

Abschlussbericht 2013

Zuwendungsempfänger:

Prof. Dr. med. vet. Martin Ganter

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Klinik für kleine Klauentiere, forensische Medizin und Ambulatorische Klinik
Bischofsholer Damm 15
30173 Hannover

Tel. +49 511 856-7585

Fax: +49 511 856-7590

martin.ganter@tiho-hannover.de

Förderkennzeichen:

2812HS008

Untersuchungen zu Vorkommen und Übertragungsmechanismen des Schmallenberg-Virus (SBV)

Laufzeit:

01.04.2012 bis 31.10.2013

Berichtszeitraum:

01.04.2012 bis 31.10.2013

Zusammenarbeit mit anderen Stellen:

Es besteht eine Kooperation mit dem Friedrich-Loeffler-Institut (FLI): Zum einen mit dem Institut für Epidemiologie in Wusterhausen bezüglich der Auswertung der Fragebögen und zum anderen mit dem Institut für Virusdiagnostik, Insel Riems, das zu Beginn des Projekts einen Teil der serologischen Untersuchungen der Blutproben durchgeführt hat, da zu diesem Zeitpunkt noch kein kommerziell erhältlicher ELISA zur Verfügung stand. In der Klinik für kleine Klauentiere wurde zu Beginn der Untersuchungen der indirekte Immunfluoreszenztest durchgeführt. Ein Teil der Proben wurde in der Klinik für kleine Klauentiere und im FLI sowie im Veterinärinstitut Braunschweig/Hannover des LAVES Niedersachsen mit dem Virusneutralisationstest parallel untersucht, um die Methoden abzugleichen. Außerdem wurden dem FLI für ihre Fall-Kontroll-Studie bei Schafen und Rindern Proben und Fragebögen von Schafbetrieben aus Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Schleswig-Holstein und Hessen zugesandt. Des Weiteren wurden dem Institut für Virusdiagnostik des FLI Seren und Patientendaten von Neuweltkameliden zur Verfügung gestellt, die von 2011 bis 2012 in der Klinik gesammelt worden waren.

1. Ziele und Aufgabenstellung des Vorhabens

Ziel des Projektes ist die Erforschung des Vorkommens und der Übertragungsmechanismen des Schmallenberg-Virus (SBV) bei Schafen und Ziegen. In je einer Fall-Kontroll-Studie bei Schafen und Rindern (deutschlandweit, Durchführung durch das FLI) und Ziegen (TiHo Hannover, Helmer et al. 2013a) sollen Risiko- und evtl. auch Schutzfaktoren für das Vorkommen von SBV-Infektionen evaluiert werden. Eine in Niedersachsen durchgeführte Prävalenzstudie quantifiziert die Intraherdenprävalenz sowie die Verluste durch Missbildungen, Totgeburten und Aborte im Frühjahr 2012 in Schaf- und Ziegenherden (Helmer et al. 2013b).

Des Weiteren soll eine retrospektive Studie, in deren Rahmen tiefgefrorene Seren aus den Jahren 2010 und 2011 auf SBV untersucht werden, Aufschluss darüber geben, wann die ersten SBV Infektionen in unserer Region auftraten.

Außerdem soll die Entwicklung der Infektion sowie die Persistenz von Antikörpern von SBV-infizierten und nicht-infizierten Schaf- und Ziegenherden im Rahmen einer prospektiven Studie untersucht werden. Darüber hinaus beschäftigt sich die Studie mit der Fragestellung, ob augenscheinlich gesund geborene Zwillingslämmer von missgebildeten Lämmern im Laufe der Aufzucht anfälliger für Erkrankungen (wie z.B. Endoparasitosen und Pneumonien) sind und dadurch hinter den gleichaltrigen Tieren zurückbleiben und kümmern bzw. teilweise sogar verenden. Auch soll durch das Projekt geklärt werden, ob präkolostral Antikörper von Muttertieren auf deren Nachkommen übertragen werden oder ob die Übertragung der Antikörper erst mit der Aufnahme von Kolostrum einhergeht.

Da sich das Schmallenberg-Virus vom Zeitpunkt seiner Entdeckung im Herbst 2011 bis Ende 2012 schon über weite Teile Deutschlands und auch Europas ausgeweitet hat, wurden die epidemiologischen Erhebungen in Form einer Seroprävalenzstudie in 2013 auf ganz Deutschland ausgeweitet, um zu sehen, wie weit sich das Virus tatsächlich ausgebreiten konnte und zu welchem Prozentsatz die Herden aktuell durchseucht sind, sowie ob regionale Unterschiede bestehen.

1.1 Planung und Ablauf des Vorhabens

1.1.1 Fall-Kontroll-Studie bei Ziegen

Entsprechend der Projektskizze für die Fall-Kontrollstudie wären je 16 Fall- und Kontrollbetriebe zu befragen und zu beproben gewesen. Die Betriebe sollten auf die Bundesländer Nordrhein-Westfalen (je 5), Niedersachsen (je 3), Hessen (je 3), Schleswig-Holstein (je 3) und Sachsen-Anhalt (je 2) entfallen.

Entsprechend der o.g. Projektskizze sollten die Beprobungen möglichst zeitnah noch im April und Anfang Mai 2012 erfolgen, um eine Infektion mit einer sich im Jahr 2012 neu entwickelnden Gnitzenpopulation ausschließen zu können. Pro Betrieb sollten mindestens 14 Blutproben zur serologischen Untersuchung auf Antikörper gegen das SBV mittels ELISA entnommen werden. Die serologischen Untersuchungen sollten im Institut für Virusdiagnostik des FLI (Insel Riems) untersucht werden. Vorab durchgeführte Befragungen in einzelnen Betrieben hatten jedoch gezeigt, dass aufgrund des sehr ausführlichen und detaillierten Fragebogens pro Betrieb mehrere Stunden für die Beantwortung veranschlagt werden mussten. Die statistische Auswertung sollte im Institut für Epidemiologie des FLI (Wusterhausen) parallel zu den Untersuchungen bei Rindern und Schafen durchgeführt werden. Ziel dieser Untersuchung sollte die Ermittlung von Risikofaktoren für die Infektion mit dem SBV sein.

Entsprechend der vorläufigen Definition sollten sich die Kontrollbetriebe dadurch auszeichnen, dass die Tiere dieser Haltungen weder klinische Symptome entsprechend der Falldefinition aufweisen noch bei serologischen bzw. virologischen Untersuchungen positive Ergebnisse zum Zeitpunkt der Studie zeigen. Vorläufige Erfahrungen zeigten jedoch, dass es kaum möglich war entsprechende Kontrollbetriebe zu finden, da auch in Herden ohne jegliche klinische Erscheinungen Tiere mit Antikörpern gegen SBV gefunden wurden. Deshalb wurden vorab insbesondere die Blutproben aus den klinisch unverdächtigen Betrieben untersucht, wobei sich zeigte, dass keine echten Kontrollbetriebe in ausreichender Anzahl zu finden waren.

1.1.2 Retrospektive Studie zum Vorkommen der SBV-Infektion in Deutschland

Anhand von Serumproben, die in den Jahren 2010 und 2011 routinemäßig zur Untersuchung auf Antikörper gegen Maedi/Visna bzw. CAE in die Klinik für kleine Klautiere eingesandt worden waren und dort noch tiefgefroren lagerten, sollte der mögliche Infektionszeitpunkt mit dem SBV ermittelt werden. Hierzu standen Seren aus mindestens 15 Betrieben aus den Bundesländern Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen, Schleswig-Holstein und Baden-Württemberg zur Verfügung. Im Hinblick auf die o.g. Lentivirusinfektionen werden in der Regel Blutproben aller erwachsenen Schafe und Ziegen (>1 Jahr) einer Herde zur Untersuchung eingesandt. Aufgrund der hohen Kosten beteiligen sich an dem Verfahren meist nur relativ kleine Bestände. Im Durchschnitt werden ca. 30 Proben pro Betrieb eingesandt.

Zur Ermittlung des Infektionszeitpunktes mit SBV sollten ca. 450 eingefrorene Serumproben auf Antikörper gegen das SBV mittels ELISA der Fa. ID-Vet im Labor der Klinik für kleine Klautiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover untersucht werden.

1.1.3 Prävalenzstudie bei Schafen und Ziegen in Niedersachsen

Infektionen mit dem SBV sind in 2012 flächendeckend aus fast allen Bundesländern, mit Ausnahme von Bremen gemeldet worden. Die bisherigen eigenen Beobachtungen bei Schafen und Ziegen deuteten darauf hin, dass zu Beginn der Ablamperperiode in den Bundesländern NRW und NDS die Verlustrate bei neugeborenen Lämmern mit 5 bis teilweise über 50% relativ hoch war, diese seit Mitte Februar 2012 jedoch deutlich absanken. Betriebe deren Lammzeit erst Anfang März begonnen hatte, hatten im April 2012 keine Verluste verzeichnet, die auf eine SBV-Infektion hindeuten. Jedoch wurden uns auch im Mai 2012 noch vereinzelt missgebildete und totgeborene Lämmer vorgestellt, bei denen von einer SBV-Infektion ausgegangen werden kann, auch wenn die virologische Untersuchung per PCR negativ war. Während die Missbildungen im Sinne eines Arthrogrypose-Hydranenzephalie-Syndroms (A-H-Syndroms) von den Tierbesitzern inzwischen relativ zuverlässig erkannt werden, zeigten sich in 2012 zweierlei Tendenzen.

Einerseits nahm die Tendenz zur Meldung von A-H-Syndrom-Fällen ab, andererseits wurden immer häufiger Missbildungen, die nicht zum A-H-Syndrom gehören intrauterinen SBV-Infektionen zugeordnet. Da in Deutschland praktisch keine künstlichen Besamungen durchgeführt werden und das „Decken aus der Hand“ (was mit einem bekannten Deckdatum einhergeht) nur noch selten praktiziert wird, können meist noch keine Aussagen über das Vorkommen von Reproduktionsstörungen bei adulten Schafen und Ziegen gemacht werden. In den meisten Betrieben bleiben mehrere Böcke bis kurz vor der Lammzeit in der Herde, so dass Reproduktionsstörungen von Seiten der Böcke oder der Mutterschafe sich lediglich in eine Verlängerung der Ablammphase äußern.

Anhand von serologischen Untersuchungen aus 75 SBV positiven Betrieben und einem verkürzten Fragebogen sollten die Verlustraten sowie die Dynamik des Verlustgeschehens ermittelt werden. Dabei sollte untersucht werden, ob zwischen der SBV-Seroprävalenz und der Verlustrate durch das A-H-Syndrom eine Beziehung besteht. Zur Schätzung der Seroprävalenz sollten pro Betrieb 30 Blutproben entnommen und mittels SBV-ELISA der Fa. ID-VET im Labor der Klinik für kleine Klautiere untersucht werden. Anhand der Daten zum Reproduktionsgeschehen sollte nach Möglichkeit auch die vulnerable Phase für die Ausbildungen des A-H-Syndroms bei Schafen und bei Ziegen genauer terminiert werden. Die Studie sollte außerdem Aufschluss über die Durchseuchung positiver Betriebe geben und damit auch Informationen über die Notwendigkeit einer möglicherweise zukünftig zur Verfügung stehenden Impfung geben.

1.1.4 Prospektive Studie zur weiteren Entwicklung der SBV-Infektion

Zur Untersuchung auf die weitere Entwicklung der SBV-Infektion in positiven Herden, sollen in je einer Schaf- und einer Ziegenherde mit je ca. 200 Muttertieren der Verlauf der Seroprävalenz durch vierteljährliche Beprobung aller adulten Tiere bis zum Ende des Jahres 2012 untersucht werden. Dies soll auch Informationen über die Dynamik des Infektionsgeschehens innerhalb einer Herde sowie über die Persistenz von Antikörpern liefern.

