch	HE ERB	Milchkuhbetrieb, Offenstall
FB	61118 Bad Vilbel	HE FB	Milchkuhbetrieb, Offenstall mit Weidehaltung
FD	36041 Fulda-Haimbach	HE FD	Milchkuhbetrieb, Laufhof und Weidehaltung
GI	35423 Lich-Niederbessingen	HE GI	Milchkuhbetrieb, Hausweidehaltung
HR	34286 Spangenberg-Vockerode	HE HR	Milchkuhbetrieb, Teiloffenstall mit Auslauf
KB	34454 Bad Arolsen-Schmillinghausen	HE KB	BTV-Ausbruchsbetrieb 2006, Mast, Weidehaltung
KS	34379 Calden-Fürstenwald	HE KS	BTV-Ausbruchsbetrieb 2006, Milchkuhbetrieb, Offenstall
LM	35789 Weilmünster-Langenbach	HE LM	BTV-Ausbruchsbetrieb 2006, Mast, Offenstall und Weidehaltung
RÜD	5321 Heidenrod-Laufenfelden	HE RÜD	BTV-Ausbruchsbetrieb 2006, Mast, Offenstall, Weidehaltung

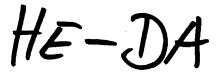
**Tabelle II:** Liste der identifizierten *Culicoides*-Arten aus Fangproben der 10 hessischen Monitoring-Betriebe (Feinbestimmung: ©D. Werner, DEI Müncheberg).

1	C. achrayi
2	C. albicans
3	C. brunnicans
4	C. chiopterus
5	C. circumscriptus
6	C. clastrieri
7	C. dewulfi
8	C. fagineus
9	C. fascipennis
10	C. festvipennis
11	C. griseidorsum
12	C. impunctatus
13	C. lucorum
14	C. lupicaris
15	C. newsteadi
16	C. nubeculosus
17	C. obsoletus
18	C. pictipennis
19	C. poperinghensis
20	C. pulicaris
21	C. punctatus
22	C. puncticollis
23	C. riethi
24	C. scoticus
25	C. stigma
26	C. vexans

# ANLAGE 1: Betrieb HE DA

Wilfried Kramer Außerhalb 51 Fasanenhof 64319 Pfungstadt

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen



Datum: 07.06.08

	Aärz 2007 bis Mai 2008 hiel			
75 RINDER	sci	HAFE /	1. ziegen	
	auf der Weide			
	gende Fälle von Blauzungen			
	Erkrankungen und			
	17 seropositive Tiere vo	n untersuchte	en Tieren.	
bei SCHAFEN .	Erkrankungen und	Todesfälle.		
	Erkrankungen undseropositive Tiere vo	n untersuchte	en Tieren.	
2007 traten erste	Erkrankungen im Monat	Dez. auf, d	lie Todeställe in	
2008 traten erste	Erkrankungen im Monat		lie Todesfälle in	
2008 wurden ser	opositive Tiere erstmals im	Monat gef	unden.	
🛛 wurde	keine Tiere serologisch unte	ersucht.		
3) Unser Hof lie	gt etwa <u>ASO</u> m über de	em Meer.		
[] . K-a.	7.P			
Unterschrift				

# **ANLAGE 1**: Betrieb HE ERB

FAX Non : +49 641 9938469	8 : 20:
LBG Erbuch	
Herrn G. Holschuh	
Ernsbacher Weg 30	
Elongit-Eloligh	
HL - LDR	1
HE-ERB	4
Incirn Dr. C. Bauer	•
Institut file Parasitologia	
Justus-Liebia-Tinivaroitat Ci-O	
Audul-Buchheim-Str 2	
35392 Giaßan	
(Fax: 0641 - 9938469)	
(, <del>,</del> , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
" ) à ne m	
Datum: 28.06.08	
<b>Aug</b>	
Autworten auf Fragen im Rahmen des Gnitzenfangprogramms 2007-2008	
1) Im Zeitraum Marz 2007 bis Mai 2008 hielten wir (etwa):	
Constitution of the state of th	
3.40 RINDER SCHAFE ZIRGEN	
DICUEN	
im Stalt auf der Weide X teils im Stalt seile er Stalt	
aux der Weide	
7) 10/2-1 11 1	
2) Wir hatten folgende Fälle von Blauzungenkrankheit (Anzahl):	
hei RINOGRAL Z	
bei RINDERN Erkrankungen und Todesfälle.	
3	
3. seropositive Tiere von untersuchten Tieren.	
bei SCHAFEN Erkrankungen und Todesfälle.	
Todesfalle.	
seropositive Tiere von untersuchten Tieren.	
A00.7	
2001 traten erste Erkrankungen im Monat Settlember	
2007 traten erste Erkrankungen im Monar September auf, die Todesfalle in	
2008 traten erste Erkrankungen im Monat auf, die Todesfälle in	
aut, ote l'odesfalle in	
2008 waterlang annual to the second s	
2008 wurden seropositive Tiere cratmals im Monat gefunden.	
N market last my	
wurde keine Tiere serologisch untersucht.	
3) Unser Hof liegt stwa 370, m über dem Meer.	
Meer,	i
	i
an ton	1
The Market of th	İ
Unterschrift	
¥	ļ

# ANLAGE 1: Betrieb HE FB

Landwirtschaftsgemeinschaft Dottenfelder Hof KG Herrn v. Mackensen Dottenfelder Hof 61118 Bad Vilbel

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen HE-FB

Datum: 25.5 05

	1) Im Zeitraum März 2007 bis Mai 2008 hielten wir (etwa):
(نز .	15C RINDER SCHAFE ZIEGEN
	15C RINDER SCHAFE ZIEGEN  im Stall auf der Weide Zeils im Stall, teils auf Weide
	2) Wir hatten folgende Fälle von Blauzungenkrankheit (Anzahl):
	bei RINDERN Erkrankungen und
	bei SCHAFEN 1 Erkrankungen und 1 Todesfälle.
	seropositive Tiere von untersuchten Tieren.
	2007 traten erste Erkrankungen im Monat S. Z. auf, die Todesfälle in S. D. Z. D. J.
	2008 traten erste Erkrankungen im Monat
	2008 wurden seropositive Tiere erstmals im Monat gefunden.
	wurde keine Tiere serologisch untersucht.
	3) Unser Hof liegt etwa 11.6. m über dem Meer.
	M. Clacket

