

Aus dem  
Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Klinische Studie über die Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> (Deltamethrin) 7,5 mg/ml pour on  
gegen Gnitzen (*Culicoides* spp.) bei Schafen in Brandenburg**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Wiebke Weiher  
Tierärztin aus Brandenburg

Berlin 2013  
Journal-Nr.: 3694

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Prof. Dr. Peter-Henning Clausen  
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Franz J. Conraths  
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Heinz Mehlhorn

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*  
Sheep, Culicoides, insect control, insecticides, deltamethrin, field tests

Tag der Promotion: 16.05.2014

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*  
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen  
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über  
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-486-5  
**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2013**  
Dissertation, Freie Universität Berlin  
**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.  
Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder  
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in  
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,  
vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch  
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der  
Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von  
jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.  
No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written  
authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved  
© Mensch und Buch Verlag 2014 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin  
verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

## Inhaltsverzeichnis

<b>ABBILDUNGEN .....</b>	<b>VIII</b>
<b>GRAFIKEN .....</b>	<b>V</b>
<b>TABELLEN .....</b>	<b>XI</b>
<b>ABKÜRZUNGEN .....</b>	<b>XII</b>
<b>1. Einleitung und Zielsetzung.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Literaturübersicht.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Ceratopogonidae (Gnitzen) .....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Morphologie und Arten .....	4
2.1.2 Entwicklung.....	6
2.1.3 Vorkommen und Epidemiologie .....	7
2.1.3.1 Weltweite Verbreitung .....	7
2.1.3.2 Verbreitung von <i>C. imicola</i> .....	8
2.1.3.3 Verbreitung von <i>Culicoides</i> spp. in Deutschland und dem nördlichen Europa.....	9
2.1.3.4 Gnitzen als Lästlinge .....	10
2.1.3.5 Gnitzen als Vektoren .....	11
2.1.3.5.1 Die Blauzungenkrankheit .....	13
2.1.3.5.2 Die Schmallenberg-Virus-Infektion .....	16
<b>2.2 Fang und Identifizierung von Gnitzen .....</b>	<b>19</b>
2.2.1 Methoden zur Ermittlung der Gnitzenabundanz und der Saisonalität.....	19
2.2.2 Bestimmung von Gnitzen .....	22
2.2.2.1 Morphologische Methoden zur Speziesidentifizierung .....	22
2.2.2.2 Molekularbiologische Methoden zur Speziesidentifizierung .....	24
2.2.2.3 Geschlechtsbestimmung .....	26
2.2.2.4 Paritätsbestimmung .....	26
2.2.2.5 Wirtstierbestimmung .....	27
<b>2.3 Bekämpfungsmaßnahmen .....</b>	<b>27</b>
2.3.1 Hygienemaßnahmen .....	28
2.3.2 Physikalische Verfahren.....	29

2.3.3	Chemische Verfahren .....	30
2.3.3.1	Repellentien .....	30
2.3.3.2	Insektizide .....	31
2.3.3.3	Insektenwachstumsregulatoren.....	34
2.3.4	Studien zur Wirksamkeitsüberprüfung von Insektiziden gegenüber Gnitzen .....	34
2.3.4.1	Laboruntersuchungen .....	34
2.3.4.2	Klinische Feldstudien .....	40
<b>2.4</b>	<b>Klinische Studien.....</b>	<b>44</b>
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>46</b>
<b>3.1</b>	<b>Fragestellung.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2</b>	<b>Studienregion und Untersuchungsstandort .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3</b>	<b>Vorversuche zur Gnitzenabundanz am Untersuchungsstandort .....</b>	<b>47</b>
<b>3.4</b>	<b>Pilotstudie zur Überprüfung gewählter Untersuchungsparameter.....</b>	<b>49</b>
3.4.1	Studiendesign .....	49
3.4.2	Untersuchungstiere .....	50
3.4.3	Bildung der Versuchsgruppen .....	50
3.4.4	Behandlung der Schafe mit Butox <sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on.....	50
3.4.5	Weide und Standort der Zwangsstände .....	51
3.4.6	Gnitzenfänge .....	52
3.4.7	Auszählung und Identifizierung der Gnitzen.....	54
3.4.8	Wetterdaten .....	55
3.4.9	Statistische Auswertung .....	56
<b>3.5</b>	<b>Klinische Studie über die Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> (Deltamethrin) 7,5 mg/ml pour on gegen Gnitzen (<i>Culicoides</i> spp.) bei Schafen in Brandenburg .....</b>	<b>58</b>
3.5.1	Studiendesign .....	58
3.5.2	Untersuchungstiere .....	58
3.5.3	Ernährung der Tiere auf der Weide .....	58
3.5.4	Untersuchungen.....	59
3.5.4.1	Klinische Voruntersuchungen .....	59
3.5.4.2	Überprüfung der Herdengesundheit .....	59

3.5.5	Bildung der Untersuchungsgruppen (Randomisierung).....	60
3.5.6	Austrieb der Schafe auf die Weide.....	60
3.5.7	Behandlung der Schafe mit Butox <sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on.....	60
3.5.8	Weide, Standorte der Zwangsstände und Eintrieb der Schafe.....	62
3.5.9	Gnitzenfänge .....	65
3.5.9.1	Fangmethode .....	65
3.5.9.2	Auszählung und Identifizierung der Gnitzen.....	66
3.5.10	Wetterdaten .....	66
3.5.11	Statistische Auswertung .....	66
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>68</b>
<b>4.1</b>	<b>Vorversuche zur Gnitzenabundanz am Untersuchungsstandort .....</b>	<b>68</b>
<b>4.2</b>	<b>Pilotstudie zur Überprüfung gewählter Untersuchungsparameter.....</b>	<b>68</b>
4.2.1	Gesamtfänge an Gnitzen.....	68
4.2.2	Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe.....	68
4.2.3	Bodenfänge.....	69
4.2.4	Anteil der Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme der Gesamtfänge .....	70
4.2.5	Speziesspektrum der gesamten Gnitzenfänge .....	72
4.2.6	Parität der Gesamtfänge .....	73
4.2.7	Überlebensrate nach 20 Stunden .....	74
4.2.8	Wetterdaten .....	74
<b>4.3</b>	<b>Klinische Studie über die Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on gegen         Gnitzen bei Schafen in Brandenburg .....</b>	<b>77</b>
4.3.1	Nulldaten .....	77
4.3.2	Hauptuntersuchung.....	79
4.3.2.1	Gesamtfänge an Gnitzen.....	79
4.3.3	Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe.....	79
4.3.4	Anteil der Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme .....	81
4.3.5	Reduktionsrate des Präparates .....	83
4.3.6	Speziesspektrum der Gnitzenfänge .....	83
4.3.7	Wetterdaten .....	84

## **Inhalt**

---

<b>5. Diskussion .....</b>	<b>87</b>
<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>100</b>
<b>7. Summary.....</b>	<b>102</b>
<b>8. Anhang.....</b>	<b>104</b>
<b>9. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>108</b>

## ABBILDUNGEN

<b>Abbildung 1:</b> Schematische Flügeldarstellung von <i>Culicoides</i> spp. (Quelle: FU Berlin) .....	24
<b>Abbildung 2:</b> Gnitze mit durchscheinendem Abdomen, Parität: nulliparous (Quelle: FU Berlin) .....	27
<b>Abbildung 3:</b> Gnitze mit Burgunderrot Pigment im Abdomen, Parität: parous (Quelle: FU Berlin) .....	27
<b>Abbildung 4:</b> Schematische Darstellung der Versuchsweide in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg .....	47
<b>Abbildung 5:</b> Schematische Darstellung der Versuchsweide im Vorversuch .....	48
<b>Abbildung 6:</b> Versuchsaufbau im Vorversuch mit Sentinel <sup>®</sup> UV-Lichtfallen während der Abenddämmerung, Groß Kreutz, Juni 2011 .....	49
<b>Abbildung 7:</b> Schematische Darstellung der Versuchsweide mit den Fallenstandorten in der Pilotstudie, Groß Kreutz, September/Oktober 2011 .....	51
<b>Abbildung 8:</b> geöffnetes Fangzelt ("drop trap") .....	53
<b>Abbildung 9:</b> geschlossenes Fangzelt .....	53
<b>Abbildung 10:</b> aufgesetzter Aspirator .....	54
<b>Abbildung 11:</b> Freiflugbox .....	54
<b>Abbildung 12:</b> Gnitze, Untergattung <i>Avaritia</i> Fox (Quelle: FU Berlin).....	55
<b>Abbildung 13:</b> Gnitze, Untergattung <i>Culicoides</i> Latreille (Quelle: FU Berlin) .....	55
<b>Abbildung 14:</b> Funk-Thermo-Hygro-Sensor und Funk-Windsensor.....	56
<b>Abbildung 15:</b> Funk-Regensensor .....	56
<b>Abbildung 16:</b> Schematische Darstellung der Versuchsweide mit Kälberiglu.....	61
<b>Abbildung 17:</b> Kälberiglu mit gesichertem Auslauf.....	62
<b>Abbildung 18:</b> "Knotengitter Weidezaun" .....	63
<b>Abbildung 19:</b> Zwangsstand .....	63
<b>Abbildung 20:</b> Standort der Fangzelte auf der Weide .....	63
<b>Abbildung 21:</b> Sortiergatter und Treibgang.....	64
<b>Abbildung 22:</b> Treibgang mit geöffnetem Zwangsstand .....	64
<b>Abbildung 23:</b> Protokoll zur Durchführung der Gnitzenfänge .....	105
<b>Abbildung 24:</b> Protokoll zur Durchführung der Gnitzenfänge (Fortsetzung) .....	106
<b>Abbildung 25:</b> Erhebungsbogen zur Auszählung der Gnitzenfänge.....	107

### GRAFIKEN

<b>Grafik 1:</b> Vergleichende Darstellung der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	69
<b>Grafik 2:</b> Vergleichende Darstellung der wöchentlichen Mittelwerte mit Standardabweichungen der Gnitzenfangzahlen in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	69
<b>Grafik 3:</b> Vergleichende Darstellung der Gnitzenfänge vom Boden des Fangzeltes, bei der Behandlungs- und der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	70
<b>Grafik 4:</b> Vergleichende Darstellung von der Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	71
<b>Grafik 5:</b> Darstellung der Spezieszusammensetzung an den Gesamtfängen beider Gruppen in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg .....	72
<b>Grafik 6:</b> Darstellung der prozentualen Anteile der Paritäten parous und nulliparous an den Gesamtfängen beider Gruppen in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	73
<b>Grafik 7:</b> Vergleichende Darstellung der prozentualen Mortalität nach 20 Stunden bei den täglichen Gnitzenfängen in der Behandlungs(B)- und der Kontrollgruppe (K) in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	74
<b>Grafik 8:</b> Verlauf der durchschnittlichen Temperatur in °C und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	75
<b>Grafik 9:</b> Verlauf der relativen durchschnittlichen Luftfeuchtigkeit in % und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	76
<b>Grafik 10:</b> Verlauf der durchschnittlichen Windgeschwindigkeit in m/s und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	76



<b>Grafik 11:</b> Verlauf der durchschnittlichen Niederschläge in mm und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	77
<b>Grafik 12:</b> Vergleichende Darstellung der Gnitzenfänge über den Zeitraum der Nulldatensammlung in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg....	78
<b>Grafik 13:</b> Vergleichende Darstellung der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	80
<b>Grafik 14:</b> Vergleichende Darstellung der wöchentlichen Mittelwerte mit Standardabweichungen der Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	80
<b>Grafik 15:</b> Vergleichende Darstellung der Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme (BA) der täglichen Gnitzenfänge in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg .....	82
<b>Grafik 16:</b> Vergleichende Darstellung des Speziesspektrums in den täglichen Gnitzenfängen von der Behandlungs- und der Kontrollgruppe, Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg (zusammenfassende Darstellung) .....	84
<b>Grafik 17:</b> Verlauf der durchschnittlichen Temperatur in °C und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	85
<b>Grafik 18:</b> Verlauf der durchschnittlichen relativen Luftfeuchtigkeit in % und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	85
<b>Grafik 19:</b> Verlauf der durchschnittlichen Windgeschwindigkeit in m/s und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	86
<b>Grafik 20:</b> Verlauf der durchschnittlichen Niederschläge in mm und den täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	86

### TABELLEN

<b>Tabelle 1:</b> Auflistung der wichtigsten Artenkomplexe und Artengruppen in Nordeuropa (EFSA, 2008).....	6
<b>Tabelle 2:</b> Medizinisch relevante Culicoides spp. der einzelnen Kontinente (Mellor et al., 2000; Mullen & Durden, 2009) .....	8
<b>Tabelle 3:</b> Übersicht zugelassener Ektoparasitika für Wiederkäuer in Deutschland (Quelle: Vetidata).....	33
<b>Tabelle 4:</b> Futtermittelzusammensetzung von Deuka-Lämmerpellets .....	59
<b>Tabelle 5:</b> Behandlungsschema der Schafe .....	61
<b>Tabelle 6:</b> Wöchentliche Gruppeneinteilung der Schafe für die Gnitzenfänge.....	65
<b>Tabelle 7:</b> Übersicht der wöchentlichen Wirkungsparameter für die Behandlungs(BG)- und die Kontrollgruppe (KG) über den Versuchszeitraum der Pilotstudie.....	71
<b>Tabelle 8:</b> Übersicht der prozentualen Spezieszusammensetzung in den einzelnen Fangwochen für die Behandlungs- und die Kontrollgruppe.....	72
<b>Tabelle 9:</b> Übersicht der wöchentlichen Paritätsbestimmung für die Behandlungs- und die Kontrollgruppe.....	73
<b>Tabelle 10:</b> Vergleichende Darstellung der Gnitzenanzahl und der Anzahl Gnitzen nach Blutaufnahme für Schafgruppe A und B zur Zeit der Nulldatenerhebung in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg.....	78
<b>Tabelle 11:</b> Übersicht der einzelnen Wirkungsparameter der Behandlungs(BG)- und der Kontrollgruppe (KG) der wöchentlichen Gnitzenfänge .....	79
<b>Tabelle 12:</b> Übersicht der wöchentlichen Gruppenunterschiede in der Anzahl gefangener Gnitzen mit resultierenden p-Werten, ausgewertet mit Hilfe eines linearen gemischten Modells (LGM).....	81
<b>Tabelle 13:</b> Übersicht der wöchentlichen Gruppenunterschiede in der Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme mit resultierenden p-Werten, ausgewertet mit Hilfe eines linearen gemischten Modells (LGM).....	82
<b>Tabelle 14:</b> Übersicht der prozentualen Spezieszusammensetzung in den einzelnen Fangwochen für die Behandlungs- und die Kontrollgruppe.....	83
<b>Tabelle 15:</b> Zuordnung der weiblichen Versuchsschafe der Rasse Merino-Landschaf .....	104

## ABKÜRZUNGEN

Abb.	Abbildung
AHSV	African Horse Sickness Virus
BA	Blutaufnahme
BG	Behandlungsgruppe
BGBL	Bundesgesetzblatt
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
BTD	Bluetongue Disease
BTV	Bluetongue Virus
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
<i>C.</i>	<i>Culicoides</i>
cm	Zentimeter
CO1	Cytochrom Oxidase Untereinheit 1
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
d	day
DEET	Diethyltoluamid
DNA	desoxyribonucleic acid
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid
€	Euro
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
GCP	good clinical practice
h	hour(s)
ha	Hektar
IgE	Immunglobulin E
ITS1, 2	Internal Transcribed Spacer 1, 2
J	Joule
kg	Kilogramm
KG	Kontrollgruppe
km	Kilometer
kV	Kilovolt
LGM	lineares gemischtes Modell
LVAT	Lehr- und Versuchsanstalt für Tierzucht und Tierhaltung
<i>M.</i>	<i>Mansonella</i>
m	Meter

## Abkürzungen

---

m <sup>2</sup>	Quadratmeter
Maldi	matrix-assisted laser desorption/ionization
Min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMT	Mosquito Magnet
MS	mass spectrometry
µm	Mikrometer
nm	Nanometer
<i>O.</i>	<i>Onchocerca</i>
PCR	polymerase chain reaction
PIK	Potsdam-Institut für Klimafolgenforschung
p.t.	post treatment
SBI	Schmallenberg-Virus-Infektion
SBV	Schmallenberg-Virus
s	Sekunde
sog.	sogenannte
spp.	Spezies
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TOF	time of flight
UV	Ultraviolett
V	Volt
W	Watt
z.B.	zum Beispiel

### 1. Einleitung und Zielsetzung

Die Wiederkäuerbestände im nordwestlichen Europa einschließlich Deutschland waren in den letzten Jahren von zwei Erkrankungen betroffen, die in diesen Breitengraden nie zuvor aufgetreten waren. Es handelt sich zum einen um den Eintrag der Blauzungenkrankheit (BTD) im Jahre 2006, hervorgerufen durch ein Virus, welches zuvor nur in den tropischen und subtropischen Regionen Afrikas, Asiens und Amerikas heimisch gewesen war (Gibbs & Greiner, 1994; Purse *et al.*, 2005). Der Erreger der anderen Erkrankung, ebenfalls viraler Natur, wurde im November 2011 in Deutschland weltweit zum ersten Mal beschrieben. Es handelt sich um das Schmallenberg-Virus (SBV), ein Virus mit unklarer Herkunft (FLI, 2012). Beiden Erkrankungen gemein ist, dass sie von Insekten, im Speziellen von hämatophagen *Culicoides*-Spezies (*Ceratopogonidae*, Gnitzen) übertragen werden. *Culicoides* gehören zur Unterordnung der Mücken. Sie stellen die weltweit kleinsten hämatophagen Insekten dar. Betroffen sind bei beiden Erkrankungen Wiederkäuer, wobei Rinder meist einen mildereren Krankheitsverlauf aufweisen als Schafe (Tweedle & Mellor, 2002; FLI, 2012).

Von 2006 bis 2008 wurden in Deutschland 28.838 bestätigte BTD-Fälle gemeldet (BMELV, 2010). Das Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) schätzte den wirtschaftlichen Schaden allein für den Rindersektor für das Jahr 2007 auf über 100 Millionen € (Müller & Sauerwein, 2010). Diese Summe bezieht ebenfalls Folgeschäden durch Fruchtbarkeitsstörungen sowie Imageschäden und die daraus resultierenden geringeren Absatzmöglichkeiten mit ein.

Seit Ausbruch des ersten Schmallenberg-Falles im November 2011 wurden in Deutschland 2.016 bestätigte Fälle gemeldet (FLI, 2012). Viele Mutterschafe starben während der Geburt durch Perforationen des Uterus, hervorgerufen durch die Fehlstellung der missgebildeten Lämmer (van den Brom *et al.*, 2012). In den Niederlanden wurde in 65 % der betroffenen Schaffarmen ein gestörter Geburtsverlauf beobachtet (Lievaart-Peterson *et al.*, 2012). Bei den Rindern kam es bei 1-2 % zu Missbildungen bzw. Aborten. Der wirtschaftliche Verlust konnte noch nicht abgeschätzt werden, sollte aber in Anbetracht der gravierenden Fruchtschäden, Leistungseinbußen und der Exportverbote, vor allem für Bullensperma, erheblich sein.

Denn effektivsten Schutz der Tiere gegen diese viralen Krankheiten stellt die Impfung dar. Allerdings wird in beiden Fällen deutlich, dass vom erstmaligen Auftreten der Erkrankung bis zur Impfstoffentwicklung und Zulassung Jahre vergehen können. Im Falle des Blauzungenvirus, mit 26 verschiedenen Serotypen, wurde gegen den in Deutschland fast ausschließlich auftretenden Serotyp 8 ein Impfstoff entwickelt. Wenn es zu einer erneuten BTD-Epidemie kommen sollte, z. B. durch einen anderen oder mehrere verschiedene Serotypen, muss erneut die Zeit bis zur Impfstoffzulassung berücksichtigt werden. Das FLI schätzt die Gefahr für das Wiederauftreten der Blauzungenkrankheit in Deutschland in den nächsten Jahren als hoch ein (FLI, 2012).

## 1. Einleitung und Zielsetzung

---

Geeignete Ektoparasitika könnten einen temporären Schutz von Wiederkäuern gegenüber Gnitzen bieten. Insektizide aus der Gruppe der Pyrethroide werden bei Wiederkäuern seit Jahren erfolgreich gegen leckende und stechende Weidefliegen angewandt.

Bisher gibt es in Deutschland kein zugelassenes Insektizid für Wiederkäuer mit einer Anwendungszulassung und damit einer nachgewiesenen Wirksamkeit gegenüber Gnitzen. Laborstudien mit Pyrethroiden erzielten vielversprechende Resultate mit hohen Mortalitätsraten für Gnitzen (Mullens *et al.*, 2000; Bravermann *et al.*, 2004; Schmahl *et al.*, 2008, 2009a, 2009b, 2009c; Venail *et al.*, 2011). Felduntersuchungen zur Wirksamkeit von Pyrethroiden gegenüber Gnitzen wurden bisher primär an Rindern durchgeführt (Doherty *et al.*, 2001, 2004; Melville *et al.*, 2001; Mullens *et al.*, 2001; Liebisch *et al.*, 2008; Bauer *et al.*, 2009; Rohrman, 2009; Skrock, 2011).

In einer Feldstudie sollte die Wirksamkeit des Deltamethrinpräparates (Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on, MSD Tiergesundheit Deutschland) gegenüber einheimischen Gnitzen an Schafen untersucht werden. In Vorversuchen sollte ein geeigneter Untersuchungsstandort identifiziert und ein optimales Versuchsdesign entwickelt werden. Die Studie sollte unter GCP (engl.: „Good Clinical Practice“) Richtlinien durchgeführt werden.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 *Ceratopogonidae* (Gnitzen)

Die Familie der Gnitzen (*Ceratopogonidae*) gehört in die große Klasse der *Insecta* (Insekten), zählt zur Ordnung der Diptera (Zweiflügler) und dort zur Unterordnung der Nematocera (Mücken).

Gnitzen sind die kleinsten hämatophagen Insekten. Sie sind bis auf wenige Ausnahmen weltweit verbreitet. Von den insgesamt 127 Gattungen sind *Culicoides*, *Leptoconops*, *Forcipomyia* und *Austroconops* von besonderem Interesse (Kettle, 1984; Boorman, 1993; Mellor *et al.*, 2000). Diese Gattungen sind die einzigen, in denen hämatophage Spezies vorkommen. Dabei nehmen nur die weiblichen Gnitzen Blut auf, das sie für die Oogenese benötigen. Als Wirtstiere dienen nicht nur zahlreiche Säugetiere (auch der Mensch) und Vögel, sondern auch Kaltblüter wie z. B. Frösche oder Regenwürmer (Werner, 2010). Ebenfalls befallen werden andere Insekten, denen Hämolymphe oder das Blut von anderen hämatophagen Insekten entzogen wird (Delécolle, 1985). Die meisten blutsaugenden Gnitzen sind dämmerungsaktiv, mit der höchsten Aktivität zur Zeit des Sonnenunter- und Sonnenaufgangs (Mellor *et al.*, 2000). Sie fungieren für zahlreiche Pathogene als Vektoren und sind deshalb, besonders im Nutztierbereich, von hohem veterinärmedizinischen Interesse. Männliche und weibliche nektartrinkende Spezies übernehmen als Blütenbestäuber eine bedeutende Rolle (Winder, 1978).

Gnitzen durchlaufen wie alle Nematocera eine vollständige Metamorphose vom Ei über vier Larvenstadien und ein anschließendes Puppenstadium zum Imago. Sie können auf Grund ihrer Größe nur Distanzen von maximal 2-3 Kilometern fliegen (Mellor *et al.*, 2000), allerdings können sie passiv mit dem Wind mehrere Hundert Kilometer weit transportiert werden (Braverman, 1994; Ducheyne *et al.*, 2007). Im Durchschnitt beträgt die Lebensdauer von Gnitzen 2-3 Wochen, kann aber in Abhängigkeit von der Spezies und den Umgebungstemperaturen bis zu 90 Tage (d) betragen (Mellor *et al.*, 2000). Gnitzen in gemäßigten Klimazonen weisen eine bimodale Saisondynamik auf, mit Maxima im Frühling und im Herbst, welche durch die limitierenden Faktoren Temperatur und Luftfeuchtigkeit moduliert werden (Baldet *et al.*, 2004).

Gnitzen treten meist in Schwärmen auf und können beim massenhaften Anflug von Weidetieren Abwehrreaktionen und starke Unruhe auslösen. Die größte veterinärmedizinische Bedeutung liegt im Vektorpotential von Gnitzen (siehe 2.1.6). Allerdings können der Gnitzenstich und die folgende Blutaufnahme (BA) selbst ebenfalls das Wohlbefinden der Tiere erheblich beeinträchtigen. Die Einstiche von Gnitzen sind schmerzhaft. Sie gehören zu den sogenannten Poolsaugern, die durch eine Vereinigung von leckend-saugenden und stechenden Eigenschaften gekennzeichnet sind (Lucius, R. & Loos-Frank, B., 2008). Für eine Blutmahlzeit reißen sie mit den lanzettenartigen Mundwerkzeugen die Haut des Wirtstiers auf, um anschließend den austretenden Blutstropfen aufzunehmen. Die Blutaufnahme dauert mehrere Minuten und wird mehrmals wiederholt (Werner, 2010). Bevorzugt aufgesucht werden kapillarreiche Körperregionen, die anschließend nadelkopfgroße Petechien in der

## 2. Literaturübersicht

---

Unterhaut mit verkrusteten Hautoberflächen aufweisen. Unmittelbar nach dem Stich bildet sich ein Ödem, und es tritt ein starker Pruritus auf. Die Tiere zeigen allgemeine Symptome wie Unruhe, Fressunlust und Leistungsminderung. Spätere Folgen können Hautirritationen mit Sekundärinfektionen sowie starke Einblutungen ins Unterhautbindegewebe sein (Werner, 2010). Der Speichel von Gnitzen besitzt ein hohes allergenes Potential und kann vor allem bei Pferden (siehe 2.1.5.2), aber auch bei Schafen (Yeruham *et al.*, 2004) und Schweinen (O'Toole *et al.*, 2003) allergisch bedingte Dermatitiden auslösen.

### 2.1.1 Morphologie und Arten

Gnizen sind die kleinsten hämatophagen Insekten, ihre Größe variiert speziesabhängig von 0,5-3 mm. Der Kopf weist zwei große Facettenaugen auf, die getrennt sein oder an der Mittellinie zusammenstoßen können. Die Facetten sind dabei von gleicher Größe und können eine feine Bestäubung aufweisen. Die Antennen weisen einen Sexualdimorphismus auf und bestehen bei beiden Geschlechtern aus 13 bis 15 Gliedern. Die fünf Basisglieder sind bei den Weibchen verlängert, die distalen Glieder sind speziesabhängig unterschiedlich gestaltet. Der Pedicellus (bewegliche Geißel) ist bei männlichen Gnitzen stark vergrößert und trägt das Johnstonsche Organ zur Schallwahrnehmung. Die Antennenglieder 1-8 weisen stark gefiederte Borsten auf, die der Familie den Namen „Bartmücken“ gegeben haben und zur Geschlechtsbestimmung genutzt werden. Die männlichen Mücken sind stärker mit gefiederten Borsten versehen als die Weiblichen. Sie besitzen, in Abhängigkeit von der Spezies, drei oder vier verlängerte Basisglieder. Die Mundwerkzeuge bestehen aus den paarig angelegten Palpen und dem Proboscis (Stechrüssel). Die Palpen sind aus fünf Segmenten aufgebaut, wobei die ersten beiden meist schwach ausgebildet und die letzten beiden miteinander verschmolzen sind. Am dritten Glied befindet sich ein sensorisches Organ. Der Proboscis entspricht der Länge des Kopfes. Der Saugapparat der hämatophagen Weibchen besteht aus einer steifen Oberlippe, sägeartigen Mandibeln, einem Hypopharynx und einem Unterkiefer (Werner, 2010). Im Unterschied dazu besitzen die Männchen und nektartrinkende Weibchen anderer Spezies eine weiche Oberlippe und reduzierte Mundwerkzeuge.

Charakteristisch für *Culicoides* Spezies (spp.) ist der buckelartige Thorax, der den Kopf überragt. Der Thorax wird in Pronotum, Mesonotum und Postnotum unterteilt. Das Mesonotum weist präscutale Gruben auf und kann eine Färbung mit Musterung besitzen. Das Abdomen besteht aus zehn Segmenten, wobei das erste reduziert oder mit dem zweiten verschmolzen sein kann. Das 2.-7. Segment ist mit Dornen besetzt. Das Abdomen endet spitz und weist bei männlichen Gnitzen das Hypopygium, bei weiblichen die Spermatheken auf. Die Genitalien unterscheiden sich zwischen den Spezies und werden für die morphologische Speziesdifferenzierung herangezogen (Delécolle, 1985).

Die Beine werden in Femur, Tibia und fünf Tarsalsegmente eingeteilt und sind von unterschiedlicher Länge. Das erste Beinpaar ist kurz und gestaucht, im Gegensatz zum zweiten und dritten. Am letzten Tarsalsegment befindet sich eine einfach ausgebildete Klaue, die bei räuberischen Arten verdickt sein kann. Das Empodium ist gut entwickelt und bei manchen Arten verzweigt (Werner, 2010).



Die Flügel aller *Ceratopogonidae* sind breit, mit einer teils abgerundeten Spitze. Die vorderen Adern sind kräftig ausgeprägt und werden zur Flügelspitze hin immer schwächer.

Charakteristisch sind eine gespaltene M-Vene (M1 und M2) sowie zwei Radialzellen. Dunkle und helle Flecken bilden speziesspezifische Flügelmuster. Eine feine Behaarung, sogenannte Mikrotrichien, sind häufig vorhanden, teilweise flächendeckend oder ganz fehlend. Die Flügelzeichnung sowie das Vorhandensein von Mikrotrichien dienen als morphologische Hauptkriterien für die Unterteilung der Spezies (Delécolle, 1985; Rawlings, 1996).

Die Familie der *Ceratopogonidae* unterteilt sich in fünf Unterfamilien, *Leptoconopinae*, *Forcipomyiinae*, *Dasyheleinae*, *Ceratopogoninae* und *Lebanoculicoidinae*, und zählt derzeit über 6.000 Arten (Borkent, 2012).

In nur vier (*Culicoides*, *Leptoconops*, *Forcipomyia*, *Austrocops*) von insgesamt 127 Gattungen der *Ceratopogonidae* existieren hämatophage Weibchen (Kettle, 1984; Boorman, 1993; Mellor *et al.*, 2000). Das bedeutet, dass sie auf tierisches Protein angewiesen sind, welches sie durch eine Blutmahlzeit vor der Eiablage aufnehmen. Bei einigen autogenen Spezies wie *Culicoides* (*C.*) *punctatus* wird für die erste Eiablage kein Blut aufgenommen, allerdings für jede weitere (Werner, 2010). Eine besondere Bedeutung stellen einige Spezies der Unterfamilie *Forcipomyia* dar, welche Hauptbestäuber der Kakaobäume sind (Winder, 1978).

Männchen und Weibchen aus anderen Gattungen ernähren sich von zuckerhaltigen Pflanzensäften, als bevorzugt gelten Vertreter der Familie der Doldenblütler (Umbelliferen) (Werner, 2010).

In Europa werden Gnitzen häufig auf Grund ihrer analogen morphologischen Erscheinung in sogenannte Artenkomplexe bzw. in Artengruppen zusammengefasst. In einem Artenkomplex befinden sich die sogenannten Zwillingsarten, die sich nur molekularbiologisch oder durch eine unterschiedliche Ausbildung des Hypopygium der männlichen Gnitzen unterscheiden lassen. Eine Artengruppe schließt zusätzlich morphologisch sehr ähnliche Spezies mit ein. Eine Übersicht zu den in Europa wichtigsten Artenkomplexen und Artengruppen ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

## 2. Literaturübersicht

**Tabelle 1:** Auflistung der wichtigsten Artenkomplexe und Artengruppen in Nordeuropa (EFSA, 2008)

<b>Untergattung <i>Avaritia</i> Fox</b>	<b>Obsoletus-Komplex</b>	<b>Obsoletus-Gruppe</b>
<i>C. obsoletus</i>	<i>C. obsoletus</i>	<i>C. obsoletus</i>
<i>C. scoticus</i>	<i>C. scoticus</i>	<i>C. scoticus</i>
<i>C. montanus</i>	<i>C. montanus</i>	<i>C. montanus</i>
<i>C. chiopterus</i>		<i>C. chiopterus</i>
<i>C. dewulfi</i>		<i>C. dewulfi</i>
<i>C. imicola</i>		
<b>Untergattung <i>Culicoides</i> <i>sensu stricto</i> Latreille</b>	<b>Pulicaris-Komplex</b>	<b>Pulicaris-Gruppe</b>
<i>C. pulicaris</i>	<i>C. pulicaris</i>	<i>C. pulicaris</i>
<i>C. lupicaris</i>	<i>C. lupicaris</i>	<i>C. lupicaris</i>
<i>C. newsteadi</i>		<i>C. newsteadi</i>
<i>C. punctatus</i>		
<i>C. impunctatus</i>		
<i>C. delta</i>		

### 2.1.2 Entwicklung

Gniten durchlaufen einen holometabolen Entwicklungszyklus vom Ei über vier Larvenstadien und ein Puppenstadium zum Imago. Zwischen den unterschiedlichen Arten variieren die Eier stark in Form und Aussehen. Sie sind oval bis langgestreckt, besitzen eine dünne Eischale und liegen in lockeren Gruppen zusammen. Die bananenförmigen Eier der *Culicoides* spp. sind 65-80 Mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) breit und 350-500  $\mu\text{m}$  lang (Hill, 1947; Kettle, 1984). Sie sind nach der Eiablage weiß und werden mit zunehmendem Alter immer dunkler (Mellor *et al.*, 2000). Sie sind sehr empfindlich gegenüber Trockenheit. Als Schutz gegen Austrocknung fungiert bei manchen Spezies eine umgebende gallertige Substanz. In Abhängigkeit von der Lebensform der Larven, die terrestrisch oder aquatisch sein kann, werden die Eier in Ufernähe, auf überschwemmten Wiesen, verrottendem Material, stark überdüngten Wiesen oder direkt auf bzw. unter Wasser abgelegt (Blanton & Wirth, 1979; Wirth & Hubert, 1989). Die Eier können einzeln in Form von Eischnüren oder in Eipaketen abgelegt sein; dabei variiert die Anzahl pro Eigelege zwischen 40 und 450 Eiern (Becker, 1961; Campbell & Kettle, 1975).