Darüber hinaus sollten die in der Fall-Kontroll-Studie des FLI untersuchten Schaf- und Ziegen- Kontrollbetriebe aus Niedersachsen (7 Schafherden und 3

Ziegenherden) ab September 2012 erneut mit je 14 Proben pro Betrieb untersucht werden. Damit sollte ermittelt werden, ob es in der zweiten Jahreshälfte 2012 in den vormals negativen Herden zu Serokonversionen gekommen ist.

1.1.5 Aufstallung, Beobachtung und Sektion von Zwillingstieren zu missgebildeten Lämmern

Da mehrere Landwirte berichtet haben, dass augenscheinlich gesund geborene Zwillingslämmer zu totgeborenen, missgebildeten Lämmern über die Mastperiode hinweg gekümmert haben, sollten in den Ställen der Klinik für kleine Klauentiere der TiHo Hannover einige dieser Zwillingstiere aufgestellt und beobachtet werden. Des Weiteren sollte durch intensive Untersuchung und Diagnostik der Grund für das Kümmern festgestellt werden, um einen eventuellen Zusammenhang zur SBV-Infektion des Geschwistertiers aufzuklären.

Darüber hinaus sollte auf den Bestandsbesuchen 2013 gezielt nach dem Verbleib dieser Zwillingstiere gefragt und ihr Werdegang dokumentiert werden.

1.1.6 Präkolostrale Antikörper-Übertragung vom Muttertier auf die Nachkommen

Während der Ablamperperiode 2012/2013 sollten in einem Schafbetrieb in Niedersachsen Serumproben von neugeborenen Lämmern vor und nach der Kolostrumaufnahme gewonnen werden und mittels ELISA im Labor der Klinik für kleine Klauentiere auf Antikörper (Ak) gegen das SBV untersucht werden. Gleichzeitig sollten die dazugehörigen Muttertiere beprobt werden. Durch diese Untersuchung sollen Daten zur präkolostralen Ak-Versorgung der Lämmer erhoben werden.

1.1.7 Deutschlandweite Prävalenzstudie bei Schafen und Ziegen

Ursprünglich sollten von Januar bis Juli 2013 40 Schaf- und Ziegenbetriebe in Baden-Württemberg, Bayern und Sachsen besucht und beprobt werden, um einen Überblick über die SBV Verbreitung in Deutschland zu erhalten. Pro Betrieb sollten von 30 Tieren Serumproben gewonnen werden und mittels ELISA der Firma ID-Vet im Labor der Klinik für kleine Klautiere auf Antikörper gegen das SBV untersucht werden. Gleichzeitig sollte in allen Herden ein Kurzfragebogen erhoben werden, um Risikofaktoren und Betriebsdaten zu erfragen. In diesem Kurzfragebogen sollte außerdem erfasst werden, was aus den vermeintlich gesund geborenen Zwillingslämmern zu missgebildeten und verendeten Tieren geworden ist. Die Auswertung der Fragebögen und serologischen Untersuchungen erfolgen ebenfalls in der Klinik für kleine Klautiere der TiHo Hannover.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Das Schmallenberg-Virus (SBV) trat 2011 als neue virale Erkrankung von Wiederkäuern erstmals in Deutschland und weiten Teilen Europas auf. Das klinische wie auch das pathologische Bild ist geprägt von missgebildeten und meist tot geborenen Lämmern und Kälbern, welches durch eine intrauterine Virusübertragung vom Muttertier auf den Embryo bzw. Fetus verursacht wird. Die verschiedenen Missbildungen lassen sich durch das Arthrogrypose-Hydranenzephalie-Syndrom zusammen fassen, welches durch versteifte Gelenke, Achsabweichungen der Gliedmaßen, Wirbelsäulenverkrümmungen und Schädelauftreibungen charakterisiert werden kann. Die Zielzellen des SBV sind Neuronen. Durch eine Schädigung des Zentralen Nervensystems (ZNS) in der fetalen Entwicklung kommt es zu einer fehlenden Innervation der Muskulatur der Feten. Dadurch wird diese während der Trächtigkeit nicht genügend bewegt und es kommt zu Muskelhypo- und -dysplasien und Verkürzungen der Sehnen und Gelenksbänder. Sekundär durch die Schädigung des ZNS kommt es also zur Ausbildung von Arthrogryposen und Wirbelsäulenverkrümmungen. Das Skelettsystem der betroffenen Lämmer ist normal entwickelt. Das SBV gehört zur Simbu-Serogruppe der Familie der Bunyaviridae, Genus Orthobunyavirus und wird vornehmlich durch Gnitzen (*Culicoides* spp.)

übertragen. Eng verwandt ist das SBV mit dem Akabane-, Aino-, Shamonda- und Sathuperi-Virus, welche alle kongenitale Missbildungen bei Wiederkäuern auslösen können, wenn das Muttertier erstmals während einer kritischen Phase der Frühträchtigkeit infiziert wird. Eine direkte Übertragung von Tier zu Tier ist höchst unwahrscheinlich. Kleine Wiederkäuer waren klinisch sehr viel stärker von SBV-Infektionen betroffen als Rinder, was sich teilweise in sehr hohen wirtschaftlichen Verlusten der betroffenen Schaf- und Ziegenherden niederschlug. Missgebildete und meist tot geborene Lämmer, aber auch durch unüberwindbare Geburtsprobleme verendete oder euthanasierte Muttertiere, waren Hauptgründe für diese teils massiven Verluste.

Das Friedrich-Löffler-Institut (FLI) etablierte noch in 2011 eine PCR zum Nachweis von SBV-Antigen in Blutproben virämischer Tiere und in Organen missgebildeter und totgeborener Lämmer und Kälber. Da die Zielzellen des Virus Neuronen sind, gelingt der Virusnachweis am sichersten in Gehirn- und Rückenmarksproben der Neugeborenen. Die Nachweisrate des Virus in eingesandten Neugeborenen beträgt allerdings lediglich 30-50% in Lämmern und 14% in Kälbern, obwohl alle Tiere deutliche Missbildungen bei der Geburt gezeigt haben. Diese Tatsache lässt sich dadurch erklären, dass die Infektion während der Frühträchtigkeit stattfindet (Schaf und Ziege etwa 28. bis 56. Trächtigkeitstag). Zu einem späteren Zeitpunkt (Schaf und Ziege etwa ab dem dritten Trächtigkeitsmonat) findet die Entwicklung des Immunsystems statt. Da der Fetus durch die Infektion nicht getötet und abgestoßen wird, sondern normal ausgetragen wird, kann es also sein, dass das reife Immunsystem das Virus als fremd erkennt und effektiv bekämpft, so dass das Virus bei der Geburt nicht mehr im Gewebe des Neugeborenen nachgewiesen werden kann. Eventuell stirbt das Virus aber auch während der Trächtigkeit ab und kann deshalb nicht mehr gefunden werden. Der Nachweis des Virus im Blut virämischer Tiere ist sehr schwierig, da die Virämie nur für 2-5 Tage p.i. anhält und somit extrem kurz ist. Da das Virus offenbar bei kleinen Wiederkäuern im Gegensatz zum Rind nicht zu klinischen Erkrankungen der erwachsenen Tiere führt, ist der Infektionszeitpunkt praktisch nicht zu ermitteln, weshalb entsprechende Proben nicht entnommen werden.

Zum serologischen Nachweis des Virus stehen verschiedene Möglichkeiten zu Verfügung. Antikörper (Ak) gegen das SBV lassen sich 7-14 Tagen p.i. im Serum

nachweisen. Der Serumneutralisationstest (SNT) wird vom FLI als Goldstandard zum Nachweis von Antikörpern gegen das SBV angesehen. Nachteil dieser Methode ist ein hoher Kosten-, Zeit- und Materialaufwand. Auch ein indirekter Immunfluoreszenztest kann zur Ak-Detektion eingesetzt werden. Hier gelten die gleichen Nachteile des SNT. Zudem braucht man geübtes Personal zur Beurteilung der Fluoreszenz. Seit Mai 2012 ist ein kommerziell erhältlicher ELISA auf dem Markt erhältlich (ID Screen® Schmallenberg virus indirect multi-species), welcher mit einer Spezifität von 99,75%, einer Sensitivität von 90% und einer Übereinstimmung mit dem SNT von 97,6% als zuverlässig eingestuft werden kann. Vorteil der ELISA Untersuchungen ist die leichte Handhabung und die Möglichkeit eine Vielzahl von Proben in kurzer Zeit zu untersuchen. Dieser ELISA wurde auch von uns in all unseren Studien zur Ak-Detektion verwendet. Mittlerweile gibt es einen neuen ELISA der Firma IDVet (ID Screen® Schmallenberg virus competition multi-species), welcher ein rekombinantes SBV Nukleoprotein als Antigen verwendet und eine verbesserte Spezifität und Sensitivität aufweist. Laut Herstellerangaben ist er in der Lage Ak früher zu detektieren. Auch ist mittlerweile ein ELISA für Tankmilchproben (ID Screen® Schmallenberg virus milk indirect) kommerziell auf dem Markt erhältlich.

2. Material und Methoden

2.1. Fall-Kontroll-Studie bei Ziegen

Von Januar bis Mai 2012 fand die Beprobung von 40 Ziegenbetrieben in sechs Bundesländern (NDS, NRW, HE, SH, SA, MVP) statt. Pro Betrieb wurden min. 14 und max. 30 Tiere beprobt (Serumproben). Von den beprobten und untersuchten Betrieben waren insgesamt nur zwei Betriebe serologisch negativ und bei nur zehn Betrieben wurden klinische Symptome während der Ablamperperiode in Form von Missbildungen bei den Neugeborenen beobachtet. Davon waren drei Betriebe stark betroffen, während die restlichen sieben Betriebe nur von vereinzelt Totgeburten und Missbildungen berichtet haben. Die Voraussetzungen für die geplante Fall-Kontroll-Studie (je 16 Fall- und Kontrollbetriebe) konnten somit nicht erfüllt werden. Um eine Auswertung der erhobenen Daten möglich zu machen, wurde dieses Teilprojekt, in eine Epidemiologische Studie umgewandelt. Hierfür wurde ein

verkürzter Fragebogen zusätzlich zu dem ausführlicheren Fragebogen des FLI ausgefüllt und bereits ausgewertet. Jeweils 14 Serumproben der beprobten Betriebe sowie die ausführliche Version des Fragebogens wurden zur Auswertung an das FLI (Institut für Epidemiologie, Wusterhausen und Institut für Virusdiagnostik, Insel Riems) weitergeleitet.

Geplant war ursprünglich, dass das FLI die Auswertung der Fragebögen mit Hilfe eines speziellen Software-Programms übernimmt. Da die Software aber noch entwickelt werden musste, haben wir uns dazu entschieden die erhobenen Daten aus der Ziegenstudie selbst auszuwerten, um nicht in Zeitverzug zu gelangen. Zusätzlich zu den Ziegenbetrieben wurden insgesamt Proben und Fragebögen von 64 Schafbetrieben aus Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Schleswig-Holstein und Hessen an das FLI weitergeleitet, um für die vom FLI durchgeführte Fall-Kontroll-Studie bei Schafen und Rindern ausgewertet werden zu können. Die serologischen Ergebnisse der eingesandten Betriebe haben wir vom FLI erhalten. Zu den Ergebnissen der Auswertungen der Fragebögen haben wir von Seiten des FLI noch keine Rückmeldung erhalten. Auch die Auswertung der Betriebe auf deutschlandweiter Ebene scheint noch nicht abgeschlossen zu sein, da wir auch in diesem Fall noch keine Ergebnisse vom FLI erhalten haben. Leider gestaltete sich die Kommunikation mit dem FLI teilweise als schwierig, so dass wir dazu übergegangen sind, die gewonnenen Proben im Labor der Klinik für kleine Klauentiere mittels ELISA serologisch zu untersuchen und auch einen eigenen Fragebogen spezifisch für kleine Wiederkäuer zu erstellen und auszuwerten. Sämtliche geforderten Daten wurden an das Institut für Epidemiologie zeitnah weitergeleitet. Die Datenauswertung durch das FLI wird durch unsere eigene Auswertung in keiner Weise behindert.