ANLAGE 1: Betrieb HE FD

> St. Antoniusheim GmbH Bereich Vichhaltung Herr Kimpel Saturnstr. 14 36041 Fulda-Haimbach

HE-FD

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen

Datum 29.5.08

1) Im Zeitraum	März 2007 bis Mai 2008 hielte	en wir (etwa):
$250_{\text{RINDE}}$	R SCH	AFEZIEGEN
im Stall	auf der Weide	teils im Stall, teils auf Weide
	lgende Fälle von Blauzungenk	
bei RINDERN	Erkrankungen und	M. Todesfälle (3 Tage nach Blautunger - implung)
	seropositive Tiere von	untersuchten Tieren.
bei SCHAFEN	Erkrankungen und	Todesfälle.
	seropositive Tiere von	untersuchten Tieren.
		auf, die Todesfälle in
2008 wurden se	ropositive Tiere erstmals im N	Ionat gefunden.
🛛 wurde	e keine Tiere serologisch unter	sucht.
3) Unser Hof li	egt etwa 250 m über der	n Meer.
Unterschrift		

# ANLAGE 1: Betrieb HE GI

Volker Röhlich Hof Mühlsachsen Nieder-Bessingen 35423 Lich

HE-di

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen

Datum: 15,07,2008

1) Im Zeitraum M	lärz 2007 bis Mai 2008 hielte	en wir (etwa)	¢	
175 RINDER	SCII	AFE	ZIEGEN	
im Stall	auf der Weide	<b>⊠</b> teil:	s im Stall, teils auf Weic	de
2) Wir hatten folg	gende Fälle von Blauzungenk	rankheit (An	zahl):	
bei RINDERN	Erkrankungen und	Todesfä	lle.	
	seropositive Tiere von	unte	rsuchten Tieren.	
bei SCHAFEN	Erkrankungen und	Todesfä	lle.	
	seropositive Tiere von	unte	rsuchten Tieren.	
2007 traten erste	Erkrankungen im Monat		. auf, die Todesfälle in .	
2008 traten erste	Erkrankungen im Monat		. auf, die Todesfälle in .	<u> </u>
2008 wurden sero	ppositive Tiere erstmals im M	Ionat	gefunden.	
wurde l	keine Tiere serologisch unter	sucht.		
3) Unser Hoflies	gt etwa 175 m über der	n Meer.		
Unterschrift				

### ANLAGE 1: Betrieb HE HR

Helmut Riemenschneider Wickersröder Str. 3 34286 Spangenberg Vockerode

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen

HE-HR

1) Im 2	Zeitraum März	2007 bis Mai 2008 hielte	n wir (etwa):		
150	RINDER	SCH	AFE	ZIEGEN	
		auf der Weide		n Stall, teils auf Weid	le
	melis	le Fälle von Blauzungenki			
bei RIN	NDERN KALL	K Erkrankungen und	Todesfälle.	Mus les suc le f chten Tieren.	
bei SCI	HAFEN <	Erkrankungen und	Todesfälle.		
	سر	seropositive Tiere von	untersu	chten Tieren.	
		rankungen im Monat			
200 <u>8</u> t	raten erste Erk	rankungen im Monat	-# - au	uf, die Todesfälle in	
200 <u>8</u> v	wurden seropo:	sitive Tiere erstmals im M	onat	gefunden.	
[	🛭 wurde keir	e Tiere serologisch unter	sucht.		
3) Un	ser Hof liegt e	twa 314 m über den	n Meer.		
Unterso	Micaca				

# ANLAGE 1: Betrieb HE KB

Bernhard Pickhard Rhoder Str. 5 34454 Bad Arolsen-Schmillinghausen

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen HE-KB

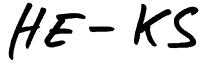
Datum: 30.05.08

1) Im Zeitraum M	ärz 2007 bis Mai 2008 hielte	en wir (etwa):	
25 RINDER	SCH	AFE ZIEGEN	
im Stall	auf der Weide	X teils im Stall, teils auf Weide	
2) Wir hatten folg	ende Fälle von Blauzungenk	rankheit (Anzahl):	
bei RINDERN	Erkrankungen und	Todesfälle.	
	2 seropositive Tiere von	6 untersuchten Tieren.	
bei SCHAFEN	Erkrankungen und	Todesfälle.	
	seropositive Tiere von	Todesfälle.	
2007 traten erste	Erkrankungen im Monat	auf, die Todesfälle in	
200 <u>8</u> traten erste	Erkrankungen im Monat	auf, die Todesfälle in	
200 <u>8</u> wurden sero	positive Tiere erstmals im M	Ionat. Janua v gefunden.	
wurde k	eine Tiere serologisch unter	sucht.	
3) Unser Hof lieg	gt etwa 250. m über der	n Meer.	
Pich	hurd		
Unterschrift			

# ANLAGE 1: Betrieb HE KS

Wolfgang Ledderhose Falkenhof 34379 Calden-Fürstenwald

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen



Datum 30.5.09

	1) Im Zeitraum März 2007 bis Mai 2008 hielten wir (etwa):
30-	45 RINDER SCHAFE ZIEGEN
,	im Stall auf der Weide teils im Stall, teils auf Weide
	2) Wir hatten folgende Fälle von Blauzungenkrankheit (Anzahl):
	bei RINDERN Erkrankungen und Todesfälle.
	seropositive Tiere von untersuchten Tieren.
	bei SCHAFEN Erkrankungen und Todesfälle.
	seropositive Tiere von untersuchten Tieren.
	2007 traten erste Erkrankungen im Monat Tolmus auf, die Todesfälle in
	2008 traten erste Erkrankungen im Monat auf, die Todesfälle in
	2008 wurden seropositive Tiere erstmals im Monat gefunden.
	wurde keine Tiere serologisch untersucht.
	3) Unser Hot liegt etwa 280 m über dem Meer.
	and
	Unterschrift

# ANLAGE 1: Betrieb HE LM

Hermann Bautz Glaßberger Hof

Günter Bender Laufenstr. 6 65321 Heidenrod-Laufenselden

Herrn Dr. C. Bauer Institut für Parasitologie Justus-Liebig-Universität Gießen Rudolf-Buchheim-Str. 2 35392 Gießen