*Culicoides* spp. entwickeln aquatisch lebende Larven, die ein wurmartiges Aussehen besitzen und sich im Wasser mit schlängelnden Bewegungen fortbewegen. Sie weisen eine apneustische Atmung auf, die über die Haut vollzogen wird. Die Ernährung erfolgt durch organisches Material, räuberisch von Wirbellosen oder anderen Mückenlarven (Blanton & Wirth, 1979; Meiswinkel *et al.*, 1994). Sie flottieren häufig in Gruppen an der Wasseroberfläche, wo auch die Metamorphose durchgeführt wird. Larven terrestrischer Lebensweise besitzen ein raupenartiges Aussehen mit einer großen Kopfkapsel und einem fußähnlichen Anhang, mit dem sie zum Verpuppen in trockenere Bereiche wandern können (Martini, 1946). Die Larven der *Ceratopogonidae* sind eucephal und bestehen aus drei

Thorax- und neun Abdominalsegmenten (Kettle, 1995). Das Larvenstadium kann in den Tropen 3-4 Tage (d) und in gemäßigten Zonen bis zu mehreren Wochen betragen (Meiswinkel, 1989; Meiswinkel *et al.*, 1994).

Im Anschluss an die larvale Entwicklung folgt ein Puppenstadium von zwei Tagen bis zu vier Wochen, in dem sich die letzte Entwicklung zur beflügelten Imago vollzieht (Mellor *et al.*, 2000).

Männliche Gnitzen schlüpfen vor den weiblichen, wobei sie bereits wenige Minuten später kopulationsbereit sind; die vollständige Potenz erreichen sie nach 4-8 Stunden (Hiepe *et al.*, 2006). Weibliche Gnitzen können nach fünf Tagen die ersten Eier ablegen (EFSA, 2007a). Die Überwinterung erfolgt im vierten Larvenstadium, da in diesem Stadium die Fress- und Wachstumsphase einfach verkürzt oder verlängert werden kann (Kettle, 1984). Die sogenannte Diapause setzt bei abnehmenden Temperaturen und verminderter Lichtintensität ein und wird bei steigenden Temperaturen und einer Zunahme an Sonnenscheinstunden automatisch wieder beendet (EFSA, 2007a). Eine Ausnahme stellt *C. griesescens* dar, welche mit einem Eistadium von 5-7 Monaten eine Überwinterung in selbigem vermuten lässt (Parker, 1950).

Die Dauer der Entwicklung vom Ei bis zur adulten Gnitze ist abhängig von der Umgebungstemperatur, vom Bruthabitat und der Spezies. Sie variiert von 2-3 Wochen für *C. brevitarsis* in den Tropen (Campbell & Kettle, 1976) über 2-3 Monate für *C. subimmaculatus* in den Subtropen (Edwards, 1977) und wird für einige arktische Spezies mit bis zu 2 Jahren angegeben (Downes, 1962). Die Oogenese ist ebenfalls temperaturabhängig und dauert am Beispiel von *C. sonorensis* bei 30 °C 2d und bei 13 °C Umgebungstemperatur 10d (Mullens & Holbrook, 1991). In gemäßigten Klimazonen gibt es bei *C. obsoletus* bis zu drei Generationen pro Jahr. In den Tropen existiert auf Grund der das ganze Jahr über ausreichend hohen Temperaturen keine bimodale Saisondynamik. Die Entwicklung neuer Gnitzenpopulationen vollzieht sich demzufolge unentwegt (Eckert *et al.*, 2008).

Adulte Gnitzen halten sich in der Nähe des Entwicklungshabitats auf und kommen dort in Schwärmen vor. Die Partnerfindung erfolgt über die von Weibchen ausgesendeten Pheromone, wonach die Kopulation ein- oder mehrmalig im Flug erfolgen kann (Linley & Adams, 1972).

### 2.1.3 Vorkommen und Epidemiologie

#### 2.1.3.1 Weltweite Verbreitung

Das Verbreitungsgebiet von Gnitzen erstreckt sich fast lückenlos über den gesamten Erdball, mit Ausnahme der Antarktis und Neuseelands (Mellor *et al.*, 2000). Sie können sich an extreme Witterungsbedingungen anpassen, in allen Klimazonen leben und nahezu alle Feuchthabitate besiedeln (Werner, 2010). Ebenfalls können sie in fast allen Vegetationen überleben, sogar 4000 Meter über dem Meeresspiegel wurden noch Gnitzen gefangen (Mellor *et al.*, 2000). In Abhängigkeit von der Region und den somit vorherrschenden Klima- und Habitatbedingungen dominieren auf den einzelnen Kontinenten unterschiedliche Spezies. In

## 2. Literaturübersicht

Tabelle 2 sind die hämatophagen Gnitzen der einzelnen Kontinente aufgeführt, die auf Grund ihrer Wirtstierpräferenz ein Problem im Nutztiersektor und beim Menschen darstellen. Ein Überblick aller Gnitzen sowie aller hämatophagen Gnitzen ist hinsichtlich der Artenvielfalt und dem spärlichen Wissen über die gesamte Familie nicht möglich.

**Tabelle 2:** Medizinisch relevante *Culicoides* spp. der einzelnen Kontinente (Mellor *et al.*, 2000; Mullen & Durden, 2009)

Region	Hauptvektor für Infektionskrankheiten	Nebenvektor für Infektionskrankheiten
Nordamerika	<i>C. variipennis</i> <i>C. sonorensis</i>	<i>C. insignis</i> <i>C. debilipalpis</i> <i>C. obsoletus</i> <i>C. stellifer</i>
Süd- und Zentralamerika	<i>C. insignis</i> <i>C. pusillus</i>	<i>C. praensis</i>
Karibik	<i>C. insignis</i>	<i>C. filarifer</i> <i>C. pusillus</i>
Europa, Mittelmeerraum und Mittlerer Osten	<i>C. imicola</i> <i>C. obsoletus</i> <i>C. pulicaris</i>	<i>C. dewulfi</i> <i>C. chiopterus</i> <i>C. scoticus</i> <i>C. punctatus</i>
Afrika	<i>C. imicola</i> <i>C. bolitinos</i>	<i>C. gulbenkiani</i> <i>C. magnus</i> <i>C. pycnostictus</i> <i>C. zuluensis</i> <i>C. schultzei</i>
Asien	<i>C. imicola</i> <i>C. actoni</i> <i>C. brevitarsis</i> <i>C. fulvus</i> <i>C. wadai</i>	<i>C. schultzei</i> <i>C. gemellus</i> <i>C. peregrinus</i> <i>C. arakawae</i> <i>C. circumscriptus</i>
Australien	<i>C. brevitarsis</i> <i>C. actoni</i>	<i>C. fulvus</i> <i>C. wadai</i>

### 2.1.3.2 Verbreitung von *C. imicola*

*C. imicola* ist der Hauptvektor für die Übertragung von BTV (engl. bluetongue virus) und AHSV (engl.: african horse sickness virus), welche ursprünglich in Afrika und Südostasien beheimatet waren. Diese thermophile Gnitze benötigt zum Überleben durchschnittliche Höchsttemperaturen von 12,5°C in den kältesten Monaten (Mellor & Boormann, 1995). Die weltweite Verbreitung von *C. imicola* liegt zwischen den Breitengraden 35° S und 40° N, in Nordamerika und China bis 50° N (Mellor, 2001). In den letzten Jahren wurde für *C. imicola* in Europa eine nördliche Ausbreitung über den 40° N hinaus beobachtet (Mellor & Wittmann, 2002). Zum ersten Mal wurde *C. imicola* 1982 in Portugal und im Südwesten von Spanien nachgewiesen (Mellor *et al.*, 1983; Rawlings *et al.*, 1998). Kurze Zeit später wurden ebenfalls im Osten von Europa, auf einigen griechischen Inseln (Lesbos, Rhodos, Chios) und an der

türkischen Küste *C. imicola* gefangen (Boorman & Wilkinson, 1983; Boorman, 1986). Seit 2002 kommt *C. imicola* regelmäßig in Griechenland, auf Sardinien, Sizilien, Korsika, Mallorca und Menorca, in Spanien, der Türkei und in Tunesien vor (Mellor, 2004; EFSA, 2008).

Im nördlichen Europa und in Deutschland konnten bisher keine Gnitzen dieser Spezies nachgewiesen werden (Werner & Kampen, 2007; Meiswinkel *et al.*, 2008a; Clausen *et al.*, 2009; Hoffmann *et al.*, 2009; Mehlhorn *et al.*, 2009).

Eine mögliche Ursache für die nördliche Ausbreitung von *C. imicola* kann der Klimawandel sein, da bei Insekten bereits eine Temperaturerhöhung von 2 °C zu einer Nordverschiebung von 200 km führen soll (Purse *et al.*, 2005). Ebenfalls diskutiert wird die Möglichkeit, dass erst durch die europaweiten intensiveren Monitoringprogramme der letzten Jahre das genaue Verbreitungsgebiet dieser Gnitzenspezies bestimmt werden konnte (Mellor, 2004; Purse *et al.*, 2005).

### 2.1.3.3 Verbreitung von *Culicoides* spp. in Deutschland und dem nördlichen Europa

Im deutschlandweiten Monitoringprogramm von März 2007 bis Mai 2008 wurden auf insgesamt 91 Flächen mit UV-Lichtfallen Gnitzen gefangen. In den Gesamtfängen waren Spezies aus dem *Obsoletus*-Komplex (*C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. montanus*) zu 70 % vertreten (Mehlhorn *et al.*, 2009). Der Anteil der Spezies aus dem *Pulicaris*-Komplex (*C. pulicaris*, *C. lupicaris*) belief sich auf 20 % (Mehlhorn *et al.*, 2009). Weitere 24 andere *Culicoides*-Spezies traten nur sporadisch auf, *C. imicola* wurde nicht gefangen (Mehlhorn *et al.*, 2009). Dieses Ergebnis spiegelt sich ebenfalls in weiteren Studien in Deutschland wieder (Mehlhorn *et al.* 2008a, b; Schmahl *et al.*, 2008, 2009a, b, c; Rohrmann, 2009; Bauer *et al.*, 2009; Bartsch, 2009, 2010; Skrock, 2011).

Europaweit sind Spezies der Untergattung *Avaritia* Fox (exklusive *C. imicola*) dominierend, wobei sie in den südlichen Ländern vor allem in deren nördlichen Gebieten vertreten sind (Calvete *et al.*, 2008). Im Mittelmeerraum gibt es teilweise eine Überschneidung der Verbreitungsgebiete von *C. imicola* und den anderen Spezies der Untergattung *Avaritia* Fox (Goffredo *et al.*, 2004a; Calvete *et al.*, 2008).

*C. obsoletus* und *C. scoticus* sind mit über 70 % die dominierenden Spezies in Deutschland und Frankreich (Mehlhorn *et al.*, 2009; EFSA, 2008).

*C. dewulfi* ist mit 13 % der Gesamtfänge besonders stark in Holland (Meiswinkel *et al.*, 2008) und in Belgien vertreten (Losson *et al.*, 2007). Im Nordosten von Frankreich zählen insgesamt 6 % zu dieser Spezies, die im Süden von Frankreich mit nur noch 1 % weitaus geringer vertreten ist (EFSA, 2008). Ein mit 2 % ähnlich geringes Aufkommen gibt es für diese Spezies im Norden von Italien (Goffredo *et al.*, 2008).

*C. chiopterus* ist in ganz Europa vertreten, besitzt aber eine höhere Abundanz in den nördlichen Ländern (EFSA, 2008). Diese Spezies machte in Nord-Frankreich einen Anteil von 6 % (EFSA, 2008) und in Holland einen von 7 % aus (Meiswinkel *et al.*, 2008). Da alle Monitoringprogramme UV-Lichtfallen eingesetzt haben, ist zu berücksichtigen, dass manche

## 2. Literaturübersicht

---

Spezies eventuell in ihrem Aufkommen unter- oder überschätzt worden sind. Bei parallel verlaufenden Gnitzenfängen mit unterschiedlichen Fangmethoden zeigte sich, dass UV-Lichtfallen die vorherrschende Spezies, die durch Aspiration ermittelt wurde, nur zu einem geringen Anteil gefangen hatte (Carpenter *et al.*, 2008b; EFSA, 2008).

Die Spezies der Untergattung *Culicoides* Latreille sind ebenfalls in ganz Europa vertreten. Das Aufkommen dieser Spezies variiert sehr stark zwischen den einzelnen Regionen. Während *C. pulicaris* in Belgien und Deutschland stark vertreten ist, macht sie in Nord-Frankreich und Holland einen Anteil von weniger als 5 % aus (EFSA, 2007b).

*C. punctatus* stellt in Holland mit 30 % eine der dominantesten Spezies dar (Meiswinkel *et al.*, 2008; EFSA 2007c).

Im dreijährigen Monitoringprogramm der Schweiz in zwölf verschiedenen Biotopen in unterschiedlichen Höhenlagen (270-2130 m) wurde festgestellt, dass der Anteil der dominierenden Spezies der Untergattung *Avaritia* in Gegenden ab 1000 Metern über dem Meeresspiegel stark zugunsten der Spezies der Untergattung *Culicoides* Latreille abnimmt (Kaufmann *et al.*, 2009).

In einer Studie in West-Frankreich war die dominierende Spezies *C. brunnicans* mit insgesamt 44 % in den Gesamtfängen, eine Spezies, die in Nordeuropa bisher nur sporadisch nachgewiesen wurde (Viennet *et al.*, 2011). In dieser Studie wurden vier verschiedene Fallentypen getestet, dabei wurde diese Spezies vor allem in der Zeltfalle („drop trap“), mit Hilfe eines Aspirators, gefangen.

### 2.1.3.4 Gnitzen als Lästlinge

Das massenhafte Auftreten von Gnitzen in Schwärmen wird häufig zur regelrechten Plage und kann in manchen Regionen zu Einbußen im Tourismussektor führen. In der Studie von Mordue (Luntz) & Mordue (2003) wurden in England innerhalb einer Stunde bis zu 40.000 Anflüge von Gnitzen auf den Unterarmen der Probanden gezählt. In Abhängigkeit von abiotischen Faktoren und umgebenden Habitatbedingungen finden sich zur Paarungszeit oft tausende Gnitzen in Schwärmen zusammen. Aufgrund ihrer geringen Größe und des lautlosen Anfluges bekommen Menschen die Anwesenheit häufig erst durch die teilweise sehr schmerzhaften Stiche bzw. die lokalen Hautreaktionen mit. Diese sind gekennzeichnet durch Rötungen, Schwellungen und Quaddelbildungen. Das beim Stechakt abgegebene Histamin bewirkt einen starken Juckreiz. Mechanische Beeinflussungen wie Kratzen und Reiben verschlimmern die Symptomatik, häufig mit folgenden Sekundärinfektionen.

Prädilektionsstellen sind beim Menschen vor allem der Kopfbereich, speziell der Haaransatz, Stirn, Augenpartie, Ohren, der Hals, aber auch der Randbereich der Kleidung (Werner, 2010). Durch herkömmliche Moskitonetze mit einer Maschenweite von 1,6 mm<sup>2</sup> kann ein Eindringen von Gnitzen nicht sicher verhindert werden, feinere Netze mit einer Maschengröße von 0,9 mm<sup>2</sup> bieten einen 95%-igen Schutz gegenüber dem Einflug von Gnitzen (Porter, 1959). Einen Schutz bietet neben imprägnierter Kleidung und dem täglichen Gebrauch von DEET-haltigen (Diethyltoluamid) Repellentien (Trigg, 1996; Carpenter *et al.*, 2005), den Aufenthalt im Freien zur Dämmerungszeit zu vermeiden.

Tiere reagieren teilweise panisch und zeigen massive Abwehrreaktionen. Die Symptome sind vergleichbar mit denen beim Menschen und können sich zusätzlich, in Abhängigkeit der Befallsintensität, negativ auf Leistungsparameter auswirken. Präferierte Körperregionen sind wenig behaarte Stellen mit einer guten kapillaren Durchblutung wie Ohren und die Augenpartie, das Euter, der Innenschenkelbereich, die Hoden und die Vulva (Braverman, 1988; Werner, 2010).

Das Sommerexzem der Pferde („sweet itch“), hauptsächlich durch Stiche von Gnitzen ausgelöst, ist eine saisonal auftretende, chronisch wiederkehrende Kontaktdermatitis, die weltweit bei Pferden, Eseln und Maultieren vorkommt. Es handelt sich um eine Typ-1-Allergie oder eine Allergie vom IgE-vermittelten Soforttyp. Bei dieser Allergieform erfolgt eine Sensibilisierung beim Erstkontakt mit dem Allergen (Speichel), worauf es beim Zweitkontakt zu einer überschießenden Immunantwort des Körpers kommt.

Ätiologisch wird dieses Krankheitsbild vor allem durch Stiche von *Culicoides* spp. ausgelöst (Riek, 1954; Baker & Quinn, 1978; Braverman *et al.*, 1983; Quinn *et al.*, 1983; Morrow *et al.*, 1986; Greiner *et al.*, 1988; Larsen *et al.*, 1988; Halldorsdottir *et al.*, 1989; Ungar-Waron *et al.*, 1990; Perris, 1995; Mullens *et al.*, 2005). Ebenfalls können die Stiche anderer Arthropoden wie z. B. *Stomoxys calcitrans* und *Simuliidae* spp. ein Sommerexzem hervorrufen, diese spielen aber eher eine vernachlässigbare Rolle (Riek, 1954; Baker & Quinn, 1978; Braverman *et al.*, 1983; Perris, 1995; Mullens *et al.*, 2005).

Obwohl es keine eindeutige Rassedisposition gibt, sind Islandpferde in Deutschland mit bis zu 25 % überdurchschnittlich stark vom Auftreten des Sommerexzems betroffen (Unkel, 1987). Studien zeigten, dass die Hypersensitivität gegenüber Insekten multifaktoriell vererbt wird, die Heritabilität (Erblichkeit) allerdings nur 10 % beträgt (Unkel, 1987).

Als Symptome treten überwiegend im Bereich der Mähne, der Rückenlinie und des Schwanzansatzes, Erytheme, Ödeme, Vesikel und Papeln auf (Perris, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 2001). Die Tiere leiden unter starkem Pruritus und fügen sich selbst Traumata zu. Es entstehen Abschürfungen mit Blutungen und Krusten sowie lokaler Alopezie (Baker & Quinn, 1978; Perris, 1995). Bei wiederholten Erkrankungsfällen verstärken sich die Symptome und die Pferde fallen durch eine Akanthose und Hyperkeratose auf. Immer größer werdende haarlose Stellen, auf denen sich die oberen Hautschichten ablösen, werden sichtbar (Baker & Quinn, 1978). Dabei sind am Sommerexzem erkrankte Pferde für Gnitzen nicht attraktiver (van der Rijt *et al.*, 2008) als nichterkrankte.

### 2.1.3.5 Gnitzen als Vektoren

Gnitzen können nach der Aufnahme einer infektiösen Blutmahlzeit unter bestimmten Voraussetzungen in der Lage sein, das Virus zu replizieren und beim nächsten Saugakt auf ein Wirtstier zu übertragen. Die Infektion eines kompetenten Vektors mit einem Arbovirus wird in drei Phasen eingeteilt (Hardy, 1988). Als erstes infizieren sich die Mitteldarmzellen während des Verdauungsprozesses der Blutmahlzeit, vorausgesetzt, die Viruskonzentration im Darm ist ausreichend hoch (Chamberlain & Sudia, 1961; McLintock, 1978; Hardy *et al.*, 1983). Dabei gelangt das Virus zusammen mit Nährstoffen durch osmotische Regulation vom Darmlumen in die Darmzellen. Dort findet die erste Virusreplikation statt, die in

## 2. Literaturübersicht

---

Abhängigkeit von der Gnitzenart, vom Virus und der Außentemperatur 1-5d dauert (Mellor, 2000). Das Virus gelangt anschließend, wahrscheinlich durch aktive Transportmechanismen, in die Hämolymphe der Gnitze (Mellor, 2000). In der zweiten Phase gelangt das Virus in Fett-, Ganglienzellen und anschließend in die Speicheldrüsen (Fu *et al.*, 1999). Die Infektion der Speicheldrüsen mit einer weiteren Replikation und anschließender Übertragung der Viren während des Saugaktes stellt die dritte Phase dar. Der Vektor ist ab diesem Zeitpunkt lebenslang infektiös, was eine Überwinterungsstrategie z. B. von Viren darstellen kann (Mehlhorn *et al.*, 2007). Die transovarielle Übertragung konnte bisher für keine Vektorerkrankung, die von Gniten übertragen wird, nachgewiesen werden (Mellor *et al.*, 2000).

Die Replikation von Viren im Vektor ist temperaturabhängig (Mullens *et al.*, 1995). Sie wird am Beispiel von BTV mit 6-8d bei 25 °C und ca. 4d bei 30 °C Umgebungstemperatur angegeben (Wittmann *et al.*, 2002). Keine Replikation erfolgt bei Temperaturen unter 10 °C (van Dijk & Huismans, 1982). Das Vektorpotential in tropischen Gebieten ist daher wesentlich höher als in gemäßigten Klimazonen. Das ist auch mit einer verkürzten Oogenese und einer erhöhten Stechrate zu erklären, durch die die Gefahr der Übertragung von Erregern gesteigert wird (Wittmann & Baylis, 2000). Menschen sind für die meisten von Gniten übertragenen Krankheitserreger unempfindlich.

Von großer Bedeutung ist dagegen das Infektionspotential von Gniten bei Nutztieren und Pferden, da sie zum Teil mit sehr hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten einhergehen. Die größte veterinärmedizinische Herausforderung besteht im Übertragungsvermögen von mehr als 50 verschiedenen Arboviren durch Gniten.

Wichtige Vektorerkrankungen aus der Familie der *Reoviridae* sind die Afrikanische Pferdepest (AHSV) und die Blauzungenerkrankung (BTD), die beide in Deutschland zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen zählen. Für die Afrikanische Pferdepest sind Einhufer empfänglich, besonders Pferde erkranken an der akut bis perakut verlaufenden Erkrankung mit Mortalitätsraten bis zu 90% (FLI, 2013). Hunde können ebenfalls nach dem Verzehr von infiziertem Fleisch erkranken. Die Blauzungenerkrankung wird wegen des jüngsten Auftretens in Deutschland näher unter 2.1.3.5.1 erläutert.

Weitere wichtige Erkrankungen der Wiederkäuer sind die Akabane-Krankheit, die Schmallenberg-Virus-Erkrankung, das Epizootische Hämorrhagische Fieber, die Palyam-Krankheit und das Bovine Ephemeralfieber. Gniten sind ebenfalls in der Lage, weltweit *Trypanosoma* spp. und *Haemoproteus* spp. auf Vögel zu übertragen. In Südostasien und Afrika können durch sie *Leucocytozoon* spp. und *Hepatocystis* spp. auf Affen, Vögel und Nager übertragen werden (Linley *et al.*, 1983; Boorman, 1993).

Die Übertragung von Filarien ist im tropischen und subtropischen Raum von wesentlicher Bedeutung. Gniten können *Mansonella (M.) perstans*, *M. ozzardi* und *M. streptocerca* auf Menschen, Affen, Vögel, Waschbären, Rinder, Pferde und Büffel übertragen (Anderson, 2000; Shelly & Coscaron, 2001).

Als Zwischenwirte fungieren Gniten bei der Übertragung der dritten Larve bei *Onchocerca (O.) gibsoni* und *O. gutturosa* beim Rind (Wall & Shearer, 2001; Schnieder *et al.*, 2006) sowie bei *O. reticulata* und *O. cervicalis* beim Pferd (Linley *et al.*, 1983).



### 2.1.3.5.1 Die Blauzungenkrankheit

Die Blauzungenkrankheit (engl.: *bluetongue disease, catarrhal fever of sheep*) ist eine virale, meist akut verlaufende, nicht kontagiöse Vektorerkrankung der Wiederkäuer (Mayr, 1984). Die Erkrankung wird durch das Blauzungenvirus (BTV), welches dem Genus Orbivirus aus der Familie der *Reoviridae* zugeordnet ist, hervorgerufen.

Die Tierseuche ist in allen Mitgliedsstaaten der EU seit 2010 anzeigepflichtig (OIE, 2010).

#### Ätiologie

Das Virus besitzt eine große genetische Variabilität, welche sich in 26 verschiedenen Serotypen widerspiegelt (Maan *et al.*, 2011). Das Blauzungenvirus ist ein unbehülltes, doppelsträngiges RNA-Virus, welches eine ikosaedrische Symmetrie besitzt und eine Größe von ca. 80 Nanometern (nm) aufweist. Das Genom der Orbiviren bestehen zehn Segmenten doppelsträngiger RNA (Modrow *et al.*, 2010).

Da die Vektoren und das Virus selbst stark von abiotischen Faktoren abhängig sind, insbesondere von der Temperatur, tritt die Erkrankung in den Tropen und Subtropen ganzjährig, in gemäßigten Klimazonen saisonal auf (EFSA, 2008).

Hauptvektor für die Übertragung der Blauzungenkrankheit sind Gnizen der Gattung *Culicoides*, die sich durch den Stich bei virämischen Tieren infizieren. Von den ca. 1.200 *Culicoides* spp. ist für 17 ein Vektorpotenzial für BTV nachgewiesen worden (Mellor, 1990; Mo *et al.*, 1994; Venter *et al.*, 1998).

#### Epidemiologie

Die Blauzungenkrankheit wurde erstmals Ende des 18. Jahrhunderts nach dem Import von Feinwoll-Schafen aus Europa in Südafrika beschrieben. Bis 1940 war BTV auf den afrikanischen Kontinent beschränkt (McLachlan *et al.*, 2009). In Europa wurde der erste Fall von BTD im Jahre 1943 auf Zypern bekannt (Gambles, 1949; MacLachlan, 2004). In Deutschland wurde am 21.08.2006 der erste Krankheitsfall gemeldet (FLI, 2010). Die Epidemie erstreckte sich bis auf wenige Ausnahmen flächendeckend auf ganz Europa. Dabei waren in Abhängigkeit von der Region verschiedene Serotypen (BTV-1, -2, -4, -8, -9 und -16) ins Krankheitsgeschehen involviert (EFSA, 2008). Verantwortlich in Deutschland war fast ausschließlich der Serotyp 8, welcher in den Jahren zuvor noch nie in Europa nachgewiesen worden war. Im Verlauf des Jahres 2006 summierten sich die positiven Fälle in Deutschland auf insgesamt 890 (FLI, 2010). Durch Überwinterung des Virus kam es im Jahr 2007 zu einer weitaus höheren Durchseuchung. Über 20.000 Tiere, vornehmlich Schafe, erkrankten alleine in Deutschland (FLI, 2010), wobei fast 50% der Fälle in Nordrhein-Westfalen auftraten (BMELV, 2010). Nach Entwicklung eines geeigneten Impfstoffs begann die flächendeckende Impfpflicht im Mai 2008 in ganz Deutschland. Es konnte ein drastischer Rückgang von Neuerkrankungen festgestellt werden. Nachdem der letzte positive Fall am 17.11.2009 nachgewiesen wurde (FLI, 2012), entschied die Bundesregierung, die Impfpflicht ab 2010 in eine freiwillige Impfung abzuändern. In den Jahren 2010 und 2011 wurden keine weiteren Fälle von BTD gemeldet, sodass vom 15.02.2012 an, Deutschland offiziell als BTD-frei eingestuft wurde (FLI, 2012).

## 2. Literaturübersicht

---

### Übertragung

Nachdem eine Blutaufnahme von einem infizierten Tier erfolgt ist, findet eine Vermehrung in der Gnitze statt. Eine Replikation bis zum 10.000-fachen dauert bei einer Umgebungstemperatur von 25 °C ca. 6-8d (Mehlhorn, 2001). Nach etwa einer Woche scheidet die Gnitze erstmals Virus mit dem Speichel aus und kann so beim folgenden Saugakt das Wirtstier infizieren (Modrow *et al.*, 2010). Obwohl eine vertikale oder transovarische Übertragung nach heutigem Wissensstand ausgeschlossen werden kann (Mehlhorn, 2001; Modrow *et al.*, 2010), wurden Fragmente viraler RNA in Gnitzenlarven nachgewiesen (White *et al.*, 2005).

Eine erfolgreiche Virusisolierung gelang auch aus anderen Arthropoden wie der Schaflausfliege (Luedke *et al.*, 1965), einigen Zeckenarten (Stott *et al.*, 1985; Bouwknecht *et al.*, 2010) und großen Stechmücken (Brown *et al.*, 1992). Eine Virusvermehrung in diesen Arthropoden wurde bisher nicht festgestellt, sodass sie eventuell für eine mechanische Übertragung infrage kommen. Epidemiologisch spielen sie im Krankheitsgeschehen eine vernachlässigbare Rolle (Radostits *et al.*, 1994).

BTV kann ebenfalls durch infiziertes Blut und Sperma übertragen werden (Wilson, 1999), spielt allerdings epidemiologisch ohne Insekten als Zwischenwirte eine zu vernachlässigende Rolle (Modrow *et al.*, 2010).

Nach einer Infektion besteht eine typspezifische Immunität, die vor einer Infektion mit einem anderen Serotyp zwar keinen Schutz bietet, aber meist zu einem mildereren Krankheitsverlauf führt (Iben, 2006).

Empfänglich sind prinzipiell alle Wiederkäuer, wobei ausgeprägte klinische Symptome hauptsächlich bei Schafen und einigen Wildwiederkäuern auftreten (Darpel *et al.*, 2007). Es besteht eine unterschiedliche Empfänglichkeit zwischen den Schafrassen. Als hoch empfänglich gilt das Dorset Horn und andere europäische Rassen, wohingegen das Merinoschaf eine höhere Resistenz aufweist. Bei afrikanischen Rassen verläuft eine Infektion meist subklinisch. Ziegen und Rinder zeigen häufig einen asymptomatischen Krankheitsverlauf (Tweedle & Mellor, 2002).

Obwohl die Blauzungkrankheit eine Erkrankung der Wiederkäuer und Kameliden darstellt, können sich unter bestimmten Voraussetzungen auch andere Säugetiere mit dem Virus infizieren. Nach dem gehäuftem Auftreten von Aborten und Todesfällen bei trächtigen Hündinnen in den USA stellte sich ursächlich dafür heraus, dass ein caniner Impfstoff auf mit BTV kontaminierten Zellkulturen entwickelt worden war (Levings *et al.*, 1996; Evermann, 2008).

Spezifische Antikörper gegen BTV konnten außerdem bei wildlebenden afrikanischen Löwen, Geparden, Wildhunden, Schakalen, Hyänen und bei Großfleck-Ginsterkatzen nachgewiesen werden (Alexander *et al.*, 1994). Diese Tiere bildeten nach dem Fressen des Fleisches von an BTD erkrankten Wiederkäuern spezifische Antikörper aus.

### Pathogenese

Gelangt das Virus durch den Stich einer infizierten Gnitze in den Wirt, wird es durch dendritische Zellen in die regionären Lymphknoten abtransportiert (Hemati *et al.*, 2009), wo die erste Replikation stattfindet (McLachlan, 2004). Die Inkubationszeit beträgt

durchschnittlich 3-12d (Heimberg *et al.*, 2008). Anschließend befällt es sekundäre Organe wie Milz, Lunge und weitere Lymphknoten (Barratt-Boyes & McLachlan, 1994; Sanchez-Cordon *et al.*, 2010). Weitere Virusreplikationen finden in Endothelzellen, Makrophagen und Lymphozyten statt (McLachlan *et al.*, 1990, 2009; Barratt-Boyes & McLachlan, 1994; McLachlan, 2004; Drew *et al.*, 2010; Modrow *et al.*, 2010). In der frühen virämischen Phase assoziiert das BTV mit allen Zellen im Blut, im späteren Verlauf nur noch mit Erythrozyten (McLachlan *et al.*, 1990, 2009; McLachlan, 2004).

Dadurch gibt es typischerweise zwei virämische Phasen: eine kurze auf niedrigem Niveau und eine zweite, lange, auf hohem Niveau. Epidemiologisch ist die zweite Phase von Bedeutung, in der sich Vektoren mit dem Virus infizieren können. Demzufolge entspricht die Dauer der Virämie in etwa der Lebensdauer von Erythrozyten und ist bei Rindern länger als bei Schafen (Barrattboyes & McLachlan, 1994). Obwohl die zellassozierte Virämie bei Wiederkäuern ab dem 3. Tag nach der Infektion beginnt und bis zu 220 Tage andauern kann, ist die Infektiosität für Gnitzen nur bis zum 60. Tag nach der Infektion möglich (Heimberg *et al.*, 2008).