Damit ist die Probensammlung und Datenerhebung in diesem Teilprojekt abgeschlossen.

2.2. Retrospektive Studie

Insgesamt wurden bisher anstatt geplanten 450 Proben bereits ca. 1800 Proben aus 2010 und 2011 aus 13 Schaf- und zehn Ziegenherden aus NRW, NDS und SH untersucht. Da von einigen Betrieben mehr Serumproben asserviert waren als

erwartet, vergrößerte sich die Zahl der per ELISA untersuchten Proben, da so die Stichprobengröße und damit die statistische Aussage deutlich angehoben werden konnte. Die Untersuchung der asservierten Proben ist somit abgeschlossen.

2.3. Prävalenzstudie bei Schafen und Ziegen in Niedersachsen

Für diese Studie wurden insgesamt 81 Herden (64 Schaf- und 17 Ziegenherden) in Niedersachsen beprobt. Pro Betrieb wurden von min. 14 und max. 30 Tieren Serumproben entnommen sowie Betriebsdaten anhand eines verkürzten Fragebogens abgefragt. Die Untersuchung der Serumproben und die Auswertung der Fragebögen fanden im Labor der Klinik für kleine Klautiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover statt.

Damit ist die Probensammlung und Datenerhebung in diesem Teilprojekt abgeschlossen.

2.4. Prospektive Studie

Im Ziegenbetrieb erfolgte eine Beprobung des gesamten Bestandes des mit ca. 220 Tieren (NRW) im April, Juli, Oktober und Dezember 2012 und eine Untersuchung von asservierten Proben aus dem Mai 2011. Ebenso erfolgte eine Beprobung des Schafbetriebs (NDS) mit ca. 180 Tieren im April, Juli und Oktober 2012 sowie eine Untersuchung von asservierten Proben aus dem November 2011.

Des Weiteren ist die Beprobung der sieben Schaf- und drei Ziegenkontrollbetriebe aus der Fall-Kontrollstudie aus Niedersachsen abgeschlossen und die Daten liegen zur Auswertung vor. Alle Betriebe hatten bereits in der Erstbeprobung im Frühjahr 2012 Antikörper-positive Tiere (Intraherdenprävalenz: 6,45% - 43,75%).

Von einem zweiten Besuch in 2013 von 40 Betrieben, die bereits in 2012 beprobt worden waren, wurde abgesehen, da sich dadurch keine neuen Erkenntnisse erwarten ließen und eine deutschlandweite Seroprävalenzstudie bei Schafen und Ziegen als sinnvoller und erkenntnisreicher angesehen wurde.

2.5. Aufstallung, Beobachtung und Sektion von Zwillingstieren zu missgebildeten Lämmern

Am 17.07.2012 wurden 12 Tiere im Alter von etwa fünf Monaten aus einer Schäferei aus Sachsen-Anhalt in die Klinik für kleine Klauentiere der TiHo Hannover verbracht. Alle 12 Tiere waren nachweislich Zwillingslämmer von totgeborenen und missgebildeten Lämmern, bei denen der Verdacht einer SBV-Infektion bestand. Der Schäfer berichtete, dass diese Lämmer zunehmend hinter den anderen Lämmern zurückbleiben und kümmern. Bei allen 12 Tieren wurde eine ausführliche Allgemeinuntersuchung durchgeführt. Des Weiteren wurden alle Tiere einer neurologischen Untersuchung unterzogen und es wurden von allen Tieren Blut- und Kotproben entnommen. Sechs der Tiere wurden euthanasiert und einer Sektion zugeführt. Die verbliebenen sechs Tiere wurden behandelt und im November der Schlachtung zugeführt.

2.6. Präkolostrale Antikörper-Übertragung vom Muttertier auf die Nachkommen

Im Februar 2013 wurden während der Ablampperiode in einem Schafbetrieb mit etwa 180 Muttertieren (Standort: Niedersachsen, Rasse: Schwarzköpfige Fleischschafe) von insgesamt 75 Muttertieren und den dazugehörigen 138 Lämmern Serumproben gewonnen. Von den 138 Lämmern haben 104 vor der Blutprobenentnahme Kolostrum aufgenommen. Vierunddreißig Lämmer wurden in der präkolostralen Phase direkt nach der Geburt beprobt.

2.7. Deutschlandweite Prävalenzstudie bei Schafen und Ziegen

Von Januar bis Oktober 2013 wurden nicht nur in Baden-Württemberg, Bayern und Sachsen, sondern in allen deutschen Bundesländern mit Ausnahme von Bremen, Hamburg und Berlin 10 Schaf- und/oder Ziegenbetriebe beprobt, um einen Überblick über die Verbreitung des Schmallenberg Virus in deutschen Schaf- und Ziegenbeständen zu bekommen. Somit wurden anstatt der ursprünglich 40 zu beprobenden Betriebe in drei Bundesländern insgesamt 130 Betriebe in dreizehn Bundesländern befragt und beprobt, da bis Anfang 2012 alle deutschen

Bundesländern außer Bremen nachgewiesenermaßen Fälle von SBV zu verzeichnen hatten. Pro Betrieb wurden 30 Serumproben entnommen und serologisch mittels ELISA der Firma ID-Vet im Labor der Klinik für kleine Klauentiere untersucht. Wenn der Betrieb weniger als 30 Tiere hielt, wurden alle Tiere der Herde beprobt (100%). Zusätzlich wurde für jeden Betrieb ein Kurzfragebogen erhoben, um Risiko- und mögliche Präventionsmaßnahmen zu erfassen und sich einen Einblick in Herdenmanagement, Haltungsbedingungen und Verlustraten zu verschaffen. Damit ist die Probensammlung in diesem Teilprojekt ebenfalls abgeschlossen.

3. Ergebnisse

3.1 Ausführliche Darstellungen der wichtigsten Ergebnisse

3.1.1 Fall-Kontroll-Studie bei Ziegen

Bei der Auswertung der 40 beprobten Ziegenherden fiel auf, dass nur zwei Betriebe serologisch negativ waren. Auf allen anderen Betrieben konnten Antikörper gegen das SBV mittels ELISA nachgewiesen werden, wobei die Spanne zwischen den einzelnen Betrieben zwischen 3,3% und 93,3% sehr weit ist. Der ermittelte Median für die Intra-Herden-Prävalenz der beprobten Herden liegt bei 36,7% und ist somit sehr viel niedriger als der ermittelte Median für Milchkühe in den Niederlanden mit 72,5% oder Belgien mit 90,8% und der von uns ermittelte Median für Schafe in Niedersachsen (60%). Der Grund hierfür könnte darin liegen, dass die Gnitzen als Überträger des Virus Rinder als Wirte bevorzugen. Des Weiteren ist die Haltungsform als Grund für diese Unterschiede zu nennen. Fast alle Milchrinderbetriebe in Deutschland und den Niederlanden werden in intensiver Stallhaltung auf Spaltenboden mit darunter befindlicher Güllegrube gehalten. Der Dung von Rindern ist sehr flüssig und nährstoffreich. Die Güllegrube als Lagerstätte für den Kuhdung bietet den Gnitzenlarven, welche sich aquatisch entwickeln, somit ideale Bedingungen zur Entwicklung. Der Dung von Schafen und Ziegen dahingehen ist sehr trocken und fest. Zusätzlich werden kaum Herden in ganzjähriger Stallhaltung gehalten und wenn doch, dann zumeist auf Stroh in einer Tiefstreuhaltung. Somit haben die Gnitzen in Schaf-/Ziegenställen und auf Schaf-

/Ziegenweiden weniger günstige Bedingungen für die Eiablage und die Entwicklung der Larven. Eine weitere Erklärung für die niedrigere Intra-Herden-Prävalenz von Ziegen ist die Möglichkeit, dass Anti-SBV-Antikörper von Ziegen evtl. schneller abgebaut werden als bei anderen Tierarten. Weitere Studien sind nötig, um diese Erklärungsansätze zu stützen und zu belegen.

Bei der Auswertung der Fragebögen fiel auf, dass Milchziegenbetriebe, die ihre Ziegen das ganze Jahr über in reiner Stallhaltung halten (n=10), niedrigere Intra-Herden-Prävalenzen aufweisen, als die Betriebe, die ihre Ziegen ganzjährig draußen auf der Weide halten (n=26). Auch die beiden serologisch negativ getesteten Herden sind in ganzjähriger Stallhaltung untergebracht. Dieser Unterschied wurde mit Hilfe des Statistikprogramms SAS 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, North Carolina, USA) als signifikant belegt ($p=0,0001$). Somit stellt die Aufstallung in der Ziegenhaltung durchaus einen Schutz gegen die Exposition zu Gnitzen dar, was an den oben bereits erläuterten Gegebenheiten liegen könnte.

Nur zehn Betriebe berichteten von klinischen Symptomen, die auf eine Infektion mit dem Schmallenberg-Virus hindeuten, wovon drei schwere Verluste in Form von Lämmer- und Milchverlusten zu beklagen hatten. Die restlichen sieben Betriebe haben lediglich einzelne missgebildete Lämmer beobachtet. Da nur zehn der insgesamt 38 SBV-positiv getesteten Betriebe klinische Symptome in Form von Missbildungen bei den Lämmern berichtet haben, ist davon auszugehen, dass die 28 positiven Betriebe ohne klinische Symptome bereits in den Sommermonaten infiziert worden sind. Dadurch blieb eine erste Infektion mit dem Virus während des kritischen zweiten Monats der Trächtigkeit aus und die Lämmer wurden normal geboren.

Von klinischen Erscheinungen bei den Muttertieren in Form von Durchfall, Fieber, Mattigkeit und Rückgang der Milchleistung zum Zeitpunkt der Infektion im Sommer/Herbst 2011 berichtete lediglich ein Betrieb, wobei nicht auszuschließen ist, dass einige Betriebe milde Durchfallgeschehen als Endoparasitosen abgetan haben, da das Virus zu dieser Zeit noch unbekannt war. Inwiefern Reproduktionsstörungen durch die SBV-Infektionen hervorgerufen wurden, konnte nicht ermittelt werden. Jedoch ergaben sich einzelnen Hinweise auf Frühaborte im Zusammenhang mit dem SBV-Infektionsgeschehen.