Datum: 02.06.2008

1) Im Zeitraum M	ärz 2007 bis Mai 2008 hielte	n wir (etwa):
22 RINDER	<i>8</i> sch/	AFE ZIEGEN
im Stall	auf der Weide	teils im Stall, teils auf Weide
2) Wir hatten folg	ende Fälle von Blauzungenki	rankheit (Anzahl):
bei RINDERN	4 Erkrankungen und	Todesfälle.
	4 seropositive Tiere von	10 untersuchten Tieren.
bei SCHAFEN	Erkrankungen und	Todesfälle.
	seropositive Tiere von	untersuchten Tieren.
2007 traten erste i	Erkrankungen im MonatA	Ugust aut, die Todeställe in
2008 traten erste l	Erkrankungen im Monat	auf, die Todesfälle in
	positive Tiere erstmals im M	
💢 wurde k	eine Tiere serologisch unters	ucht.
3) Unser Hof lieg	t etwa 320 m über dem	Meer.
fice Unterschrift	Jenes	

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE DA, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	78	1674	3946	10529	67080	7540	7115	798	2
Gnitzen ♀ / ♂	78/0	1671 /3	3925 /21	10491 / 38	66859 / 241	7401 / 140	7095 / 20	762 / 33	2/0
C. obsoletus-Komplex total	77	1424	2964	8530	41319	9289	6205	539	2
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ / ♂	0 / 22	1424 / 0	2959 / 5	8528 / 2	41314 / 6	6872 / 4	6198 / 7	539 / 0	2/0
C. obsoletus-Komplex pesogen / ungesogen	0 / 77	247 / 1177	652 / 2307	5222 / 3306	20768 / 20546	4719 / 2153	5571 / 627	284 / 255	2/0
C. pulicaris-Komplex total	_	234	488	1303	5033	326	813	248	0
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	1/0	231 / 3	486 / 2	1303 / 0	5022 / 11	308 / 18	802/8	220 / 25	0/0
C. pulicaris-Komplex   Q gesogen / ungesogen	1/0	2 / 229	91 / 395	893 / 410	3232 / 1790	181 / 127	671 / 134	184 / 36	0/0
Andere Arten total	0	16	480	099	20368	195	25	3	0
Nicht näher bestimmte 🗜	,	1	•	F	F	ŀ	ı		1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-1 - 18	7 – 23	11 – 29	10 – 26	7 – 30	3 – 20	2 – 20	-1 – 12	3 – 12

# Anmerkung zur Anlage 2 (Tabellen 1 und 2):

Abweichungen beim Summieren von Einzelzahlen sind Rundungsfehler und bedingt durch hochgerechnete Ergebnisse aus Aliquot-Untersuchungen.

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE ERB, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	14	284	2540	1687	3422	655	2136	195	2
Gnitzen ♀ / ♂	14/0	274 / 10	2477 / 63	1677 / 10	3221 / 201	62 / 53	2089 / 47	191 / 4	2/0
C. obsoletus-Komplex total	41	217	1095	1360	1749	534	1904	177	2
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	14 / 0	214 / 3	1083 / 12	1354 / 6	1711/38	526 / 8	1885 / 19	175/2	2/0
C. obsoletus-Komplex   Q gesogen / ungesogen	1/13	74 / 140	740 / 343	1133 / 221	1396 / 315	337 / 189	1515/370	174/1	2/0
C. pulicaris-Komplex total	0	47	33	37	203	70	147	18	0
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	46 / 1	27 / 6	37 / 0	170/33	65 / 5	137 / 10	16/2	0/0
C. pulicaris-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	0 / 46	6/21	13 / 24	88 / 83	38 / 27	73 /64	16/0	0/0
Andere Arten total	0	4	1367	286	1339	35	89	0	0
Nicht näher bestimmte 🕹	1	I	1	1	ı	ı	I	•	1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	0 – 16	5 – 21	10-21	11 – 24	7 – 28	5 – 17	5 – 20	2 – 11	3 – 10

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE FB, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	iln	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	773	9440	6290	11509	39725	32526	19947	6515	7
Gnitzen ♀ / ♂	774 / 0	9391 / 49	6198 / 92	11389 / 120	39560 / 165	32266 / 260	19884 / 63	6473 / 41	5/2
C. obsoletus-Komplex total	764	9205	4514	10604	30215	31430	18984	6214	3
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ / ♂	764 / 0	9175/30	4470 / 44	10566 / 37	30163 / 52	31258 / 172	18940 / 44	6189 / 25	3/0
C. obsoletus-Komplex	51 / 713	2840 / 6335	1609 / 2861	8214 / 2352	26844 / 3319	25725 / 5533	15711 / 3229	5718 / 471	3/0
C. pulicaris-Komplex total	6	91	71	195	169	149	731	205	_
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/6	9/58	65 / 6	192 / 3	159 / 10	148 / 1	715/17	196 / 9	1/0
C. pulicaris-Komplex ♀ gesogen / ungesogen	3/6	1 / 84	7 / 58	173/19	109 / 50	83 / 65	608 / 107	193 / 2	1/0
Andere Arten total	_	131	1663	630	9238	861	230	89	_
Nicht näher bestimmte 📮	3	B	ı	1	f	ı	-	1	ŧ
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	1 – 18	0 – 24	11 – 29	10 – 23	8 – 29	9-20	4 – 20	2 – 13	5 – 13

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE FD, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	2	8463	3011	6383	11356	487	0	22	0
Gnitzen ♀ / ♂	2/0	8390 / 73	2942 / 69	6356 / 27	11252 / 104	472 / 15	0/0	16/6	0/0
C. obsoletus-Komplex total	2	8014	1594	2560	8087	393	0	18	0
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ / ♂	2/0	7964 / 50	1573 / 21	2555 / 5	8042 / 44	389 / 4	0/0	14 / 4	0/0
C. obsoletus-Komplex	0/2	1574 / 6390	1016 / 557	2173 / 382	5674 / 2368	317 / 72	0/0	12/2	0/0
C. pulicaris-Komplex total	0	273	59	142	229	21	0	3	0
C. pulicaris-Komplex ♀ / ♂	0/0	263 / 10	52 / 7	141 / 1	229 / 0	13/8	0/0	2/1	0/0
C. pulicaris-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	3 / 260	17 / 35	90 / 51	150 / 78	9/2	0/0	2/0	0/0
Andere Arten total	0	163	1317	3660	2981	70	0	0	0
Nicht näher bestimmte 🗜	1	1	ľ	1	1	ı	ı	1	•
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-3 – 18	2 – 24	7 – 28	8 – 23	5 – 28	5 – 18	3 – 19	-1 - 13	2 – 11