Charakteristisch für BTV sind die verletzten Kapillaren, ausgelöst durch Thromben, die Infarkte verursachen. Das Virus initiiert die Ausschüttung von vasoaktiven Mediatoren von Thrombozyten, dendritischen Zellen und Makrophagen. Bereits infizierte Endothelzellen beschleunigen die Schäden am Endothel, stören deren Funktion und erhöhen die Gefäßpermeabilität. Es entstehen dadurch bedingt die typischen Ödeme und petechialen Blutungen (McLachlan *et al.*, 2009; Drew *et al.*, 2010).

### Symptome

Bei der Blauzungenkrankheit unterscheidet man die subakute, die akute und die chronische Verlaufsform. Beim akuten und subakuten Krankheitsverlauf zeigen sich nach einer kurzen Inkubationszeit von 4-8d unspezifische Krankheitssymptome. Es treten Fieber, Apathie, Leistungsminderung, Tachypnoe und Hyperämie der nasolabialen Gegend mit serösem Nasenausfluss auf (Tweedle & Mellor, 2002). Im weiteren Krankheitsverlauf kommt es je nach Virulenz des Serotyps und Empfänglichkeit des Wirtstieres zu spezifischen Symptomen. Durch Zirkulationsstörungen entstehen in charakteristischer Weise Ödeme an Zunge, Lippen, Zungengrund und Ohren, Petechien an Haut und Schleimhaut sowie Ulzerationen in der Maulschleimhaut. Eine zyanotische Verfärbung der Zunge, die der Erkrankung ihren Namen gegeben hat, sieht man nur in seltenen Fällen. Die Tiere können eine Dyspnoe, Pneumonien, hämorrhagische Diarrhoen mit Vomitus, Torticollis, Dermatitisen oder Brüche in der Wollstruktur entwickeln. Zum Ende der virämischen Phase entstehen häufig Lahmheiten oder Paresen, verursacht durch Pododermatitisen und Nekrosen der glatten Muskulatur (Brewer & McLachlan, 1994; Tweedle & Mellor, 2002; Darpel *et al.*, 2007; Elbers *et al.*, 2008; Kirschvink *et al.*, 2009). Eine Infektion mit BTV kann bei trächtigen Tieren, in Abhängigkeit von der Gestationswoche, zu mumifizierten Föten, Aborten, missgebildeten oder virämischen Föten führen. Eine Infektion im ersten Drittel der Trächtigkeit führt in der Regel zur Resorption des Fötus, im zweiten Drittel entwickeln sich massive Missbildungen des ZNS, die durch Nekrosen von Neuronen und Gliazellen ausgelöst werden. Häufige Befunde sind dann ein Hydranenzephalus, Kleinhirnläsionen, Dysplasie der Retina, Hirnzysten und dilatierte ventrale Ventrikel (Osburn *et al.*, 1971; Osburn, 1994; McLachlan *et al.*, 2000;

## 2. Literaturübersicht

---

Tweedle & Mellor, 2002; Saegerman *et al.*, 2011). Im letzten Drittel der Trächtigkeit ist der Fötus in der Lage, spezifische Antikörper zu bilden und zu überleben. Eine Infektion in der zweiten Trächtigkeitshälfte kann zur Geburt virämischer Föten führen (dal Pozzo *et al.*, 2009).

Chronisch infizierte Tiere haben in der Regel abgeschwächte Symptome, können allerdings von anderen Krankheiten befallen sein, deren Krankheitsverläufe sich dadurch verschlechtern (McLachlan & Gard, 2009). Häufige Symptome bei der chronischen Verlaufsform sind ein brüchiges Vlies mit folgender Alopezie (Verwoerd & Erasmus, 2004).

### Diagnose/Differentialdiagnose

Neben den klinischen Symptomen ist die sichere Diagnosestellung ab dem 8.-10. Tag nach der Infektion möglich. Spezifische Antikörper im Blut sind mit Hilfe eines Antikörper-ELISA nachweisbar (Heimberg *et al.*, 2008, Modrow *et al.*, 2010). Der Virusnachweis aus EDTA-Blutproben kann nur in der virämischen Phase erfolgen, aus organischem Material (Lymphknoten, Milz) auch zu einem späteren Zeitpunkt. Das virale Genom wird mittels real-time-PCR zuerst in einer allgemeinen BTV-PCR nachgewiesen. Im Anschluss daran kann mit einer typspezifischen PCR der Serotyp ermittelt werden (Selbitz *et al.*, 2011). Ebenfalls ist der Virus-RNA Nachweis mit Hilfe einer Polymerasenkettenreaktion möglich (Modrow *et al.*, 2010).

Bei BTV-negativen Ergebnissen muss differentialdiagnostisch an Photosensibilisierung, Verätzungen, Vergiftungen, Moderhinke, Nekrobazilliose, akute Hämorrhagie, aber auch an andere Viruserkrankungen wie die bovine Virusdiarrhoe / Mucosal Disease, die Maul- und Klauenseuche, Border Disease, die Pest der kleinen Wiederkäuer und an die epizootische Hämorrhagie der Hirsche gedacht werden (Modrow *et al.*, 2010; Selbitz *et al.*, 2011).

### **2.1.3.5.2 Die Schmallenberg-Virus-Infektion**

#### Ätiologie

Bei der Schmallenberg-Virus-Infektion (SBI) handelt es sich um eine nicht-kontagiöse Infektionserkrankung, die erstmals im Spätsommer/ Herbst 2011 im Nordwesten Deutschlands und in den östlichen Regionen von Holland aufgetreten ist (FLI, 2012). Mit Hilfe einer Metagenom-Analyse konnte das neue Virus, das dem Genus Orthobunyavirus zugehörig ist, in infizierten Kälbern identifiziert werden (Hoffmann *et al.*, 2012). Die Erkrankung erhielt ihren Namen auf Grund der Probenherkunft. Schmallenberg ist eine Kleinstadt im Hochsauerland, im Bundesland Nordrhein-Westfalen. Analysen des Erbmaterials konnten eine enge Verwandtschaft mit Viren der Simbu-Serogruppe (Shamonda-, Aino-, Sathuperi- Douglas- und Akabane-Viren) herstellen. Seit dem 30.03.2012 wird die SBI in der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in Deutschland gelistet (BGBL, 2012).

#### Epidemiologie

Seit Entdeckung des Virus im November 2011 konnte ein Virusnachweis in 2338 Betrieben in Deutschland geführt werden (Stand: 04. April 2013) (FLI, 2013), darunter zählen 1327

Rinder-, 962 Schaf- und 49 Ziegenhaltungen (FLI, 2013). Das Virus konnte bei Rindern, Schafen, Ziegen und einem Bison identifiziert werden (FLI, 2013). Spezifische Antikörper gegen SBV wurden ebenfalls bei Rehen, Hirschen, Mufflons und Alpakas gefunden (EFSA, 2012). Obwohl mit Ausnahme von Bremen alle Bundesländer betroffen waren, besteht ein deutlich häufigeres Auftreten in nördlichen, westlichen und zentralen Regionen Deutschlands. Weitere bezüglich des Schmallenberg-Virus positive Fälle wurden aus den Niederlanden, aus Belgien, Großbritannien, Frankreich, Italien, Luxemburg, Spanien, Dänemark, Estland, Irland, Nordirland, Finnland, Norwegen, Schweden, Polen, Österreich und der Schweiz gemeldet (EFSA, 2013).

### Übertragung

Es handelt sich höchstwahrscheinlich um eine Vektorenerkrankung, die von Arthropoden auf Wirtstiere übertragen werden kann (EFSA, 2012). Empfänglich sind Schafe, Rinder und Ziegen. Inwieweit Wildtiere als Erregerreservoir eine Rolle spielen, ist noch weitestgehend unklar. In der kurzen virämischen Phase von sechs Tagen besteht die Infektionsmöglichkeit des Vektors bei der Blutaufnahme eines an SBI erkrankten Tieres. Der detaillierte Infektionszyklus und das Übertragungsvermögen von SBV durch Gnitzen muss noch durch Studien belegt werden (EFSA, 2012). Der Virusnachweis in Gnitzen der Gattung *Avaritia* Fox in Feldpopulationen erfolgte bereits in Dänemark (Rasmussen *et al.*, 2012), Deutschland (Weiher, unveröffentlichte Beobachtung), Italien und Belgien (ProMed-mail, 2012a). Eine Virusisolation aus Stechmücken der Gattungen *Aedes*, *Culex* und *Anopheles* blieb bisher erfolglos. Es wurden bereits verschiedene inaktivierte Impfstoffe entwickelt, die bisher noch keine Zulassung erhalten haben (FLI, 2012).

Ein Zoonosepotential besteht bei Viren der Simbu-Serogruppe, mit Ausnahme des Oropouche-Virus, nicht. Da das SBV keine enge genetische Verwandtschaft mit dem Oropouche-Virus aufweist, besteht kein Hinweis auf eine Übertragungsmöglichkeit auf den Menschen (EFSA, 2012; FLI, 2012). Exponierte Personen (Schäfer, Veterinäre) wurden in Deutschland und Holland auf spezifische Antikörper gegen SBV untersucht. Bei keiner Person konnten spezifische Antikörper gefunden werden (ECDC, 2012). Das Zoonoserisiko für SBV wird daher als äußerst gering eingeschätzt (ECDC, 2012).

### Pathologie

Zur Zeit ist die exakte Pathologie der Erkrankung noch unklar. Es wurde von Zwillingssgeburten berichtet, bei denen ein Lamm missgebildet und SBV-positiv war und das andere Lamm gesund geboren wurde (van den Brom *et al.*, 2012).

### Symptome

Bei adulten Tieren verläuft eine Infektion mit SBV häufig subklinisch, mit keinen bzw. geringfügigen und unspezifischen Krankheitssymptomen. Rinder fielen vereinzelt durch Fieber, verminderten Appetit, Milchrückgang (bis zu 50%) und wässrige Durchfälle auf (Lievaart-Peterson *et al.*, 2012). Eine schnelle Rekonvaleszenzphase der Tiere von wenigen Tagen bis zu einer Woche ist typisch (Hoffmann *et al.*, 2012; Muskens *et al.*, 2012). In den Schaf- und Ziegenherden wurden bei den adulten Tieren keine Symptome festgestellt, einige

## 2. Literaturübersicht

---

Schäfer berichteten über milde Durchfälle bei vereinzelt Schafen. Auffällig war die Anzahl nichttragender Schafe (Lievaart-Peterson *et al.*, 2012).

In der Ablammsaison (2011/ 2012) kam es deutschlandweit und in vielen Ländern Europas zu überdurchschnittlichen Abortraten, Totgeburten und angeborenen Missbildungen in Schafhaltungen (EFSA, 2012). Probenuntersuchungen bestätigten in den meisten Fällen das Schmallenberg-Virus (EFSA, 2012). Eine geschlechtsspezifische Verteilung des Virus besteht nicht. Von Akabane-Viren ist bekannt, dass sie durch stechende Arthropoden übertragen werden. Sie verursachen bei adulten Tieren eine milde Symptomatik, sind plazentagängig und können bei tragenden Tieren zu Aborten und Missbildungen der Föten führen (Inaba *et al.*, 1975; Kurogi *et al.*, 1977a, b; Tsuda *et al.*, 2004). In Anlehnung an die Akabane-Virus-Erkrankung besteht bei graviden Tieren die Gefahr einer Infektion des Fötus zwischen Tag 28 und 56 beim Schaf und zwischen Tag 62 und 173 beim Rind (EFSA, 2012). Es kommt zu Früh- oder Totgeburten sowie zu Geburten lebensschwacher oder missgebildeter Tiere. Es wurden vor allem Lämmer, zum geringen Teil auch Kälber, mit Arthrogrypose (angeborene Gelenksteife), Torticollis (Schiefhals), Skoliose (Seitverbiegung der Wirbelsäule), Kyphose (Buckel) und Brachygnathia (verkürzter Unterkiefer) geboren (Garigliany *et al.*, 2012; van den Brom *et al.*, 2012). Diese Missbildungen gingen häufig einher mit einer Unterentwicklung des zentralen Nervensystems, welche durch eine Microcephalie (kleiner Schädel), Hydranenzphalien (Gehirnzysten) und Hypoplasien des Cerebellums und des Rückenmarks gekennzeichnet waren (Garigliany *et al.*, 2012; van den Brom *et al.*, 2012). Bei lebendgeborenen Tieren wurden nach der Geburt massive neurologische Störungen beobachtet. Die Tiere waren unfähig zu stehen, hatten einen fehlenden Saugreflex, schlaffe Paralysen, äußerten abnormale Laute, besaßen eine Übererregbarkeit des Nervensystems oder kamen blind zur Welt (Garigliany *et al.*, 2012; van den Brom *et al.*, 2012; Lievaart-Peterson *et al.*, 2012).

Das klinische Bild der SBI ist identisch zur Klinik, welche von Infektionen durch Akabane- und Aino-Viren (Simbu-Serogruppe) ausgelöst werden. Es wird übergreifend als Arthrogryposis-Hydranencephalie-Syndrom (AHS) zusammengefasst (Coverdale *et al.*, 1979; Inaba & Matumoto, 1981).

Aufgrund der abnormalen Gelenkstellungen bei den Föten kam es zu stark erhöhten Geburtsverletzungen der Muttertiere, Kaiserschnitten und Fetotomien (Thüringer Tierseuchenkasse, 2012). Folgen eines gestörten Geburtsverlaufes reichen von einer verminderten Milchproduktion, Verletzungen des Geburtskanals, Fruchtbarkeitsstörungen in den Folgejahren bis zum Tod während der Geburt (EFSA, 2012).

### Diagnose/Differentialdiagnose

Bei einer Verdachtsdiagnose muss eine gesicherte Diagnose durch einen direkten oder indirekten Erregernachweis folgen. Der Virusnachweis ist während der Virämie aus EDTA-Blut bzw. bei Föten, Aborten, Tot- und Missgeburten aus Gehirnproben möglich. Der Erregernachweis erfolgt durch eine real-time-PCR oder eine Virusanzucht (FLI, 2012). Differentialdiagnostisch sollten Erkrankungen wie die Akabane-Krankheit (Akabane disease, Akabane-Komplex), Mucosal Disease / bovine Virusdiarrhoe, Maul- und Klauenseuche und bösartiges Katarrhalfieber ausgeschlossen werden (Metzner, 2012).

### 2.2 Fang und Identifizierung von Gnitzen

#### 2.2.1 Methoden zur Ermittlung der Gnitzenabundanz und der Saisonalität

Um die Abundanz und die Saisonalität von *Culicoides* spp. zu erfassen, werden Insektenfallen verwendet. Dabei hängt die Auswahl der Falle von der Fragestellung und dem Untersuchungsansatz ab.

##### Mosquito-Magnet<sup>®</sup> (MMT)

Diese Fallen sind auf einem fahrbaren Gestell montiert und besitzen eine Höhe von ca. 50-80 cm. Sie bestehen aus einem 11 kg schweren Propantank, einer Oktenol-Patrone, einem Vernebler, einem Ventilator und einem Fanggehäuse mit Fangbeutel. Der MMT arbeitet nach dem Gegenstromprinzip, das bedeutet, dass CO<sub>2</sub> und Oktenol (1-Octen-3-ol) (Pheromon) aus einer Düse ausgestoßen werden und die angelockten Insekten durch einen einwärts gerichteten Luftstrom in den Fangbeutel hineingesogen werden. Durch die katalytische Verbrennung von Propangas entstehen CO<sub>2</sub>, Hitze und Feuchtigkeit, was die Anwesenheit von Tieren bzw. Menschen vortäuschen soll (Kline, 1999). Bei zusätzlicher Verwendung von Oktenol wird dieser Effekt verstärkt. Durch das Vorhandensein spezifischer Rezeptoren in den Maxillarpalpen werden ausschließlich blutsaugende Insekten angelockt, da diese bei nektartrinkenden Insekten fehlen.

Es wurde berichtet, dass der Einsatz von MMT über mehrere Wochen zu einer Minimierung der Gnitzenpopulation führen kann (Cilek & Kline, 2002; Cilek *et al.*, 2003; Cilek & Hallmon, 2005).

Synergetische Effekte können durch eine Kombination mit natürlichen Geruchsstoffen erzielt werden. Eine Studie in Schottland erzielte höhere Fangzahlen von *C. impunctatus* bei zusätzlichem Einsatz von Rinderurin (Bhasin *et al.*, 2001). In einer anderen Feldstudie wurden durch den Gebrauch eines Extraktes aus Büffelhaaren mit dieser Fangmethode ebenfalls höhere Fangzahlen für *C. impunctatus* erreicht (Mands *et al.*, 2004).

##### UV-Lichtfallen

Die Fallen arbeiten mit einer UV-Schwarzlichtröhre (8W), die sich unmittelbar über der Falle befindet und durch die dämmerungs- bzw. nachtaktive Insekten angelockt werden (Anderson & Linhares, 1989; Wieser-Schimpf *et al.*, 1990; Venter & Hermanides, 2006). Ein Ventilator am Ende des Fangtunnels, innerhalb der Falle, sorgt für einen gezielten Einwärts-Luftstrom (Sogwirkung). Die Insekten, die sich im Bereich der UV-Lichtrohre befinden, werden in den Fangbecher gesogen.

Entsprechend dem weiteren Vorhaben wird der Fangbecher entweder mit Wasser gefüllt (BTV-Determination) oder mit 70% Ethanol (Konservierung der Gnitzen, Blutmahlzeitbestimmung). Für Lebendfänge muss statt des Fangbeckers ein Fangnetz eingesetzt werden. Der einwärtsgerichtete Luftstrom verhindert ein Hinausfliegen der

## 2. Literaturübersicht

---

Gnitzen. Erst nach Verschluss des Fangbeutels und Sicherung des Fanges ist ein Ausschalten der Falle möglich.

Die Vorteile dieser Fallen sind die leichte Handhabung und die kompakte Größe. Leider sind diese Fallen auf eine Energiezufuhr angewiesen. Es sollte darauf geachtet werden, dass die Fallen in einer Höhe angebracht werden, die der vermuteten Flughöhe von Gnitzen entspricht. Ansonsten können Unterschiede in den Fangergebnissen entstehen, die nicht der eigentlich vorherrschenden Gnitzenabundanz entsprechen (Venter *et al.*, 2009). Die besten Ergebnisse wurden in einer Höhe von 1,50 m erzielt.

Im Vergleich mit anderen Gnitzenfallen fangen UV-Lichtfallen zwar ein sehr breites Spektrum an verschiedenen Spezies, aber einen wesentlich geringeren Anteil an Gnitzen mit Blutmahlzeit. Bei Untersuchungen im Kontext mit Vektorerkrankungen besteht vor allem ein gesteigertes Interesse an mit Blut vollgesogenen Gnitzen, bezüglich der Übertragung (Virusisolation) und der Vektor–Wirtstier–Beziehung (Blutmahlzeitbestimmung) (EFSA, 2008; Carpenter *et al.*, 2008a, b; Gerry *et al.*, 2009; Viennet *et al.*, 2011).

Da der einzige Stimulus der Falle auf die Gnitzen das UV-Licht ist, schränkt es den Fangzeitraum von den Abend- bis zu den Morgenstunden ein. Wenig effektiv fängt sie bei höherer Lichtintensität oder im Wirkungsradius sekundärer Lichtquellen (Carpenter *et al.*, 2008b; EFSA, 2008; Baylis *et al.*, 2010).

Starker Wind und Regen wirken sich negativ auf die Fangzahlen aus (Taylor, 1962; Meiswinkel *et al.*, 2000; Mellor *et al.*, 2000; Baylis *et al.*, 2004; Carpenter *et al.*, 2008b), was auf eine verminderte Sogwirkung der Falle zurückzuführen ist und ebenfalls die natürlichen Aktivitätsgrenzen von Gnitzen widerspiegelt.

Um die Attraktivität auf Gnitzen zu steigern und einen Einsatz unabhängig von den Lichtverhältnissen durchführen zu können, können zusätzlich CO<sub>2</sub>, Oktenol- und Phenolgemische verwendet werden (Bhasin *et al.*, 2001; Cilek & Kline 2002).

Die aussagekräftigsten Ergebnisse im Hinblick auf die Vektor–Wirtstier–Beziehung werden durch die unmittelbare Anwesenheit von Wirtstieren erzielt (Goffredo & Meiswinkel, 2004; Baylis *et al.*, 2010; Garcia-Saenz *et al.*, 2011; Venter *et al.*, 2011).

### Aspiration

Die Aspiration von Insekten stellt eine der ältesten Fangmethode dar. Aspiratoren gibt es in verschiedenen Ausführungen, generell können Mundaspiratoren (engl.: *pooter*) von elektrischen Aspiratoren unterschieden werden. Die Funktionsweise aller Aspiratoren besteht in einem einwärtsgerichteten Luftstrom, durch den die Insekten in ein Fanggefäß gelangen. Bei der direkten Aspiration werden die Gnitzen direkt vom Tier mittels eines Vakuumaspirators abgesaugt. Dafür wird auf das Absaugrohr ein verschließbarer Fangbecher gesetzt, bei dem der Boden durch feinmaschige Gaze ersetzt wurde.

In den ersten Versuchen wurden dafür Handstaubsauger modifiziert (Braverman, Y., 1988). Mittlerweile kann man verschiedene Aspiratoren für Insekten erwerben. Diese arbeiten sehr leise und mit einem minimalen Sog, so dass die Gnitzen unbeschadet lebend gefangen werden können. Dabei kann die direkte Aspiration mit einer Zeltfalle/Fangzelt („drop trap“) kombiniert werden oder unter freiem Himmel erfolgen.



Vorteil dieser Fangmethode ist, dass man die Gnitzen direkt bei der Aufnahme der Blutmahlzeit fängt, was Aufschluss über die spezies-spezifischen Landungszonen gibt (Braverman, Y., 1988; Gerry *et al.*, 2009; Viennet *et al.*, 2011; Mayo *et al.*, 2012). Von Nachteil ist, dass die Toleranzgrenze für sensible Körperregionen (Kopfbereich) zwischen den Tierarten sehr unterschiedlich ist und die Aspiration erschwert. Gnitzen können ungehindert vom Tier wegfliegen, wenn sie durch Abwehrbewegungen des Tieres aufgeschreckt werden. Nach Sonnenuntergang und bei dichter Körperbehaarung (Wollvlies) muss teilweise „blind“ gefangen werden.

### Drop trap und Aspirator

Bei dieser Fangmethode werden Gnitzen durch das Unterstellen eines Wirtstieres in einem Zelt angelockt. Durch die Kombination mit einem Aspirator können die Gnitzen nach Verschluss des Zeltes vom Zelt bzw. vom Tier gesogen werden. In die Vorgänge der Wirtstierfindung und die Aufnahme einer Blutmahlzeit am Tier wird dabei nicht eingegriffen. Diese Fallen besitzen meist eine Grundfläche von mehreren Quadratmetern, auf denen sich ein oder mehrere Tiere befinden. Der Aufbau gleicht einem Zelt und kann variieren. Das Besondere ist, dass die Seitenwände geöffnet und fixiert werden können und so kein Hindernis für Insekten darstellen. Die Seitenwände müssen so fixiert sein, dass ein zügiges Lösen und Verschließen möglich ist.

In der Kombination mit einem Aspirator können die im Zelt befindlichen Insekten, die keine Möglichkeit besitzen, ins Freie zu gelangen, eingesaugt werden (Fletcher *et al.*, 1988; Carpenter *et al.*, 2008b; van der Rijt *et al.*, 2008; Mullens *et al.*, 2010; Viennet *et al.*, 2011). Vorteil dieser Fangmethode ist, dass man die für jede Tierart spezifischen Insekten fangen kann. Ferner werden mit dieser Methode die höchste Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme gefangen (Viennet *et al.*, 2011). Das prädestiniert diese Fangmethode für den Einsatz zum Test von Ektoparasitika unter Feldbedingungen, sowie für vergleichende Untersuchungen im Hinblick auf die Attraktivität verschiedener Tierarten.

Von Nachteil sind die Größe der Falle und der erhöhte Arbeitsaufwand, der sich aus Aufbau, Tierhandling, den Insektenfängen und Abbau zusammensetzt.

### Klebefallen

Diese Fangmethode wurde von einer französischen Arbeitsgruppe eingesetzt, um die Landungszonen der Gnitzen am Tier zu ermitteln (Viennet *et al.*, 2011).

Zu diesem Zweck wurde feinmaschige Gaze dünn mit Vaseline bestrichen und um verschiedene Hautpartien (Nacken, Rücken, Bauch, Extremitäten) von Schafen fixiert. Die an der Gaze klebenden Gnitzen wurden später im Labor vorsichtig entfernt und mit Alkohol gereinigt.

Positiv ist die exakte Zuweisung der Gnitzen zu der entsprechenden Körperregion zu bewerten. Leider ist die Methode noch nicht ausgereift, sehr arbeitsintensiv, und Vaseline als klebendes Medium nicht optimal (Viennet *et al.*, 2011, 2012).

### Schlupffallen

Bei diesem Fallentyp werden Gnitzen direkt nach der Entwicklung zum Imago gefangen. Sie besitzen eine Kegelform und werden über potentielle Bruthabitate gestellt (Dung,

## 2. Literaturübersicht

---

Ufergrenze). Die Spitze der Falle besitzt eine schmale Öffnung, auf der ein mit etwas Wasser bzw. Ethanol gefüllter Fangbehälter sitzt. Dieser sollte idealerweise hell durchscheinend sein. Wenn sich die Gnitzen unter optimalen Außenbedingungen entwickeln, fliegen sie nach oben dem Licht entgegen. Sie gelangen durch die schmale Öffnung in den Fangbehälter, wo sie auf der Suche nach einem Ausgang früher oder später in die Flüssigkeit fallen (Pajor, 1987; Root & Gerhardt, 1991; Foxi & Delrio, 2010).

Diese Methode ist eventuell wichtig zur Erfassung vertikaler Übertragungswege in der Population, setzt allerdings fundierte Erfahrungen für die Habitatfindung und den optimalen Schlupfzeitraum voraus.

Alternativ können Larven gesammelt und unter Laborbedingungen zum Schlupf gebracht werden. Dafür nimmt man Erde aus dem unmittelbaren Uferbereich und überführt diese in gesättigte Salzlösung. Nachdem Sand und schwerere Bestandteile sedimentiert sind, werden winzige sich windende Larven sichtbar, die zur Oberfläche flottieren. Diese werden mit einem Sieb in ein Behältnis mit Leitungswasser überführt und vollziehen im Labor unter standardisierten Bedingungen die vollständige Metamorphose zur Imago.

### 2.2.2 Bestimmung von Gnitzen

Eine Identifizierung von Gnitzen ist morphologisch oder mit molekularbiologischen Methoden möglich.

Eine morphologische Speziesdifferenzierung setzt unbeschadete Gnitzen, Erfahrungen in der Identifizierung von *Ceratopogonidae* und vorhandene morphologische Unterschiede zwischen den Spezies voraus. Diese Methode besitzt den Vorteil, dass sie fast überall durchführbar und weniger kostenintensiv ist. Von Nachteil ist die subjektive Beurteilung objektiver morphologischer Merkmale, was bei geringer Erfahrung fehleranfällig ist. Molekularbiologische Methoden sind exakt, aber kostenintensiver und nur in gut ausgestatteten Laboren durchführbar. Sie bieten eine gute Möglichkeit, vereinzelte Gnitzen zu identifizieren, wenn man diese Spezies anderweitig nicht eindeutig zuordnen kann oder eine Speziesinteilung nur molekularbiologisch möglich ist, z. B. bei weiblichen *C. obsoletus* / *C. scoticus* (Meiswinkel *et al.*, 2004; Nolan *et al.*, 2007; Mathieu *et al.*, 2007; EFSA, 2008).

#### 2.2.2.1 Morphologische Methoden zur Speziesidentifizierung

Hauptkriterien für die morphologische Unterscheidung der Spezies sind die Flügelzeichnung und die Ausbildung des Geschlechtsapparates. Zusätzlich können die unterschiedliche Länge der Antennensegmente und die Lage beider Augen herangezogen werden, was ein hochauflösendes Stereomikroskop und Erfahrung voraussetzt.

Eine Speziesidentifizierung ist sehr zeitaufwendig und bei einigen Fragestellungen von geringem Interesse. Bei einigen Spezies, den sogenannten „Zwillingsarten“, ist eine morphologische Differenzierung nur bei männlichen Gnitzen möglich. Aus diesem Grund wird bei der morphologischen Untersuchung sehr häufig eine Unterteilung in Artenkomplexe oder Artengruppen vorgenommen. Sie basiert auf dem sich sehr stark ähnelnden phänotypischen Erscheinungsbild einiger Spezies (siehe 2.1.1).

Die Flügel der Gnitzen stellen das morphologische Hauptunterscheidungsmerkmal unterschiedlicher Spezies dar. Sie sind breit, bei einigen Spezies rauchfarben mit einer abgerundeten Flügelspitze (Werner, 2010). Mikrotrichien (Behaarung) sind häufig, manchmal flächendeckend und bei einigen Arten nicht vorhanden. Dieses Merkmal wird häufig zur Speziesidentifizierung herangezogen. Die Calypter (Membranlappen unterhalb des Flügels) sind nicht gefranst und können charakteristische Flecken aufweisen (Werner, 2010).

Innerhalb der Familie der *Ceratopogonidae* besteht ein Grundaufbau des Flügels, unterteilt nach Adern und Zellen (Abb.1). Bei Gnitzen sind die Costal-, die Radial- und die Basaladern stark ausgeprägt. Die Radialader verschmilzt vor der Flügelmitte mit der Costalader und bildet die erste und zweite Radialzelle. Die Transversalader verbindet M1 mit der Radialader und bildet dabei die Basalzelle. Die hinteren Adern sind bei Gnitzen schwach ausgeprägt. Einzelne Speziesunterschiede sind im Detail in einem Identifikationsschlüssel beschrieben (Delécolle, 1985; Rawlings, 1996).

Aus entomologischen Untersuchungen der letzten Jahre im Land Brandenburg (Bauer *et al.*, 2009; Rohrmann, 2009; Mehlhorn *et al.*, 2009; Clausen *et al.*, 2009; Bartsch, 2010; Skrock, 2011) hatte sich herausgestellt, dass es sich bei den dominanten einheimischen Spezies vor allem um *C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. chiopterus*, *C. pulicaris* und *C. punctatus* handelt. Diese Spezies gehören zwei Untergattungen an, die sich auf Grund der Flügelzeichnung gut voneinander unterscheiden lassen.

Charakteristisch für die Untergattung *Avaritia* Fox sind ein dunkler Fleck über der ersten Radialzelle (r1) und ein heller Fleck, der sich über die zweite Radialzelle (r2) erstreckt. Weitere Merkmale sind ein heller Fleck in m4, evtl. auch in m2 und m1, und eine feine Behaarung (Mikrotrichien) im distalen Flügelbereich. Die Gnitzen dieser Untergattung gehören mit einer Körpergröße von 0,7-2 mm zu den kleinsten Gnitzen. Zu dieser Untergattung zählen *C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. chiopterus*, *C. dewulfi* und *C. imicola*. Letztere kann mit der Untergattung *Culicoides* Latreille verwechselt werden, da sie einen zusätzlichen dunklen Fleck in Form einer Sanduhr in r5 besitzt, was ein Charakteristikum für jene ist.

Kennzeichnend für die Untergattung *Culicoides* Latreille sind ebenfalls ein dunkler Fleck über r1, ein heller Fleck über r2 und ein dunkler Fleck in Form einer Sanduhr in r5. Ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal ist die Körpergröße, die mit 2-3 mm deutlich größer ist als die der Untergattung *Avaritia* Fox. Die Flügel sind merklich größer und weisen eine vollständige, dichte Behaarung auf, mit Ausnahme der Basalzelle. Die Spezies *C. pulicaris* und *C. punctatus* sind Vertreter dieser Untergattung.

Weitere Unterschiede zwischen den Arten bestehen in der unterschiedlichen Ausbildung der männlichen (Hypopygium) und der weiblichen (Spermatheken) Geschlechtsmerkmale, was bei der Differenzierung zusätzlich genutzt werden kann.

Während die acht kurzen Segmente der Antennen bei allen Gnitzen gleich sind, bestehen zwischen den Spezies charakteristische Unterschiede bei den fünf längeren distalen Segmenten (Delécolle, 1985).

Die Facettenaugen bieten ebenfalls ein Unterscheidungsmerkmal, da sie je nach Art getrennt sein oder an der Mittellinie zusammenstoßen können (Delécolle, 1985).