Abgeleitete Empfehlungen aus den bisherigen Erkenntnissen zu SBV-Infektionen in deutschen Ziegenherden besagen daher folgendes:

1. Deutsche Ziegenherden sind keinesfalls ausreichend mit dem SBV durchseucht und somit auch nicht vor einer erneuten Infektion geschützt.
2. Mit einer strikten und kontinuierlichen Ektoparasitenbehandlung (alle zwei Wochen) mittels Pour on-Präparaten während der Deckperiode und der ersten Trächtigkeitsmonate kann versucht werden die Exposition zu Gnitzen zu minimieren, wobei auf dem Markt befindliche Ektoparasitika keinen 100%igen Schutz vor Gnitzen bieten, da es sich dabei nicht um echte Repellentien handelt.
3. Durch die Verlegung der Deckperiode in die kälteren Wintermonate kann erreicht werden, dass Antikörper-negative Tiere sich über die Sommer- und Herbstmonate mit dem Virus auseinandersetzen und somit zum kritischen Zeitpunkt (2. Trächtigkeitsmonat) bereits durchseucht sind.
4. Eine ganzjährige reine Stallhaltung oder zumindest eine Aufstallung der Ziegen vor der Abenddämmerung (Hauptflugzeit der Gnitzen) und über Nacht kann das Risiko einer SBV-Übertragung durch Gnitzen senken. Insektizid-getränkte Windschutznetze und Insektenfallen können das Vorkommen von Gnitzen in den Ställen weiter eindämmen.
5. Eine Impfung wäre ebenfalls eine Möglichkeit naive Tiere vor der Virusinfektion zu schützen, allerdings steht im Moment noch kein kommerziell erhältlicher Impfstoff zur Verfügung. Ein für Rinder und Schafe bereits als sicher getesteter Impfstoff (Bovilis SBV®, MSD Animal Health) wird derzeit im Rahmen einer Impfstudie in Deutschland an Ziegen erprobt. Für Schafe und Rinder ist dieser Impfstoff für die Sommermonate 2013 im Vereinigten Königreich bereits vorübergehend kommerziell erhältlich. Auch in Frankreich wurde im August 2013 vorläufig ein Impfstoff zugelassen (SBVvax®, Merial).

(siehe Publikation: Helmer C, Eibach R, Tegtmeyer PC, Humann-Ziehank E, Ganter M. Survey of Schmallenberg virus (SBV) infection in German goat flocks. *Epidemiology and Infection* 2013; 141: 2335-2345.)

3.1.2 Retrospektive Studie

In Proben aus Oktober bzw. Dezember 2011 waren erste Antikörper gegen SBV-Infektionen nachweisbar. Zwei von 13 Schafherden hatten bereits 2011 eine Intraherdenprävalenz von 68% bzw. 9%. Einer von den 10 untersuchten Ziegenherden zeigte in 2011 eine Intraherdenprävalenz von 79%. Bereits bei Proben aus April, November bzw. Dezember 2010 gab es zwei positive Einzeltiernachweise (aus einer Schaf- und einer Ziegenherde) sowie ein fragliches Ergebnis (aus einer Schafherde) im SBV-ELISA (ID-Vet). Im Serumneutralisationstest waren diese Proben allerdings negativ, so dass es sich im ELISA wahrscheinlich um falsch positive Ergebnisse handelt und erste Nachweise von SBV-Antikörpern somit frühestens in den Herbst 2011 datiert werden können.

3.1.3 Prävalenzstudie bei Schafen und Ziegen in Niedersachsen

Epidemiologische Daten aus Schaf- und Ziegenbetrieben in Niedersachsen ergaben eine höhere Intraherdenprävalenz bei Schafen (Median 58,7%, Min 6,5%, Max 100%) im Vergleich zu Ziegen (Median 43,8%, Min 5,6%, Max 93,3%). Kein Betrieb war serologisch negativ. Mögliche Ursachen für die große Spanne, auch innerhalb einer Tierart, sind unterschiedliche Haltungsbedingungen (Stall- vs. Weidehaltung), unterschiedliches Management (z.B. Ektoparasitenbehandlung, Deckperioden) oder auch unterschiedliche Exposition der Betriebe in Hinsicht auf mögliche Culicoides Habitate (Feuchtgebiete, Waldgebiete). Auch eine geringere Präferenz der Gnitzen für Ziegen als für Schafe als potentielle Blutmahlzeitspender ist denkbar. Der Unterschied in der Intra-Herden-Prävalenz der beprobten Herden ist signifikant ($p=0,0058$) und wurde mit dem Statistikprogramm SAS 9.1 berechnet. Des Weiteren wurde berechnet, ob bestimmte Schafrassen anfälliger gegenüber einer SBV-Infektion sind als andere. Dieser Unterschied konnte aber statistisch nicht bewiesen werden, auch wenn die Seroprävalenz von Haarschafrassen niedriger zu sein schien, als die anderer Schafrassen.

44 der 64 beprobten Schafherden und fünf der 17 beprobten Ziegenherden berichteten klinische Fälle von SBV-Infektionen. Von 34 Betrieben lagen uns PCR-Ergebnisse missgebildeter Lämmer vor (insgesamt von 101 Tieren, 94 Schaf- und 7

Ziegenlämmer). Von diesen offensichtlich missgebildeten Lämmern konnten nur etwa 50% PCR-positiv auf das SBV getestet werden. Dieses Phänomen ist möglicherweise dadurch zu erklären, dass das Virus die Feten schon in der Frühträchtigkeit infiziert und durch eine Schädigung des ZNS zur Ausbildung schwerer Missbildungen während der weiteren intrauterinen Entwicklung führt. Da betroffene Lämmer aber nicht absterben, entwickelt sich auch das Immunsystem normal aus und das Virus kann in manchen Fällen durch neutralisierende Antikörper bekämpft und entfernt werden.

Auch in dieser Studie wird also deutlich, dass Ziegen weniger von SBV-Infektionen betroffen zu sein scheinen, als andere Wiederkäuer. Die Durchseuchung niedersächsischer Schaf- und Ziegenherden ist längst noch nicht vollständig, weshalb auch in den nächsten Ablamperperioden mit Verlusten in Form von missgebildeten und totgeborenen Lämmern gerechnet werden muss. Als mögliche Prophylaxemaßnahmen sind die bereits für Ziegen beschriebenen Möglichkeiten zu nennen (siehe 5.1.)

(siehe Publikation: Helmer C, Eibach R, Tegtmeyer PC, Humann-Ziehank E, Runge M, Ganter M. Serosurvey of Schmallenberg virus infections in sheep and goat flocks in Lower Saxony, Germany. *Transboundary and Emerging Diseases* 2013; Doi: 10.1111/tbed.12161 (ahead of print))

3.1.4 Prospektive Studie

Die untersuchte Schafherde hat im Mittel eine Intraherdenprävalenz von 67% (November 2011: 68%, April 2012: 59,5%, Juli 2012: 73%, Oktober 2012: 69%). Bei den Beprobungen zeigten 86 Schafe durchgängig eine positive Antikörperaktivität. Der errechnete Median der Antikörperaktivitäten an den verschiedenen Beprobungsterminen fällt vom ersten bis zum letzten Beprobungstermin leicht ab (Median: November 2011: 139,95; April 2012: 81,25; Juli 2012: 110,75; Oktober: 94,25). Der geringe Anstieg in den Sommermonaten kann möglicherweise mit einer Reinfektion durch Befall von SBV-infizierten blutsaugenden Insekten in Zusammenhang gebracht werden. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei der beprobten Ziegenherden. Die Intraherdenprävalenz beträgt hier im Mittel 9% (Mai 2011: 0%,

April 2012: 11,6%, Juli 2012: 11,7%, Oktober 2012: 12,3%). In dieser Herde waren, abgesehen von dem ersten Beprobungstermin im Mai 2011, 12 Tiere durchgängig Antikörper-positiv getestet worden. Bei Betrachtung dieser 12 Tiere fällt auch hier auf, dass der Median der Antikörperaktivitäten, dieser durchgängig SBV positiven Tiere, abzufallen scheint (Median: Mai 2011: 0; April 2012: 124,9; Juli 2012: 102,7; Oktober 2012: 94,4). Demzufolge stellt sich die Frage, ob eine durchgemachte SBV-Infektion bei Schafen und Ziegen eine belastbare Immunität hinterlässt und vor allem wie lange diese anhält.

Die Ergebnisse der in der zweiten Jahreshälfte (ab September 2012) beprobten sieben Schaf- und drei Ziegenherden zeigen in allen Fällen, mit einer Ausnahme, einen mehr oder weniger ausgeprägten Anstieg der Intraherdeprävalenz (aktuelle Zahlen: 0% - 30% höhere Intra-Herden-Prävalenz im September/Okttober 2012 als noch im März/April 2012). Somit haben in den beprobten Herden über die Sommermonate 2012 Schafe und Ziegen serokonvertiert. D.h., dass SBV-infizierte Gnitzen in den Sommermonaten 2012 in Niedersachsen aktiv gewesen sein müssen und somit Tiere und Herden, die sich bislang nicht mit dem Virus auseinandergesetzt haben, infiziert haben.

In Langzeitstudien muss weiter abgesichert werden, ob sich eine Langzeitimmunität nach einmaliger natürlicher SBV-Infektion ausbildet und wenn ja, wie lange diese anhält und protektiv ist. Bislang gibt es aber noch keine Hinweise darauf, dass ein und dasselbe Tier in zwei hintereinander folgenden Jahren von einer SBV-Infektion betroffen war.

3.1.5 Aufstallung, Beobachtung und Sektion von Zwillingstieren zu missgebildeten Lämmern - Einfluss einer SBV-Infektion auf andere Erkrankungen, insbesondere Endoparasitosen

Bei der Allgemeinuntersuchung der 12 aufgestellten Lämmer fiel auf, dass alle Tiere abgemagert waren. Des Weiteren zeigten einige Tiere einen kotverschmierten Analbereich, was auf ein Durchfallgeschehen hinwies. Auskultatorisch hatten fast alle Lämmer ein mgr.-hgr. verschärftes Atemgeräusch. Teilweise war auch spontaner Husten hörbar. Bei der neurologischen Untersuchung der Lämmer konnte keine Abweichung von der Norm festgestellt werden. Das große Blutbild zeigte bei keinem

der Tiere relevante Veränderungen. Parasitologisch wurden bei allen Lämmern Kokkizidien nachgewiesen, welche für das Durchfallgeschehen verantwortlich gewesen sein könnten. Alle 12 Lämmer zeigten einen Selenmangel. Auch auf Antikörper gegen das SBV wurden alle 12 Tiere getestet, wobei kein Tier positiv getestet wurde. Die Tiere, die euthanasiert und postmortal untersucht wurden, wiesen alle eine katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie auf, die wahrscheinlich durch Mykoplasmen oder Pasteurellen verursacht wurde.

Der direkte SBV-Nachweis per RT-PCR gelang bei keinem der seziierten Lämmer. Die in der Klinik verbliebenen Lämmer wurden mit Baycox ovis® (Toltrazuril) gegen die Kokkizidien und mit einem Markolid-Antibiotikum gegen die Bronchopneumonie behandelt. Zusätzlich erhielten alle Lämmer ein Vit. E/Selen-Präparat, um dem Selenmangel entgegenzuwirken.

Da weder serologisch, noch virologisch, noch pathologisch Hinweise auf eine SBV-Infektion dieser Lämmer vorlag und die Tiere genug Gründe gezeigt haben, um abzumagern und zu kümmern (Lungensymptomatik, Verwurmung), ist nicht zwingend davon auszugehen, dass eine Auseinandersetzung mit dem SBV in der Frühträchtigkeit mit dem Kümmern in Verbindung steht. Allerdings können geringfügige Schädigungen zu einer Störung der kognitiven Fähigkeiten geführt haben, was sich unseren Untersuchungsmöglichkeiten entzieht. Es ist auf jeden Fall bemerkenswert, dass genau diese 12 Lämmer in der Gewichtsentwicklung zurückgeblieben waren.

Bei den Bestandsbesuchen im Rahmen der deutschlandweiten Prävalenzstudie 2013 war eine Erhebung und Auswertung über den Verbleib der Zwillingstiere zu missgebildeten Lämmern leider nicht möglich, da die meisten Schaf- und Ziegenhalter die Zwillingslämmer nicht eindeutig gekennzeichnet hatten und somit keine Zuordnung mehr möglich war. Sporadische Beobachtungen in Schafbeständen im Rahmen von Routinebesuchen des Schaf- und Ziegengesundheitsdienstes der TiHo Hannover deuten darauf hin, dass die Gewichtsentwicklung von überlebenden Zwillingen von Feten mit kongenitalem A-H-Syndrom eine schlechtere Gewichtsentwicklung als normale Lämmer haben und dass die Verlustrate auch nach dem Absetzen von den Muttertieren noch erhöht war. Andere betroffene Betriebe berichteten uns, dass die Zwillingslämmer in Leistungsprüfungen sehr gut beurteilt wurden und bislang keinerlei Hinweise auf Schädigungen durch eine mögliche

intrauterine SBV-Infektion aufzeigten. Eine eindeutige Aussage kann zu dieser Frage nicht gemacht werden.