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE GI, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

A CONTRACTOR OF THE CONTRACTOR	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	218	9374	32983	43119	43109	13806	22481	1291	7
Gnitzen ♀ / ♂	218/0	9365 / 9	32748 /	42979 /	42720 / 389	13550 /	22035 /	1238 /53	6/1
			235	140		256	446		
C. obsoletus-Komplex	218	8895	27744	41729	40204	12781	19135	1060	4
total									
C. obsoletus-Komplex	218/0	6 / 9888	27651 / 93	41646 / 83	40140 / 64	12735 / 46	18988 /	1051/9	4/0
6/4							147		
C. obsoletus-Komplex	2 / 216	206 / 8380	8446 /	29320 /	32586 /	8278 /	12738 /	991 / 60	4 / 0
obesogen / ungesogen			19205	12326	7554	4457	6250		
C. pulicaris-Komplex	0	401	1721	640	695	203	2686	192	2
total									
C. pulicaris-Komplex	0/0	401/0	1669 / 52	621 / 19	675 / 20	198 / 5	2573 / 113	175/17	2/0
513									
C. pulicaris-Komplex	0/0	22 / 379	626 / 1043	403 / 218	377 / 298	121 / 77	1856 / 717	171/4	1/1
🌳 gesogen / ungesogen									
Andere Arten total	0	0	3428	712	1906	617	474	12	0
Nicht näher bestimmte ♀	1	1	E.	1	ı		•	Ť	1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-3 – 19	3 – 24	8 – 30	9 – 24	6 – 31	6 – 19	2 – 22	0 – 13	2 – 12

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE HR, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	0	635	7491	2106	895	783	3578	91	0
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	615/20	7460 / 31	2076/31	846 / 49	733 / 50	3527 / 51	82 / 9	0/0
C. obsoletus-Komplex total	0	439	6483	2029	718	605	2709	71	0
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	428 / 11	6479 / 5	2005 / 24	700 / 18	593 / 12	2680 / 29	68/3	0/0
C. obsoletus-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	133 / 295	2008 / 4471	1326 / 679	590 / 110	407 / 186	2050 / 630	65/3	0/0
C. pulicaris-Komplex total	0	139	434	26	29	116	834	10	0
C. pulicaris-Komplex ♀ / ♂	0/0	139 / 0	434 / 0	27 / 0	66 / 1	104 / 12	821 / 13	8/2	0/0
C. pulicaris-Komplex	0/0	1 / 138	198 / 237	21/6	45 / 21	52 / 52	473 / 348	7/1	0/0
Andere Arten total	0	48	548	44	80	36	26	9	0
Nicht näher bestimmte 🕂	TO ANY PARAMETERS AND A STATE OF THE	1	ı	Ī	1	1	t	•	1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4 - 17	-1 – 22	5-27	6 – 23	5 – 26	6 – 18	2 – 20	-1 - 11	3 – 10

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE KB, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	im	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	_	1599	17650	16520	14004	5689	15004	958	2
Gnitzen ♀ / ♂	1/0	1538 / 61	17423 / 228	16271 / 249	13688 / 316	5416 / 273	14195 / 809	873 / 85	2/0
C. obsoletus-Komplex total	<b>~</b>	1429	13684	14010	11886	4876	13354	616	2
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ / ♂	1/0	1388 / 41	13505 / 179	13787 / 223	11744 / 142	4748 / 127	12874 / 480	568 / 48	2/0
C. obsoletus-Komplex	0/1	678 / 710	7007 / 6498	10640 / 3147	10799 / 945	3950 / 798	11626 / 1249	482 / 86	2/0
C. pulicaris-Komplex total	0	141	702	937	893	447	1540	320	0
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	123 / 18	702 / 0	916 / 21	889 / 4	371/75	1229 / 311	298 / 22	0/0
C. pulicaris-Komplex \$\triangle\$ gesogen / ungesogen	0/0	40 / 84	457 / 245	746 / 170	810 / 79	287 / 84	1160 / 69	275 / 23	0/0
Andere Arten total	0	28	3215	778	1055	296	93	7	0
Nicht näher bestimmte 🕂	•	ı	I	1		1	ſ	I	t
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4 – 17	1-21	9-27	7 – 27	5-27	7 – 19	3-17	4 – 12	4 – 12

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE KS, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Jun	illuC	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	4	3060	10797	2351	9274	3180	7205	251	0
Gnitzen ♀ / ♂	4/0	3025/35	10772 / 25	2236 / 115	9048 / 226	3060 / 120	6810 / 395	217 / 34	0/0
C. obsoletus-Komplex total	4	2185	7169	1034	5302	2721	5480	176	0
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	4/0	2179 / 6	7152/17	1019 / 15	5233 / 69	2709 / 12	5315 / 165	164 / 12	0/0
C. obsoletus-Komplex	1/3	799 / 1380	3081 / 4071	606 / 413	4278 / 955	1384 / 1325	3552 / 1763	145 / 19	0/0
C. pulicaris-Komplex total	0	229	835	258	825	301	1483	16	0
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0 / 229	833 / 2	250 / 8	809 / 17	294 / 7	1353 / 130	14 / 2	0/0
C. pulicaris-Komplex ♀ gesogen / ungesogen	0/0	82 / 595	227 / 606	105 / 145	510 / 299	55 / 239	664 / 689	12/2	0/0
Andere Arten total	0	169	2787	296	3007	57	142	39	0
Nicht näher bestimmte ♀	-	1	ľ	9	E	3	1	1	•
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	0 – 17	5 – 21	10 – 26	11 – 23	9 – 27	7 – 18	3 – 17	3 – 12	4 – 11

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE LM, April – Dezember 2007 Anlage 2
Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	2	324	174	404	1580	369	753	73	က
Gnitzen ♀ / ♂	2/0	317/7	171/3	401/3	1434 / 146	353 / 16	718/35	60 / 13	3/0
C. obsoletus-Komplex total	2	264	82	342	623	192	481	55	က
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	2/0	263 / 1	82 / 0	340 / 2	620 / 3	188 / 4	468 / 13	49 / 6	3/0
C. obsoletus-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/2	97 / 166	61 / 21	202 / 138	516 / 104	163 / 25	409 / 59	43/6	3/0
C. pulicaris-Komplex total	0	51	12	44	142	146	163	10	0
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0	49 / 2	12 / 0	44 / 0	142 / 0	143/3	155 / 8	9/1	0/0
C. pulicaris-Komplex	0/0	2/47	9/9	28 / 16	129 / 13	111/32	131 / 24	0/6	0/0
Andere Arten total	0	5	77	17	672	22	92	2	0
Nicht näher bestimmte ♀	1	1	ľ	1	ſ	•	9	-	•
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-3 – 17	2 – 22	7 – 27	9 – 23	5 – 29	5 – 19	1 – 19	-2 – 12	2 – 12