## 2. Literaturübersicht

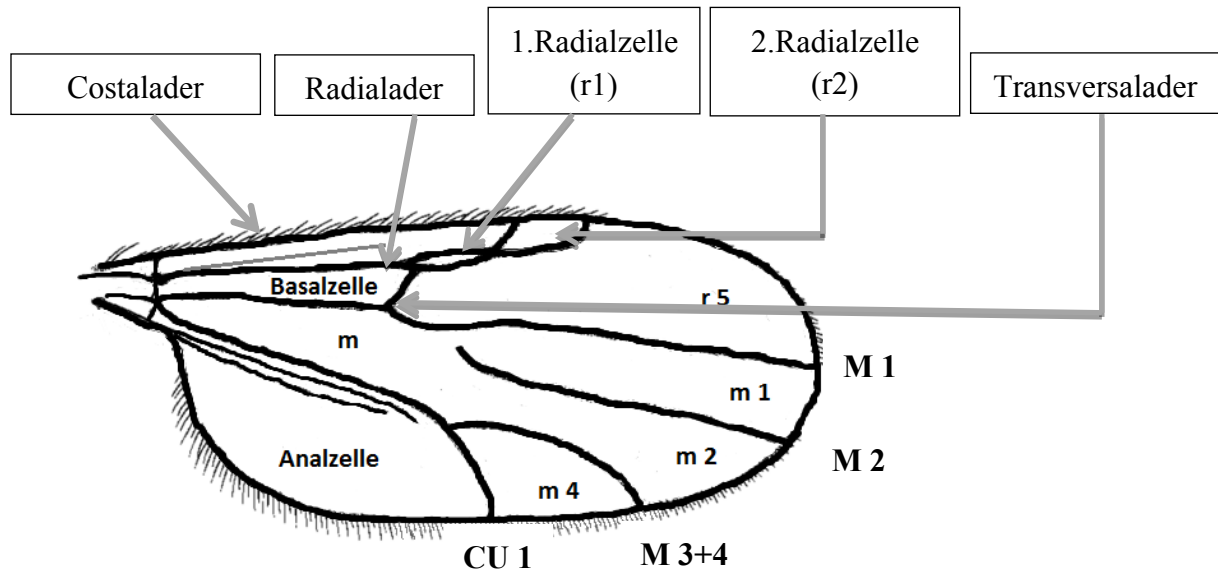


Abbildung 1: Schematische Flügeldarstellung von *Culicoides* spp. (Quelle: FU Berlin)

### 2.2.2.2 Molekularbiologische Methoden zur Speziesidentifizierung

#### PCR (engl.: polymerase chain reaction)

Die PCR ist eine Enzymreaktion, bei der zahlreiche Kopien einer ausgewählten Sequenz eines DNA-Moleküls entstehen. Sie setzt sich immer aus den drei Schritten Denaturierung, Primerhybridisierung und Amplifikation zusammen. Bei der Denaturierung wird der DNA-Doppelstrang in zwei komplementäre Einzelstränge getrennt. Durch eine Temperaturerhöhung auf 94 °C werden die Wasserstoffbrückenbindungen, die die beiden Einzelstränge zusammenhalten, aufgebrochen. Im zweiten Schritt erfolgt bei 50-60 °C ein Anheften der zugesetzten Oligonukleotide, den sog. Primern, an den komplementären Einzelstrang. Zugesetzte Taq-DNA-Polymerasen (thermostabile Enzyme) ergänzen komplementäre Basen zur Matrize (DNA-Einzelstrang), bis zum eingrenzenden Oligonukleotid, bei einer Temperatur von über 70 °C (abhängig von der genutzten Taq-Polymerase). Dadurch wird der DNA-Abschnitt, der sich zwischen beiden Primern befindet, exponentiell verdoppelt. Es müssen Vorwärts(3'-5')- und Rückwärts(5'-3')-Primer zugesetzt werden, damit beide Einzelstränge abgelesen und ergänzt werden können. Dieser Zyklus läuft viele Male hintereinander ab und produziert Millionen von Kopien der Zielsequenz.

Für die Artidentifizierung werden sog. interspezifische Polymorphismen (Sequenzvariationen) auf bestimmten Genabschnitten gesucht, die zwischen den unterschiedlichen Gnitzen Spezies relativ variabel, innerhalb einer Spezies allerdings überwiegend konstant sind (Caterino *et al.*, 2000).

Für Gnitzen wurde die mitochondriale Cytochrom-Oxidase-Untereinheit 1 gewählt (COI) und die ribosomale innere Transkriptionseinheit 1 und 2 (engl.: Internal Transcribed Spacer) (ITS1, ITS2) bestimmt. Diese Genabschnitte werden bereits zur Artidentifizierung anderer Insektenarten genutzt (Depaquit *et al.*, 2000; Cêtre-Sossah *et al.*, 2004; Thanwisai *et al.*, 2006; Dassanayake *et al.*, 2008).

Für zahlreiche *Culicoides* spp. wurden erfolgreich speziesspezifische Primer entwickelt (Cêtre-Sossah *et al.*, 2004; Hoffmann *et al.*, 2009; Vanbinst *et al.*, 2009).

### Multiplex-PCR

Für eine Multiplex-PCR verwendet man für die zu untersuchenden Sequenzen meist einen gattungsspezifischen Rückwärts-Primer und speziesspezifische Vorwärts-Primer. Das hat den Vorteil, dass man mit nur einem PCR-Ansatz das DNA-Material auf viele unterschiedliche Gensequenzen untersuchen kann, was zeit- und geldsparend ist. Der Nachteil kann eine geringere Sensitivität sein, da es zu Wechselwirkungen zwischen den Primern kommen kann (Primer-Dimer-Bildung, Loop-Bildung). Man nutzt einen hochvariablen Genabschnitt, um eindeutige Unterschiede in der Basenabfolge zwischen den unterschiedlichen Spezies zu gewährleisten. Solch eine hochkonservierte Region befindet sich bei Gnitzen in der ITS1-Sequenz (Cêtre-Sossah *et al.*, 2004). In diesem Genabschnitt werden die spezifischen und der unspezifische Primer entwickelt, die den speziesspezifischen Abschnitt flankieren.

Die entstandenen PCR-Produkte werden durch die Gelelektrophorese nach ihrer Molekülmasse getrennt und sichtbar gemacht. Anhand der unterschiedlichen Lauflängendistanz (spezifische Banden), die aus der unterschiedlichen Länge der Amplifikate resultiert, kann eine Speziesdifferenzierung erfolgen.

Multiplex-PCRs wurden für sogenannte Zwillingarten (*Obsoletus*- und *Pulicaris*-Komplex) entwickelt (Mathieu *et al.*, 2007; FLI, 2011).

### Real-time-PCR

Die real-time-PCR funktioniert in vergleichbarer Weise zur PCR, mit der Ausnahme, dass an den Oligonukleotiden Fluorophore (fluoreszierende Moleküle) gekoppelt werden. Durch eine Messung der Fluoreszenz während der PCR, die proportional zur Menge der PCR-Produkte steigt, ist eine quantitative Bestimmung der amplifizierten Matrize möglich (Freeman *et al.*, 1999). Diese Methode wird häufig zum Virusnachweis im Insekt genutzt.

Der Vorteil ist, dass eine qualitative Methode mit einer quantitativen gekoppelt ist. Mit dieser Methode wird das Virus nachgewiesen und eine Aussage getroffen, wie hoch die Virusmenge ist. Von Nachteil ist die meist geringere Sensitivität dieser PCR.

Eine Schweizer Arbeitsgruppe plant die Entwicklung einer real-time Multiplex PCR für Gnitzen (Wenk *et al.*, 2012).

### MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)

Hierbei handelt es sich um ein kombiniertes Verfahren zur Massenanalyse von Verbindungen. Durch einen Laserbeschuss wird die zu untersuchende Materie in ionisierende Moleküle zerlegt und in einem elektrischen Feld beschleunigt. Ein TOF-Massenspektrometer misst die ankommenden Ionen, ein Ionendetektor wandelt die ankommenden Ionen in elektrische Signale um. Dabei werden Proteine, Lipide und Polysaccharide gemessen, die auf Grund ihrer Masse unterschiedliche Geschwindigkeiten aufweisen. Aufgrund der unterschiedlichen Genzusammensetzung ergibt sich für jede Spezies ein charakteristisches Bild („protein mass fingerprints“), welches nach einer Kartierung in einer Datenbank zum Abgleich genutzt werden kann (Kaufmann *et al.*, 2012).

## 2. Literaturübersicht

---

Weil die Blutmahlzeit zu einem veränderten Ergebnis führt, nutzt man für das MALDI-TOF-Verfahren nur den Kopf und den Thorax der Gnitzen (Kaufmann *et al.*, 2012).

Vorteile dieses Verfahrens sind die schnelle Differenzierung (wenige Minuten) und der geringe Aufwand bei Gnitzen ohne Blut im Abdomen für die Probenaufarbeitung. Der Nachteil besteht in den hohen Anschaffungskosten des Massenspektrometers.

### 2.2.2.3 Geschlechtsbestimmung

Für die Geschlechtsidentifizierung nutzt man die bei den männlichen Gnitzen vorhandenen büschelartigen Fortsätze an den Palpen, die unter einem Stereomikroskop sehr deutlich sichtbar sind. Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal ist das grazilere Abdomen der Männchen. Bei einer 400-fachen Vergrößerung sind auch die Genitalien eindeutig zu identifizieren. Bei weiblichen „leeren“ Gnitzen, das heißt ohne Blutmahlzeit im Abdomen, sind die Spermatheken im distalen Teil des Abdomens sichtbar, welche sich speziesspezifisch nach Form und Lage unterscheiden und deshalb für die Identifizierung genutzt werden können. Bei Männchen ist das Hypopygium sichtbar, welches ebenfalls unterschiedliche Ausbildungen zwischen den Spezies aufweist und darum oft morphologisch das einzige Unterscheidungsmerkmal darstellt.

### 2.2.2.4 Paritätsbestimmung

„Parität“ leitet sich vom lateinischen *parere* ab, was gebären bzw. Geburt bedeutet. In der Parasitologie bezieht sich dieser Ausdruck auf eine bereits erfolgte Eiablage.

Beim entomologischen Monitoring ist die Parität von großer Bedeutung, sie lässt Rückschlüsse auf das Alter einer Population und damit auf die Populationsdynamik sowie auf das Risiko einer vektorübertragenen Erkrankung auf die Wirtstiere zu.

Man unterscheidet die Stadien nulliparous (Abb. 2)(wenn noch keine Eiablage erfolgt ist) und parous (bei bereits erfolgter Eiablage). Bei graviden Gnitzen sieht man in Abhängigkeit vom Entwicklungszeitpunkt Eier, die das gesamte Abdomen ausfüllen und zu einem späteren Zeitpunkt abgelegt werden.

Bei *Ceratopogonidae* wird nach erfolgter Eiablage ein sogenanntes Burgunderrot-Pigment gebildet, welches sich im Gewebe des Abdomens einlagert und lebenslang sichtbar bleibt (Dyce, 1968)(Abb. 3). Bei „leeren“ Gnitzen ist dieses Pigment unter dem Mikroskop gut sichtbar. Nullipare Gnitzen kennzeichnet ein durchscheinendes Abdomen. Für gravide Gnitzen ist ein mit Eiern ausgefüllter Bauchraum charakteristisch.



**Abbildung 2:** Gnitze mit durchscheinendem Abdomen, Parität: nulliparous (Quelle: FU Berlin)



**Abbildung 3:** Gnitze mit Burgunderrot Pigment im Abdomen, Parität: parous (Quelle: FU Berlin)

### 2.2.2.5 Wirtstierbestimmung

Bei epidemiologischen Fragestellungen von vektorübertragenen Krankheiten spielt die Wirtstierpräferenz eine zentrale Rolle. Für diesen Zweck können die Blutmahlzeiten der Gnitzen mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden bestimmt werden. Dafür kann eine PCR (Bartsch, 2010; Lassen *et al.*, 2011) oder eine multiplex-speziesspezifische PCR (Garros *et al.*, 2011) benutzt werden.

Wenn mit Hilfe einer PCR gearbeitet wird, nutzt man für den Nachweis von Wirbeltier-DNA Cytochrom-B-Primer, da diese sich nicht an Insekten-DNA binden können (Kirstein & Gray, 1996; Boakye *et al.*, 1999). In der NCBI-Gendatenbank sind zahlreiche tierartsspezifische Cytochrom-B-Sequenzen angegeben, welche genutzt werden können, um spezifische Primer zu entwickeln. Falls keine geeigneten Primerpaare aufgeführt sind, besteht die Möglichkeit, mit einer entsprechenden Software (Primer-BLAST) diese selbst zu entwickeln. Eine PCR wird mit den entsprechenden tierartsspezifischen Primern durchgeführt; im Anschluss werden die Produkte mit Hilfe der Gelelektrophorese aufgetrennt und sichtbar gemacht. Es resultieren tierartsspezifische Banden, entsprechend der unterschiedlichen Größe der PCR-Produkte. Bei der multiplex-speziesspezifischen PCR nutzt man ebenfalls Primer der mitochondrialen Cytochrom-B-Region. Diese Region weist eine Vielzahl interspezifischer Polymorphismen auf, die beim Erstellen eines speziesspezifischen Primers notwendig sind (Hebert *et al.*, 2003). Es werden ein universeller Vorwärtsprimer für alle Tierarten und tierartsspezifische Rückwärtsprimer benutzt. Man wählt diese so aus, dass sie PCR-Produkte amplifizieren, die sich zwischen den verschiedenen Tierarten in mindestens 20 Nukleotiden unterscheiden (Garros *et al.*, 2010).

## 2.3 Bekämpfungsmaßnahmen

Das Ziel aller Bekämpfungsmaßnahmen ist die deutliche Reduzierung der adulten Gnitzen (*Imagines*) und die daraus resultierende Minimierung von Gnitzen übertragenen Krankheiten. Dafür können grundsätzlich zwei Strategien verfolgt werden, die in

## 2. Literaturübersicht

---

Abhängigkeit zur Tierhaltungsform (Weide- oder Stallhaltung) zum Einsatz kommen. Der erste Ansatz verfolgt durch eine deutliche Reduzierung der Gnitzenanzahl eine geringere Belästigung des Bestandes. Das gelingt nur durch eine erfolgreiche Bekämpfung aller Entwicklungsstadien und setzt fundierte Kenntnisse über Habitatbedingungen und Verhaltensweisen der Gnitzen voraus. Der zweite Ansatz beruht auf einem effektiven Schutz der Tiere in einer unveränderten Gnitzenpopulation. Dieser kann durch geeignete Repellentien oder Schutzmaßnahmen im unmittelbaren Umfeld der Tiere erreicht werden.

### 2.3.1 Hygienemaßnahmen

Hygienemaßnahmen sind im Rahmen der allgemeinen Insektenbekämpfung in Stallungen von essentieller Bedeutung. Diese zielen auf eine regelmäßige Beseitigung geeigneter Bruthabitate. Gnitzen legen ihre Eipakete in feuchter Umgebung, sich zersetzendem biologischen Material oder Kot ab (Kettle, 1995). Die Hofflächen sowie die Stallungen sollten möglichst frei von Abfall- und Misthaufen gehalten werden. Mögliche Bruthabitate in Stallungen wie Kot und kontaminierte Einstreu müssen regelmäßig entfernt werden. Die Tränken sollten regelmäßig auf eventuelle Lecks kontrolliert und stehendes Wasser in Beckentränken zweimal täglich gewechselt werden. Alte Futterreste sollten vor der erneuten Fütterung entfernt werden. Die Futtermittel sind so zu lagern, dass eine Kontamination mit Insekten möglichst verhindert wird. Das gelingt, indem man Futtermittelbehälter verschließt und Silagen gut abdeckt (AGRAVIS, 2008; Eckert *et al.*, 2008). Festmist sollte möglichst weit entfernt von den Tierstallungen gelagert und regelmäßig umgepackt, verdichtet und abtransportiert werden.

Durch ein optimales Stallklima mit guter Luftzirkulation kann zusätzlich eine Minimierung der Gnitzen erfolgen. Die fragilen Insekten können bereits bei geringen Windstärken nicht mehr selbständig fliegen und kommen in gut belüfteten Stallungen weniger häufig vor. Durch das Trockenlegen von Feuchthabitaten im näheren Umkreis der Stallungen könnten Gnitzen zusätzlich effektiv bekämpft werden (Braverman, 1989; Carpenter *et al.*, 2008a). Weil diese Maßnahme ebenfalls bestehende Biotop zerstört, ist sie aus ökologischer Sicht in den meisten Fällen nicht vertretbar.

Durch ein gezieltes Management sind Hygienemaßnahmen auch auf Weiden durchführbar. Die Futtertröge und Tränken sollten sauber gehalten werden. Durch einen regelmäßigen Wechsel der Weidefläche wird die Belastung mit Kot durch Weidetiere minimiert. Fäkalien stellen ein ideales Bruthabitat für Gnitzen dar und sind deshalb für diese sehr attraktiv. Nach Möglichkeit sollten sehr feuchte Weiden mit stehenden Gewässern im direkten Umfeld gemieden werden.



### 2.3.2 Physikalische Verfahren

Zu den häufigsten physikalischen Bekämpfungsmethoden zählen der Einsatz von Insektenfallen, die Nutzung feinmaschiger Moskitonetze sowie das Aufstallen der Tiere über Nacht. Es gibt zahlreiche kommerzielle Insektenfallen, die mit UV-Licht, Duftstoffen oder einer Kombination aus beiden Lockmitteln arbeiten (siehe auch 2.2.1). Studien zeigen eine Reduzierung der Gnitzenpopulation durch den Einsatz von Mosquito Magnet<sup>®</sup>-Fallen (Cilek *et al.*, 2003; Cilek & Hallmon, 2005). Diese sind als alleinige Maßnahme bei hohen Abundanzen nicht ausreichend (Carpenter *et al.*, 2008a; Eckert *et al.*, 2008). Durch das Anbringen feinmaschiger Gaze (Lochgröße 200 µm) an Stallfenstern und Stalltüren kann der Einflug neuer Gnitzen signifikant reduziert werden (Meiswinkel *et al.*, 2000). Diese Maßnahme kann allerdings das Wohlbefinden der Tiere negativ beeinflussen, da es zu einer verminderten Luftzirkulation und zu einem reduzierten Tageslichteinfall führt (Carpenter *et al.*, 2008a). Berücksichtigt werden muss außerdem, dass kein Einfluss auf bereits bestehende Stallpopulationen ausgeübt wird. Ein endophiles Verhalten wurde bereits für *C. dewulfi*, *C. obsoletus* (Kühlhorn, 1964; Baldet *et al.*, 2008; Meiswinkel *et al.*, 2008b) und *C. pulicaris* (Bauer *et al.*, 2009; Rohrman, 2009; Skrock, 2011) beschrieben.

Denkbar wäre, dass weiße Wandfarben sowie eine Beleuchtung in dunklen Stallabschnitten weitere Bekämpfungsstrategien bei den vorwiegend dämmerungsaktiven Gnitzen darstellen könnten (Rohrman, 2009).

Das Aufstallen von Tieren von vor Sonnenuntergang bis nach Sonnenaufgang stellt eine Schutzmaßnahme dar, die den Kontakt mit dem Vektor zur Hauptaktivitätszeit verhindern soll. Der Erfolg dieser Schutzmaßnahme ist abhängig von der Bauweise, des Stalltyps und ist nur bei vorwiegend geschlossenen Ställen sinnvoll. In zahlreichen Studien wurden verschiedene Tierarten zum Schutz vor Gnitzen erfolgreich über Nacht eingestallt (Buckley, 1938; Standfast & Dyce, 1972; Hoshino, 1985; Cheah & Rajamananickam, 1991; Barnard, 1997; Meiswinkel *et al.*, 2000; Doherty *et al.*, 2004; Melville *et al.*, 2005a, b; Baldet *et al.*, 2008; Baylis *et al.*, 2010). In diesen Studien wurden in den Stallungen ebenfalls Gnitzen gefangen, allerdings war die Gnitzenanzahl um ein Vielfaches geringer als in den Außenfängen. Die Aufstallung war besonders erfolgreich, wenn der Hauptvektor der vorherrschenden Gnitzenspezies eine exophile Lebensweise aufweist, wie z. B. *C. imicola*. Ebenfalls musste der Stall so umgebaut werden, dass das Eindringen von Gnitzen verhindert wurde. Das kann durch verschließbare Fenster und Türen bzw. in offenen Bereichen durch die Installation feinmaschiger Insektennetze realisiert werden.

In alten Stallanlagen mit einer hohen Besatzdichte von Tieren wurde das Vorhandensein stalleigener Gnitzenpopulationen beobachtet. In diesem Fall ist eine Aufstallung der Tiere eine erfolglose Maßnahme zum Schutz gegenüber Gnitzen (Bauer *et al.*, 2009).

## 2. Literaturübersicht

---

### 2.3.3 Chemische Verfahren

Gegen Insekten können zahlreiche Substanzen mit repellenter oder insektizider Wirkung eingesetzt werden. Sie werden allgemein als Ektoparasitika zusammengefasst. Insektizide können als Kontakt- oder Fraßgifte sowie als Insektenwachstumsregulatoren wirken. Sie können am Tier, in der unmittelbaren Umgebung, in Form von imprägnierten Netzen oder direkt in Bruthabitaten von Gnitzen eingesetzt werden. Der Einsatz bei lebensmittelliefernden Tieren ist in der EU limitiert. Es dürfen nur zugelassene Medikamente, mit Einhaltung der Wartezeit, angewendet werden, da ansonsten die Gefahr von Rückständen in Lebensmitteln besteht (Scholtysik & Steuber, 2002). Die am häufigsten eingesetzten Insektizide am Tier sind organische Phosphorsäureester, Pyrethroide und makrozyklische Laktone (siehe 2.3.3.2). Insektenwachstumsregulatoren wirken auf Entwicklungsstadien, wobei adulte Stadien nicht abgetötet werden. Zurzeit gibt es kein zugelassenes Präparat für die Bekämpfung von Gnitzen am Tier.

#### 2.3.3.1 Repellentien

Als Repellentien bezeichnet man Stoffe, die eine abstossene Wirkung auf bestimmte Organismen ausüben, ohne diese zu töten.

Die früher häufig eingesetzte Organochlorverbindung Diethyltoluamid (DEET) ist in Europa für lebensmittelliefernde Tiere verboten, da es durch eine jahrzehntelange Speicherung im Fettgewebe zu einer Anreicherung in der Nahrungsmittelkette kommen kann. Für die Anwendung beim Menschen sind sie als Inhaltsstoffe der meisten Mückenrepellentien (Autan<sup>®</sup>, Nobite<sup>®</sup>), z. B. im Rahmen der Malariaphylaxe, vertreten.

In der Studie von Braverman & Chizov-Ginzburg (1997, 1998) wurden verschiedene Repellentien gegen *C. imicola* an Rindern getestet. Pyrethroid-T erzielte mit 9h und DEET einen effektiven abstoßenden Effekt über 4h gegenüber Gnitzen. Vergleichende Resultate wurden mit den Substanzen Ethyl-Butyl-Acetyl-Amino-Propionat, Icaridin und Para-Menthan-Diol erzielt, die in der Studie von Nentwig (2003) und Badolo *et al.* (2004) untersucht worden sind.

Unter Repellentien werden ferner auch Substanzen verstanden, die die Lockstoffwirkung von Körpersekreten überdecken und die Haut mit einem für Insekten abstoßenden Duft umgeben. Die häufigsten Substanzen zählen zu den ätherischen Ölen. Durchgeführte Studien zeigten nach der Anwendung von Repellentien auf Eukalyptusölbasis (Trigg, 1996) bzw. Niembaumöl (Blackwell *et al.*, 2004) an Menschen einen bis zu 10h anhaltenden Schutz gegenüber *C. impunctatus*. Dagegen bewirkte der Einsatz von Öl des Zitronen-Eukalyptusbaumes (Mosigard<sup>®</sup>) eine gesteigerte Attraktivität gegenüber Gnitzen (Braverman *et al.*, 1999, 2000). Die Wirksamkeit durch die Anwendung am Tier ist unsicher, ferner besteht für alle ätherischen Öle ein allergenes Potential (Ungemach *et al.*, 2006).

### 2.3.3.2 Insektizide

Insektizide sind Stoffe, die den Stoffwechsel bzw. die Nervenfunktion von Insekten derart stören, dass diese in der Folge daran sterben. Beim Einsatz von Insektiziden ist darauf zu achten, dass diese eine geringe Warmblüttoxizität aufweisen, generell nur gegen die Zielinsekten gerichtet sind und keine Wirkung gegenüber Nutzinsekten wie z. B. Bienen besitzen. Ferner müssen Insektizide ökologisch rasch abbaubar sein und sollten zu keiner Kumulation in der Umwelt führen. Generell sollten so wenig Anwendungen wie möglich mit einer ausreichend hohen Dosierung durchgeführt werden. Es ist auf einen regelmäßigen Wirkstoffwechsel zu achten, um Resistenzen vorzubeugen. Ferner muss auf geeignete Schutzmaßnahmen beim Verbringen der Substanzen geachtet werden, da eingeatmete Pyrethroide beim Menschen Allergien und Carbamate sowie Organophosphate Kopfschmerzen, Schwindel und Depressionen auslösen können (Ungemach, 1994). Der Hauptanteil der Insektizide entstammt den Wirkstoffgruppen der Pyrethroide und der makrozyklischen Laktonen. Eine Gesamtübersicht der zugelassenen Wirkstoffgruppen für Wiederkäuer ist in Tabelle 3 dargestellt.

#### Triazapentadiene

Triazapentadiene gehören zu den Formaminderivaten (Kunkel, 1997). Veterinärmedizinisch ist der Wirkstoff Amitraz von Bedeutung. Die Wirkung beruht auf einem antagonistischen Effekt der Octopaminrezeptoren im ZNS von Arthropoden. Als Konsequenz sind Übererregbarkeit, abnormes Verhalten, Paralyse und Tod des Parasiten zu beobachten (Ungemach, 1994; Frey & Löscher, 2007). Weil die insektizide Wirkung nur unzureichend ist, findet Amitraz vor allem als Akarizid Anwendung gegenüber Milben, Läusen und Zecken für die äußerliche Anwendung beim Hund.

#### Organische Phosphorsäureester (Organophosphate)

Organische Phosphorsäureester sind Ester oder Amide der Phosphorsäure, der Phosphonsäure oder der Phosphinsäure (Frey & Löscher, 2007). Es wirkt als Kontakt-, Fraß- und Atemgift (Meermann, 1978; Liebisch, 1980). Organophosphate hemmen die Acetylcholinesterase irreversibel, ein Enzym, das den Neurotransmitter Acetylcholin im synaptischen Spalt abbaut. Da sie Acetylcholin strukturell ähnlich sind, binden sie sich an das Enzym, phosphorylieren es und verhindern somit eine Bindung mit Acetylcholin. Eine endogene Acetylcholinintoxikation führt zu einer depolarisierten Muskelrelaxation mit spastischer Paralyse und nachfolgendem Tod (Adam & Christ, 1987; Kühnert, 1991; Blagburn & Lindsay, 1995).

#### Pyrethrine

Pyrethrine sind natürlich vorkommende Insektizide, die aus Extrakten einiger Chrysanthemenarten gewonnen werden (Frey & Löscher, 2007). Als Kontaktgifte penetrieren sie passiv durch die Insektenkcuticula und verteilen sich im gesamten Körper. Sie hemmen spannungsabhängige Natriumkanäle von Neuronen irreversibel. Dadurch kommt es zu einer Dauerdepolarisation der Membran, als Folge eines anhaltenden Natriumeinstromes in die

## 2. Literaturübersicht

---

Zelle. Die Insekten zeigen eine Hyperlokomotion, gefolgt von Koordinationsstörungen, die den sogenannten „Knock-down-Effekt“ beschreiben. In diesem Stadium sind die Insekten nicht mehr in der Lage zu fliegen und sind bewegungsunfähig. Bei längerer Exposition mit dem Insektizid führt es zum Tod des Insekts (Frey & Löscher, 2007).

Pyrethrine sind instabil gegenüber Licht und Sauerstoff. Das hat zur Folge, dass sie nur eine kurze paralytische Wirkung besitzen, aber dafür sehr gut ökologisch abbaubar sind.

### Pyrethroide

Pyrethroide sind synthetische Abkömmlinge der Pyrethrine. Chemisch sind sie Ester der Cyclopropan-carbonsäure. Sie werden in Typ-1- und Typ-2-Pyrethroide unterteilt.

Die Typ-1-Pyrethroide besitzen keine  $\alpha$ -Cyano-Gruppe und können dadurch von Esterhydrolasen der Arthropoden schneller abgebaut werden (Resistenzmechanismus). Die neueren Typ-2-Pyrethroide besitzen eine  $\alpha$ -Cyano-Gruppe, die zu einer erhöhten Toxizität und einem langsameren Abbau in den Insekten und in der Natur führt (Frey & Löscher, 2007). Sie besitzen die gleiche Pharmakodynamik wie die natürlichen Pyrethrine.

### Macrolide (makrozyklische Laktone)

Macrolide werden auch unter dem Sammelbegriff Endectocide zusammengefasst, da sie sowohl gegen Endo- als auch gegen Ektoparasiten wirksam sind. Zu dieser Wirkstoffgruppe zählen die Avermectine, die ein natürliches Stoffwechselprodukt des Bodenorganismus *Streptomyces avermitilis* sind. Heute werden sie partialsynthetisch hergestellt.

Avermectine binden sich an glutamat-aktivierte Chloridkanäle. Dadurch bleiben diese geöffnet, ein stetiger Cl-Ionen-Einstrom sorgt für eine Hyperpolarisation der Zellmembran (Frey & Löscher, 2007). Die Folge ist eine Blockierung der Erregungsleitung in Muskeln und Neuronen von Ascariden und in Insektenneuronen (Frey & Löscher, 2007). Das führt zu einer schlaffen Paralyse und zum Tod des Organismus.

### Carbamate

Carbamate sind auf Grund ihrer stark toxischen Eigenschaften gegenüber Fischen und Bienen bis auf das äußerlich im Heimtierbereich anzuwendende Propoxur nicht mehr zugelassen (Scholtysik & Steuber, 2002).

**Tabelle 3:** Übersicht zugelassener Ektoparasitika für Wiederkäuer in Deutschland (Quelle: Vetidata)

Wirkstoffgruppe	Wirkstoff	Handelsname	Indikation
Triazapentadiene	Amitraz	Kein Präparat	
Organische Phosphorsäureester	Phoxim	Sebacil <sup>®</sup>	Räudemilben, Zecken ( <i>Ixodes</i> , <i>Haemaphysalis</i> , <i>Rhipicephalus</i> ), Läuse, Haarlinge
Pyrethrine	Pyrethrum-Extrakt	Kein Präparat	
Typ-1-Pyrethroide	Alpha-Cypermethrin	Kein Präparat	
	Cypermethrin	Flectron <sup>®</sup>	Stechende und nichtstechende
	Permethrin	Auriplak <sup>®</sup>	
Typ-2-Pyrethroide	Cyfluthrin	Bayofly <sup>®</sup> pour on	Weidefliegen, Bremsen
	Cypermethrin	Flectron <sup>®</sup>	Stechende und nichtstechende Weidefliegen, Bremsen, Läuse, Haarlinge, Schaflausfliegen
	Deltamethrin	Butox <sup>®</sup> pour on Latroxin Delta <sup>®</sup>	
	Fenvalerat	Kein Präparat	
	Flumethrin	Bayticol <sup>®</sup> pour on	Räudemilben, Zecken ( <i>Ixodes</i> , <i>Haemaphysalis</i> , <i>Rhipicephalus</i> ), Läuse, Haarlinge
Makrozyklische Laktone	Abamectin	Kein Präparat	
	Doramectin	Dectomax <sup>®</sup>	Magen-Darm-Rundwürmer, Lungenwürmer, Augenwürmer, Dassellarven, Läuse, Räudemilben
	Eprinomectin	Eprinex <sup>®</sup> pour on	Magen-Darm-Rundwürmer, Lungenwürmer, Augenwürmer, Dassellarven, Läuse, Räudemilben, Haarlinge, Kleine Weidestechfliege
	Ivermectin	Bimectin Fluke <sup>®</sup> ,	
		Chanectin <sup>®</sup> ,	
Closamectin <sup>®</sup> ,			
	Diapec <sup>®</sup> , Iverpour <sup>®</sup> pour on, Ivomec <sup>®</sup> , Levatum Fluke <sup>®</sup> , Noramectin <sup>®</sup> , Paramectin <sup>®</sup> pour on, Qualimec <sup>®</sup> pour on, Virbamec <sup>®</sup> ,		
Moxidectin	Cydectin <sup>®</sup>		

## 2. Literaturübersicht

---

### 2.3.3.3 Insektenwachstumsregulatoren

Diese Wirkstoffgruppe besitzt nur eine geringe Warmblütertoxizität. Die Substanzen kann man in zwei große Gruppen, den Chitinsynthesehemmer und die synthetischen Juvenilhormonagonisten, einteilen.

Die Chitinsynthesehemmer sind Derivate der Benzoylphenyl-Harnstoffe, die in die Chitinpolymerisation eingreifen. Dadurch können Chitinketten nicht in die Epidermis eingelagert werden, was zu Deformationen, einer unzureichenden Ausbildung des chitinösen Eizahnes und zur Hemmung der larvalen Häutung führt (Frey & Löscher, 2007).

Die synthetischen Juvenilhormonagonisten binden sich an den entsprechenden Rezeptor. In der gesamten Metamorphose besteht ein Wechselspiel zwischen dem Juvenilhormon und dem Häutungshormon. Die agonistische Bindung dieser synthetischen Hormone kann durch larvale Esterasen nicht inaktiviert werden und führt zu einer irreversiblen Störung der Hormonkaskade. Dadurch kommt es zu einer Unterbrechung der Entwicklung zum Imago (Frey & Löscher, 2007).

### 2.3.4 Studien zur Wirksamkeitsüberprüfung von Insektiziden gegenüber Gnitzen

#### 2.3.4.1 Laboruntersuchungen

Die Wirksamkeit von Avermectinen wurde in den Studien von Holbrook & Mullens (1994), Sollai *et al.* (2007) und Reeves *et al.* (2009) untersucht.

Holbrook & Mullens (1994) haben Schafblut mit Ivermectin in Konzentrationen von 0-1,0 µg/ml versetzt. Über eine Membranfütterung wurden im Labor gezüchtete *C. sonorensis* mit diesem behandelten Blut gefüttert. Für diese Dosierungen konnte kein signifikanter Effekt auf die Mortalität ermittelt werden. Alle Dosierungen korrelierten allerdings negativ mit der Eiproduktion. Bei 1 µg/ml blieb die Eiproduktion komplett aus. Für die empfohlene Dosierung von 200 µg/kg Ivermectin beim Tier werden Serumkonzentrationen erreicht, die keine nennenswerte Wirkung auf *C. sonorensis* ausüben.