Aufgrund von eigenen Beobachtungen und denen von Kollegen aus den Schafgesundheitsdiensten in 2012 entstand der Eindruck, dass therapieresistente Endoparasitosen möglicherweise durch Infektionen mit dem SBV verstärkt sein könnten. Konkret handelte es sich um eine Untersuchung in der Schafherde des Instituts für Nutztiergenetik des FLI in Mariensee-Mecklenhorst, NDS:

Zur Erforschung des Effekts und der Machbarkeit des Prinzips des Targeted selective treatments (TST) wurden 182 Lämmern der Herde nach dem Absetzen in je 2 weibliche und männliche Gruppen mit gleichen Durchschnittsgewichten geteilt. Sowohl die weiblichen als auch die Bocklämmer wurden in eine behandelte Kontrollgruppe (alle Lämmer behandelt) und in eine TST-Gruppe geteilt. In der TST-Gruppe wurden nur diejenigen 25% der Lämmer entwurmt, die in den vergangenen vier Wochen die schlechtesten täglichen Zunahmen gezeigt hatten. Die Behandlungen erfolgten oral mit 5 mg Fenbendazol (Panacur Suspension 2,5%)/kg KGW oral. Die Wiegunen, Kotprobenuntersuchungen und Behandlungen erfolgten alle vier Wochen.

Ab Mitte Juli stagnierten die Gewichte bei den Bocklämmern der TST-Gruppe bei 39 kg und in der Folge nahmen diese bis Ende August noch bis zu einem Durchschnittsgewicht von 34,2 kg deutlich ab. Grund für diesen massiven Gewichtsverlust war eine hochgradige Strongyloidose, z.T. kombiniert mit einer Haemonchose. Da die Gewichtsabnahme etwa zeitgleich mit der Serokonversion von Mutterschafen gegenüber SBV auf unmittelbar angrenzenden Standorten vorkam, lag der Verdacht nahe, dass eine Coinfektion mit dem SBV zu dem massiven Anstieg der Strongyloides-Infektion geführt haben könnte. Zwei Bocklämmer der TST-Gruppe starben an einer Haemonchose und Strongyloidose. Dagegen nahmen die Bocklämmer der behandelten Kontrollgruppe bis Ende Juli auf 43 kg kontinuierlich zu. Die Gewichte und die Zunahmen unterschieden sich ab Mitte Juli signifikant zwischen den beiden Bockgruppen. Bei den beiden Gruppen der weiblichen Lämmer ergaben sich keine signifikanten Gewichtsunterschiede. Die parallel durchgeführten Eizahlreduktionstests ergaben eine Reduktion der Eizahl nach der Fenbendazol-Behandlung um ca. 50%, so daß von einer hochgradigen Resistenz der Rundwürmer gegenüber Fenbendazol auszugehen ist. Bereits Mitte Juni wurde in allen vier

Gruppen die Ausscheidung von Strongyloides-Eiern beobachtet. Diese Ausscheidung nahm kontinuierlich zu und erreichte Anfang September mit Durchschnittswerten von 2046 bis 8066 Strongyloides EpG seinen Höhepunkt. Behandlungen bis einer 8-fachen Fenbendazol-Dosis (40 mg/kg KGW) änderten an der Strongyloides-Ausscheidung nichts. In anderen Beständen hatten wir erstmals in 2011 diesen extremen Anstieg der Ausscheidung von Strongyloides-Eiern festgestellt. In den letzten zehn Jahren hatten wir dieses Phänomen bei unseren routinemäßigen parasitologischen Untersuchungen nicht beobachten können.

Die Ergebnisse bei den Bocklämmern waren zunächst schockierend, da sogar Todesfällen zu beklagen waren. Aber selbst in den behandelten Kontrollgruppen war eine Stagnation der Zunahmen bei gleichzeitiger Zunahme der Ausscheidung von MDS-Eiern zu verzeichnen, was letztlich auf eine weitgehende Resistenz der Rundwürmer gegen Benzimidazole zurückgeführt werden konnte. Dies war umso erstaunlicher, da Benzimidazole seit Jahren nicht mehr in der Herde eingesetzt worden waren. Wäre die Resistenz vor der Weideperiode bekannt gewesen, hätte die Wirkstoffgruppe gewechselt werden müssen oder in der TST-Gruppe hätte der prozentuale Anteil der behandelten Tiere deutlich erhöht werden müssen.

Schlechte Zunahmen und Todesfälle wurden bei den Bocklämmern jedoch auch durch Strongyloidosen hervorgerufen. Keines der auf dem Markt befindlichen Anthelmintika ist gegenüber *Strongyloides papillosus* ausreichend wirksam.

In 2013 wurde der Versuch mit der neuen Lämmergegeneration jedoch unter Verwendung von Levamisol wiederholt. Die täglichen Zunahmen entwickelten sich in allen vier Gruppen (Bocklämmer alle behandelt, Bocklämmer 25% behandelt, weibliche Lämmer alle behandelt, weibliche Lämmer 25% behandelt) zufriedenstellend. Ein Bocklamm verendete an einer Pasteurellose und ein Lamm kümmerete. Bei diesem Kümmererlamm wurde ebenfalls eine Strongyloidose nachgewiesen. Die serologische Untersuchung dieses Tieres auf SBV-Antikörper verlief negativ. Die kontinuierliche serologische Untersuchung von 30 Muttertieren aus demselben Bestand, die im Juni 2013 SBV negativ auf Ak gegen das SBV getestet worden waren, kam es bis November 2013 zu keiner Serokonversion. Es ergaben sich in dieser Herde somit keine Hinweise auf SBV-Infektionen in den Sommermonaten 2013.

Das in 2012 beobachtete Phänomen der hochgradigen Endoparasitose unter Beteiligung von Zwergfadenwürmern ist wahrscheinlich auf die Verwendung eines Anthelmintikums zurückzuführen, gegen das die Mehrzahl der vorhandenen Rundwurmarten resistent waren. Der Einfluss einer SBV-Infektion auf eine Endoparasitose konnte durch die Untersuchungen in 2013 weder bestätigt, noch ausgeschlossen werden.

3.1.6 Präkolostrale Antikörper-Übertragung vom Muttertier auf die Nachkommen

Insgesamt wurden 60 der 75 beprobten Müttern mittels ELISA positiv oder fraglich auf anti-SBV-Antikörper getestet. Die restlichen 15 Tiere wiesen keine Antikörper gegen das SBV auf. Dreiundachtzig der 138 Lämmer wiesen serologisch Antikörper gegen das Virus auf. Fünfundfünfzig Lämmer wurden negativ getestet. Insgesamt konnte festgestellt werden, dass Lämmer von Ak-positiven Muttertieren vor der Kolostrumaufnahme keine Ak im Serum aufwiesen, nach der Kolostrumaufnahme aber positiv auf Ak gegen das SBV getestet wurden. Lämmer von Ak-negativen Müttern wurden sowohl vor als auch nach der Kolostrumaufnahme negativ getestet. Aufgrund dieser Resultate gehen wir davon aus, dass Ak gegen das SBV mittels Kolostrum auf die Nachkommen übertragen werden. In Einzelfällen wichen unsere Ergebnisse von den oben dargestellten Resultaten ab. Dreizehn der 104 Lämmer, die laut Vorbericht Kolostrum aufgenommen haben sollten, waren Ak-negativ, obwohl sie von Ak-positiven Muttertieren stammten. Eine mögliche Erklärung für dieses widersprüchliche Ergebnis ist, dass die Lämmer eventuell vor der Blutprobenentnahme doch noch kein Kolostrum oder eine zu geringe Menge aufgenommen haben, oder dass die Qualität des Kolostrums zu schlecht war. Zwölf Lämmer wurden Ak-positiv getestet, obwohl sie von Ak-negativen Muttertieren abstammen. Hier ist die Frage, ob die Lämmer eventuell bei anderen Ak-positiven Muttertieren Kolostrum aufgenommen haben oder ob eine intrauterine SBV-Infektion stattgefunden hat, das Muttertier aber keine Ak ausgebildet hat.

In einer weiteren Studie in der Ablammsaison 2014 sollen im gleichen Betrieb weitere Serumproben von Lämmern in der präkolostralen Phase und den dazugehörigen Muttertieren genommen werden, um die erhaltenen Ergebnisse zu überprüfen und zu verifizieren.

3.1.7 Deutschlandweite Prävalenzstudie bei Schafen und Ziegen

In der deutschlandweiten Seroprävalenzstudie wurden pro Bundesland (außer Bremen, Hamburg, Berlin) zehn Schaf- und/oder Ziegenbetriebe serologisch beprobt und mit einem Kurzfragebogen zu ihrem Betrieb befragt. Insgesamt wurden 130 Betriebe beprobt, wobei es sich bei den Betrieben um 27 Ziegen- und 103 Schafbetriebe handelte. Die errechnete mediane Intra-Herden-Prävalenz für alle beprobten Herden liegt bei 53,3%. Die mediane Intra-Herden-Prävalenz der Ziegenherden liegt mit 30% (Min-Max: 0-100%) signifikant unter der der Schafherden mit 57% (Min-Max: 0-100%). Somit lassen sich die bereits in der Prävalenzstudie Niedersachsen gewonnenen Erkenntnisse auch auf ganz Deutschland übertragen und es fällt auf, dass Ziegenbestände weniger stark mit dem SBV durchseucht sind als Schafbestände, wobei festzuhalten ist, dass beide Tierarten immer noch der Gefahr von erneuten Fällen von Missbildungen durch SBV ausgesetzt sind, da die Durchseuchung lückenhaft ist. Insgesamt wurden sechs Betriebe gefunden, die serologisch negativ waren. Dabei handelt es sich um zwei Schaf- und vier Ziegenbetriebe. Die Schafbetriebe sind beide in Brandenburg im Landkreis Märkisch Oderland gelegen. Die Ziegenbetriebe befinden sich in Mecklenburg-Vorpommern, Brandenburg, Sachsen-Anhalt und Sachsen. Bei allen serologisch negativen Ziegenherden handelt es sich um Milchbetriebe, die die Tiere nachts aufstallen oder ganzjährig in Stallhaltung halten. Drei Betriebe waren zu 100% durchseucht. Dabei handelt es sich um einen Ziegen- und zwei Schafbetriebe. Zwei dieser Betriebe sind im Saarland lokalisiert und einer in Nordrhein-Westfalen. Auffällig ist der regionale Unterschied zwischen den einzelnen Bundesländern. So liegt die mediane Intra-Herden-Prävalenz für Brandenburg bei gerade einmal 10%, wohingegen sie für Hessen bei über 70% liegt. Um sich einen besseren Überblick über die regionalen Unterschiede zu machen, haben wir Deutschland in vier Regionen eingeteilt (Nordwest (NW) = NDS, NRW, SH; Nordost (NO) = MVP, BB, ST; Südwest (SW) = SL, RP, BW, HE; Südost (SO) = SN, TH, BY). Bei dieser Einteilung ergab sich für den NO eine mediane Intra-Herden-Prävalenz von 17%, für den NW von 46,5%, für

den SO von 58% und für den SW von 67%. Der Nordosten Deutschlands ist also signifikant weniger von SBV-Infektionen betroffen als der Rest der Bundesrepublik. Etwa die Hälfte (n=64) der befragten Betriebe gab an, klinische Fälle von SBV-Infektionen auf ihrem Betrieb beobachtet zu haben. Leider lagen aber nur von 18 Betrieben PCR-Ergebnisse vor, wovon 14 Betriebe positiv und vier negativ getestet wurden. Etwa 60% aller (n=76) Betriebe gaben an, die Tiere mit Ektoparasitika zu behandeln, wovon wiederum über 80% ein Deltamethrin-haltiges Präparat einsetzen. Keiner der Landwirte setzt jedoch Repellents gezielt während der Deckperiode oder frühen Trächtigkeit ein, so dass ein möglicher Schutz vor den Gnitzen in der kritischen Trächtigkeitsphase nicht gewährleistet ist. 80% der Betriebe (n=104) werden ganzjährig draußen gehalten und nur für die Ablampperiode über ein paar Wochen aufgestellt. Sieben Betriebe werden in reiner Stallhaltung gehalten und 19 Betriebe werden täglich über Nacht in den Stall verbracht. Knapp 70% der Betriebe (n=85) gaben an, dass sie ihre Tiere in der Nähe von Feucht- und/oder Waldgebieten weiden, was eine erhöhte Exposition zu Gnitzen erwarten lässt.