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE RÜD, April – Dezember 2007 Tabelle 1:

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
Gnitzen total	2	269	1962	712	1564	340	765	10	0
Gnitzen ♀ / ♂	2/0	676 / 21	1867 / 95	702 / 10	1460 / 103	336 / 4	730 / 35	9/1	0/0
C. obsoletus-Komplex total	2	573	1290	629	836	196	529	9	0
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ <i>l</i> ♂	2/0	562 / 11	1276 / 14	624 / 5	822 / 14	194 / 2	528 / 1	0/9	0/0
C. obsoletus-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	50 / 512	693 / 584	245 / 379	719 / 104	150 / 44	451 / 77	5/1	0/0
C. pulicaris-Komplex total	0	115	173	53	218	129	119	2	0
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	106 / 9	173/0	50/3	217 /1	129 / 0	113/6	2/0	0/0
C. pulicaris-Komplex qesogen / ungesogen	0/0	1 / 105	43 / 130	34 / 16	171 / 46	99 / 30	75 / 38	2/0	0/0
Andere Arten total	0	80	418	28	421	13	89	_	0
Nicht näher bestimmte 📮	1	•	I	9	T	1	r	1	•
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-2 – 19	0 – 24	7 – 28	9 – 21	5 – 30	6 – 18	2 – 22	0 – 13	1-11

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE DA, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

The second data and the se					
	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	2	0	_	11	1520
Gnitzen ♀ / ♂	1/1	0	1/0	11/0	1519 / 1
C. obsoletus-Komplex total	0	0	_	6	1255
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0	0	1/0	0/6	1255/0
C. obsoletus-Komplex Q gesogen / ungesogen	0	0	0/1	1/8	981 / 274
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	_	264
C. pulicaris-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	1/0	263 / 1
C. pulicaris-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	1/0	135 / 128
Andere Arten total	_	0	0	_	_
Nicht näher bestimmte 🗜	ľ	1		•	Γ
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-3 – 9	-5 – 10	-4 - 12	-2 – 16	3 – 22

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE ERB, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	0	0	_	730
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/1	729 / 1
C. obsoletus-Komplex total	0	0	0	_	585
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/1	585 / 0
C. obsoletus-Komplex  Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	445 / 140
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	142
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	142 / 0
C. pulicaris-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	30 / 112
Andere Arten total	0	0	0	0	4
Nicht näher bestimmte 🕂	1	•	E	ſ	1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4 – 8	-3 – 8	-4 – 9	-2 – 14	6-20

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE FB, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	0	0	6	23121
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/6	23094 / 35
C. obsoletus-Komplex total	0	0	0	တ	19993
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/6	199959 / 33
C. obsoletus-Komplex Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	6/0	11114 / 8845
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	3015
C. pulicaris-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	3015 / 0
C. pulicaris-Komplex \$\triangle\$ gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	700 / 2314
Andere Arten total	0	0	0	0	84
Nicht näher bestimmte ♀	E .	r	ľ	ſ	1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-3 – 9	-4 10	-3 – 14	-1 – 16	5 – 22

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE FD, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	0	0	0	1821
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	1818/3
C. obsoletus-Komplex total	0	0	0	0	1587
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	1586 / 1
C. obsoletus-Komplex  Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	1197 / 389
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	226
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	226 / 0
C. pulicaris-Komplex   Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	77 / 149
Andere Arten total	0/0	0/0	0/0	0/0	9
Nicht näher bestimmte 🕹	1	ı	r	ı	1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4 - 6	-5-8	-4 – 10	0 – 15	2 – 22

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE GI, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	1	0	6	7714
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	1/0	0/0	0/6	8 / 9692
C. obsoletus-Komplex Total	0	τ-	0	6	7172
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	1/0	0/0	0/6	7164 / 8
C. obsoletus-Komplex gesogen / ungesogen	0/0	1/0	0/0	2/7	2282 / 4882
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	501
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	496 / 5
C. pulicaris-Komplex \$\text{\text{g}} gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	204 / 292
Andere Arten total	0	0	0	0	36
Nicht näher bestimmte ♀	į.	F	1	1	E
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4 - 6	2-9-	-5 – 13	0 – 17	4 – 23

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE HR, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	0	_	0	47
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/0	1/0	0/0	47 / 0
C. obsoletus-Komplex total	0	0	-	0	20
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	1/0	0	20 / 0
C. obsoletus-Komplex	0/0	0/0	1/0	0	3/17
C. pulicaris-Komplex	0	0	0	0	25
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	25/0
C. pulicaris-Komplex pesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	2 / 23
Andere Arten total	0	0	0	0	2
Nicht näher bestimmte 📮		ľ	1	ı	Ę
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-3 – 6	-5 - 8	-5-9	0 – 15	1-20

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb **HE KB**, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	_	0	0	_	763
Gnitzen ♀ / ♂	1/0	0/0	0/0	0/1	759 / 5
C. obsoletus-Komplex total	_	0	0	_	481
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ <i>I</i> ♂	1/0	0/0	0/0	0/1	480 / 1
C. obsoletus-Komplex  Q gesogen / ungesogen	1/0	0/0	0/0	0/0	346 / 134
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	272
C. <i>pulicaris</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	269 / 3
C. pulicaris-Komplex pesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	231 / 38
Andere Arten total	0	0	0	0	10
Nicht näher bestimmte 🗜	1	ı	ŀ	T	
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4 - 8	-3 - 8	-3 – 9	-3 – 15	2 – 21

Anlage 2

Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE KS, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	0	0	0	3191
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	3173 / 18
C. obsoletus-Komplex total	0	0	0	0	1233
C. <i>obsoletus</i> -Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	1215/18
C. obsoletus-Komplex	0/0	0/0	0/0	0/0	873 / 342
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	1952
C. pulicaris-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	1952 / 0
C. pulicaris-Komplex	0/0	0/0	0/0	0/0	1164 / 788
Andere Arten total	0	0	0	0	9
Nicht näher bestimmte 🕂	1	F	I	1	E
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-4-7	-2-7	-2 – 9	-2- 14	4-21