Sollai *et al.* (2007) haben mit Hilfe eines Luft-Stimulations-Messgerätes (Modell CS-55; Syntech, Hilversum, Niederlande) den Effekt von Avermectinen auf den Geruchssinn von Gnitzen gemessen. In dieses Gerät wurden Antennen von *C. imicola* vor einem kontinuierlichen Luftstrom von 500 ml/min positioniert. Alle 30-60 s wurde für 2 s über ein getränktes Filterpapier in den Luftstrom der Geruchsstimulus zugefügt. Mit Elektroden wurde das veränderte Transepithelialpotential an der Oberfläche der Antennen gemessen und über ein Oszilloskop dargestellt. Es wurden Butanol und Milchsäure getestet, die als Kairomone identifiziert wurden und daher eine anziehende Wirkung auf Gnitzen ausüben. In weiteren Versuchen wurden die Avermectine, Dectomax<sup>®</sup> und Ivomec<sup>®</sup>, isoliert oder zusammen mit Butanol und Milchsäure verabreicht. Im dritten Teilversuch wurde der Luftstrom an 100 mg

Schafwolle vorbeigeführt. Dafür wurden die Schafe zuvor mit Dectomax<sup>®</sup> oder Ivomec<sup>®</sup> in der empfohlenen Dosis s. c. behandelt. Beide Avermectine minimierten den vorher eindeutigen Amplitudenausschlag von Butanol und Milchsäure. Eine signifikante Abnahme der Reaktion um 80% konnte einen Tag nach der Behandlung durch beide Avermectine erzielt werden.

Die Studie von Reeves *et al.* (2009) hatte die Beantwortung der Frage zum Ziel, ob die Anwendung von Ivermectin bei Schafen, Elchen und Ponys wirksam gegen *C. sonorensis* ist und ob Ivermectin die Vektorkompetenz für BTV-17 und EHDV-2 in Gnitzen verändert. Dafür wurden insgesamt sechs Schafe mit 400 µg/kg Ivermectin s. c., fünf Elche mit 200 µg/kg Ivermectin s. c. + 2000 µg/kg Clorsulon s. c. (Sulfonamid) und sechs Ponys mit 200 µg/kg Ivermectin p. o. behandelt. Alle Tiere mussten vor der Studie seronegativ für BTV-17 und EHDV-2 sein. Blutentnahmen erfolgten bei allen Tieren unmittelbar vor und 24h nach der Behandlung. Bei den Ponys erfolgte eine weitere Blutentnahme nach dem 4. Tag und bei den Schafen am 11. Tag nach der Behandlung. Über eine Membranfütterung wurde die Laborkolonie *C. sonorensis* mit behandeltem bzw. unbehandeltem Blut gefüttert und im Anschluss für weitere 12d bei 24 °C gehalten. Ab dem dritten Tag wurde die Mortalität der Gnitzen bestimmt. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede in der Mortalitätsrate zwischen der behandelten und der unbehandelten Gruppe. Durch die Kombination mit Clorsulon konnte keine erhöhte Mortalität erzielt werden. Im zweiten Versuch wurden BTV-17 und EHDV-2 mit behandeltem und unbehandeltem Blut im Verhältnis 1:1 gemischt und an *C. sonorensis* verfüttert. Nach 12d wurden die Gnitzen getötet, homogenisiert und die RNA des Virus mit Hilfe einer real-time-PCR bestimmt. In einer Dosierung von 400 µg/kg Ivermectin wird die Aufnahme von BTV-17 bei *C. sonorensis* signifikant reduziert (>40%). Für EHDV-2 konnte mit Ivermectin keine verminderte Infektion der Gnitzen ermittelt werden.

Die Wirkung von Deltamethrin auf Gnitzen wurde in Studien von Mehlhorn *et al.* (2008a), Schmahl *et al.* (2009a, 2009c) und Venail *et al.* (2011) untersucht. Diese Studien wurden unter standardisierten Laborbedingungen durchgeführt. Dadurch konnte eine Wirksamkeit von Pyrethroiden gegenüber Gnitzen bestätigt werden. Diese Resultate allein waren jedoch für eine Registrierung und Zulassung auf Grund fehlender Feldstudien mit adäquaten Ergebnissen nicht ausreichend.

In der Studie von Mehlhorn *et al.* (2008a) wurden sechs Rinder mit einem Körpergewicht von 400 kg mit 30 ml Butox<sup>®</sup> und sieben Schafe mit einem Körpergewicht von 60 kg mit 10 ml Butox<sup>®</sup> behandelt. Bei den Schafen wurden 2 ml auf den Nacken und jeweils 4 ml auf jeder Flanke aufgetragen. Mit UV-Lichtfallen wurden einen Abend zuvor Gnitzen, hauptsächlich der Spezies *C. obsoletus*, für die Bioassays gefangen. Es wurden Haare der distalen Gliedmaßen im wöchentlichen Abstand von der 1.-5. Woche nach der Behandlung bei den Tieren abgeschnitten. In einer Kontaktbox im Labor wurden 4-10 Gnitzen und 3-10 Kontrollinsekten (Stechmücken, Käfer) mit den Haaren für 15s, 30s, 1 min und 2 min in Kontakt gebracht. Im Anschluss wurden die Gnitzen in eine geschlossene Petrischale überführt und für die nächsten Stunden unter dem Stereomikroskop beobachtet. Das Präparat

## 2. Literaturübersicht

---

erzielt bereits nach einer Expositionszeit von 15s bei beiden Tierarten eine 100%-ige Mortalitätsrate bis zu vier Wochen nach der Behandlung. Die Gnitzen starben durch den Kontakt mit den behandelten Schafhaaren wesentlich schneller als durch den Kontakt mit behandelten Rinderhaaren. In den Kontrollgruppen überlebten *Culicoides* spp. bei einer Exposition von 15s bis 2min zu 100 Prozent.

Schmahl *et al.* (2009a) testete die Wirksamkeit der Deltamethrinpräparate (Butox<sup>®</sup> und Versatrine<sup>®</sup>) an Rindern und Schafen. Neun Rinder mit einem Gewicht von 400 kg wurden mit 30 ml Butox<sup>®</sup> und 20 ml bzw. 10 ml Versatrine<sup>®</sup> (10 mg/ml) pour on behandelt. Neun Schafe mit jeweils 60 kg wurden mit 10 ml Butox<sup>®</sup> und 10 ml bzw. 5 ml Versatrine<sup>®</sup> pour on behandelt. Die Studie wurde nach dem gleichen Studiendesign durchgeführt wie von Mehlhorn *et al.* (2008) beschrieben. Die Gnitzen reagierten auf beide Präparate hochempfindlich, einschließlich 5 Wochen nach der Behandlung. Butox<sup>®</sup> erzielte bei einer kurzen Kontaktzeit von 15s und 30s eine schnellere Wirkung als Versatrine<sup>®</sup>. Bei einer längeren Kontaktzeit (60s und 120s) bewirkte Versatrine<sup>®</sup> die besseren Ergebnisse.

In einer weiteren Studie von Schmahl *et al.* (2009c) sollte überprüft werden, ob Regen die Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> gegenüber Gnitzen reduziert. Vier Rinder und vier Schafe wurden gemäß der empfohlenen Dosis mit Butox<sup>®</sup> behandelt. Jeweils zwei Tiere wurden zweimal wöchentlich mit Leitungswasser benetzt. Es wurden Haarproben mit Wildfängen von *Culicoides* spp. in Anlehnung an die Studie von Mehlhorn *et al.* (2008) durchgeführt. Bis zu vier Wochen konnte bei beiden Tierarten eine 100%-ige Mortalität bei jeder beliebigen Kontaktzeit zwischen Gnitzen und behandelten Haaren erzielt werden. Bei nassen Rindern verkürzte sich zum Teil die Zeit, bis zu der der Tod der Gnitzen eingetreten war. Bei nassen Schafen verlängerte sie sich deutlich. Von einem Effektivitätsverlust von Butox<sup>®</sup> durch Regen kann anhand der Ergebnisse nicht ausgegangen werden.

Venail *et al.* (2011) untersuchten die Wirksamkeit von Deltamethrin (Butox<sup>®</sup>) gegenüber unterschiedlicher Gnitzenpezies. Dafür wurden zum einen im Labor gezüchtete *C. nubeculosus* und zum anderen Wildfänge von *C. imicola* und *C. obsoletus* genutzt. In jedem Testdurchgang wurden 15 nullipare Gnitzen 1h lang mit in Deltamethrin getränkten Filterpapieren unterschiedlicher Konzentration inkubiert. Der Laborstamm wurde mit acht verschiedenen Butox<sup>®</sup>-Konzentrationen (0,0003-0,0035%), die Feldfänge mit vier verschiedenen Konzentrationen (0,0001-0,005%) in Kontakt gebracht. Nach 1h und nach 24h wurde die Mortalitätsrate ermittelt. Der Laborstamm *C. nubeculosus* war wesentlich sensitiver gegenüber Deltamethrin (LC<sub>90</sub> = 0,00106%) als *C. imicola* (LC<sub>90</sub> = 0,00773%) und *C. obsoletus* (LC<sub>90</sub> = 0,00203%).

Im Feldversuch wurden 12 Merinoschafe (40 kg KGW) mit 10 ml Butox<sup>®</sup> behandelt. Alle Schafe wurden 15d zuvor geschoren. Am 1., 4., 6. und 13. Tag nach der Behandlung wurden 10 nullipare *C. nubeculosus* in ein Kontaktgefäß überführt und an die Oberschenkel der Schafe fixiert. Das Kontaktgefäß war ein modifizierter Deckel (Ø = 5 cm, h = 1,5 cm), der an der Unterseite offen war und einen direkten Kontakt zur Haut ermöglichte. Die Oberseite war mit feinmaschiger Gaze verschlossen. Nach einer Expositionszeit von 3 min wurden die Gnitzen in eine Beobachtungsbox überführt und die Mortalität nach 1h und nach 24h ermittelt. Die höchste Mortalität mit 45% wurde am 4d p. t. in der Behandlungsgruppe



dokumentiert, bei nahezu identisch hoher Saugrate zur Kontrollgruppe. Der letale Effekt des Präparates hielt weniger als 10d an.

Die Wirksamkeit von Permethrin wurde in Studien von Mullens (1993), Mullens *et al.* (2000) und Schmahl *et al.* (2009b) untersucht.

In der Studie von Mullens (1993) wurden drei Ziegen mit 3-4 ml Permethrin (65 %) entlang der Rückenlinie pour on behandelt. Haare wurden von verschiedenen Körperregionen (Kopf, Rücken, Bauch) vor der Behandlung (Kontrolle) und 4-6, 18-20, 39-41 und 67-69d nach der Behandlung genommen. Der Laborstamm *C. sonorensis* wurde mit Hilfe einer künstlichen Membranfütterung für 45 min mit den behandelten Haaren in Kontakt gebracht.

Kopfhaare reduzierten bis zum 18.-20. Tag die Blutaufnahme von Gnitzen um bis zu 98 %. Die Bauchhaare erzielten eine signifikante Minderung der Saugrate der Gnitzen nur am 4.-6. Tag nach der Behandlung. Allein die Rückenhaare führten über den gesamten Studienzeitraum zu einer signifikanten Reduktion der Blutaufnahme durch Gnitzen.

Mit einem analogen Studiendesign wurde von Mullens *et al.* (2000) eine Wirksamkeitsstudie von Permethrin und Pirimiphos-methyl (OP) an Rinder gegenüber der Laborkolonie *C. sonorensis* durchgeführt. Die Kälber wurden entweder mit 3 ml/45kg Permethrin (5 %) oder mit 10 ml/45kg Pirimiphos-methyl (27 %) pour on behandelt. Die Haare wurden vor der Behandlung, am 3., 7., 14., 21., 28., 42. und 56. Tag p. t. vom Rücken, den Flanken und dem Bauch genommen. 140-200 Gnitzen wurden mit Hilfe einer künstlichen Fütterung für 30 min mit den Tierhaaren in Kontakt gebracht. Die Mortalität wurde nach 30 min ermittelt. Permethrin zeigte eine insektizide Wirkung bis zum 28. Tag, Pirimiphos-methyl bis zum 14. Tag nach Behandlung. Die Rückenhaare wiesen eine längere Wirksamkeit auf als Haare anderer Körperregionen. Beide Insektizide konnten über den gesamten Körper (gepoolte Proben) keine signifikante Reduzierung an Gnitzen nach BA erzielen. Gnitzen mit Blut im Abdomen erholten sich nach anfänglichem „Knock down“-Effekt durch Kontakt mit permethrin-behandelten Haaren und legten zum späteren Zeitpunkt Eier, die sich in der Anzahl im Vergleich zur Kontrolle nicht unterschieden.

In der Laborstudie von Schmahl *et al.* (2009b) wurden die Präparate Flypor<sup>®</sup> (4 % Permethrin), Arkofly<sup>®</sup> (60 mg/ml Fenvalerate) und Acadrex 60<sup>®</sup> (60 mg/ml Fenvalerate) an Rindern und Schafen gegenüber Gnitzen getestet. Dafür wurde das Studiendesign von Mehlhorn *et al.* (2008) genutzt. Es wurden drei Gruppen von Rindern (ca. 400 kg) und Schafen (60 kg) gebildet, die mit den unterschiedlichen Präparaten behandelt worden waren. Flypor<sup>®</sup> (40 ml Rind / 10 ml Schaf) wurde als pour on entlang der Rückenlinie appliziert. Mit Arkofly<sup>®</sup> wurden der Rücken, die Flanken und der Bauch jeweils 5s lang besprüht. Von Acadrex 60<sup>®</sup> wurde eine Lösung hergestellt (20 ml Acadrex/1l Wasser) und das komplette Tier damit besprüht. Alle Präparate erzielten bei beiden Tierarten bis zu 5 Wochen nach der Behandlung eine 99-100%-ige Mortalitätsrate der Gnitzen im Haar-Bioassay. Behandelte Schafhaare bewirkten einen wesentlichen schnelleren letalen Effekt als Rinderhaare. Arkofly<sup>®</sup> wirkte bei Schafen außerordentlich schnell, im Gegensatz zum Präparat Acadrex 60<sup>®</sup>. Bei Rindern erzielten alle drei Präparate ähnliche Ergebnisse. Die Zeit bis zur 100%-Mortalität

## 2. Literaturübersicht

---

der Gnitzen verlängerte sich bei Rinderhaaren im Gegensatz zu Schafhaaren um das 6- bis 20-fache.

Papadopoulos *et al.* (2009) testete die Wirksamkeit von  $\alpha$ -Cypermethrin an Rinder und Schafen. Insgesamt acht Kälber (150 kg) und acht Schafe (30 kg) wurden mit dem  $\alpha$ -Cypermethrin-Präparat Dysect<sup>®</sup> pour on behandelt. Die Kälber wurden mit 10 ml (15 g/l) entlang der Rückenlinie und die Schafe mit 40 ml Dysect<sup>®</sup> (12,5 g/l) behandelt. Bei den Schafen wurde das Gesamtvolumen auf zwei Dosen aufgeteilt, wobei die erste entlang der Rückenlinie und die zweite am Kopf und am gesamten Rumpf appliziert wurde. Zwei Tiere jeder Tierart blieben unbehandelt und dienten als Kontrolltiere. Es wurde 2-5 g Haare von Rücken, Bauch und der distalen Beinregion in wöchentlichen Abständen bis zur 5. Woche nach Behandlung genommen. Im *in vitro*-Assay wurden 10 Gnitzen der Laborkolonie *C. nubeculosus* mit 0,5 g Haaren für 3 min in einer Petrischale inkubiert. Die Petrischale wurde dann in einer Freiflugbox geöffnet und die Haare entnommen. Die Mortalität wurde 1h später erhoben. Die Rinderhaare erzielten eine hohe Mortalitäts Rate (90-100%) bis zur dritten Woche. Ab der vierten Woche konnte nur noch eine Mortalität von 10% verzeichnet werden. Bei den behandelten Schafhaaren wurden vergleichbar hohe Mortalitätsraten für die ersten drei Wochen erzielt, mit dem Unterschied, dass der Wirkungseffekt wesentlich langsamer verlönging. Dadurch konnten noch nach fünf Wochen Mortalitätsraten von 50% erzielt werden. Keine signifikanten Unterschiede bestanden bei beiden Tierarten für die Mortalität bezüglich der unterschiedlichen Körperregionen.

Im selben Studiendesign wurde von Papadopoulos *et al.* (2010) Pferde mit Cypermethrin behandelt und die Wirkung gegenüber Gnitzen getestet. Für die Behandlung wurden 10 ml 5% Deosect Spray<sup>®</sup> mit 500 ml Leitungswasser vermischt. Mit Hilfe eines Schwammes wurde die 0,1%-Lösung bei vier Pferden (450-800 kg) auf Kopf, Rücken, Extremitäten und Gesäß aufgetragen. Zwei Pferde blieben unbehandelt. Hohe Mortalitätsraten von etwa 80% wurden bis zur dritten Woche erreicht. Im Anschluss wurde ein langsamer Wirkstoffverlust verzeichnet, der in einer Mortalität von 50% in der fünften Woche nach Behandlung resultierte. Ein signifikanter Unterschied bestand zwischen den Mortalitätsraten und den Haaren der einzelnen Körperregionen. Die beste Wirkung erzielten die Haare vom Rücken, die schlechteste Wirkung (20% weniger) wurde bei den Haaren der Beine erreicht.

Cyfluthrin, ein weiterer Wirkstoff aus der Gruppe der Pyrethroide, wurde von Mehlhorn *et al.* (2008b) an Rindern und Schafen getestet. Sechs Rinder wurden mit 10 ml Bayofly<sup>®</sup> (10 g/l) pour on und 15 Schafe in unterschiedlicher Dosierung (1, 2, 5 und 7,5 ml Bayofly<sup>®</sup>) pour on behandelt. Das Design der Studie entspricht der von Mehlhorn *et al.*, 2008, mit der Ausnahme, dass zusätzlich Haare vom Rücken genommen wurden. Es wurden signifikant hohe Mortalitätsraten bis zur 3. Woche durch behandelte Rinderhaare erzielt. Niedrigere Mortalitätsraten von 50% wurden ab der 4. Woche verzeichnet. Es bestanden keine Unterschiede hinsichtlich der Mortalitätsraten durch Rücken- oder Beinhaare behandelter Tiere. Alle Dosierungen führten bei den Schafen zu einer 100%-igen Mortalitätsrate der Gnitzen bis zur 5. Woche nach der Behandlung. Allerdings führten die geringen Dosierungen

von 1 bzw. 2 ml Bayofly<sup>®</sup> erst nach Stunden zum gewünschten letalen Effekt, die höheren Volumina erzielten identische Resultate zum Rinderversuch.

Eine wirksame Umgebungsbehandlung mit dem Spray Oxyfly<sup>®</sup> (Lambda-Cyhalothrin) wurde in der Studie von Schmahl *et al.* (2008) untersucht. Dafür wurden gepresste Holzplatten mit 250 mg/m<sup>2</sup> Oxyfly<sup>®</sup> besprüht und dann für 1 Woche in einem geschlossenen Plastikbeutel belassen. Für weitere sieben Tage wurden die Platten in einer Lüftungskammer bei 22 °C getrocknet. Die für die Studie verwendeten Gnitzen wurden am Abend zuvor mit UV-Lichtfallen gefangen. Im wöchentlichen Abstand wurden die Tiere mit den behandelten Platten für 10-15s in Kontakt gebracht und im Anschluss die Mortalität ermittelt. Bis zur 3. Woche nach Behandlung trat der letale Effekt nach 9-20s ein. In der 9. Woche p. t. war die Zeit, in der alle Gnitzen starben, bis auf 5-6 min verlängert. Über den gesamten Studienzeitraum bestand eine hohe Wirksamkeit gegenüber Gnitzen.

In der Studie von Dukes & Axtell (1976) wurden Aluminium- und Fieberglasnetze mit unterschiedlichen Insektiziden behandelt und im Bioassay mit *C. furens* getestet. Das Aluminiumnetz besaß eine Maschenweite von 1,6 x 1,8 mm mit 83 % offener Fläche, das Fieberglasnetz besaß die gleiche Maschenweite mit insgesamt nur 74 % offener Fläche. Die Netztypen wurden mit 57%-igem Malathion (Cythion<sup>®</sup>), 22,8%-igem Dichlorvos (Vapona<sup>®</sup>), 24%-igem Stirofos (Gardona<sup>®</sup>), Dimethoat (Cygon<sup>®</sup>) und 70%-igem Propoxur (Bayon<sup>®</sup>) behandelt. Netzscheiben (Ø = 9 cm) wurden für 30s in die unterschiedlichen Lösungen getaucht und danach im Freien zum Trocknen belassen. Die Wirksamkeit wurde in einem durch die behandelte Netzscheibe zweigeteilten Käfig durchgeführt. Die Gnitzen wurden zuvor mit UV-Lichtfallen gefangen. Insgesamt 30 *C. furens* kamen in die eine Kammer des Käfigs. In der anderen Kammer wurde der Boden durch eine durchsichtige Folie ersetzt, durch die Licht einer zusätzlichen Lampe diese Seite der Box erhellte. Alle Gnitzen waren bestrebt, zur erhellten Seite zu gelangen und kamen dabei mit dem behandelten Netz in Kontakt. Die Mortalität wurde stündlich bis maximal 5h nach Beginn dokumentiert. Die Aluminiumnetze erzielten mit allen Formulierungen höhere Mortalitätsraten als die Fieberglasnetze. Stirofos und Dimethoat waren mit Mortalitätsraten <10 % an beiden Netzen ineffektiv. Malathion in einer 5%-igen Formulierung erzielte eine Mortalitätsrate von 98 % nach 3h. Für Dichlorvos wurde in der gleichen Konzentration eine Mortalität von 75 % nachgewiesen. Für Malathion und Propoxur wurden bis zu 28d ähnliche Mortalitätsraten erzielt.

In einer Studie von Stuart *et al.* (2000) wurde die repellente Wirkung von Salicylsäure verwandter Verbindungen gegenüber *C. imicola* getestet. Dabei wurde die Testsubstanz auf eine Membran zur künstlichen Fütterung von Gnitzen verbracht. In diesem Versuch erzielte die Salicylsäure die besten Ergebnisse bei niedrigen Konzentrationen von 10 mg/ml bzw. 1 mg/ml. Mit diesen Konzentrationen wurde der zweite Versuch durchgeführt. Dafür wurden ein Unterarm von Probanden mit 10%-iger Salicylsäure behandelt, der zweite blieb unbehandelt. Vierzig Minuten nach Behandlung wurden beide Arme für 20 min in eine Freiflugbox mit Gnitzen gehalten und im Anschluss die Stiche gezählt.

## 2. Literaturübersicht

---

Die unbehandelten Arme der Probanden wiesen eine signifikant höhere Anzahl an Gnitzenstichen im Vergleich zu den behandelten Armen auf.

### 2.3.4.2 Klinische Feldstudien

In der Studie von Doherty *et al.* (2001) wurden die Pyrethroide Deltamethrin und Cypermethrin an Bullen (260-300 kg) gegenüber *C. brevitarsis* getestet. Dafür wurden zwei Tiere mit Deltamethrin (25 g/l) pour on, weitere zwei Tiere mit Cypermethrin (100 mg/l) am Nacken, Rücken und Flanken behandelt, zwei Tiere blieben als Kontrolltiere unbehandelt. Die Gnitzenfänge erfolgten durch die direkte Aspiration vom Tier mit Hilfe eines Vakuumsaugers. Im ersten Studienteil wurden 1h p. t. die Gnitzenfänge von 17:00-21:00 Uhr für die nächsten drei Tage durchgeführt. Im zweiten Studienteil wurden die Tiere vormittags behandelt, sodass der erste Gnitzenfang 8h später begann. Es konnte keine signifikante Reduzierung für beide Wirkstoffe 1-5h p. t. erzielt werden. Ab 8h p. t. bis zum Studienende (53h p. t.) reduzierte Deltamethrin signifikant die Anzahl an gefangener Gnitzen (73-91 %) sowie die Blutaufnahme durch Gnitzen (75-86 %). Cypermethrin verminderte ebenfalls signifikant die Anzahl an gefangener Gnitzen (66-85 %). Eine signifikante Reduktion in der Anzahl Gnitzen nach BA erfolgte erst ab 25h-53h p. t. (84-93 %).

Im Versuch von Melville *et al.* (2001) wurde die Wirksamkeit von Deltamethrin, Permethrin und Fenvalerate getestet. Vierzig Rinder (200-400 kg) wurden in vier Gruppen aufgeteilt und mit Deltamethrin (25 g/l), Permethrin (40 g/l) oder mit Fenvalerate (200 g/l) laut Herstellerangaben behandelt. Eine Rindergruppe blieb unbehandelt und diente als Kontrolle. Mit jeder Gruppe wurde der Versuch dreimal wiederholt. Dafür erfolgten drei Behandlungen im Abstand von mindestens 15 Tagen. Die Gnitzenfänge erfolgten abends und morgens mit Hilfe eines Aspirators. Im 15-30-Minuten-Intervall wurden zwischen 20:00-22:30 Uhr und 4:00-9:00 Uhr bis zum dritten Tag nach Behandlung Gnitzen gefangen. Deltamethrin verminderte um durchschnittlich 67 %, Fenvalerate und Permethrin um 59 % die Anzahl gefangener Gnitzen nach 3d p. t. im Vergleich zur Kontrolle. Deltamethrin reduzierte um 80 %, Fenvalerate und Permethrin um 74 % die Blutaufnahme durch Gnitzen.

Mullens *et al.* (2010) überprüfte in einer Feldstudie die Wirksamkeit von Deltamethrin gegenüber Gnitzen bei Schafen. Vier Schafe (45 kg) mit 2 cm Wolllänge wurden am späten Nachmittag mit 10 ml Butox<sup>®</sup> am ganzen Körper behandelt, mit besonderem Schwerpunkt von Gesicht, Ohren und Bauch. Zwei Schafe blieben unbehandelt und dienten als Kontrolle. Die Gnitzenfänge erfolgten am Tag der Behandlung und vier Tage später unter einem modifizierten Zelt mit Hilfe eines Aspirators. Beide Zeltfallen wurden im Abstand von 6 m zueinander aufgebaut, in denen jeweils ein Schaf 90 min vor bis 60 min nach Sonnenuntergang für die Fänge genutzt worden war. Ein Fangdurchlauf dauerte 30 min und setzte sich aus 10 min geöffnetem, 10 min verschlossenem Zelt und 10 min Aspiration der Insekten zusammen. Es wurden für 7 min die Zeltwände und für 3 min der Zeltboden, der zuvor mit einer Plane ausgelegt worden war, abgesaugt.

In der behandelten Gruppe wurde keine Gnitze nach BA am Tag der Behandlung und 4d p. t. gefangen. Ein signifikanter Unterschied bestand am Behandlungstag, an dem insgesamt 34

Gnitzen mit Blut im Abdomen in der Kontrollgruppe aspiriert worden waren. Am 4. Tag p. t. wurden 6 Gnitzen nach erfolgter BA in der Kontrollgruppe aspiriert.

Mullens *et al.* (2001) versuchten mit Hilfe eines Behandlungsplanes Rinder gegenüber der Blauzungenkrankheit zu schützen. Alle Tiere mussten vor Beginn der Studie seronegativ für BTV sein. Es wurden 223 Rinder in zwei Gruppen eingeteilt, von denen eine Gruppe behandelt wurde und die andere unbehandelt blieb. Im zweiwöchigen Intervall wurden die Rinder der Behandlungsgruppe mit 250 ml 0,2%-Permethrin entlang der ventralen Mittellinie besprüht. In der Studienzeit von 2,5 Monaten wurden die Tiere insgesamt sechsmal behandelt. Zwei Wochen nach Studienende wurden alle Tiere erneut auf BTV-Antikörper getestet. Insgesamt 56% der Behandlungstiere und 48% der Kontrolltiere waren nach der Studie BTV-positiv. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Eine Behandlung mit Permethrin im zweiwöchigen Intervall erzielte bei Rindern keinen Schutz gegen BTV.

In der Studie von Doherty *et al.* (2004) wurden die Ektoparasitika Fenvalerate (Pyrethroid) und Flyaway<sup>®</sup> (Permethrin) an Rindern getestet. Dazu wurde ein Stier mit 200 ml 1%-Fenvalerate und ein Stier mit 20-25 ml Flyaway<sup>®</sup> (12 g/l Permethrin) an Rücken, Flanken und Kopf eingesprüht. Ein Kontrolltier blieb unbehandelt. Die Gnitzenfänge wurden durch direkte Aspiration an drei Tagen von 17:30 Uhr-20:25 Uhr durchgeführt. Über den gesamten Versuchszeitraum (1-52h p. t.) konnten beide Insektizide die Anzahl sowie die Blutaufnahme durch Gnitzen signifikant zur Kontrollgruppe reduzieren. Signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Fangtagen bestanden nicht. Fenvalerate erzielte geringere Gnitzenfangzahlen als Flyaway<sup>®</sup> und wirkte somit besser. Eine Behandlung mit diesen Insektiziden ist für Rinder als alleiniger Schutz gegen BTV beim Tiertransport nicht ausreichend.

Griffioen *et al.* (2011) überprüften die Wirksamkeit von Permethrin bei Schafen gegenüber Gnitzen. Die Studie wurde auf sieben verschiedenen Höfen in Holland durchgeführt. Auf jedem Hof wurden zwei Schafe mit 3,6%-Permethrin (10 ml/kg Körpergewicht) pour on behandelt, zwei weitere blieben unbehandelt. Behandelte und unbehandelte Schafe befanden sich in zwei separaten Zeltfallen, die im Abstand von 5 m zueinander aufgestellt worden waren. Die Gnitzenfänge wurden 4-7d p. t. mit einem Aspirator 1,5h vor bis 1,5h nach Sonnenuntergang durchgeführt.

In den behandelten Gruppen wurden ca. 50% weniger Gnitzen gefangen als in der Kontrollgruppe. Ebenfalls signifikant war die geringere Anzahl an Gnitzen nach erfolgter BA in der Behandlungsgruppe mit insgesamt 31% am 4.-7. Tag nach der Behandlung. Eine Permethrinbehandlung bei Schafen bietet keinen 100%-igen Schutz gegenüber Gnitzen, kann aber das Risiko der Übertragung von Vektorekrankungen mindern.

Das Pyrethroid Cyfluthrin wurde in einer Studie von Liebisch *et al.* (2008b) an Rindern getestet. Dafür wurden in drei Beständen 50 Jungrinder, 88 Rinder in offener Laufstallhaltung und 20 Rinder in ausschließlicher Weidehaltung mit 10 ml/500kg Körpergewicht des Präparats Bayofly<sup>®</sup> (1 g Cyfluthrin/100ml) pour on behandelt. Die Gnitzenfänge erfolgten in

## 2. Literaturübersicht

---

Anlehnung an das Studiendesign von Liebisch *et al.* (2008a) mit UV-Lichtfallen und direkter Aspiration über den gesamten Tag.

Für insgesamt 14d konnte eine repellente Wirkung gegenüber Gnitzen ermittelt werden. Eine insektizide Wirkung bestand für 23d nach der Behandlung. Diese wurde in einem Haar-Bioassay von unterschiedlichen Körperregionen (Widerrist, Kruppe, Bauch, Sprunggelenk) im Labor bestätigt. Das Präparat kann zu einer temporären Reduzierung der Gnitzenpopulation führen.

Die Wirkung von insektizidhaltigen Netzen (Deltamethrin) wurde in Studien von Bauer *et al.* (2009), Rohrmann (2009) und Skrock (2011) untersucht.

In der Studie von Bauer *et al.* (2009) wurde ein mit Deltamethrin behandeltes Netz genutzt, um Bullen in Stallungen zu schützen. Das Netz (1 x 2 mm Lochgröße) mit einer Höhe von 1,80m wurde mit Deltamethrin (100 mg/m<sup>2</sup>) und einem UV-Schutz behandelt. Insgesamt 73 Bullen befanden sich in zwei Stallungen, die beide komplett mit diesem Netz geschützt waren. Alle Bullen wurden zusätzlich mit einer Auriplak<sup>®</sup>-Ohrmarke (1,2 g Permethrin) und 30 ml Butox<sup>®</sup> im Abstand von sechs Wochen behandelt. Die Gnitzenabundanz wurde in den Stallungen mit Hilfe von UV-Lichtfallen erhoben. Im Vergleich mit dem Zustand vor der Vernetzung konnte in den Stallungen die Anzahl an Gnitzen durch die oben genannten Maßnahmen nicht signifikant reduziert werden.

Im folgenden Jahr wurde auf dieser Bullenstation im gleichen Studiendesign ein anderes Netz (1,5 x 1,7 mm) mit einem Deltamethringehalt von ebenfalls 100 mg/m<sup>2</sup> genutzt. Es wies eine höhere Windpermeabilität auf. Im Vergleich zum Vorjahr konnte die Gnitzenanzahl signifikant reduziert werden (Bauer, mündliche Mitteilung).

In der Studie von Rohrmann (2009) wurden Gnitzenfänge in einem geschützten und in einem ungeschützten Rinderstall auf zwei verschiedenen Milchviehbetrieben ermittelt. Dafür wurde jeweils ein Stall mit einem Polyesternetz (2 x 2 mm Lochgröße) mit Deltamethrin (100 mg/m<sup>2</sup>) und einem UV-Schutz ausgerüstet. Der Kontrollstall blieb unverändert. In den Rinderstallungen wurden Gnitzen mit UV-Lichtfallen über einen Zeitraum von 5 Monaten gefangen und die Gnitzenfänge mit dem Kontrollstall verglichen. In beiden Behandlungsställen erzielten die Netze eine signifikante Reduktion der BA durch Gnitzen, in dem geschützten Stall erfolgte ebenfalls eine signifikante Reduktion in der Gesamtzahl an Gnitzen.