In dieser Studie bestätigt sich die Annahme aus der Ziegenstudie und aus der Prävalenzstudie Niedersachsen, dass Ziegen weniger von SBV-Infektionen betroffen zu sein scheinen, als Schafe und Rinder. Allerdings ist auch die Durchseuchung der Schafherden mit im Mittel 60% längst noch nicht vollständig und es muss mit erneuten Fällen von SBV-Infektionen in den nächsten Ablampperioden gerechnet werden. Vor allem der NO der Republik ist noch kaum durchseucht und es besteht somit das Risiko von wirtschaftlichen Verlusten durch kongenital missgebildete Lämmer, Totgeburten und Aborte. Auch durch unüberwindbare Geburtshindernisse verendete oder euthanasierte Muttertiere könnten zu den Verlusten beitragen.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

4. Zusammenfassungen in deutscher und englischer Sprache

4.1 Zusammenfassung

Das Schmallenberg-Virus (SBV) trat 2011 als neue virale Erkrankung von Wiederkäuern erstmals in Deutschland und weiten Teilen Europas auf. Das klinische wie auch das pathologische Bild ist geprägt von missgebildeten und meist tot geborenen Lämmern und Kälbern, welches durch eine intrauterine Virusübertragung vom Muttertier auf den Embryo bzw. Fetus verursacht wird. Das SBV gehört zu den Bunyaviridae, Genus Orthobunyavirus und wird vornehmlich durch Gnitzen übertragen. Kleine Wiederkäuer waren klinisch sehr viel stärker von SBV-Infektionen betroffen als Rinder, was sich teilweise in sehr hohen wirtschaftlichen Verlusten der betroffenen Schaf- und Ziegenherden niederschlug. Missgebildete und meist tot geborene Lämmer, aber auch durch unüberwindbare Geburtsprobleme verendete oder euthanasierte Muttertiere, waren Hauptgründe für diese teils massiven Verluste.

Ziel dieses Projektes war es, Daten über die Epidemiologie und Verbreitungswege dieser neu aufgetretenen Viruserkrankung zu erhalten. Durch einen SBV-

spezifischen Fragebogen wurden Daten zum klinischen Bild der SBV-Infektion erhoben und Betriebsdaten erfragt, die mit einer Erkrankung der Herde in Zusammenhang stehen könnten.

Im ersten Teil des Projektes (1.1.) konnten Erkenntnisse über die Verbreitung des neuen Virus innerhalb von Ziegenherden in den bis dato (2011/2012) am stärksten betroffenen deutschen Bundesländer (Hessen, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein) anhand von serologischen Untersuchungen auf Antikörper gegen SBV gewonnen werden. Dazu wurden von Januar bis Mai 2012 40 zufällig ausgesuchte Ziegenherden in den sechs besagten Bundesländern mit einem SBV-spezifischen Fragebogen zu SBV-Infektionen in ihrem Bestand und Betriebsdaten befragt und insgesamt 1065 Serumblutproben von weiblichen Ziegen im Alter von über einem Jahr gewonnen. Diese wurden anschließend serologisch mittels eines ELISA auf Antikörper gegen das SBV getestet, um herauszufinden, wie weit sich das neue Virus bereits ausgebreitet hat und wie hoch die Intra-Herden-Prävalenz innerhalb einer Herde ist. Die serologischen Untersuchungen ergaben eine mediane Intra-Herden-Prävalenz der 40 beprobten Ziegenherden von 36.7% (Min-Max: 0 - 93,3%). 95% der beprobten Ziegenherden wiesen Antikörper gegen das SBV auf. Nur zwei Betriebe waren serologisch negativ. Somit sind Ziegenherden in Deutschland deutlich weniger von SBV-Infektionen betroffen als Schaf- und auch Rinderherden, für welche die mediane Intra-Herden-Prävalenz mit 60% (Schaf) bzw. 80-90% (Rind) veranschlagt wird. Mittels statistischer Analysen konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Ziegenherden, die in ganzjähriger Stallhaltung gehalten werden und Ziegenherden, die ganzjährig draußen gehalten werden, festgestellt werden (P-Wert: 0,0001). Dieser Unterschied lässt sich dadurch erklären, dass die Ziegen in ganzjähriger Stallhaltung gegen die Überträger des SBV, vornehmlich *Culicoides* spp., geschützt sind. Gnitzen zeigen in ihrer Aktivität saisonale Verteilungen mit Aktivitätsmaxima von März bis November. Des Weiteren sind die meisten Gnitzen dämmerungs- und nachtaktiv. Anders als die meisten Rinder in Deutschland werden Ziegen in Stallhaltung vornehmlich auf Tiefstreu gehalten. Schaf- und auch Ziegenstreu ist sehr fest und trocken und bietet Gnitzenlarven, welche sich aquatisch entwickeln, kaum Entfaltungsraum. Rinder hingegen, vor allem intensiv gehaltenen Milchkühe und

Mastbullen, werden zum größten Teil auf Vollspaltenboden mit untergelagertem Güllekeller gehalten. Rindergülle ist sehr flüssig und nährstoffreich. Die Lagerung der flüssigen Gülle bietet Gnitzenlarven somit optimale Fortpflanzungs- und Entwicklungsbedingungen. Auch ist in diversen Studien beschrieben, dass *Culicoides* spp. Rinder als Blutmahlzeitenquelle kleinen Wiederkäuern gegenüber bevorzugen, was die Unterschiede in der Intra-Herden-Prävalenz erklären könnte.

Im zweiten Teil des Projektes (1.2) wurden ca. 1800 Serumproben aus den Jahren 2010/2011 aus 13 Schaf- und Ziegenbetrieben retrospektiv mittels ELISA auf Ak gegen das SBV untersucht. Erste Ak-Nachweise wurden im Herbst 2011 ermittelt, was mit dem Auftreten erster klinischer Symptome einer SBV-Infektion in Milchrinderbetrieben in Deutschland und den Niederlanden übereinstimmt.

Im dritten Teil des Projektes (1.3.) wurden von Januar bis Mai 2012 81 (64 Schaf- und 17 Ziegenherden) zufällig ausgewählte Schaf- und Ziegenherden in Niedersachsen befragt und beprobt. Von insgesamt 2260 weiblichen Schafen und Ziegen im Alter von über einem Jahr wurden Serumblutproben entnommen und mittels ELISA auf Antikörper gegen das SBV untersucht. Die mediane Intra-Herden-Prävalenz lag für Schafe bei 58,7% (Min Max: 6,5 – 100%) und für Ziegen signifikant niedriger (P-Wert: 0,0058) bei 43,8% (Min Max: 5,6 – 93,3%). Unterschiede in der Intra-Herden-Prävalenz bezüglich einzelner Schafrassen konnten statistisch nicht gesichert werden. Es war jedoch auffällig, dass Herden von Haarschafen tendenziell geringere Intra-Herden-Prävalenzen aufwiesen als Wollschafassen. Auch diese Studie kommt zu dem Schluss, dass Ziegenherden deutlich weniger von SBV Infektionen betroffen sind als andere domestizierte Wiederkäuer. Erklärungen für diese Ergebnisse liegen möglicherweise in unterschiedlichen Haltungsbedingungen und unterschiedlichen Wirtspräferenzen der Vektoren des Virus zu Grunde. Auch der speziesspezifische Geruch von Ziegen könnte Gnitzen vom Stechen abhalten.

Im vierten Teil des Projekts (1.4.) konnte in prospektiven Studien evaluiert werden, dass es in den Sommermonaten 2012 zu Serokonversionen in Schaf- und Ziegenherden gekommen ist. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass es im Sommer 2012 zu Neuinfektionen mit dem SBV innerhalb der kleinen

Wiederkäuerpopulation gekommen ist und somit SBV-infizierte Gnitzen aktiv gewesen sein müssen. Langzeitstudien müssen klären, ob sich nach der Erstinfektion eine protektive Langzeitimmunität ausbildet und wie lange diese anhält.

Im fünften Teil des Projekts (1.5.) wurden vermeintlich gesund geborene Zwillingslämmer von totgeborenen und missgebildeten Lämmern beobachtet und untersucht. Auffällig war, dass alle untersuchten Lämmer gekümmert haben und hinter den gleichaltrigen Tieren der Herde zurückblieben. Bei speziellen klinischen und pathologischen Untersuchungen wiesen alle Lämmer einen mgr.-hgr. Befall mit Kokzidien und eine Pneumonie auf, welche das Kümmern erklären. Ob die Lämmer durch eine möglicherweise stattgefundenen intrauterinen SBV-Infektion geschwächt und somit anfälliger gegen Infektionskrankheiten, bleibt in weiteren Studien zu klären. Hinweise aus dem Jahr 2012 auf einen Effekt von Koinfektionen von SBV mit Endoparasitosen durch Helminthen konnten bei Untersuchungen in 2013 weder belegt noch widerlegt werden, erscheinen jedoch in der Gesamtheit der derzeit vorliegenden Untersuchungsergebnisse unwahrscheinlich.

Im sechsten Teil dieser Studie (1.6.) wurden präkolostral und postkolostral Serumproben von Lämmern und den dazugehörigen Muttertieren gewonnen. Bis auf wenige Ausnahmen waren Lämmer von Ak-positiven Müttern vor der Kolostrumaufnahme Ak-negativ und nach der Kolostrumaufnahme Ak-positiv. Lämmer von Ak-negativen Müttern waren sowohl vor als auch nach der Kolostrumaufnahme Ak-negativ. Diese Ergebnisse sprechen gegen eine präkolostrale Ak-Übertragung vom Muttertier auf die Nachkommen. Ak werden mit der Kolostrumaufnahme auf die Nachkommen übertragen.

Im letzten Teil des Projektes (1.7.) wurde die Seroprävalenzstudie auf ganz Deutschland ausgeweitet. Dazu wurden ca. 3800 Serumproben von 130 Betrieben aus 13 Bundesländern (BW, BB, BY, HE, MV, NI, NW, RP, SH, SL, SN, ST, TH; 10 Betriebe pro Bundesland) gewonnen. Gleichzeitig wurden mittels eines SBV-spezifischen Kurzfragebogens die Betriebsdaten der Herden abgefragt. Die mediane Intra-Herden-Prävalenz aller 130 Betriebe lag bei 53,3% (Min-Max: 0-100%). Sechs Betriebe waren serologisch negativ. Davon waren fünf im Nordosten Deutschlands

lokalisiert. Die mediane Intra-Herden-Prävalenz der Ziegenbetriebe (n=27) lag mit 30% (Min-Max: 0-100%) signifikant unter der der Schafherden (n=103) mit 57% (Min-Max: 0-100%) (p-Wert= 0,0036). Des Weiteren wurden regionale Unterschiede bezüglich der Intra-Herden-Prävalenz innerhalb Deutschlands festgestellt. So ist der Nordosten des Landes (BB, MV, ST) mit einer medianen Intra-Herden-Prävalenz von 17% signifikant weniger mit dem SBV durchseucht als der Nordwesten (NI, NW, SH) mit 46,5%, der Südosten (BY, SN, TH) mit 58% und der Südwesten (BW, HE, RP, SL) mit 67%.