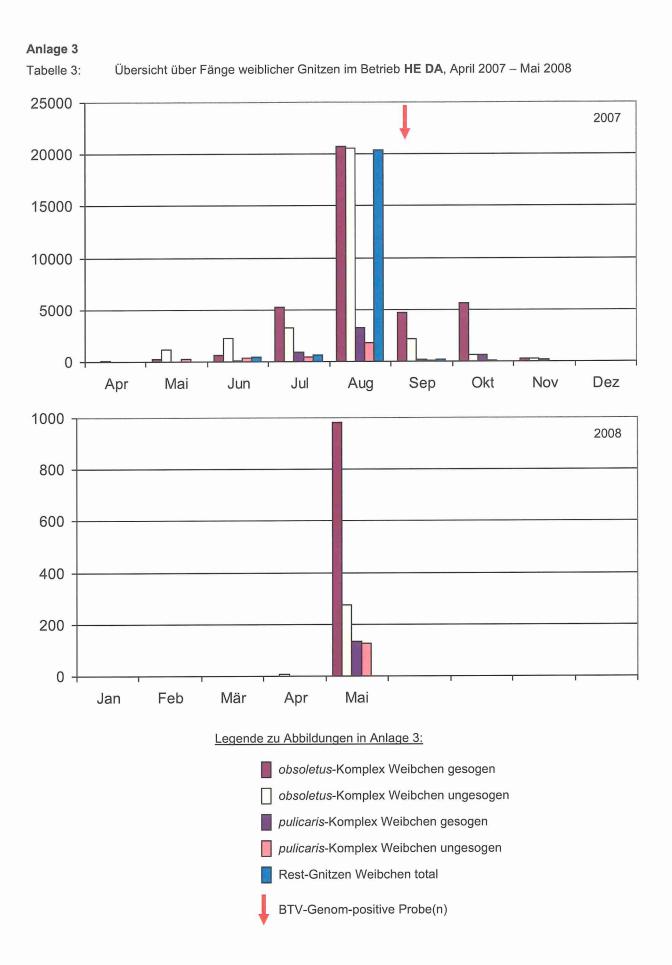
Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb **HE LM**, Januar – Mai 2008 **Anlage 2** Tabelle 2:

The state of the s	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	0	0	0	124
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	124 / 0
C. obsoletus-Komplex total	0	0	0	0	29
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	29 / 0
C. obsoletus-Komplex  Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	14 / 15
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	96
C. pulicaris-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	0/56
C. pulicaris-Komplex	0/0	0/0	0/0	0/0	70 / 25
Andere Arten total	0	0	0	0	0
Nicht näher bestimmte 📮	F	ı	1		1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	2-9-	-5-9	-4 – 12	-3 – 15	2 – 21

Anlage 2

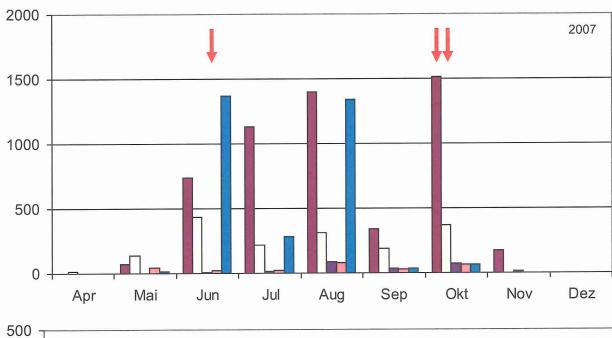
Übersicht über Gnitzen-Fänge (hier jeweils als "Wochenfang" angegeben) im Betrieb HE RÜD, Januar – Mai 2008 Tabelle 2:

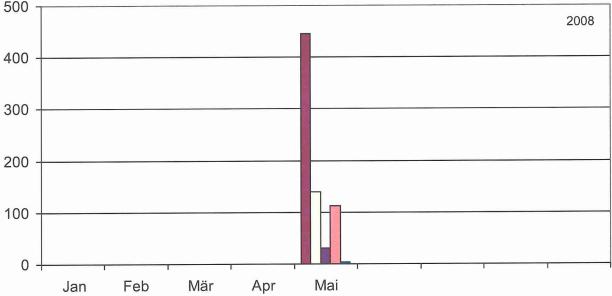
and and another state of the st	Januar	Februar	März	April	Mai
Gnitzen total	0	_	0	-	22
Gnitzen ♀ / ♂	0/0	0/1	0/0	1/0	56 / 1
C. obsoletus-Komplex total	0		0	-	42
C. obsoletus-Komplex ♀ / ♂	0/0	0/1	0/0	0/0	41/1
C. obsoletus-Komplex  Q gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/1	28 / 13
C. pulicaris-Komplex total	0	0	0	0	15
<i>C. pulicaris</i> -Komplex ♀ <i>l</i> ♂	0/0	0/0	0/0	0/0	15/0
C. pulicaris-Komplex   gesogen / ungesogen	0/0	0/0	0/0	0/0	6/9
Andere Arten total	0	0	0	0	0
Nicht näher bestimmte 📮	i i	1	ı		1
Temperaturbereich (°C) in Fangperiode	-5 – 6	-3 – 9	-4 – 11	-4 14	2-21



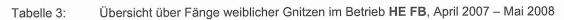
Anlage 3

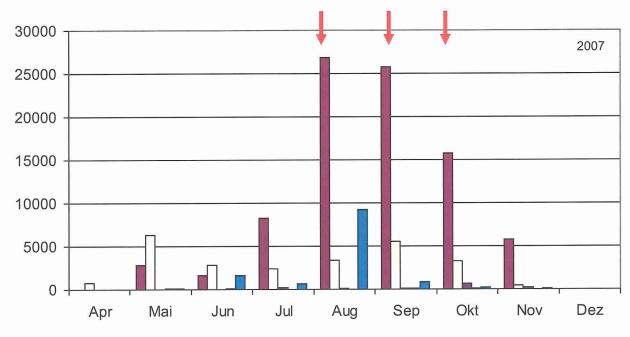
Tabelle 3: Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb **HE ERB**, April 2007 – Mai 2008