In der Feldstudie von Skrock (2011) wurde eine Rinderstallanlage mit einer 2,20m hohen freistehenden Vernetzung (Deltamethrin 115 mg/m<sup>2</sup>) komplett geschützt, eine baugleiche zweite Stallanlage blieb als Kontrollstall ungeschützt. Die Gnitzenfänge wurden über 2,5 Monate in den Stallanlagen mit Hilfe von UV-Lichtfallen in der Nacht durchgeführt. Die Vernetzung der gesamten Milchviehanlage erzielte eine signifikante Reduktion der Gnitzenanzahl von durchschnittlich 41,9% gegenüber der Kontrolle.

Calvete *et al.* (2010) testeten den Schutz von Schafen durch physikalische Barrieren und den Einsatz insektizidhaltiger Netze. Dafür wurden drei Weiden mit einer Größe von 62 m<sup>2</sup>

genutzt, die einen Abstand von 100 m zueinander aufwiesen. Auf jeder Weide befanden sich 50 Schafe. Zwei Weiden wurden mit einem 2,6 m hohen Netz umgeben, von dem das Netz einer Weide mit Cypermethrin (0,5 g/l) einen Tag vor der Nutzung besprüht worden war. Nach vier Tagen erfolgte eine erneute Behandlung, weil eine verminderte Wirkung durch Regenfälle befürchtet wurde. Eine dritte Weide blieb als Referenzweide ungeschützt. Die Fänge wurden mit acht UV-Lichtfallen außerhalb der Weide und zwei auf jeder Weide eine Stunde vor bis eine Stunde nach Sonnenuntergang über einen Zeitraum von 8d nach Netzinstallation durchgeführt.

Durch eine alleinige physikalische Barriere (unbehandeltes Netz) kann der Eintrag von Gnitzen nicht vollständig verhindert werden. Ein behandeltes Netz führte zur Reduktion des Aufkommens von *C. imicola* in der Herde. Ein signifikanter Effekt konnte mit den behandelten Netzen allerdings nicht erzielt werden und sollte daher mit anderen Schutzmaßnahmen wie der Behandlung der Tiere kombiniert werden.

Die repellente Wirkung organischer Fettsäuren gegenüber *C. imicola* testeten Venter *et al.* (2011). Dafür wurde jeweils eine 15%-ige Mischung aus den Fettsäuren Oktan-, Nonan- oder Cyansäure mit Mineralöl hergestellt. Insgesamt 12 ml dieser Mischung wurden auf 0,07 m<sup>2</sup> Polyester gaze (2-3 mm Lochgröße) aufgebracht und für 3d im Plastikbeutel zum Trocknen belassen. Nachdem die Schwarzlichtröhre einer UV-Lichtfalle durch ein weißes Licht ersetzt worden war, wurden die behandelten Netze über den Fangtunnel der Falle gespannt. Die Fallen wurden in einer Höhe von 1,80 m in der Nähe von 20 und 40 Rindern befestigt und befanden sich in einem Abstand von 15 m zueinander. Über 12 Nächte wurden mit insgesamt vier Fallen (zwei davon behandelt, zwei unbehandelt) Gnitzen gefangen. Dabei wurden für jeden Fangtag neue Netze benutzt.

Es wurden signifikant weniger Gnitzen (58%) in den Fallen mit behandelten Netzen gefangen gegenüber den Kontrollfallen. Keine signifikanten Unterschiede bestanden für die Anzahl an Gnitzen mit Blut im Abdomen und für die Anzahl nicht blutsaugender Insekten.

Page *et al.* (2009) untersuchten die repellente Wirkung von Netzen gegenüber Gnitzen, die mit N,N-Diethyl-3-methylbenzamid (DEET), 0,6% Zitronenöl und 0,3%  $\alpha$ -Cyano-Cypermethrin behandelt worden waren. Eine 0,07 m<sup>2</sup> große Polyester gaze (3-4 mm Lochgröße) wurde für 30 min in 15% DEET, 0,6% Zitronenöl, 0,3%  $\alpha$ -Cyano-Cypermethrin oder in 70% Ethanol eingeweicht. Ein Kontrollnetz blieb an jedem Fangabend unbehandelt. Im Anschluss wurde die Gaze für weitere 30 min getrocknet und bis zum Gebrauch gelagert in verschlossenen Plastikbeuteln. Die Gnitzenfänge wurden mit Hilfe von UV-Lichtfallen über 15d von Sonnenuntergang bis Sonnenaufgang durchgeführt. Mit einem Fallenabstand von 5,60 m wurden fünf Fallen in einer Höhe von 1,80 m in unmittelbarer Nähe eines Pferdes installiert. An jedem Fangtag wurden neue Netze benutzt. Jede Falle wurde mit einem anders behandelten Netz präpariert, indem dieses über den Fangtunnel der Falle gespannt wurde. Signifikante Ergebnisse erzielte das Insektennetz, welches mit 15% DEET behandelt worden war, gegenüber allen anderen Netzen. Mit Zitronenöl behandelte Netze erzielten höhere Fangzahlen an Gnitzen als das unbehandelte Kontrollnetz.

## 2. Literaturübersicht

---

In der Feldstudie von Liebisch *et al.* (2008a) wurde die Wirksamkeit von permethrinhaltigen Ohrmarken an Rindern untersucht. In zwei Herden (165 Jungrinder, 20 Milchkühe) wurden den Rindern eine oder zwei Auriplak<sup>®</sup> (1,2 g Permethrin)-Ohrmarken eingegeben.

Es wurden die Gnizenabundanz und das Artenspektrum mit Sentinel<sup>®</sup> UV-Lichtfallen erhoben, die sich im unmittelbaren Bereich der Tiere befanden. Die Fänge wurden zum Teil unmittelbar durch Alkohol konserviert oder dienten als Lebendfangmethode für folgende Bioassays. In den Bioassays wurden 25-45 Gnizen mit Rinderhaaren (0,6-1 g) vom Rücken und Bauch nach 7, 14 und 21 d p. t., für 40 min inkubiert. Die Mortalität wurde 24h im Anschluss ermittelt. Im Abstand von 3-5d wurden die Gnizen von zwei Rindern direkt mit Hilfe eines Mundaspirators (Pooter) für mindestens 60 min abgesaugt. Die lebenden Gnizen wurden 24h unter Standardbedingungen aufbewahrt und die insektizide Wirkung im Anschluss bestimmt.

Bei Verwendung von zwei Ohrmarken bestand eine repellente Wirkung gegenüber Gnizen von bis zu 19 Tagen. Die insektizide Wirkung nach 24h auf die direkt aspirierten Gnizen betrug 11 %. Die Anwendung einer Ohrmarke führte zu einer insektiziden Wirkung von bis zu 7 Tagen. Im Bioassay erzielten die Haare beider Körperregionen für bis zu drei Wochen eine 100%-ige Mortalität. Danach wurde eine deutlich höhere insektizide Wirkung der Rückenhaare deutlich, mit im Gegensatz zu den Bauchhaaren 40 % höheren Mortalitätsraten. Eine deutliche Reduzierung bis zu 3 Wochen wurde in der Anzahl anfliegender Insekten beobachtet, was einen wirksamen temporären Schutz gegenüber BTV darstellt.

In der Studie von Satta *et al.* (2004) wurde getestet, ob eine flächenhafte Umgebungsbehandlung von Weideland mit einem Pyrethroidderivat zu einer Reduktion an Gnizen führt. Dafür wurde das Präparat Myrocip<sup>®</sup> genutzt, das als wirksame Inhaltsstoffe 11 % Cypermethrin, 11 % Piperonyl-Butoxid und 1 % Esbiothrin enthält. Auf zwei Farmen wurde im Abstand von 15d zwei Umgebungsbehandlungen durchgeführt. Als 1%-Lösung wurde Myrocip<sup>®</sup> mit Hilfe eines Verneblers über eine Fläche von 1 ha gleichmäßig versprüht. Eine dritte Farm blieb unbehandelt und diente zur Kontrolle.

Mit Hilfe von zwei UV-Lichtfallen auf jeder Farm wurden zwei Wochen vor Beginn der ersten bis zwei Wochen nach der zweiten Behandlung Gnizenfänge durchgeführt. Auf beiden Farmen führte eine Ausbringung von Myrocip<sup>®</sup> zu einer Erhöhung der Gnizenabundanz. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollfarm. Dieses Präparat führt zu keiner Gnizenreduktion und ist im Rahmen der Bekämpfungsstrategien bei BTV-Ausbrüchen ungeeignet.

### 2.4 Klinische Studien

„Gute Klinische Praxis (GCP)“-Studien sind per Definition ein Experiment mit der Zielspezies, um eine Hypothese im Hinblick auf die Effektivität des Produkts bzw. des Schutzes der Zielgruppe während des Gebrauchs zu untersuchen. Der Goldstandard einer Feldstudie beinhaltet, dass diese multizentrisch, kontrolliert, randomisiert und verblindet ist (FEDESA, 2001).



### Multizentrisch

Unter multizentrischen Studien versteht man, dass eine Feldstudie mit identischem Studiendesign in unterschiedlichen Regionen, meist unterschiedlichen Ländern, durchgeführt wird. Dadurch kann ein eventueller Einfluss durch regional unterschiedliche Rassen, Klimafaktoren, landwirtschaftliche Bewirtschaftung oder Empfindlichkeit der Pathogene untersucht werden. Bei partiell subjektiven Datenerhebungen, z. B. Einschätzung des Ernährungszustands, werden durch die Mitwirkung einer prüfenden Person in den unterschiedlichen Regionen repräsentativere Daten erhoben.

### Kontrollierte Studie

Das Hauptziel klinischer Studien ist die Prüfung der Wirksamkeit eines Produkts. Dafür ist eine Kontrollgruppe essentiell, die entweder mit einem anderen Produkt, einem Placebo oder ohne Behandlung als Referenzgruppe dient.

Man kann dabei positive und negative Kontrollgruppen unterscheiden. Eine positive Kontrollgruppe wird mit einem bereits registrierten Referenzprodukt behandelt, welches der Sponsor auswählt. Dieses Produkt muss eine Registrierung für die zu behandelnde Erkrankung und die entsprechende Tierart besitzen.

In einer negativen Kontrollgruppe werden die Tiere mit einem Placebo behandelt oder bleiben unbehandelt. Der Vorteil gegenüber positiven Kontrollgruppen besteht darin, dass weniger Tiere benötigt werden, da der Unterschied zwischen beiden Gruppen wesentlich größer und leichter wahrnehmbar ist. Aus ethischen Gründen muss bei einigen klinischen Studien eine Behandlung der Kontrollgruppe erfolgen (z. B. Moderhinke), da die Tiere ansonsten während des Versuchs einem zu großen Leidensdruck ausgesetzt sind.

Die behandelte Gruppe kann zugleich auch die eigene Kontrollgruppe darstellen, wenn nach einer bestimmten Zeit die Wirkung des Produkts nicht mehr besteht. Ein Beispiel wäre eine topische Anwendung an zwei unterschiedlichen Körperregionen bei Hauterkrankungen.

### Randomisierte Studie

Randomisierung ist ein zufälliges Aufteilen der Probanden in unterschiedliche Gruppen. Dadurch soll gewährleistet werden, dass zu Beginn der Studie in allen Gruppen der repräsentative Durchschnitt der Gesamtgruppe vertreten ist. Je homogener die Gesamtgruppe ist, desto aussagekräftiger sind die Ergebnisse der Studie. Bei einer heterogenen Gesamtgruppe müssen nach einer Randomisierung die unterschiedlichen biologischen Faktoren (Geschlecht, Alter, Gewicht) zwischen den einzelnen Gruppen ausgeglichen sein.

### Verblindete Studie

Die Verblindung in klinischen Studien ist eine Maßnahme, um Ergebnisse nicht subjektiv zu beeinflussen und so den Einfluss einer bestimmten Erwartungshaltung zu eliminieren. Man unterscheidet die einfache und die doppelte Verblindung. In der einfachen Verblindung wissen nur die Probanden nicht, ob sie der behandelten oder der unbehandelten Gruppe angehören. Dieser Terminus entstammt der Humanmedizin und hat in der Veterinärmedizin keine Relevanz, da alle Studien somit einfach verblindet sind. Bei der doppelten Verblindung weiß auch das durchführende Personal nicht, welche die behandelte und welche die unbehandelte Gruppe ist.

## 3. Material und Methoden

### 3.1 Fragestellung

Vor dem Hintergrund des Schutzes von Schafen gegenüber Gnitzen und vor den von ihnen übertragenen Krankheiten wie der Blauzungenkrankheit oder der Schmollenberg-Virus Infektion soll die Wirkung eines Pyrethroids in einer „pour on“-Formulierung gegenüber *Culicoides* spp. ermittelt werden. Es soll das bereits gegen Läuse (*Linognathus ovillus*, *L. vituli*, *Haematopinus eurysternus*), Haarlinge (*Bovicola ovis*, *B. bovis*), Schaflausfliegen (*Melophagus ovinus*), stechende (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia* spp.) und nichtstechende Weidefliegen (*Musca* spp., *Hippobosca* spp.) für Schafe und Rinder zugelassene Deltamethrinpräparat Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on geprüft werden. Ziel dieser Studie war es daher zu untersuchen, ob nach einer Behandlung in der empfohlenen Dosis unter Feldbedingungen eine Reduzierung der Gnitzen erreicht wird.

### 3.2 Studienregion und Untersuchungsstandort

Die Untersuchungsregion Groß Kreutz (52° 24' 29.16" N, 12° 46' 17.39" E) befindet sich im Landkreis Potsdam-Mittelmark, der sich südwestlich im Bundesland Brandenburg befindet. Der Landkreis hat 205678 Einwohner (2011) auf einer Fläche von 2575 km<sup>2</sup> bei einer Bevölkerungsdichte von 82 Einwohnern je km<sup>2</sup> (Wikipedia, 2011). Er grenzt direkt an die Hauptstadt Berlin und die Landeshauptstadt Potsdam und umschließt die kreisfreie Stadt Brandenburg an der Havel. Die Region wurde maßgeblich im Pleistozän geprägt und später im Holozän ausgeformt. Man unterteilt es vom Norden ausgehend in die Naturräume Havelland, Zauche und Fläming. Die Studienregion liegt mitten im Havelland, welche durch die Havel und deren Zuflüsse gekennzeichnet ist.

Zur Gemeinde Groß Kreutz zählen die Ortsteile Bochow, Deetz, Götz, Groß Kreutz, Jeserig, Krielow, Schenkenberg und Schmergow. Groß Kreutz liegt im Norden des Landkreises Potsdam-Mittelmark, eingegrenzt von den Städten Brandenburg an der Havel und Werder. Die Gemeinde hat 8107 Einwohner (Dez. 2011) und erstreckt sich über eine Fläche von 98,95 km<sup>2</sup> (Wikipedia, 2011). Sie liegt südlich der Havel, westlich vom Rietzer See und östlich des Kleinen Plessower Sees. Die Region ist durch ihren Wasserreichtum und den geringen Bebauungsgrad charakterisiert.

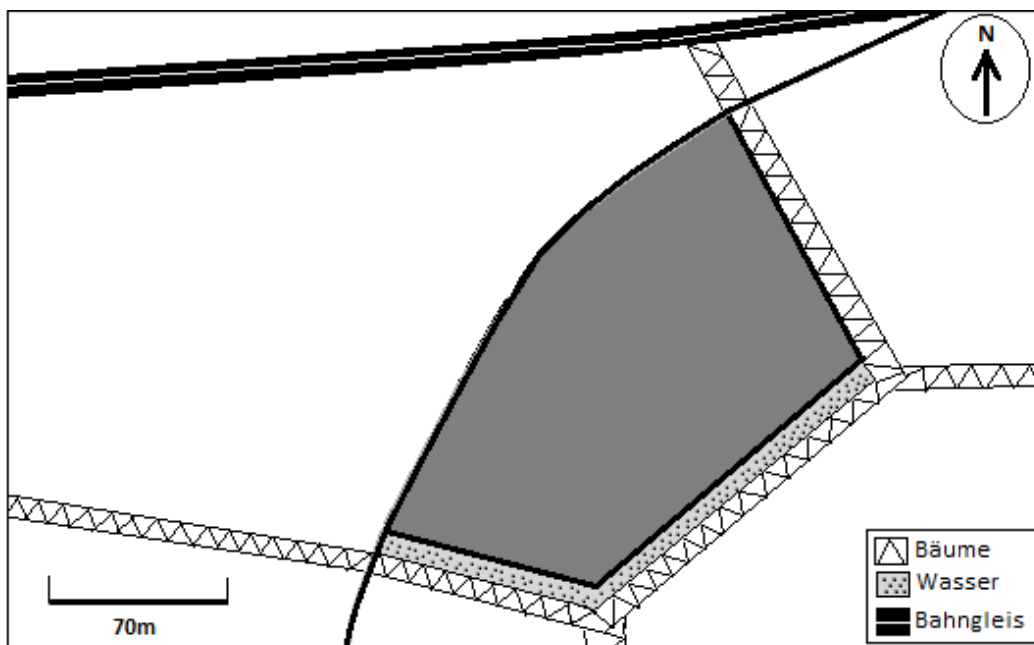
Brandenburg befindet sich zwischen dem ozeanisch geprägten Klima im Westen Europas und dem Kontinentalklima im Osten, mit einer jährlichen Durchschnittstemperatur von 9,8 °C und Jahresniederschlägen von 611 mm (2003-2012)(Hendl, 1994; PIK, 2013). Dadurch bietet die Region ganzjährig milde Temperaturen mit ausreichendem Niederschlag, was gute Voraussetzungen für Gnitzen darstellt.

Der Untersuchungsstandort wurde auf Grund von zu erwartenden hohen Gnitzenabundanzen ausgewählt, wie bereits von Bauer *et al.* (2009), Rohrman, (2009), Bartsch, (2010) und Skrock, (2011) in früheren Untersuchungen beschrieben.

Die Weide, auf der die Untersuchungen durchgeführt wurden, befindet sich 1,5 km nordöstlich vom Betriebsgelände der Lehr- und Versuchsanstalt für Tierzucht und Tierhaltung (LVAT)(52°24'20.88 N, 12°46'17.15 E).

Die Gesamtfläche der Weide beträgt ca. 2 ha und wird als Dauergrünland genutzt. Sie ist an drei Seiten durch Baumgruppen begrenzt (Abb. 4). Die nordwestliche Seite weist keine Bäume auf, hier befindet sich ein schmaler Wanderweg. Ein ganzjährig wasserführender Graben verläuft an der südlichen und an der östlichen Seite der Weide.

Durch die Baumgruppen von mehreren Seiten ist ein guter Windschutz vorhanden und durch die direkte Nachbarschaft des Grabens mit stehendem Wasser sind ideale Brutbedingungen für Gnitzen gegeben.



**Abbildung 4:** Schematische Darstellung der Versuchsweide in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

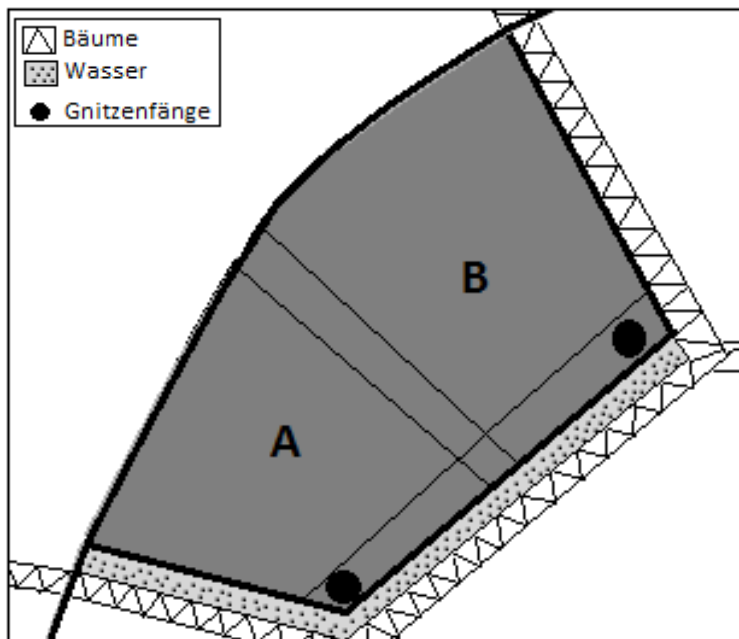
### 3.3 Vorversuche zur Gnitzenabundanz am Untersuchungsstandort

Am 11.06., am 12.06. und am 14.06.2011 wurde in Vorversuchen mit Hilfe von vier Sentinel<sup>®</sup> UV-Licht-Insektenfallen (Firma Biogents, Regensburg, Deutschland) die Eignung des gewählten Standorts geprüft. Diese Fallen in Form eines Zylinders arbeiten mit einer 8W-UV- Schwarzlichtröhre und einem Ventilator. Die vom Schwarzlicht angelockten Insekten werden durch den einwärtsgerichteten Luftstrom des Ventilators in den mit Ethanol gefüllten Fangbecher gesogen. Die Fangbecher sind herausnehmbar und werden nach dem Fang für den Transport verschlossen.

Untersucht wurde, ob auf der Weide eine ausreichend hohe Gnitzenabundanz besteht, und ob für die beiden gewählten Fangstandorte identische Bedingungen vorherrschen. Zu diesem

### 3. Material und Methoden

Zweck wurden zwei Rinder der Rasse Holstein Friesian mit einem Körpergewicht von ca. 250 kg benutzt. Jeweils ein Rind wurde auf dem hinteren Teil der Weiden in die beiden Zwangsstände verbracht, die in einem Abstand von ca. 90 m zueinander standen (Abb. 5).



**Abbildung 5:** Schematische Darstellung der Versuchsweide im Vorversuch

In unmittelbarer Umgebung der Rinder wurden zwei Sentinel<sup>®</sup> UV-Lichtfallen in einer Höhe von 1,50 m positioniert. Dabei wurde eine Falle im Kopfbereich, außerhalb des Zwangsstandes, aufgestellt (Abb. 6), die zweite wurde in einer Entfernung von ca. 2 m aufgebaut. Die Fangperiode erstreckte sich über einen Zeitraum von zwei Stunden vor bis zwei Stunden nach Sonnenuntergang. In stündlichen Intervallen wurden die insgesamt vier Fangbecher der einzelnen Fallen gewechselt, markiert und verschlossen. Die Fanggefäße haben ein Volumen von 250 Millilitern (ml) und waren zur Hälfte mit 70%-igem Ethanol gefüllt. Dadurch wurden alle im Becher befindlichen Insekten abgetötet und zugleich konserviert. Ein Netz mit einer Maschenweite von 0,5 cm wurde direkt über die Fallenöffnung gespannt, um zu verhindern, dass große Nicht-Zielinsekten mitgefangen werden.

Um signifikante Unterschiede hinsichtlich der Gnitzenanzahl und der Blutaufnahme durch Gnitzen zwischen beiden Gruppen zu überprüfen, wurde für die statistische Auswertung der Zweistichproben-t-Test für unabhängige Stichproben gewählt. Dieser vergleicht anhand der Mittelwerte zweier Stichproben, ob diese gleich sind. Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt.



**Abbildung 6:** Versuchsaufbau im Vorversuch mit Sentinel<sup>®</sup> UV-Lichtfallen während der Abenddämmerung, Groß Kreutz, Juni 2011

## 3.4 Pilotstudie zur Überprüfung gewählter Untersuchungsparameter

### 3.4.1 Studiendesign

Die Pilotstudie diente zur Planung der klinischen Studie „Wirksamkeitsprüfung von Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on gegenüber Gnitzen bei Schafen“. Sie wurde über eine Dauer von drei Wochen vom 19.09.–05.10.2011 durchgeführt. Durch diese Studie sollten Hinweise zur optimalen Gestaltung der Versuchsbedingungen, der Tierzahlen und der entomologischen Fangmethoden ermittelt werden.

Eine Gruppe von sechs Merino-Landschafen wurde in zwei Hälften geteilt, wobei die Tiere einer Gruppe mit 10 ml Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on behandelt wurden. Die andere Gruppe blieb unbehandelt und diente als Negativkontrolle.

Bei dieser Studie handelte es sich um eine doppelt verblindete Studie, das heißt, dass die Mitarbeiter, die die Gnitzenfänge sowie ihre Auszählung und Identifizierung durchführten, nicht wussten, welche die behandelte und welche die unbehandelte Tiergruppe war.

Im gesamten Studienzeitraum wurde auf eine strikte Trennung der Materialien beider Gruppen sowie der Mitarbeiter der einzelnen Gruppen geachtet, damit eine Kontamination der unbehandelten Tiere mit dem Insektizid ausgeschlossen werden konnte.

Von einer Stunde vor bis eine Stunde nach Sonnenuntergang wurden die Gnitzenfänge mit zuerst einem Schaf von jeder Gruppe durchgeführt. Es wurden insgesamt drei Fangtage pro Woche mit jeweils zwei Fangprozeduren pro Fangtag durchgeführt.

Die Fänge wurden am 7., 14. und 21. Tag nach der Behandlung terminiert, um einen zeitlichen Wirkungseffekt herauszustellen.

Während der Fänge standen die Tiere in einem Zwangsstand, der unter einem Fangzelt („drop trap“) stand, das als Gnitzenfalle diente. Die Insekten wurden mit Hilfe eines Aspirators vom

### 3. Material und Methoden

---

Boden, von den Wänden sowie vom Dach des Zelt abgesehen. Die Studie wurde gemäß §§ 59 und 67 des Arzneimittelgesetzes (AMG) vom 17. Juli 2009 (BGBl. S. 1990) am 26.10.2010 beim Landesamt für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz des Landes Brandenburg angezeigt und mit dem Schreiben vom 05.11.2010 genehmigt.

#### 3.4.2 Untersuchungstiere

Sämtliche für die Pilotstudie ausgewählten Schafe stammten aus dem LVAT Groß Kreuz und gehörten der Rasse Merinolandschaf (*Ovis aries hispanica*) an. Alle Schafe wurden im Frühjahr 2011 geboren und hatten zu Studienbeginn ein Alter von 6-7 Monaten.

Die Schafe sollten phänotypisch möglichst homogen sein, wobei das Geschlecht keine Rolle spielte. Es wurde darauf geachtet, dass sich die Tiere altersentsprechend entwickelt hatten, die letzten drei Monate zuvor nicht mit einem Ektoparasitikum behandelt worden waren, nicht krank waren und ein ungefähres Körpergewicht von 40 kg (+/- 10 kg) hatten.

#### 3.4.3 Bildung der Versuchsgruppen

Sechs Schafe wurden in zwei Gruppen (A, B) zu jeweils drei Schafen aufgeteilt. Bei der Bildung der drei Untersuchungspärchen wurde darauf geachtet, dass beide Tiere das gleiche Geschlecht sowie ein analoges Körpergewicht aufwiesen.

Es wurden drei Untersuchungspärchen (A1+B1; A2+B2; A3+B3) gebildet, die an den terminierten Fangtagen immer gemeinsam für die Gnitzenfänge benutzt wurden. Welche Gruppe die Behandlungsgruppe werden sollte, wurde per Losverfahren entschieden.

#### 3.4.4 Behandlung der Schafe mit Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on

Die Behandlung der Schafe wurde von einem Tierarzt auf dem Gelände des LVAT durchgeführt, der während des Studienverlaufs nicht verblindet war. Beide Gruppen (A und B) wurden in separaten Stallungen gehalten. Die Schafe, die behandelt werden sollten, kamen für 12 Stunden in ein separates Gehege, in dem die Behandlung durchgeführt wurde. Die Applikation des Insektizids wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen (12.09., 13.09. und 14.09.2011) durchgeführt, damit wurde ebenfalls die Reihenfolge der nach 7, 14 und 21 Tagen zu erfolgenden Gnitzenfänge festgelegt.

Als erstes wurde die Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on Formulierung geschwenkt, um eine gleichmäßige Durchmischung der Suspension zu gewährleisten. Dann wurde der Verschluss über der Befüllungskammer geöffnet. Durch leichten Druck auf die Flasche wurde die Kammer bis zur 10ml-Skalierung gefüllt.

Das Vlies des Tieres wurde vom Nacken bis zum Schwanzansatz gescheitelt und die Suspension gleichmäßig über die Öffnung der Befüllungskammer auf der Haut verteilt.

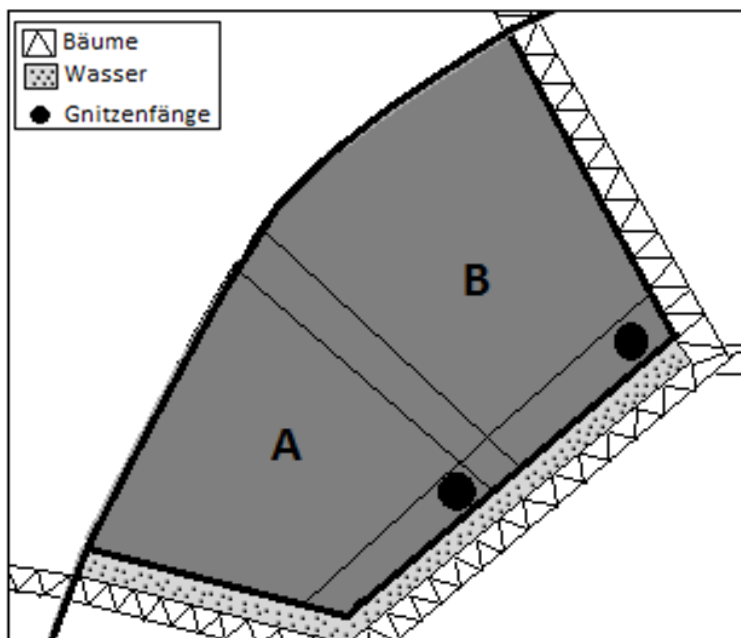
Durch die gesonderte Haltung der behandelten Tiere für die nächsten 12 Stunden sollte ein Wirkstoffverlust durch eventuelles Ablecken oder Bespringen anderer Tiere verhindert werden.

#### 3.4.5 Weide und Standort der Zwangsstände

Die Weide wurde mit einem Weidezaun eingezäunt. Dieser bestand aus drei blanken Drähten, die übereinander im Abstand von ca. 20 cm verliefen. Holzpfähle dienten der Befestigung und Führung der Drähte. Die Weide wurde in zwei in etwa gleich große Teilflächen mit einem mittig verlaufenden Doppelzaun unterteilt. Durch den Doppelzaun entstand ein Korridor von 3m Breite, der einen Kontakt beider Schafgruppen untereinander verhindern sollte.

Auf beiden Teilflächen wurden mit Schafzäunen („Knotengitter Weidezäune“) jeweils ein ca. 100 Quadratmeter (m<sup>2</sup>) großes Areal abgesteckt, auf dem sich die jeweils drei Schafe befanden. Die Zäune wurden mit je einem Weidezaungerät (Gallagher Power Plus B180) elektrifiziert. Diese erzeugten eine Höchstspannung von 8,52 Kilovolt (kV) und eine Pulsenergie von 1,2 Joule (J), bei einem Pulsintervall von 1,28 Sekunden (s). Die Schafzäune wurden in der Studie mehrmals auf der Teilweide versetzt, um ein genügend hohes Grünfutterangebot für die Tiere zu gewährleisten.

Über die gesamte Länge der Südseite der Weide wurde ein zusätzlicher Abschnitt von ca. 5m Breite durch einen Zaun abgetrennt. Dort wurden im Abstand von 50 m zueinander die Zwangsstände aufgestellt, in denen später die Schafe stehen sollten, die für die Gnitzenfänge genutzt wurden (Abb. 7). Dieser Teil war sowohl windgeschützt als auch in direkter Nähe (ca. 2 m) zum wasserführenden Graben.



**Abbildung 7:** Schematische Darstellung der Versuchsweide mit den Fallenstandorten in der Pilotstudie, Groß Kreuz, September/Oktober 2011

### 3. Material und Methoden

---

#### 3.4.6 Gnitzenfänge

Die Schafgruppen wurden zwei Tage nach der letzten Behandlung in getrennten Gruppen (A+B) im Anhänger zur entsprechenden Teilweide transportiert. Nach einer Eingewöhnungsphase von drei Tagen wurden die Gnitzenfänge 7, 14 und 21 bzw. 22 Tage nach erfolgter Behandlung durchgeführt.

Direkt angrenzend an den Zwangsstand wurde mit Hilfe von vier Texas Trading®-Gittern ein ca. 5 x 2 m großer Kessel gebildet, in dem die Schafgruppe zuerst von der Weide hineingetrieben wurde. Der Tierpfleger konnte dann von dort das entsprechende Tier in den Zwangsstand treiben und anschließend die anderen beiden zurück auf die Weide entlassen. Außerhalb des Zwangsstandes wurde der Boden mit hellem Linoleum ausgelegt, die Fläche entsprach der des überdeckenden Zeltes.

Das Zelt hatte eine Grundfläche von 3 x 3 m, mit einer Seitenhöhe von 2,10 m, und wies eine Höhe von 2,90 m in der Zeltspitze auf. Die Zeltplane bestand aus einer abwischbaren Polyethylenplane und wurde durch ein ausklappbares Aluminiumleichtgestell getragen (Abb. 8). Alle Seitenwände konnten durch Klettverschlüsse an den Unterkanten des Daches befestigt werden. Die vier Seitenwände besaßen jeweils zwei seitliche Reißverschlüsse, mit denen die Seitenwände miteinander verbunden und so das Zelt verschlossen werden konnte (Abb. 9). Durch das Öffnen der Reißverschlüsse konnte jede einzelne Seitenwand nach oben gerollt und durch zwei Gurte mit Klickverschlüssen fixiert werden.