Alle unsere Untersuchungen verdeutlichen somit, dass sowohl Schaf- aber im Besonderen auch Ziegenherden in Deutschland längst nicht vollständig mit dem SBV durchseucht sind und daher das Risiko von erneuten SBV-Infektionen mit möglicherweise hohen Lämmerverlusten in den nächsten Ablammperioden bestehen bleibt. Diese Umstände könnten dazu beitragen, dass SBV Infektionen in Zentral- und Nordeuropa in Zukunft enzootisch auftreten. Zuverlässigen Schutz gegen erneute Infektionen würde zurzeit nur eine Impfung erzielen. In Deutschland ist derzeit aber noch kein zugelassener Impfstoff verfügbar. Diverse Pharmaunternehmen arbeiten unter Hochdruck an einer zuverlässigen Vakzine. In Großbritannien ist für die Sommermonate 2013 vorläufig ein Impfstoff zum Schutz gegen das SBV zugelassen worden. Auch in Frankreich ist seit August 2013 ein Impfstoff gegen das SBV zugelassen. Weitere Präventionsmaßnahmen, um das Risiko von SBV-Infektionen einzudämmen, sind strikte und kontinuierliche Behandlungen mit Repellentien, Stallhaltung während der ersten Trächtigkeitsmonate und eine Verlegung der Deckzeit in die kälteren Monate des Jahres. Allerdings bieten alle diese Maßnahmen keinen vollständigen Schutz gegen das SBV, da kommerziell erhältliche Ektoparasitika die stechenden Insekten erst nach einer stattgefundenen Blutmahlzeit töten und das Virus somit schon übertragen worden sein könnte. Sogar in den kältesten Wintermonaten können noch Gnitzen in Stallgebäuden gefunden werden, wenn auch in deutlich reduzierter Anzahl.

4.2 Summary

Schmallenberg virus (SBV) primarily entered Germany and almost all parts of Europe in 2011 as a new viral disease in ruminants. Clinical and pathomorphological findings are characterised by malformed and stillborn lambs and calves. These findings are caused by an intrauterine viral transmission from the mother animal to the embryo/foetus. SBV belongs to the family Bunyaviridae, genus Orthobunyavirus and is primarily transmitted by biting midges. Small ruminants were clinically affected to a much higher degree by SBV-infections than cattle resulting in partly massive economic losses for sheep and goat farmers. Malformed and stillborn lambs and goat kids as well as mother animals who died or had to be euthanized due to dystocia or obstructed labours were main reasons for these losses.

The aim of this study was to acquire data on the epidemiology and transmission patterns of this newly emerging viral disease. A SBV-specific questionnaire was raised in order to collect data regarding clinical symptoms of SBV-infections and operational data of the farms which might be helpful to understand the transmission and distribution of the disease.

Part I of this project (1.1.) outlines information about the distribution of the new virus within goat flocks in the thus far most affected federal states of Germany (Hesse, Lower Saxony, Mecklenburg Western-Pomerania, North Rhine-Westphalia, Saxony-Anhalt and Schleswig-Holstein) based on serological analyses. For this purpose 40 randomly selected goat flocks located in the six mentioned German federal states were asked for SBV-infections in their flocks and for operational data of their farms for the months January until May 2012. Concurrently, 1065 serum samples were obtained from female goats older than one year. These were analysed for antibodies against SBV by ELISA in order to detect the post exposure and the within-herd-prevalence of SBV. Serological analysis revealed a median within-herd-prevalence of 36.7% (min-max: 0-93.3%). 95% of the flocks had antibodies against SBV. Only two flocks were seronegative. Hence, German goat flocks are distinctly lesser affected by SBV-infections than sheep flocks or cattle herds with within-herd-prevalences of 60%

(sheep) or 80-90% (cattle), respectively. Statistical analysis revealed a significant difference between goat flocks which are kept permanently indoors and goat flocks which are kept out on pasture day and night (P value: 0.0001). A possible explanation for these findings is the fact that permanently housed goats have a certain protection against *Culicoides spp.* which are the main vectors of SBV. Biting midges show a seasonal activity throughout the year with peaks from March until November. Furthermore biting midges are crepuscular or nocturnal. In contrast to most cattle herds in Germany, permanently housed goats are mainly kept on deep litter. Goat and sheep droppings are very arid and firm which makes it hard for larval stages of *Culicoides spp.* to immigrate as they develop aquatically. By contrast, cattle, especially intensive farmed dairy cattle and fattening bulls, are kept on slatted floors with cesspools below. Cattle slurry is very liquid and nutrient-rich. The storage of this liquid manure in huge cesspools provide perfect breeding and development conditions for larval stages of *Culicoides spp.*. Several studies describe that *Culicoides spp.* prefer cattle as blood meal hosts in comparison to small ruminants. These facts might also explain the differences concerning the within-herd-prevalences of cattle and small ruminants.

For the second part (1.2.) of this project 1800 serum samples obtained from 13 sheep and goat flocks in 2010/2011 were analysed for anti-SBV antibodies by ELISA. First detections of antibodies against the new virus were found in autumn 2011 which coincidences with the occurrence of first clinical symptoms of SBV-infection in dairy cattle herds in Germany and the Netherlands.

Part III of this project (1.3.) describes a serosurvey of SBV-infections of sheep and goat flocks in Lower Saxony, Germany. Therefore 81 randomly selected farmers of sheep and goat flocks (64 sheep and 17 goat flocks) were interviewed regarding SBV-infections in their flocks and asked for operating data of their farms for the months January until May 2012. Lower Saxony was located in the core region of the SBV epidemic in 2011/2012. Several sheep and goat farmers reported massive losses due to malformed newborns and dystocia. Serum samples were obtained from 2260 female sheep and goats older than one year. Serological analyses in order to detect antibodies against SBV were performed by ELISA. The calculated median

within-herd-prevalence was 58.7% for sheep (min-max: 6.5-100%) and 43.8% (min-max: 5.6-93.3%) for goats which is significantly lower (P value: 0.0058) than for sheep. Differences in the percentage of within-herd-prevalences of different sheep breeds could not be confirmed by statistical tests, but nevertheless it was evident that flocks of hair sheep breeds had lower within-herd-prevalences than wool sheep breeds. Therefore part III of this project confirms the results outlined in part I, stating that goat flocks are less affected by SBV-infections than other domestic ruminant species. Possible explanations for these findings are the different housing and management systems as well as different host preferences of the virus carrying vectors. The species-specific odour of goats may also keep biting midges away from choosing goats as blood meal hosts.

In the fourth part of the project (1.4.) we were able to evaluate in a prospective study that seroconversion took place throughout the summer months 2012. These observations state that new SBV-infections occurred during the summer period 2012 meaning that SBV-infected biting midges must have been active. Long-term studies will be needed to clarify whether a long-term immunity is induced after first infection with SBV and to acquire knowledge about the duration and resilience of this immunity.

For the fifth part of this study (1.5.) allegedly healthy born litter mates of stillborn and malformed neonates were observed and examined. It was conspicuous that all examined lambs were stunted and that they showed a poor growth and development compared with the other lambs in the same age. Special clinical and pathological examinations revealed coccidiosis and pneumonia in all investigated lambs which might explain the stagnation in growth and weight gain. If these lambs were attenuated by a possible intrauterine SBV-infection and were therefore more fragile against infectious diseases needs to be clarified in further studies. Indications observed in 2012 which hypothesize that SBV-infections might influence endoparasitosis caused by helminths could neither be confirmed nor be refuted by investigations conducted in 2013. Summarizing all results, especially the parasitological results, an influence of acute SBV-infections on endoparasitosis seems to be unlikely.

In the sixth part of this project (1.6.) serum samples of mother animals and their newborn lambs were obtained before and after colostrum intake. With few exceptions lambs of antibody-positive mother animals were antibody-negative before and antibody-positive after colostrum intake. Lambs of antibody-negative dams were as well before as after colostrum intake negative for anti-SBV antibodies. These results suggest that antibodies against SBV are transmitted to the newborns by colostrum. It seems as if an intrauterine and precolostral transmission of anti-SBV antibodies does not proceed.

In the last part of this project (1.7.) the seroprevalence study was expanded to the entire German country. Therefore 3800 serum samples were obtained from 130 farms located in 13 federal states of Germany (BB, BW, BY, HE, MV, NI, NW, RP, SH, SL, SN, ST, TH; ten flocks per federal state). Concurrently a SBV-specific questionnaire was raised in these flocks. The median within-herd-prevalence of the 130 tested flocks was 53.3% (Min-Max: 0-100%). Six flocks were serologically negative. Five of these flocks were located in the North-East of Germany. The median within-herd-prevalence of goats (n=27) was 30% (Min-Max: 0-100%) and therewith significantly lower than for sheep (n=103) with 57% (Min-Max: 0-100%) (p-value: 0.0036). Moreover regional differences concerning the infestation of flocks with SBV could be found. The North-East of Germany (BB, MV, ST) with a median within-herd-prevalence of 17% is significantly less affected by SBV-infections than the North-West (NI, NW, SH) with 46.5%, the South-East (BY, SN, TH) with 53% and the South-West (BW, HE, RP, SL) with 67%.

Hence, all conducted studies reveal that an infestation of German sheep and especially goat flocks is not nearly complete as many animals have not yet built any antibodies against SBV and are therefore not protected against SBV-infections. These occurrences may, however, result in the birth of malformed goat kids and sheep lambs in the following lambing seasons. This situation might contribute to establish an enzootic SBV situation in central and northern Europe. The only reliable prevention method would be vaccination but there is yet no licenced vaccine on the German market available. Currently several pharmaceutical companies are working

on reliable vaccines and in the United Kingdom a provisional authorisation of an inactivated SBV vaccine was released for the summer period 2013. Moreover an inactivated SBV-vaccine was licensed in France in August 2013. Further prevention methods to reduce the risk of SBV infections are strict and continuous treatments with repellents, housing of animals during mating and early pregnancy and rescheduling the mating period to the colder period of the year. However it must be admitted that all of these measures do not offer a 100% protection against SBV as most ectoparasiticides only kill the insects after a blood meal. Thus, the virus might already been transmitted. *Culicoides spp.* might also be found inside stables, even during the coldest winter month although then in a much lower quantity.

5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und tatsächlich erreichten Ziele und weitere Fragestellungen

2012:

Die ursprüngliche geplante Fall-Kontrollstudie bei Ziegen (1.1) wurde in eine epidemiologische Studie umgewandelt. Die ersten Probenauswertungen zeigten, wie erwartet, dass die Kriterien für die Fall-Kontrollstudie (16 Fall- und 16 Kontrollbetriebe) nicht erfüllt werden konnten, da kaum serologisch negative Betriebe gefunden werden konnten. Die Probensammlung, Befragung der Tierbesitzer und Ausfüllen der Fragebögen sowie Auswertung der Daten fand jedoch trotzdem in dem dafür vorgesehenen Zeitfenster statt. Ebenso sind Probensammlung, Untersuchung der Proben und Auswertungen der Ergebnisse der Retrospektiven Studie, Prävalenzstudie Niedersachsen sowie der prospektiven Studie (1.2 – 1.4.) in dem dazu vorgesehenen zeitlichen Rahmen von statten gegangen.