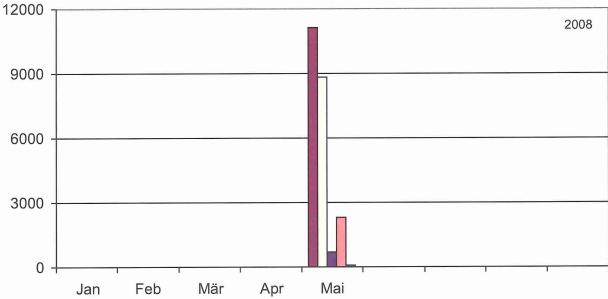




Anlage 3

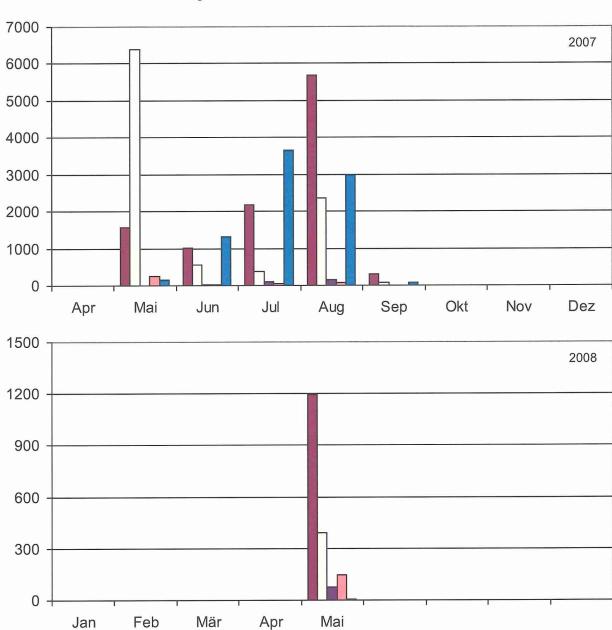






Anlage 3





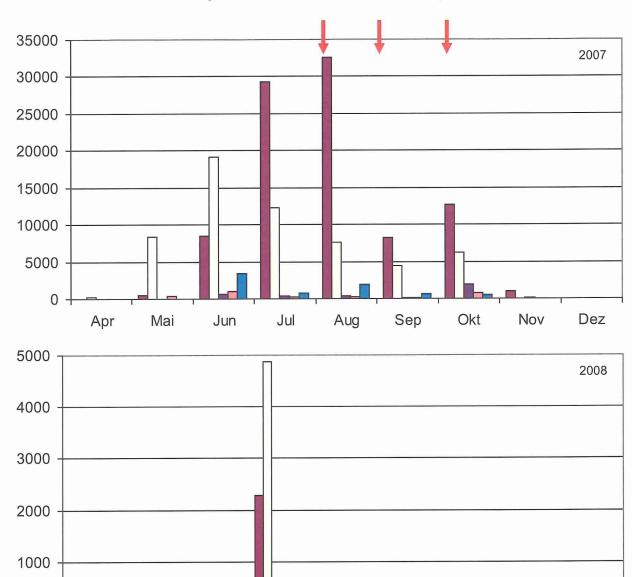
Anlage 3

0

Jan

Feb





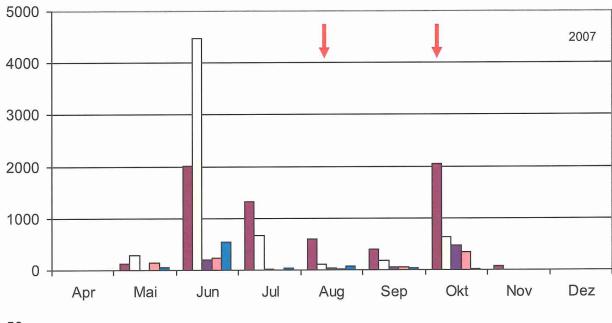
Mär

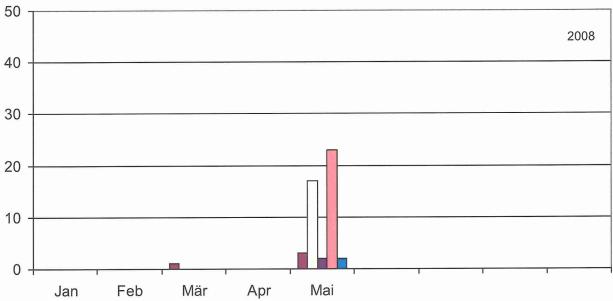
Apr

Mai

Anlage 3

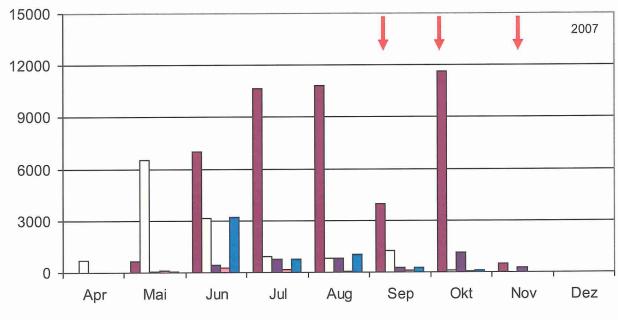


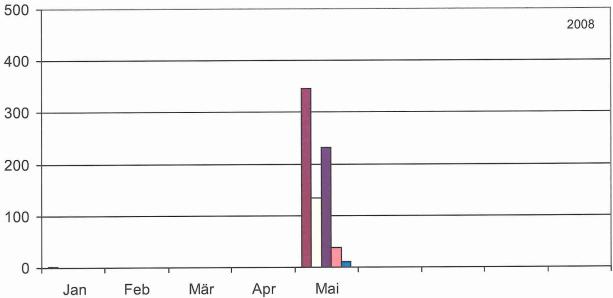




Anlage 3

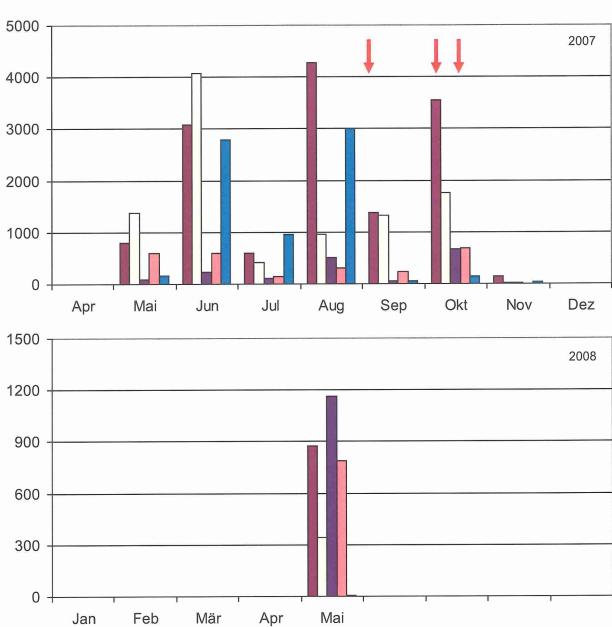
Tabelle 3: Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE KB, April 2007 – Mai 2008