Ein Öffnen dieser Spanngurte garantierte ein schnelles Herablassen der Seitenwände, welche im Anschluss daran mit Hilfe der seitlichen Reißverschlüsse geschlossen werden konnten. Zuerst wurde dasjenige Schaf jeder Gruppe, welches an diesem Fangtag für die Gnitzenfänge benutzt werden sollte, anhand der Ohrmarke identifiziert und über Treibgitter in den Zwangsstand gelassen. Unter dem geöffneten Zelt begann der erste Fang ca. eine Stunde vor Sonnenuntergang, der zweite um eine Stunde versetzt.

Für 15 Minuten (min) verblieben die Schafe auf beiden Teilweiden in den geöffneten Zelten. Die Mitarbeiter hatten darauf zu achten, dass ein Sicherheitsabstand von mindestens 20 m zum Zelt eingehalten wurde, um keinen Einfluss auf die Attraktivität gegenüber Gnitzen auszuüben.

Nach dieser Zeit wurden alle vier Seitenteile zügig, aber vorsichtig, ohne viele Erschütterungen, heruntergelassen und mit Hilfe der Reißverschlüsse allseitig verschlossen. Das Schaf wurde für weitere 20 min im geschlossenen Zelt belassen. Dieser Zeitraum sollte den im Zelt befindlichen Insekten eine ungestörte Blutaufnahme ermöglichen.

Im Anschluss ging ein Mitarbeiter, durch behutsames Öffnen einer Zeltseite, mit dem Aspirator (John W. Hock Company, Gainesville, FL, USA) hinein und verschloss es danach wieder schnellstmöglich.





**Abbildung 8:** geöffnetes Fangzelt ("drop trap")



**Abbildung 9:** geschlossenes Fangzelt

Der Aspirator (Abb. 10) wird wie ein Rucksack getragen. Ein Metallgestänge mit Tragegurten hält die 12-Volt(V)-Batterie und den Motor, von dem ein Ansaugschlauch von 1 m Länge in einem Führungsrohr mit Griff endet. Auf dieses Rohr wird ein passender Fangbecher gesetzt, der einen Boden aus Gaze besitzt (Lochgröße 200  $\mu\text{m}$ ). Die Becher sind aus Hartplastik, daher gut zu reinigen und durch einen Deckel verschließbar. Es wurden für jede Gruppe, jeden Fang und jede Lokalisation (Boden/Zelt) separate Fangbecher genutzt und entsprechend beschriftet. Zuerst wurde der komplett mit weißem Linoleum ausgelegte Boden, mit Ausnahme des Zwangsstandes, 5 min lang mäanderförmig abgesaugt, der Fangbecher verschlossen und ausgetauscht. Mit einem neuen Fangbecher wurden alle vier inneren Seitenwände und das Zeltdach 15 min lang mäanderförmig abgesaugt und der Insektenfang durch Verschließen des Bechers gesichert.

Nachdem alle Seitenwände des Zeltes wieder hochgerollt und fixiert waren, begann der zweite Fangdurchlauf, der in analoger Weise zum ersten durchgeführt wurde. An einem Fangtag wurden zwei Gnitzenfänge pro Standort durchgeführt und die Tiere im Anschluss wieder zur entsprechenden Gruppe entlassen.

Die Insekten in den einzelnen Fangbechern wurden sofort nach dem Fang in separate Freiflugboxen (Bug Dorm-4090, MegaView Science Co., Taichung, Taiwan) überführt (Abb. 11). Sie hatten die Maße von 47,5 x 47,5 x 47,5 cm und waren mit weißer Polyestergaze umspannt, mit Ausnahme der Vorderseite und des Bodens, welche aus Vinyl bestanden. Die Boxen wurden für eine eindeutige Kennzeichnung mit den gleichen Daten wie die entsprechenden Fangbecher versehen. Das Überführen der Gnitzen in die Freiflugboxen sollte optimale Überlebensbedingungen schaffen. Sie wurden für ca. 20h an einen geschützten Ort ins Freie gestellt, um natürliche Witterungsbedingungen zu gewährleisten. Eine allseitig umhüllende Plane sollte einen zusätzlichen Schutz der Gnitzen gegenüber Niederschlag, Wind und direkter Sonneneinstrahlung gewährleisten.

Nach ca. 20h wurden die toten Gnitzen aus den Boxen mit Hilfe eines Mundaspirators (Pocket Pooter, UK Safari, Cheltenham, UK) abgesaugt. Dafür wurde dieser über den Arbeitstunnel in die Freiflugbox eingeführt, ohne dass die noch lebenden Insekten entfliehen konnten. Die entnommenen Insekten wurden in eine mit 70%-igem Ethanol befüllte Petrischale überführt

### 3. Material und Methoden

---

und unter einem Stereomikroskop (Stemi DV4, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) gezählt und identifiziert.

Die nach dieser Zeit noch lebenden Insekten wurden mit der Freiflugbox für 30 min in einem Gefrierschrank gestellt und bei -20 Grad Celsius (°C) abgetötet und im Anschluss ebenfalls gezählt und identifiziert.



**Abbildung 10:** aufgesetzter Aspirator



**Abbildung 11:** Freiflugbox

Da die einzeln im Zwangsstand eingestellten Schafe während der Fänge sehr unruhig waren, und um die Gnitzenfänge durch eine höhere Anzahl von Tieren eventuell zu erhöhen, wurde in der zweiten Hälfte der Pilotstudie die komplette Schafgruppe (A bzw. B) von drei Schafen in den Zwangsstand gestellt.

In der letzten Fangwoche wurde ein zusätzlicher dritter Fang im Anschluss an den zweiten durchgeführt. Durch diese Modifikation erhoffte man sich ebenfalls höhere Gnitzenfänge.

#### 3.4.7 Auszählung und Identifizierung der Gnitzen

Zuerst erfolgte eine Aufteilung und Auszählung der nach 20h toten Insekten in Gnitzen und Nicht-Zielinsekten. Mit den nach 20h noch lebenden, bei -20°C abgetöteten Insekten wurde in gleicher Weise verfahren.

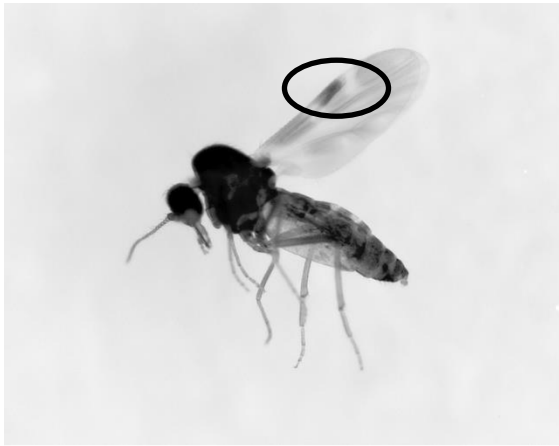
Eine Geschlechterdifferenzierung wurde anhand der Form von Antennen und Abdomen durchgeführt. Die männlichen Gnitzen sind anhand der büschelartig gefiederten Antennen und des schmaleren Abdomens deutlich von den Weibchen zu unterscheiden.

Bei den weiblichen Gnitzen wurde eine weitere Unterteilung in vorhandene oder fehlende Blutmahlzeit vorgenommen, was sich durch ein mit Blut gefülltes bzw. durchscheinendes Abdomen ausweist.

Bei den „leeren“ weiblichen Gnitzen wurde zusätzlich die Parität bestimmt. Die Parität unterteilt sich in „parous“ und „nulliparous“ und besagt, ob bereits Eier produziert und abgelegt (parous) oder ob noch nie Eier produziert wurden (nulliparous). Das lässt Rückschlüsse auf das Alter und auf das Infektionsrisiko der Gnitze zu.

Gnizen, die bereits ein Eigelege produziert haben, bilden das sogenannte Burgunderrot-Pigment aus, welches nach der Ablage der Eier lebenslang im Abdomen sichtbar ist (Dyce, 1968).

Im Anschluss erfolgte eine Identifizierung der einzelnen Gnitzen in die entsprechenden Untergattungen anhand der morphologischen Unterscheidungsmerkmale (2.2.3.1). Als Hauptkriterium diente, neben der Körpergröße, für die Untergattung *Avaritia* Fox der dunkle Fleck über der ersten (r1) und der helle Fleck über der zweiten Radialzelle (r2) (Abb. 12). Charakteristisch für Gnitzen der Untergattung *Culicoides* Latreille ist der dunkle Fleck in Form einer Sanduhr in der fünften Radialzelle (r5) (Abb. 13).



**Abbildung 12:** Gnitze, Untergattung *Avaritia* Fox (Quelle: FU Berlin)



**Abbildung 13:** Gnitze, Untergattung *Culicoides* Latreille (Quelle: FU Berlin)

#### 3.4.8 Wetterdaten

Die Wetterdaten wurden mit einer mobilen Wetterstation (Typ TFA 35.1099.IT Primus, TFA Dostmann GmbH & Co. KG, Wertheim-Reicholzheim, Deutschland) ermittelt und mit der dazugehörigen Software (Heavy Weather Pro WS 2800) ausgewertet.

Bei dieser Wetterstation handelt es sich um eine Funkwetterstation. Sie wurde in gleicher Entfernung zu beiden Zelten im abgetrennten Bereich der Weide montiert, auf dem die Fänge durchgeführt wurden.

Es wurden die Parameter Temperatur (°C), Luftfeuchtigkeit (%), Windgeschwindigkeit (m/s) und Niederschlag (mm) gemessen und vor Beginn des ersten Fanges notiert.

An einem im Boden versenkten Holzpfahl wurden ca. 1,50 m über dem Boden ein Funk-Thermo-Hygro-Sensor zur Ermittlung der Temperatur und Luftfeuchtigkeit und darüber ein Funk-Windsensor (Abb. 14) angebracht, der die Windrichtung und die Windgeschwindigkeit ermittelte. Der Funk-Regensensor (Abb. 15) wurde auf einem separaten Pfahl befestigt.

### 3. Material und Methoden

---

Die übermittelten Messdaten der Funksensoren wurden in zweistündlichen Intervallen von der Wetterstation gespeichert und konnten mit Hilfe eines Funk-USB-Sticks und eines Laptops jederzeit ausgelesen und mit der dazugehörigen Software ausgewertet werden.

An Tagen mit Regen, mit Windgeschwindigkeiten über 5 m/s oder bei Temperaturen unter 10 °C wurden keine Fänge durchgeführt, da Gnitzen bei diesen Wetterbedingungen nicht mehr aktiv sind (Olbrich, 1987) bzw. auf Grund ihrer Körpergröße nicht mehr gerichtet fliegen können (Boorman, 1993; van der Rijt *et al.*, 2008).



**Abbildung 14:** Funk-Thermo-Hygro-Sensor und Funk-Windsensor



**Abbildung 15:** Funk-Regensensor

#### 3.4.9 Statistische Auswertung

Es wurde der Fischer-Test auf Unabhängigkeit der Variablen angewandt, um einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen bezüglich der Anzahl an Gnitzen mit Blut im Abdomen, der Überlebensrate nach 20h und den Gnitzenfängen vom Boden zu ermitteln. Dieser Test wurde gewählt, da er auch bei einer kleinen Stichprobengröße zuverlässige Resultate liefert. Getestet wurde, ob die Verteilung der ersten Stichprobe der der zweiten entspricht, und ob beide der gleichen Grundgesamtheit entstammen. Die Nullhypothese mit der Annahme, dass keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen bestehen, muss bei einem Signifikanzniveau von 5 % bei  $p < 0,05$  verworfen werden. Um die Unterschiede hinsichtlich der Gnitzenanzahl beider Gruppen auf Signifikanz zu überprüfen, wurde der Zweistichproben-t-Test für unabhängige Stichproben gewählt. Dieser vergleicht anhand der Mittelwerte zweier Stichproben, ob diese gleich sind. Hier wurde ebenfalls das Signifikanzniveau auf 5 % festgelegt.

Die wöchentliche Wirkung des Präparats hinsichtlich einer Reduzierung der Anzahl gefangener Gnitzen bei der behandelten Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe wurde anhand folgender Formel berechnet:

$$\text{Reduktion (\%)} = \frac{\text{MW}^1 \text{ Gnitzenanzahl KG}^2 - \text{MW Gnitzenanzahl BG}^3}{\text{MW Gnitzenanzahl KG}} \times 100$$

<sup>1</sup> Mittelwert, <sup>2</sup> Kontrollgruppe, <sup>3</sup> Behandlungsgruppe

Als weiteres Kriterium der Wirksamkeit des Ektoparasitikums gilt eine Verringerung in der Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme bei den behandelten Tieren. Dafür wurde die Blutaufnahme der Gnitzen errechnet, diese gibt den Prozentsatz der mit Blut vollgesogenen Gnitzen für die jeweilige Tiergruppe an.

$$\text{Blutaufnahme (\%)} = \frac{\text{Anzahl Gnitzen nach Blutaufnahme}}{\text{Gnitzenanzahl}} \times 100$$

Zusätzlich wurde die Reduktionsrate des Insektizids ermittelt. Mit diesem prozentualen Wert wird die Verringerung der Gnitzen mit Blut im Abdomen in der Behandlungsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe dargestellt. Die Reduktionsrate kann mit der Wirksamkeit des Präparats gleichgesetzt werden und trifft eine Aussage über die Höhe des Schutzes gegenüber einer Blutaufnahme von Gnitzen.

$$\text{Reduktionsrate (\%)} = \frac{\text{Anzahl Gnitzen nach Blutaufnahme (KG}^1) - \text{Anzahl Gnitzen nach Blutaufnahme (BG}^2)}{\text{Anzahl Gnitzen nach Blutaufnahme (KG)}} \times 100$$

<sup>1</sup> Kontrollgruppe, <sup>2</sup> Behandlungsgruppe

Mit dem Chi-Quadrat-Test wurde die Blutaufnahme beider Gruppen auf signifikante Unterschiede geprüft. Dieser vergleicht anhand einer Kontingenztafel die Häufigkeitsverteilung zweier Merkmale miteinander und errechnet dafür einen p-Wert. Ist dieser p-Wert <0,05 (Signifikanzniveau: 5%), besteht ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Beobachtungen.

### 3. Material und Methoden

---

#### 3.5 **Klinische Studie über die Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> (Deltamethrin) 7,5 mg/ml pour on gegen Gnitzen (*Culicoides* spp.) bei Schafen in Brandenburg**

##### 3.5.1 **Studiendesign**

Die Studie wurde als doppelt verblindete, multizentrische GCP-Studie konzipiert und durchgeführt. Das ist eine übliche Maßnahme in GCP-Studien, um den Einfluss bestimmter Erwartungen und Verhaltensweisen zu beseitigen, die sonst zu einer unbewussten Beeinflussung der Ergebnisse führen könnten (Schultz & Grimes, 2007). Alle beteiligten Personen erhielten eine GCP-Schulung. In dieser wurde klar definiert, was die Aufgaben der einzelnen Personen sind, wann sofort und an welche Personen unerwartete Ereignisse zu melden sind und wie die Dokumentation zu erfolgen hat.

Durch eine Person, die nicht an der Durchführung der Studie beteiligt war (Monitor), erfolgten regelmäßige Kontrollen. Diese stellte die exakte Durchführung und Dokumentation sicher. Alle erhobenen Daten wurden in Arbeitsblättern (siehe Anhang: Abb. 23, 24, 25) dokumentiert und am Ende dem Monitor zur Überprüfung gesendet. Es erfolgte ebenfalls einmal wöchentlich eine elektronische Datenübermittlung zum Monitor und Sponsor, in Form einer Excel-Tabelle.

Für beide Gruppen wurden simultane Bedingungen geschaffen, sodass die Daten später zwischen beiden Gruppen verglichen werden konnten. Nachdem Nulldaten erhoben wurden, um zu gewährleisten, dass die Gnitzenabundanz ausreichend hoch war, belief sich der Studienzeitraum auf sechs Wochen.

##### 3.5.2 **Untersuchungstiere**

In die Studie wurden 40 Schafe aufgenommen, die bestimmte Kriterien (Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien) zu erfüllen hatten. Sie sollten der gleichen Rasse angehören, in etwa das gleiche Körpergewicht aufweisen und möglichst aus der gleichen Haltungform stammen. Es wurden bewusst nur gleichgeschlechtliche Tiere der gleichen Rassen verwandt, um eventuelle Attraktivitätsunterschiede gegenüber *Culicoides* spp. ausschließen zu können.

Ausgesucht wurden weibliche Schafe der Rasse Merino-Landschaf (*Ovis aries hispanica*) mit einem Körpergewicht von etwa 40 kg (+/- 10 kg) mit gleicher Herkunft und Haltungform. Alle Tiere mussten eindeutig durch eine Ohrmarkennummer gekennzeichnet sein. Die Haut und das Vlies sollten physiologisch unauffällig sein und weder Veränderungen noch starke Verschmutzungen aufweisen.

##### 3.5.3 **Ernährung der Tiere auf der Weide**

Den Schafen standen ca. 2 ha Dauergrünland zur Verfügung. Dieses war im Untersuchungs-jahr noch nicht bewirtschaftet worden. Die Graslänge betrug zum Zeitpunkt

des Austriebs (Mitte Mai) etwa 30 cm. Den Tieren wurden zusätzlich Heu und frisches Wasser *ad libitum* angeboten. Auf zwei Fütterungszeiten verteilt, wurden 10 kg Deuka-Lämmerpellets (Deuka Werk Erfurt, Deutschland) pro Herde zugefüttert (Tab. 4).

**Tabelle 4:** Futtermittelzusammensetzung von Deuka-Lämmerpellets

Inhaltsstoffe	Mengenanteil
<b>Rohprotein</b>	18 %
<b>Rohasche</b>	8 %
<b>Rohfaser</b>	7 %
<b>Rohfett</b>	3,2 %
<b>Calcium</b>	1,4 %
<b>Phosphor</b>	0,55 %
<b>Natrium</b>	0,3 %
<b>Vitamin A</b>	15.000 IE
<b>Vitamin D3</b>	1.500 IE
<b>ME</b>	10,8 MJ/kg
<b>Energiestufe</b>	3

#### 3.5.4 Untersuchungen

##### 3.5.4.1 Klinische Voruntersuchungen

In einer tierärztlichen Untersuchung wurde von einem Veterinär vor Beginn der Studie der Gesundheitsstatus der Tiere geprüft. Dazu zählte die Beurteilung des Ernährungs-, Pflege- und Entwicklungszustands. Anschließend wurde jedes Tier gewogen und es wurde eine klinische Untersuchung des Herz- und Kreislaufapparates und des Verdauungsapparates durchgeführt. Ermittelt wurden die Herzfrequenz, die Pansentätigkeit und die Körpertemperatur. Bestehende Krankheitsanzeichen führten zum Ausschluss des Tieres aus der Studie. Eine spezielle Untersuchung erfolgte für das Haarkleid und die Haut. Die Haut wurde auf etwaige Umfangsvermehrungen und offene Läsionen überprüft. Sie sollte physiologisch intakt sein und keine Substanzverluste aufweisen. Die Haare wurden auf Dichte, Länge, Feuchtigkeit bzw. Fettigkeit, Glanz, das Anliegen am Körper und das Vorhandensein von Ektoparasiten überprüft. Tiere wurden von der Studie ausgeschlossen, wenn sie zuvor mit einem Ektoparasitikum bzw. mit injizierbaren makrozyklischen Laktone behandelt worden waren oder aber, falls sie pathologische Hautveränderungen inklusive Verletzungen aufwiesen.

##### 3.5.4.2 Überprüfung der Herdengesundheit

Eine tägliche Herdenkontrolle erfolgte vom Schäfer morgens und von den Personen, die die Insektenfänge durchführten, abends. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei auf Lämmer

### 3. Material und Methoden

---

gelegt, die ständig abseits von der Gruppe grasten, auffällig häufig lagen oder nicht alle Gliedmaßen gleichermaßen belasteten.

Die Tiere, die am Fangtag in den Zwangsstand kamen, wurden ein weiteres Mal auf pathologische Veränderungen der Haut und des Vlieses untersucht.

#### 3.5.5 Bildung der Untersuchungsgruppen (Randomisierung)

Die Randomisierung erfolgte vom Monitor mit Hilfe eines Microsoft<sup>®</sup> Excel-Programms. Dafür wurden vom Programm den einzelnen Ohrmarkennummern der Schafe sich nicht wiederholende Zufallszahlen zugeordnet, die anschließend der Größe entsprechend sortiert wurden. Im ersten Schritt erfolgte die zufällige Aufteilung der gesamten Gruppe von 40 Tieren in zwei Gruppen, A und B. Durch eine erneute Erstellung von Zufallszahlen in den beiden Gruppen konnten im zweiten Schritt die 20 Tiere der jeweiligen Gruppe in fünf Untergruppen (A1-A5, B1-B5) zu je drei Tieren plus einem Ersatztier unterteilt werden (siehe Anhang: Tab. 14).

#### 3.5.6 Austrieb der Schafe auf die Weide

Mit Hilfe der Randomisierungsliste wurden alle Tiere nacheinander im Treibgang auf dem Gelände des LVAT auf dem Rücken mit einem grünen (A1, A2, A3, A4, A5) bzw. roten (B1, B2, B3, B4, B5) Markierungsspray für Schafe (Raidex GmbH, Dettingen/Erms, Deutschland), entsprechend der Gruppenzugehörigkeit, gekennzeichnet. Diese Maßnahme wurde für das schnellere Sortieren der Tiere auf der Weide durchgeführt. Da die gesamte Schafherde noch unbehandelt war, konnte sie zusammen mit einem Tierhänger vom LVAT zur Weide gefahren werden. Die Weide war zuvor mit Hilfe von Elektrozäunen in die zwei großen Flächen A und B unterteilt worden. Die Tiere wurden durch Tierpfleger auf die entsprechenden Flächen getrieben, die Zuweisung erfolgte mit Hilfe der Randomisierungsliste, die Identifizierung der Tiere anhand der Rückenmarkierung. Im Anschluss erfolgte eine Überprüfung der Ohrmarkennummern.

#### 3.5.7 Behandlung der Schafe mit Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on

Die Behandlung der Schafe wurde von einem Tierarzt durchgeführt, der bei der Durchführung und Identifizierung der Gnitzenfänge keine weitere Aufgabe zu erfüllen hatte. Die 20 Tiere der zu behandelnden Gruppe wurden wie unter 3.5.5 beschrieben in fünf Untergruppen aufgeteilt und an fünf aufeinanderfolgenden Tagen (Tab. 5) entlang der Rückenlinie mit 10 ml Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on behandelt.

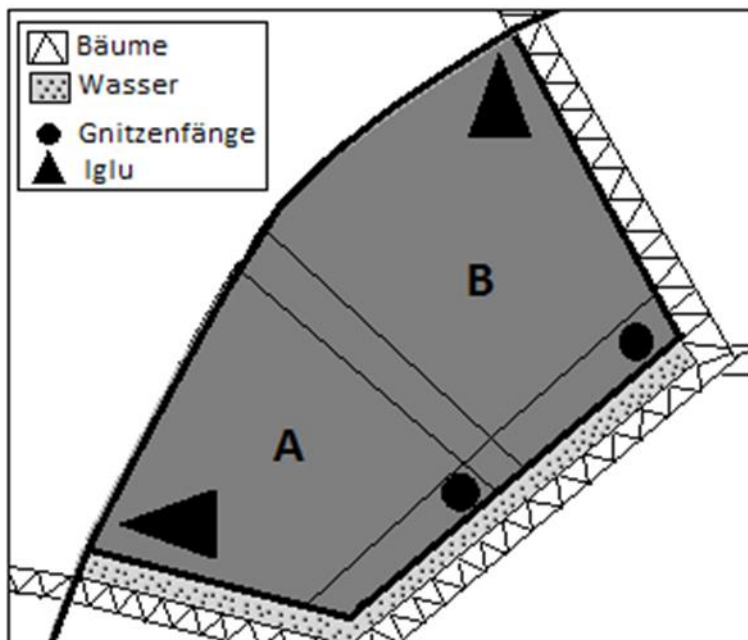


**Tabelle 5:** Behandlungsschema der Schafe

Behandlungstag	Datum	Schafgruppe (mit je 4 Tieren)
Montag	21.05.2012	A1*
Dienstag	22.05.2012	A2*
Mittwoch	23.05.2012	A3*
Donnerstag	24.05.2012	A4*
Freitag	25.05.2012	A5*

\*Den Mitarbeitern war nicht bekannt, welche Gruppe (A oder B) behandelt wurde.

Die Behandlung der Tiere erfolgte in einem 2,54 x 3,57 x 1,8 m großen, überdachten Kälberiglu (Kälbergroßraumhütte Megastar, Patura KG, Laudenbach, Deutschland), das in einer separaten Ecke auf der Weide aufgestellt war (Abb. 16, Abb. 17). Diese Vorsichtsmaßnahme sollte gewährleisten, dass das Ektoparasitikum auf der trockenen Haut appliziert wurde, damit es zu keiner Auswaschwirkung durch Regen direkt nach der Anwendung des Medikamentes kommen konnte. Außerdem sollte ein Wirkstoffverlust durch den Kontakt mit unbehandelten Tieren vermieden werden. Das jeweils zu behandelnde Tier wurde fixiert und von groben Verschmutzungen im Bereich des Rückens befreit. Die Applikation erfolgte wie unter 3.4.4 beschrieben. Die vier Schafe der an diesem Tag zu behandelnden Gruppe wurden für mindestens 12h nach der Behandlung im Kälberiglu bzw. einem kleinen, durch einen Doppelzaun eingegrenzten, gesicherten Auslauf belassen (Abb. 17). Um die Verblindung der Studie zu gewährleisten, wurden zwei Kälberiglus aufgebaut. Mit beiden Tiergruppen (A+B) wurde in gleicher Weise verfahren.



**Abbildung 16:** Schematische Darstellung der Versuchsweide mit Kälberiglu



**Abbildung 17:** Kälberglu mit gesichertem Auslauf

#### **3.5.8 Weide, Standorte der Zwangsstände und Eintrieb der Schafe**

Die beiden Weideflächen, A und B, wurden mit separaten Schafzäunen, sogenannte, „Knotengitter Weidezäunen“ umzäunt (Abb. 18). Diese besitzen eine Höhe von 108 cm und eine Maschenweite von 15 cm. Nach einer Länge von zwei Metern ist ein Kunststoffpfahl eingearbeitet, den man mit Hilfe der Metallgabel an einem Ende gut im Boden fixieren kann. Ein Weidezaungerät der Marke Gallagher Power Plus B180 wurde mit Hilfe von Klemmen angeschlossen und erzeugte im Pulsintervall von 1,28 s eine Höchstspannung von 8,52 kV mit einer Pulsenergie von 1,2J und elektrifizierte so den Zaun.

Ein Leitungsdraht wurde mit Hilfe von Holzpflocken, die im Abstand von 2 m im Boden versenkt wurden, zwischen beiden Schafzäunen gelegt, um so einen geschlossenen Stromkreis von einem Weidegerät über beide Areale zu erreichen.

Im Bereich des Zaunes wurde das Gras gemäht und im späteren Verlauf weiterhin kurz gehalten, damit die Ableitung und somit der Stromverlust durch Grashalme möglichst gering war.

Die Schafe wurden auf dem Gelände des LVAT bereits zwei Wochen vor Beginn der Studie an Elektrozäune gewöhnt, damit sie diese im Feld als Begrenzung akzeptierten.



**Abbildung 18:** "Knotengitter Weidezaun"

Die Zwangsstände wurden eigenständig angefertigt. Dafür wurden zwei ausziehbare Zaunelemente (Texas Trading<sup>®</sup>) mit fünf Verstreben verwendet, die in der Länge variiert werden können (2,4-3,0 m). Diese wurden parallel zueinander angeordnet, und an der Vorder- und Hinterseite wurden aufzuschiebende Gatter montiert (Abb. 19). Um eine ausreichende Stabilität zu gewährleisten, wurden die Zwangsstände mit zusätzlichen Stahlstangen tief im Boden verankert. An beiden Längsseiten wurde ein zusätzlicher Maschendrahtzaun mit einer Maschenweite von 5 cm von außen befestigt, da die Abstände der Treibgitter so groß waren, dass eine Verletzungsgefahr für die Schafe bestand, z. B. durch Hindurchstecken von Extremitäten.

Beide Zwangsstände wurden in den separaten Abschnitten der Weide, auf der die Gnitzenfänge durchgeführt werden sollten, in einer Entfernung von 50 m zueinander aufgestellt (Abb. 20).



**Abbildung 19:** Zwangsstand



**Abbildung 20:** Standort der Fangzelle auf der Weide

### 3. Material und Methoden

---

Die Schafe wurden zunächst in einen allseitig umschlossenen Kraal (runder Viehpferch) getrieben. Von diesem Kraal gelangten die Schafe durch ein Sortiergitter (Abb. 21) über einen Treibgang in den Zwangsstand.

Die Schafe wurden mit Lämmerpellets (Deuka) angelockt, die der Schäfer in die Futterraufe nahe den Treibgängen schüttete. Während die Tiere fraßen, trennte der Tierpfleger mit einem kurzen Weidezaun den Rest der Weide ab. Das abgesteckte Areal war so schmal, dass zwei Personen die gesamte Herde in den Kraal vor den Treibgang treiben und diesen im Anschluss verschließen konnten.

Der Schäfer hatte sich anhand der Rückenmarkierung die entsprechenden drei Tiere des Fangtages aus der Herde herausgesucht und durch das Sortiergitter in den Treibgang getrieben. Von dort aus gelangten die Tiere weiter in den geöffneten Zwangsstand (Abb. 22). Danach wurde die restliche Herde auf die Weide entlassen und der kurze zusätzliche Weidezaun wieder entfernt. Die Treibgitter direkt am Zwangsstand mussten für die Fänge entfernt werden, da die Zeltwände sonst nicht über den Zwangsstand hätten herabgelassen werden können.

Danach wurden die Tiere auf der anderen Weide nach dem gleichen Verfahren in den Zwangsstand getrieben.

Die Fangzelte, die vorher aufgebaut worden waren, konnten dann über die Zwangsstände gestellt werden, wodurch der erste Fang begann.



**Abbildung 21:** Sortiergitter und Treibgang



**Abbildung 22:** Treibgang mit geöffnetem Zwangsstand

### 3.5.9 Gnitzenfänge

Die Gnitzenfänge sollten 24h, 7d, 14d, 21d, 28d und 35d nach der Behandlung erfolgen. Es sollten möglichst vier Gnitzenfänge pro Untersuchungstag durchgeführt werden. Die Fänge begannen zwei Stunden vor und endeten zwei Stunden nach Sonnenuntergang. Der Studienzeitraum belief sich über sechs Wochen. Durch die um jeweils 24h versetzte Behandlung der Untergruppen war der Fangzeitpunkt nach der Behandlung für jede Untergruppe innerhalb einer Woche der selbe (Tab. 6).

**Tabelle 6:** Wöchentliche Gruppeneinteilung der Schafe für die Gnitzenfänge

Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag	Freitag
A1, B1				
	A2, B2			
		A3, B3		
			A4, B4	
				A5, B5

Vor der Behandlung der Schafe wurde über einen Zeitraum von zwei Wochen Nulldaten erhoben, um eine ausreichend hohe Gnitzenabundanz festzustellen und einen optimalen Zeitpunkt für den Start der Studie zu bestimmen.

Gefangen wurde an Tagen, an denen die Temperatur innerhalb der Fangzeit  $>10^{\circ}\text{C}$  betrug, kein Niederschlag fiel und Windgeschwindigkeiten  $<5\text{ m/s}$  vorlagen.

#### 3.5.9.1 Fangmethode

Die Gnitzenfänge wurden in Anlehnung an die Pilotstudie (3.4) wie folgt durchgeführt: Auf Bodenfänge wurde verzichtet, somit wurden Gnitzen nur von den inneren Zeltwänden abgesaugt.

Die drei Schafe der entsprechenden Untergruppe kamen gemeinsam in den Zwangsstand. Nachdem sie für 15 min unter dem geöffneten Zelt gestanden hatten, wurden die Seitenwände herabgelassen und verschlossen. Nach weiteren 20 min im geschlossenen Zelt saugte ein Mitarbeiter mit einem Aspirator die Zeltwände sowie das Dach mäanderförmig ab. Für die Aspiration war eine Zeitspanne von 15 min vorgesehen. Nach der Sicherung der Insektenfänge wurden alle Seitenteile hochgerollt und fixiert und der nächste Fang konnte beginnen. Die Zeiten für die einzelnen Arbeitsschritte wurden auf einem entsprechenden Formblatt notiert (siehe Anhang: Abb. 23, 24).

Die Fänge erfolgten von zwei Stunden vor bis zwei Stunden nach Sonnenuntergang. Ein Fangdurchlauf dauerte ca. 55 min. Bei guten Wetterkonditionen konnten vier Fänge pro Abend erfolgen.

Die gesamten Fänge des Abends wurden nach Gruppen getrennt und in separaten Transportgefäßen zum Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien

### 3. Material und Methoden

---

Universität Berlin gefahren. Bis zur Identifizierung am nächsten Tag lagerten die Fangbecher bei 4 °C im Kühlschrank, um die gesammelten Insekten zu immobilisieren.

Vor der Identifizierung wurden die Fangbecher für 30-40 min in einen Gefrierschrank bei -20 °C überführt. Dadurch wurden alle im Fangbecher befindlichen Insekten abgetötet.

#### 3.5.9.2 Auszählung und Identifizierung der Gnitzen

Die Zählung und Identifizierung der Gnitzen erfolgte in Anlehnung an die Pilotstudie (3.4.7). Eine Zuordnung in die Untergattungen *Avaritia* Fox und *Culicoides* Latreille erfolgte ausschließlich anhand der Flügelzeichnung. Eine Unterteilung in männliche und weibliche Gnitzen wurde mit Hilfe der Ausbildung der Palpen durchgeführt, und die Anzahl separat notiert.