Die Anzahl der untersuchten Proben in der Retrospektiven Studie hat sich im Vergleich zum ursprünglichen Vorhaben vervierfacht. Grund dafür war eine nicht erwartete große Anzahl asservierter Proben wodurch die Strichprobengröße und damit die statistische Aussage deutlich angehoben werden konnte.

Im Zeitraum von Juli bis November 2012 wurden 12 Schaflämmer von einem Betrieb mit deutlicher SBV Symptomatik in der Klinik für kleine Klautiere aufgestellt (1.5.).

Bei all diesen Lämmern handelte es sich um vermeintlich gesunde Zwillingslämmer zu missgebildeten und totgeborenen Tieren. Die aufgestellten Lämmer fielen dem Landwirt im Laufe der Aufzucht durch zurückbleiben hinter den gleichaltrigen Tiere und Kümmern auf. Diese Tiere wurden in der Klinik für kleine Klauentiere intensiv untersucht und überwacht. Ein Teil der Tiere wurde zur Sektion weitergeleitet.

2013:

Im Februar 2013 wurden von 75 Muttertieren und den 138 dazugehörigen Lämmern Serumproben entnommen, welche teilweise vor (34 Lämmer) und teilweise nach (104 Lämmer) der Kolostrumaufnahme gewonnen wurden (1.6.). Durch diese Untersuchung sollte herausgefunden werden, ob Antikörper gegen das SBV präkolostral übertragen werden oder erst mit der Kolostrumaufnahme an die Nachkommen weitergegeben werden.

Von der Beprobung von 40 Betrieben, die in 2012 schon einmal besucht worden waren, wurde abgesehen, da sich dadurch kein Kenntniszuwachs erwarten ließ und der Fokus auf eine deutschlandweite Seroprävalenzstudie bei Schafen und Ziegen gelegt worden ist, um die Verbreitung des Schmallenberg Virus bei diesen Tierarten in Deutschland besser einschätzen zu können (1.7). Die Beprobungen, Befragungen und Auswertungen wurden im Zeitraum von Januar bis Oktober 2013 durchgeführt und sind somit abgeschlossen.

Im Rahmen der in 2013 durchgeführten Bestandsbesuche sollte mittels des Kurzfragebogens ermittelt werden, wie es den Zwillingstieren der missgebildeten Lämmer über die Mastperiode 2012 ergangen ist. Da die meisten Schäfer die Zwillinge aber nicht eindeutig gekennzeichnet haben, war eine Zuordnung im Nachhinein nicht mehr möglich. Somit war einer Erhebung und Auswertung dieser Daten nicht möglich. Bei Routinebestandsbesuchen durch den Schaf- und Ziegengesundheitsdienst der TiHo Hannover haben wir kontroverse Daten erhalten. Einige Schäfer berichteten, dass Zwillingslämmer zu missgebildeten Lämmern deutlich hinter den gleichaltrigen Tieren zurückblieben, wohingegen andere berichtete, dass die Zwillinge in Leistungsprüfungen sehr gute Ergebnisse erzielt haben und somit in der Aufzucht in keiner Weise auffällig geworden waren.

In allen Prävalenzstudien (Ziege, Schaf/Ziege Niedersachsen, Schaf/Ziege deutschlandweit) konnte festgestellt werden, dass Schaf- und vor allem Ziegenherden in Deutschland längst noch nicht vollständig mit dem neuen Virus durchseucht sind. Da sowohl in der Ablammsaison 2011/2012 als auch in der Abalammsaison 2012/2013 Fälle von missgebildeten Lämmern und Kälbern in Deutschland gemeldet worden sind, muss das Virus eine Strategie gefunden haben sich über die Wintermonate zu halten. Somit besteht die Gefahr, dass SBV-Infektionen in Deutschland in Zukunft enzootisch auftreten könnten. Als derzeit einzig sichere Präventionsmaßnahme ist eine Impfung anzusehen, welche aber in Deutschland noch nicht zugelassen ist. Forschungsbedarf besteht vor allem auf dem Gebiet der Gnitzen. Die Forschung der Culicoides spp. wurden über Jahrzehnte vernachlässigt, da sie in Zentral- und Nordeuropa keine relevanten Krankheiten übertragen haben und das Risiko der Einschleppung solcher Erkrankungen als gering eingestuft wurde. Mit dem Ausbruch der Blauzungenkrankheit (BTV) 2006 und dem SBV in 2011 haben uns in den letzten Jahren zwei Vektor-übertragene Infektionskrankheiten ereilt, welche teilweise zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten geführt haben. Trotz alledem ist das Wissen über die Biologie, Lebensweise und Wirtspräferenz der Gnitzen bislang gering. Auch sollte geklärt werden, auf welchem Weg BTV und SBV nach Europa eingeschleppt wurden. Auffällig ist, dass beide Viruserkrankungen erstmals im Dreiländerdreieck Deutschland, Niederland, Belgien aufgetreten sind und sich von hier aus rasch weiter in Europa ausbreiten konnten. Durch Klimaänderungen und zunehmende Globalisierung wird dies sicher nicht die letzte Vektor-übertragene Erkrankung sein, die Europa aus Übersee erreicht. Daher sollte in Monitoring- und Frühwarnsysteme investiert werden, damit man auf einen erneuten Ausbruch einer exotischen Infektion vorbereitet ist und schneller handeln kann. Forschungsbedarf besteht auch auf dem Gebiet der Ektoparasitika. Derzeit gibt es kein auf dem Markt befindliches und für Tiere zugelassenes Präparat, welches Gnitzen effektiv vom Stechen abhält.

Des Weiteren müsste in weiteren Langzeit-Studien geklärt werden, ob eine natürliche Infektion mit dem SBV eine protektive Langzeit-Immunität induziert und wenn ja, wie lange diese anhält.

Warum in einigen Fällen bei einer Zwillinggeburt nur ein Lamm von Missbildungen betroffen war und das andere augenscheinlich gesund geboren wurde bietet Raum

für weitere wissenschaftliche Untersuchungen. Hier bleibt weiterhin zu klären, ob die vermeintlich gesund geborenen Lämmer wirklich keinen Schaden durch die stattgefundene intrauterine SBV-Infektion genommen haben oder ob die These, dass diese Tiere über die Mastperiode kümmern bestätigt werden kann.

Alles in allem besteht noch viel Forschungsbedarf um alle Fragen zum Thema SBV-Infektionen zu beantworten und hieraus mögliche Bekämpfungsstrategien und Überwachungsmaßnahmen abzuleiten.

6. Publikationsliste 2012/2013:

Dissertation:

Helmer C. Investigations on the distribution and transmission of Schmollenberg virus in sheep and goat flocks – Untersuchungen zu Vorkommen und Übertragungsmechanismen des Schmollenberg-Virus in Schaf- und Ziegenherden, TiHo Hannover 2013 (eingereicht)

Veröffentlichte Publikationen:

Ganter M, Köß C. Das Schmollenberg Virus – eine neue Virusinfektion in Mitteleuropa, die durch Vektoren auf Wiederkäuer übertragen wird und Missbildungen auslöst. *Klauentierpraxis* 2012; 20: 57–63.

Ganter M, Eibach R, Helmer C. Empfehlungen zur Vermeidung von Missbildungen durch das Schmollenberg-Virus, *Schafzucht* 2013

Helmer C, Eibach R, Tegtmeyer PC, Humann-Ziehank E, Ganter M. Survey of Schmollenberg virus (SBV) infection in German goat flocks. *Epidemiology and Infection* 2013; 141: 2335-2345.

Helmer C, Eibach R, Tegtmeyer PC, Humann-Ziehank E, Runge M, Ganter M. Serosurvey of Schmollenberg virus infections in sheep and goat flocks in Lower Saxony, Germany. *Transboundary and Emerging Diseases* 2013; Doi: 10.1111/tbed.12161 (ahead of print)

Ganter M. Diagnostik kongenitaler Missbildungen beim kleinen Wiederkäuer. *Tierärztliche Praxis* 2013, Ausgabe Großtiere; 3: 177-184.

R. Eibach, C. Helmer, P. C. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, M. Ganter
Schmallenberg-Virus – a new emerging disease in Germany
Handbook of the 8th International Sheep Veterinary Congress, Rotorua, New
Zealand, 18.-22. Februar 2013; p. 83

C. Helmer, R. Eibach, P. C. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, M. Ganter
Monitoring of Schmallenberg-Virus (SBV) Infections in German goat flocks
Handbook of the 8th International Sheep Veterinary Congress, Rotorua, New
Zealand, 18.-22. Februar 2013; p. 91

Eingereichte Publikationen:

Ganter M, Eibach R, Helmer C. Update on Schmallenberg virus infections in small ruminants, *Small Ruminant Research* 2013 (accepted).

In Arbeit befindliche Publikationen:

C. Helmer, R. Eibach, E. Humann-Ziehank, D. Bürstel, K. Mayer, U. Moog,
H. Strobel, M. Ganter
Seroprevalence study on Schmallenberg virus infection within sheep and goat
flocks, Germany, 2013

Präsentationen:

A-H-Syndrom durch Schmallenberg Virus
R. Eibach, C. Helmer, P. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, R. Dühlmeier,
A. v. Altrock, J. Jokiel, M. Runge, M. Ganter
Internationale Tagung – Tiergesundheit kleiner Wiederkäuer, 23.-25. Mai 2012,
Sellin/Rügen

AH-Syndrom durch Schmallenberg-Virus

M. Ganter, R. Eibach, C. Helmer, P. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, R. Dühlmeier, A. v. Altrock, J. Jokiel, R. Runge
Infektionsmedizinisches Zentrum Hannover, 08. Juli 2012, Hannover

Schmallenberg-Virus Infektionen

R. Eibach, C. Helmer, P. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, A. v. Altrock, J. Jokiel, R. Dühlmeier, M. Runge, S. Kleinschmidt, M. Ganter
bpt-Kongress 2012, Fachprogramm kleine Wiederkäuer und Neuweltkameliden, 15. November 2012, Hannover

Schmallenberg-Virus – a new emerging disease in Germany

R. Eibach, C. Helmer, P. C. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, M. Ganter
8th International Sheep Veterinary Congress, Rotorua, New Zealand, 18.-22. Februar 2013

Monitoring of Schmallenberg-Virus (SBV) Infections in German goat flocks

C. Helmer, R. Eibach, P. C. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, M. Ganter
8th International Sheep Veterinary Congress, Rotorua, New Zealand, 18.-22. Februar 2013

Epidemiologische Erhebungen zur Verbreitung des Schmallenberg Virus bei Schafen und Ziegen

C. Helmer, R. Eibach, P. C. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, M. Ganter
8. Veranstaltung zur Schaf- und Ziegengesundheit, 26.09.2013, Bösleben

Aktueller Stand der Schmallenberg Virus Infektion

C. Helmer, R. Eibach, P. C. Tegtmeyer, E. Humann-Ziehank, M. Ganter
DVG Vet-Congress, 06.-10.11.2013, Berlin

Videos und eLearning:

DFNVC – The Video Conference Service of the German Research Network.

Malformations in lambs and calves induced by a new Orthobunyavirus.

<https://webconf.vc.dfn.de/p68qfv0gv0u/> Datenstand: 15. April 2012

TiHoeLearning – eLearning Programm der Stiftung Tierärztlichen Hochschule

Hannover. Missbildungen bei Lämmern durch ein neues Orthobunya-Virus.

<http://www.youtube.com/watch?v=jtZ7kDTQWMM&context=C3e6c731ADOEgsToPDskLntvBLD0FiWTCXVzBeYlu&nordirect=1> Datenstand: 02. Februar 2012