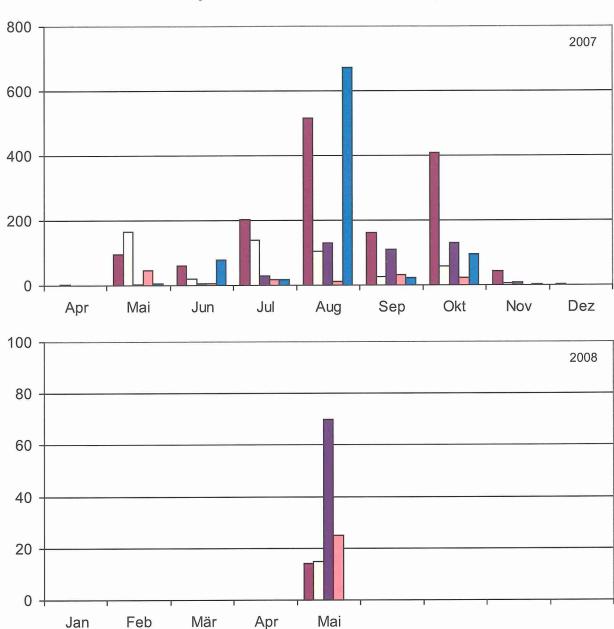
Anlage 3



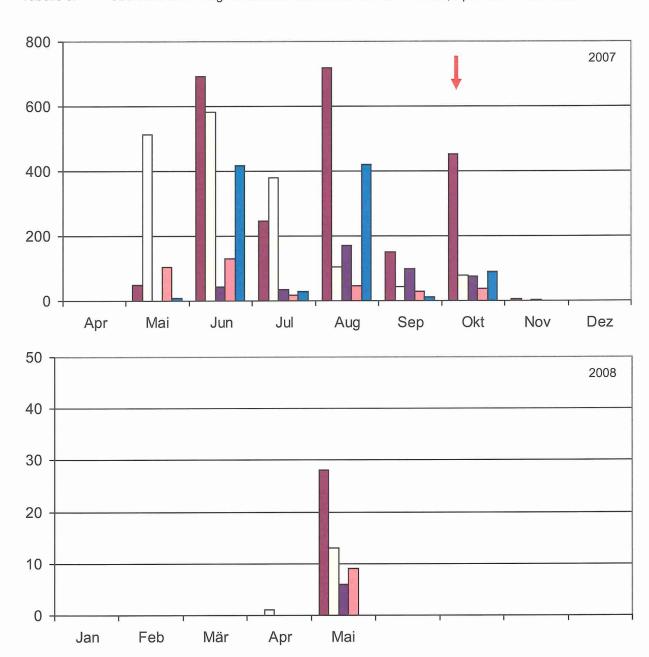


Jan

Tabelle 3: Übersicht über Fänge weiblicher Gnitzen im Betrieb HE LM, April 2007 – Mai 2008



Apr



Anlage 4

Übersicht über BTV-Genom-positive Gnitzenpools (©FLI Riems) aus Hessen, April 2007 – Mai 2008 Tabelle 5:

Betrieb	April 2007	Mai 2007	Juni 2007	Juli 2007	August 2007	September 2007	Oktober 2007	November 2007	Dez. 2007 - Mai 2008
HE DA	0/2	0/11	0 / 40	0 / 28	66 / 0	<b>1</b> / 50 1 <i>obs.</i> -K. ges.	0 / 36	0 / 13	
HE ERB	n.u.	0/2	0 / 47	0 / 32	0 / 48	0 / 10	<b>6</b> / 33 5 <i>obl.</i> -K. ges. 1 <i>obs.</i> -K. unges.	8/0	
HE FB	0 / 13	0 / 64	0 / 48	89 / 0	62/0	<b>21</b> / 71 21 <i>obs.</i> -K. ges.	4 / 70 4 obsK. ges.	0 / 42	
HE FD	n.u.	92/0	0 / 58	0 / 42	0 / 44	2/0	n.u.	n.u.	
HE GI	0/4	0 / 98	0 / 98	0 / 128	1 / 97 1 <i>obs.</i> -K. ges.	<b>8</b> / 62 8 <i>obs.</i> -K ges.	<b>7</b> / 65 7 <i>obs.</i> -K. ges.	0 / 24	Proben nicht auf
HE HR	n.u.	0/11	28/0	0/37	0 / 12	0 / 12	<b>5</b> / 42 5 <i>obs.</i> -K. ges.	0 / 1	BTV-
НЕ KB	n.u.	0 / 13	0 / 84	0 / 64	09/0	1 / 38 1 <i>obs.</i> -K. ges.	<b>9</b> / 38 9 <i>obs.</i> -K. ges.	1 / 18 1 <i>pul</i> K. ges.	Genome
HE KS	n.u.	0 / 59	86/0	0 / 29	0 / 61	<b>2</b> / 17 2 obsK. ges.	7 / 63 6 <i>obs.</i> -K. ges. 1 <i>pul</i> K. ges.	0 / 4	(n.u.)
HE LM	n.u.	2/0	n.u.	0 / 13	0 / 23	0 / 4	0/10	n.u.	
HE RÜD	n.u.	0 / 20	0 / 33	0 / 10	0 / 17	0 / 4	1 / 12 1 <i>obs.</i> -K. ges.	n.u.	
Pools <b>positiv</b> / untersucht	0 / 19	0/361	0 / 588	0 / 451	1 / 540	33 / 275	<b>39</b> / 369	1 / 105	
% positive Pools	0	0	0	0	0,2	12,0	10,6	1,0	

Proben nicht auf BTV-Genome untersucht (n.u.) 1 obs.-K. unges. 1 obs.-K. ges. 2 / 707 0 / 548 1 C. pulicaris 1/918 n.u. 0 / 42 Nach Feinbestimmung auf BTV-Genome untersuchte Gnitzenpools oder -individuen