Innerhalb der Untergattungen erfolgte eine weitere Differenzierung der weiblichen *Culicoides* spp. in „volle“ Gnitzen (mit Blut im Abdomen) und „leere“ Gnitzen (ohne Inhalt, mit durchscheinendem Abdomen). Alle Daten wurden auf dem entsprechenden Formblatt (siehe Anhang: Abb. 25) dokumentiert.

#### 3.5.10 Wetterdaten

Die Wetterdaten wurden, wie in der Pilotstudie beschrieben, mit der mobilen Wetterstation des Typs TFA 35.1099.IT Primus ermittelt. In dieser Studie wurde mit zwei Wetterstationen gearbeitet, sodass die Wetterdaten auf jeder Seite erhoben werden konnten. Die Messsensoren wurden in einer Entfernung von ca. 1 m zum Zelt, wie unter 3.3.8 beschrieben, aufgebaut. Bei dieser Studie wurden die Wetterparameter vor jedem einzelnen Fang in das entsprechende Formblatt eingetragen (siehe Anhang: Abb. 23).

#### 3.5.11 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit dem Programm SPSS 21.0 durchgeführt. Für die Gegenüberstellung der wöchentlichen Fangzahlen sowie die Anzahl der Gnitzen nach BA in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe wurde ein lineares gemischtes Modell benutzt. Dieses Modell wird häufig für die Analyse korrelierter Daten angewendet und setzt eine Normalverteilung der Daten sowie eine Varianzhomogenität voraus.

Die Überprüfung der Daten auf Normalverteilung erfolgte durch eine graphische Methode, den Q-Q-Plot (Quantil-Quantil-Plot). Diese Methode testet, ob die empirisch erhobenen Daten und die Daten einer angenommenen Testverteilung aus einer Grundgesamtheit stammen und eine gleiche Verteilung aufweisen. Im Koordinatensystem werden das Lagemaß (Quantil) der empirischen Daten auf der Abszisse und der erwartete Wert unter Normalverteilung auf der

Ordinate abgetragen. Wenn beide Verteilungen in etwa gleich sind, bilden die Punkte im Koordinatensystem eine winkelhalbierende Gerade ( $45^\circ$ ) (Cohen *et al.*, 2003).

Da es einige „Ausreißer“ gab, die weitab von der winkelhalbierenden Gerade lagen und somit nicht der Annahme einer normalen Verteilung entsprachen, wurden die Daten transformiert. Hierzu wurde ein natürlicher Logarithmus ( $\ln+1$ ) benutzt, der die Daten staucht, ohne deren Rangfolge zu ändern.

Die zweite Voraussetzung für die Anwendung dieses Modells besteht in einer Varianzhomogenität und besagt, dass sich die Varianzen (Streuung der Daten) in den Stichproben in ihrer Größe nicht signifikant voneinander unterscheiden dürfen. Dafür wurde der Levene-Test genutzt. Dieser überprüft die Homoskedastizität (konstante Streuung der Datenpunkte) in einer Stichprobe, indem für alle Daten die absoluten Abweichungen vom Gruppenmittelwert berechnet werden. Es sollte die Nullhypothese, die besagt, dass alle Gruppenvarianzen gleich sind, angenommen werden, und somit sollte der Levene-Test nicht signifikant ( $p > 0,05$ ) sein. Unter diesen Bedingungen wurde das lineare gemischte Modell angewendet.

In dieser Studie wurden korrelierte Daten erhoben, die dazu neigen, vom gleichen Subjekt ähnlicher zu sein als von verschiedenen Subjekten und somit eine gewisse Abhängigkeitsstruktur aufweisen.

Dieses Modell ist ideal für diese Art von Datensätzen. Es betrachtet neben festen Effekten (Populationseffekte) auch zufällige Effekte (subjektspezifische Abweichungen) und kombiniert beide Modellkomponenten miteinander.

Ferner wird berücksichtigt, dass die abhängigen Variablen (Gnitzenanzahl, Anzahl mit Blut vollgesogener Gnitzen) von festen Faktoren (Gruppen) sowie Kovariablen (Wetterparameter) beeinflusst werden können. Es berechnet für jeden einzelnen Zusammenhang zwischen den abhängigen Variablen und den anderen Faktoren den Einfluss, der mit dem Signifikanzniveau ( $p < 0,05$ ) beschrieben wurde.

Es wurde die Gnitzenreduktion, die Blutaufnahme und die Reduktionsrate des Präparats mit Hilfe der in Abschnitt 3.4.9 aufgeführten Formeln für die einzelnen Fangwochen berechnet. Die Reduktion errechnet sich aus der Verminderung der Gnitzenanzahl in der behandelten Gruppe im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Mit der Blutaufnahme wird der prozentuale Anteil an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme einer Gruppe angegeben. Die Reduktionsrate gibt den prozentualen Anteil der Gnitzen nach BA in der Behandlungsgruppe zur Kontrollgruppe an. Durch diesen Wert erhält man eine Aussage über die Verringerung der Gnitzen in der Behandlungsgruppe, die eine Blutmahlzeit aufnehmen konnten, was der Zielwirkung des Präparats entspricht.

### 4. Ergebnisse

#### 4.1 Vorversuche zur Gnitzenabundanz am Untersuchungsstandort

Vom 11.06. bis zum 14.06.2011 wurden an drei Fangtagen insgesamt 818 Gnitzen mit vier Sentinel<sup>®</sup> UV-Lichtfallen gefangen. Der Versuch sollte Standortbedingungen für Gnitzenfänge zweier Teilweiden vergleichen. Dafür wurde jeweils ein Rind in einen Zwangsstand gestellt und zwei Fallen im Umfeld positioniert. Die Falle 1 (A1+B1) befand sich in einem Abstand <1 m zum Tier. Sie hat insgesamt 758 Gnitzen auf beiden Seiten gefangen und somit signifikant höhere Fangzahlen erzielt, als Falle 2. Letztere (A2+B2) wurde in einem größeren Abstand (ca. 2 m) zum Tier aufgebaut und hat zusammen nur 60 Gnitzen gefangen. Von den insgesamt 818 gefangenen Gnitzen zählten 585 (72%) zur Untergattung *Avaritia* Fox und 233 (28%) zur Untergattung *Culicoides* Latreille. Insgesamt wurden auf der Weide A 321 und auf der Weide B 497 Gnitzen gefangen. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Teilweiden bestand nicht ( $p = 0,5668$ , t-Test), was die Standortwahl bestätigte.

Die Anzahl gefangener Gnitzen in den zwei Fangstunden vor Sonnenuntergang war mit weniger als 1 % der Tagesfänge äußerst gering. Die Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme wurde in diesem Versuch nicht erhoben.

#### 4.2 Pilotstudie zur Überprüfung gewählter Untersuchungsparameter

##### 4.2.1 Gesamtfänge an Gnitzen

In der 3-wöchigen, doppelt verblindeten Pilotstudie (19.09.-05.10.2011) wurden an insgesamt acht Fangtagen Gnitzenfänge durchgeführt. Der erste Fangdurchlauf wurde eine Stunde vor, der zweite zur Zeit des Sonnenuntergangs durchgeführt.

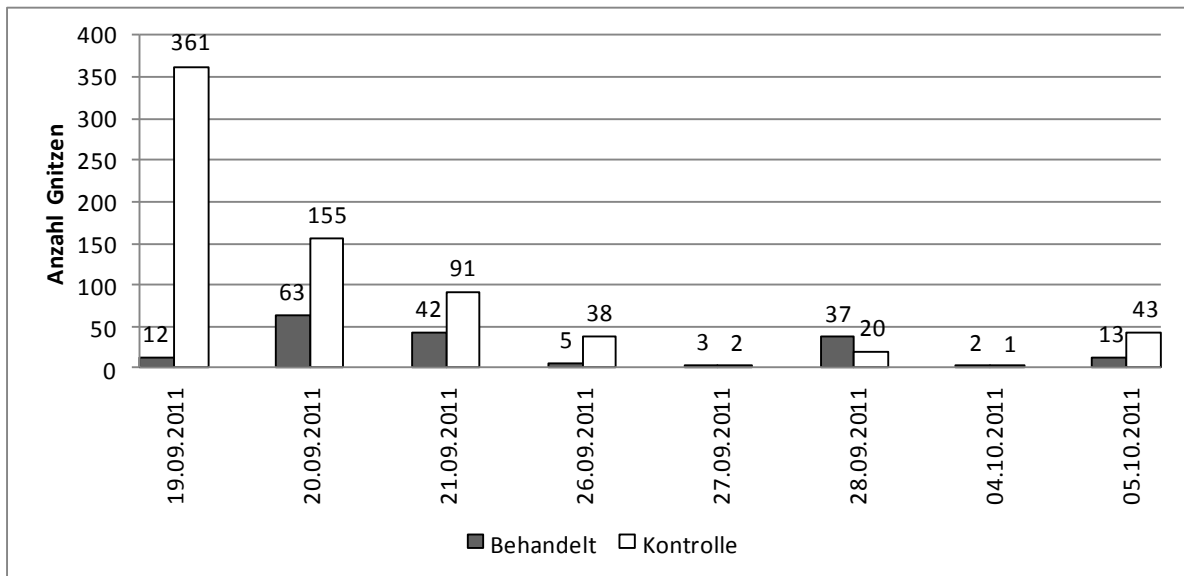
Insgesamt konnten 888 Gnitzen gefangen werden. Der größte Teil der Gnitzenfänge war ohne Blut im Abdomen, lediglich 123 der gefangenen Gnitzen (14%) hatten zuvor eine Blutmahlzeit am Schaf aufgenommen.

##### 4.2.2 Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe

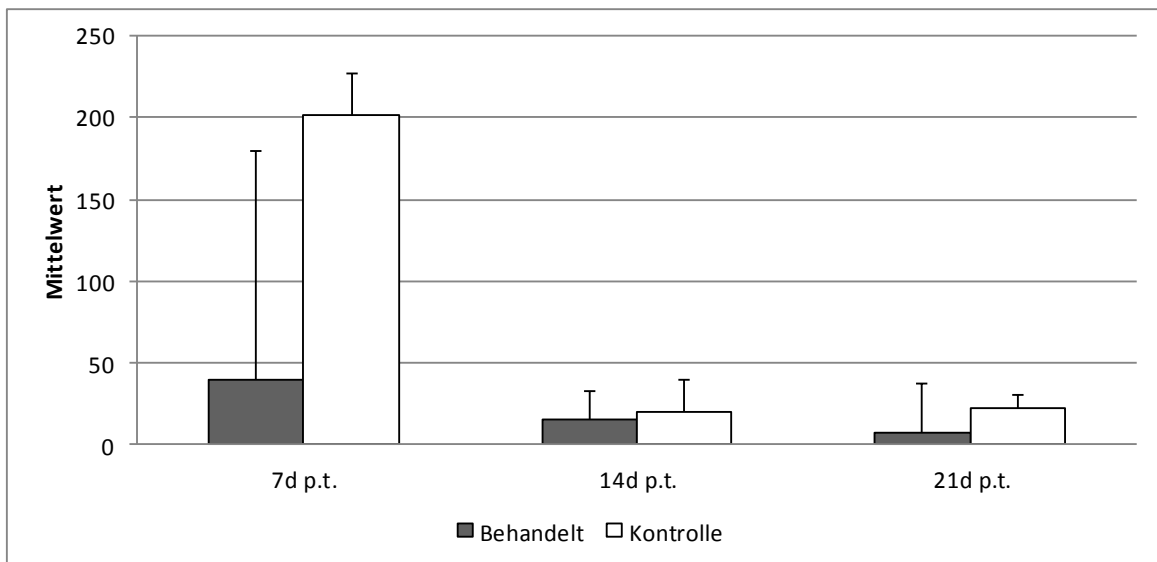
Über den gesamten Studienzeitraum wurden in der unbehandelten Gruppe deutlich mehr Gnitzen gefangen als in der behandelten. In der ersten Woche (19.09.-21.09.2011) wurden in der Kontrollgruppe insgesamt 84 %, in der zweiten Woche (26.09.-28.09.2011) 57 % und in der dritten Fangwoche (04.10.-05.10.2011) 75 % der wöchentlichen Gesamtfänge erzielt. Die höchste Fangzahl in der Kontrollgruppe wurde am 19.09.2011 mit 361 Gnitzen ermittelt (Grafik 1).



In der behandelten Schafgruppe wurden während der Pilotstudie insgesamt 177, in der unbehandelten 711 Gnitzen gefangen, mit einer Gesamtanzahl Gnitzen nach Blutaufnahme von 11 in der Behandlungs- und 112 in der Kontrollgruppe. Es bestand in keiner Versuchswoche ein signifikanter Unterschied in der Anzahl gefangener Gnitzen zwischen beiden Gruppen (1. Woche:  $p = 0,1377$ ; 2. Woche:  $p = 0,2673$ ; 3. Woche:  $p = 0,3524$ , t-Test). Am ersten Fangtag (19.09.2011) wurde die größte Differenz zwischen der Behandlungs- (12 Gnitzen) und der Kontrollgruppe (361 Gnitzen) ermittelt, dieser Unterschied war mit  $p = 0,3461$  (t-Test) nicht signifikant.



**Grafik 1:** Vergleichende Darstellung der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

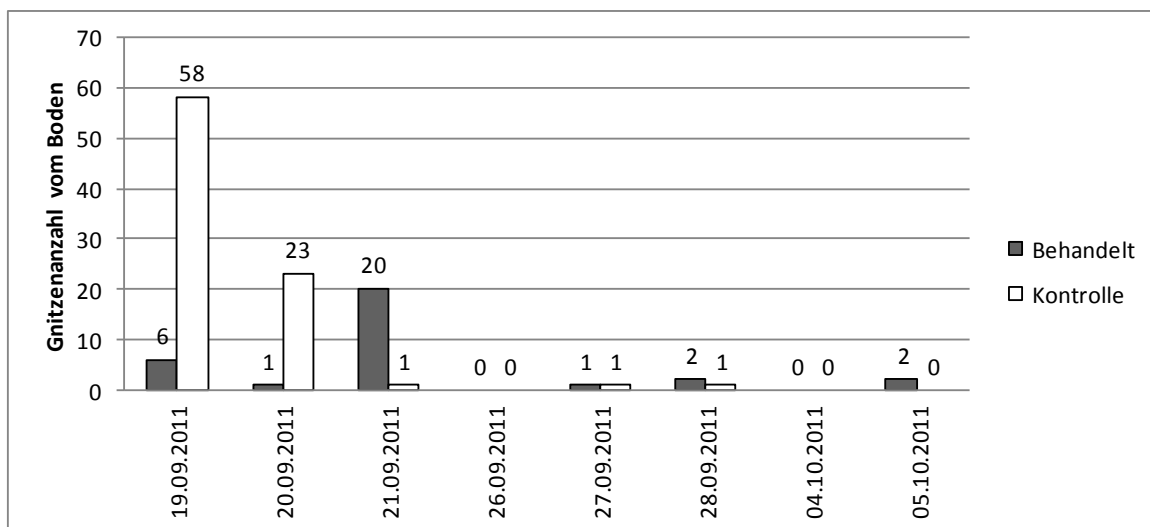


**Grafik 2:** Vergleichende Darstellung der wöchentlichen Mittelwerte mit Standardabweichungen der Gnitzenfangzahlen in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

## 4. Ergebnisse

### 4.2.3 Bodenfänge

Mit Ausnahme von nur einigen wenigen gefangenen Individuen in der zweiten und dritten Fangwoche konnten von der Bodenabdeckung mit dem Aspirator signifikant unterschiedliche Gnitzenfangzahlen nur in der ersten Fangwoche, also am 7. Tag nach der Behandlung, abgesaugt werden (Grafik 3). Während sich am 19. und am 20. September von der Bodenabdeckung der Kontrolltiere größere Gnitzenzahlen absaugen ließen als von jener der Behandlungsgruppe, kehrte sich dieses Verhältnis am 21. September zu Gunsten der Behandlungsgruppe um. Über alle drei Fangtage der ersten Fangwoche gemittelt, konnte vom Boden der Behandlungsgruppe, die sich in unmittelbarer Umgebung der behandelten Tiere befand, eine signifikant höhere Gnitzenanzahl aspiriert werden als vom Boden der Kontrolltiere ( $p = 0,0081$ , Chi-Quadrat-Test).



**Grafik 3:** Vergleichende Darstellung der Gnitzenfänge vom Boden des Fangzeltes, bei der Behandlungs- und der Kontrollgruppe in Groß Kreuztz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

### 4.2.4 Anteil der Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme der Gesamtfänge

Der Anteil der Gnitzen nach Blutaufnahme war in der behandelten Gruppe zu jedem Zeitpunkt deutlich niedriger als in der unbehandelten Gruppe. Die höchste Anzahl an mit Blut vollgesogener Gnitzen wurde am ersten Fangtag (19.09.2011) mit insgesamt 57 erzielt (Grafik 4), obwohl der prozentuale Anteil in der zweiten Woche mit 23 % in der Kontrollgruppe am höchsten war. Zwischen beiden Gruppen besteht für die ersten beiden Wochen ein signifikanter Unterschied in der Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme (1. Woche:  $p = 0,0153$ , 2. Woche:  $p = 0,0218$ ; Chi-Quadrat), in der dritten Woche konnte keine Signifikanz ermittelt werden ( $p = 0,1724$ ; Chi-Quadrat). Gleichbleibend niedrige Werte an Gnitzen mit Blut im Abdomen wurden bei den Fängen der Behandlungsgruppe festgestellt, mit 7% in den ersten beiden Wochen und 0% in der letzten Woche.

Die Verringerung in der Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme am Tier innerhalb der Behandlungsgruppe betrug in der ersten Woche 91,4%, in der zweiten Woche 78,57%

und in der dritten Woche 100%. Über den gesamten Zeitraum der Pilotstudie wurde eine Reduktionsrate von 90,18% erzielt (Tab. 7). Die Reduktionsrate des Insektizids gibt an, um wieviel Prozent die Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme in der Behandlungsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe verringert wurde (3.4.9).

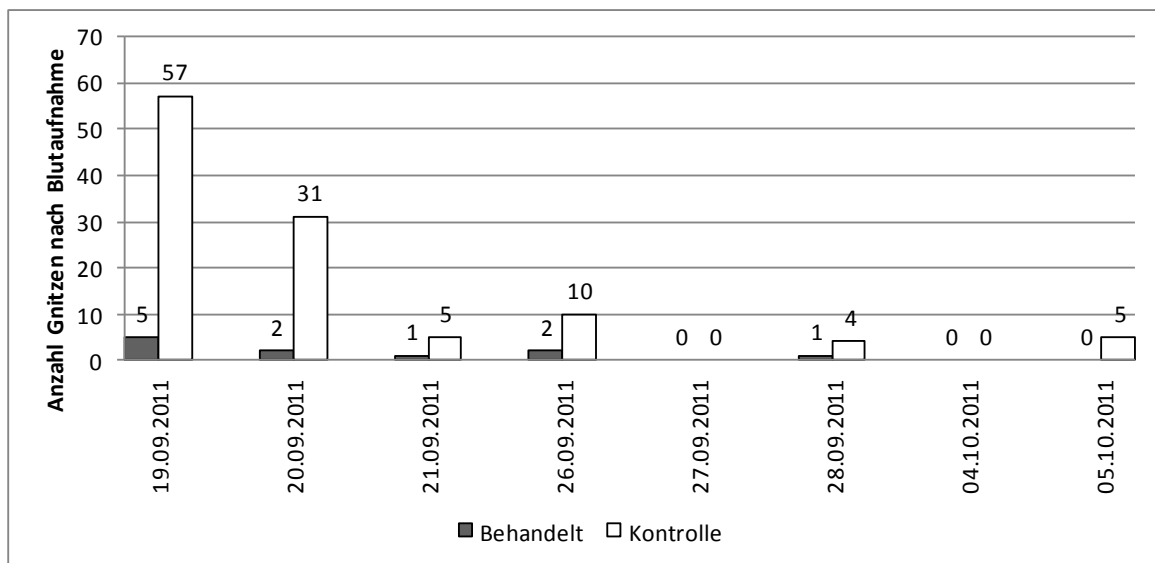
**Tabelle 7:** Übersicht der wöchentlichen Wirkungsparameter für die Behandlungs(BG)- und die Kontrollgruppe (KG) über den Versuchszeitraum der Pilotstudie

Fangwoche	Gnizenfänge		Reduktion* %	Blutaufnahme		Gnizen nach Blutaufnahme		Reduktionsrate** %
	KG	BG		KG	BG	KG	BG	
1.	607	117	80,69	15,3 <sup>1</sup>	6,84 <sup>1</sup>	93	8	91,40
2.	60	45	25,00	23,3 <sup>1</sup>	6,66 <sup>1</sup>	14	3	78,57
3.	44	15	65,90	11,36	0	5	0	100
Gesamt	711	177	74,80	15,75 <sup>1</sup>	6,21 <sup>1</sup>	112	11	90,18

<sup>1</sup> signifikanter Unterschied (p<0,05, Chi-Quadrat-Test)

\*Reduktion aller gefangenen Gnitzen

\*\*Reduktionsrate der Gnitzen nach erfolgter Blutmahlzeit



**Grafik 4:** Vergleichende Darstellung von der Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

## 4. Ergebnisse

### 4.2.5 Speziesspektrum der gesamten Gnitzenfänge

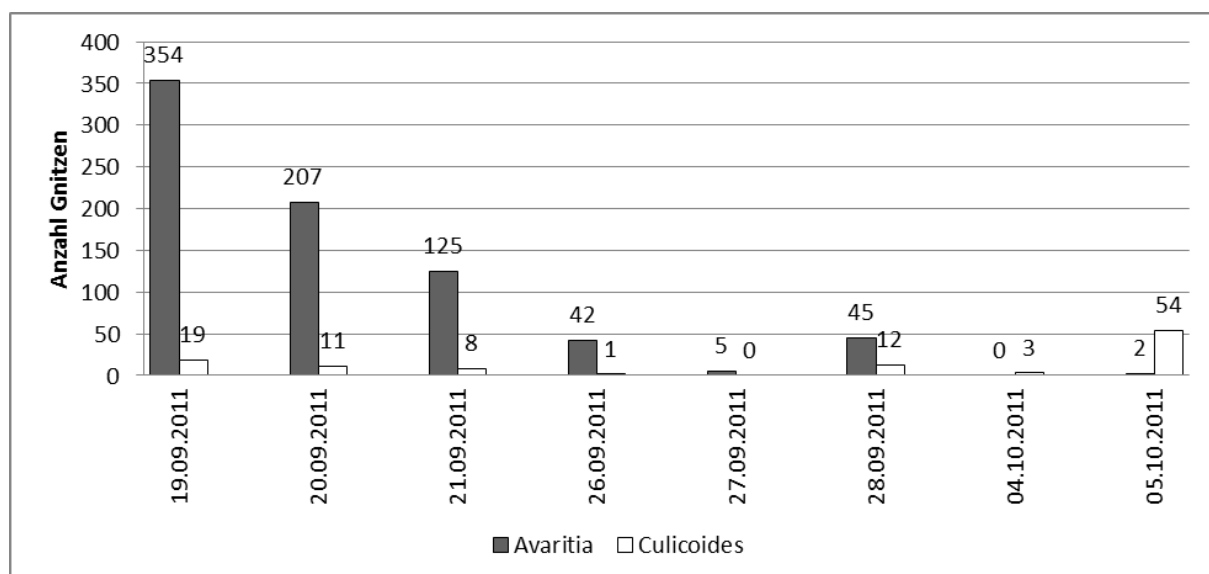
Die Gnitzenfänge setzten sich ausschließlich aus Spezies der Untergattungen *Avaritia* Fox und *Culicoides* Latreille zusammen. Eine weiterführende Differenzierung bis zur einzelnen Spezies erfolgte nicht.

Dominierend mit 75 % (668) wurden Gnitzen der Untergattung *Avaritia* Fox gefangen, mit 25 % (222) die deutlich geringer vertretene Spezies der Untergattung *Culicoides* Latreille (Grafik 5). Der prozentuale Anteil der Spezies einer Untergattung vom gesamten Fang war in beiden Gruppen, mit Ausnahme der zweiten Woche, identisch (Tab. 8).

Die in der ersten Woche mit 94 % dominierende Spezies der Untergattung *Avaritia* fiel in der letzten Fangwoche auf 4,5 % (KG) bzw. 0 % (BG) ab. Ein entgegengesetzter Trend wurde bei den Spezies der Untergattung *Culicoides* beobachtet, die in der letzten Woche mit 95,5 % (KG) bzw. 100 % (BG) die vorherrschenden Gnitzenpezies darstellten (Tab. 8). Ob diese Beobachtung im Zusammenhang mit den zunehmend kühleren Temperaturen steht, kann auf Grund der sehr geringen Gnitzenfangzahlen in den letzten beiden Wochen nicht bewertet werden.

**Tabelle 8:** Übersicht der prozentualen Spezieszusammensetzung in den einzelnen Fangwochen für die Behandlungs- und die Kontrollgruppe

Fangwoche	Kontrollgruppe		Behandlungsgruppe	
	<i>Avaritia</i>	<i>Culicoides</i>	<i>Avaritia</i>	<i>Culicoides</i>
1.	94,7%	5,3%	94,87%	5,13%
2.	96,7%	3,3%	75,6%	24,4%
3.	4,55%	95,45%	0%	100%
Gesamt	89,3%	10,7%	81,92%	18,08%



**Grafik 5:** Darstellung der Spezieszusammensetzung an den Gesamtfängen beider Gruppen in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

#### 4.2.6 Parität der Gesamtfänge

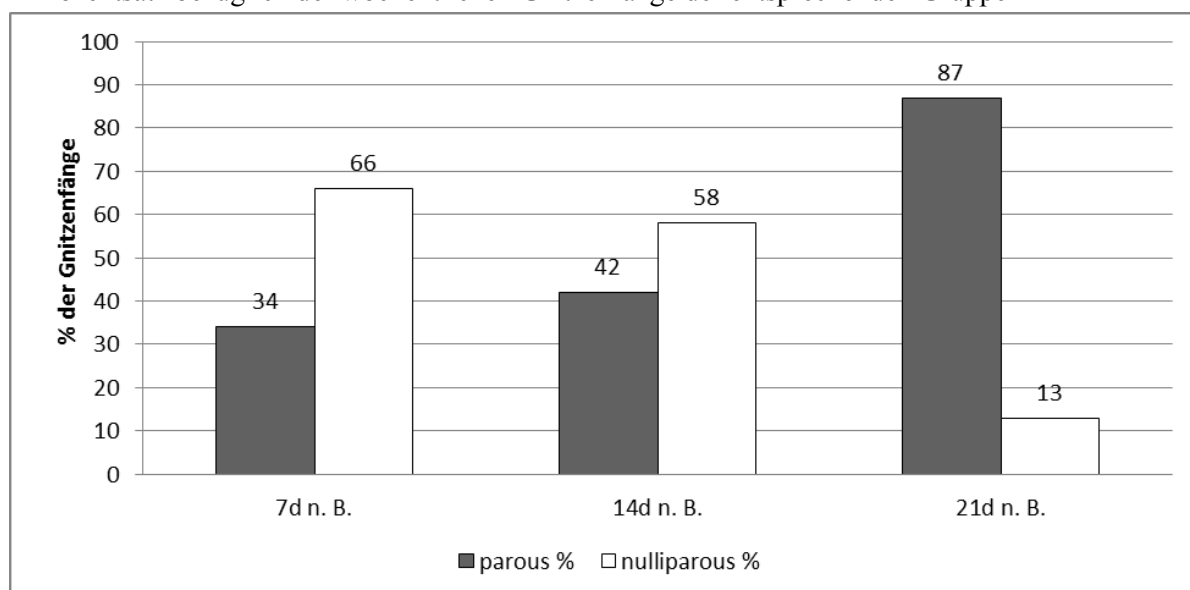
In der ersten Fangwoche (19.09.-21.09.2011) wurden insgesamt 400 Gnitzen (66 %) gefangen, die der Parität nulliparous entsprachen (Tab. 9). Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zur letzten Fangwoche (04.10.-05.10.2011), in der nur noch 7 Gnitzen (13 %) der gesamten Fänge nulliparous waren.

Im Gegensatz hierzu nahm die Anzahl der Gnitzen, die bereits Eier produziert hatten (parous), im Verlauf der Studie zu. An den ersten drei Fangtagen wurden insgesamt 223 Gnitzen gefangen, die parous waren, was einem prozentualen Anteil von 34 % entspricht. Hingegen waren an den letzten zwei Fangtagen im Oktober 47 Gnitzen parous, was 87 % der Gesamtmenge an Gnitzen entspricht (Grafik 6). Ob diese Ergebnisse auf das Ausbleiben einer neuen Generation zurückzuführen sind, kann auf Grund der zu geringen Fangzahlen der letzten beiden Fangwochen nicht mit Sicherheit gesagt werden.

**Tabelle 9:** Übersicht der wöchentlichen Paritätsbestimmung für die Behandlungs- und die Kontrollgruppe

Fangwoche	Kontrollgruppe		Behandlungsgruppe	
	parous	nulliparous	parous	nulliparous
1.	176 (34%)*	338 (66%)*	47 (43%)*	62 (57%)*
2.	17 (37%)*	29 (63%)*	13 (41%)*	19 (59%)*
3.	33 (85%)*	6 (15%)*	14 (93%)*	1 (7%)*
<b>Gesamt</b>	<b>226</b>	<b>373</b>	<b>74</b>	<b>82</b>

\* Prozentsatz bezüglich der wöchentlichen Gnitzenfänge der entsprechenden Gruppe



**Grafik 6:** Darstellung der prozentualen Anteile der Paritäten parous und nulliparous an den Gesamtfängen beider Gruppen in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

## 4. Ergebnisse

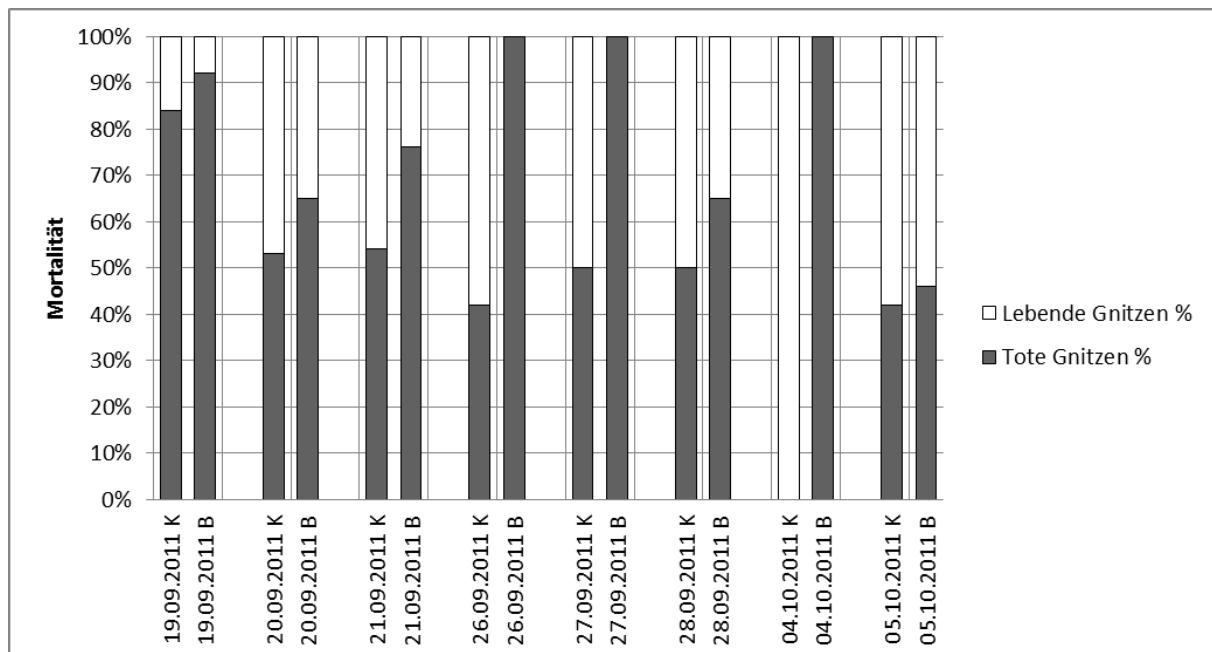
### 4.2.7 Überlebensrate nach 20 Stunden

In der Behandlungsgruppe betrug die durchschnittliche Überlebensrate nach 20 Stunden 19,5%. Im Gegensatz dazu lag bei der Kontrollgruppe die mittlere Überlebensrate der Gnitzen mit 53% deutlich höher. Zu keinem Fangzeitpunkt im Verlauf der Studie war die Anzahl lebender Gnitzen nach 20h in der Behandlungsgruppe höher als in der Kontrollgruppe (Grafik 7).

Eine Mortalität der Gnitzen von 100% wurde an drei Tagen (26.09., 27.09. und 04.10.2011) bei den mit Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on behandelten Schafen erzielt. Die geringste Mortalität wurde mit 46% am letzten Fangtag (05.10.2011) für die Gnitzen der Behandlungsgruppe ermittelt.

Für die zweite Fangwoche besteht ein signifikanter Unterschied in der Überlebensrate nach 20h zwischen beiden Gruppen ( $p = 0,0098$ ; Fischer-Test). In der ersten Woche ( $p = 1$ ; Fischer-Test) und der dritten Fangwoche ( $p = 0,5485$ ; Fischer-Test) konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden.

In der Kontrollgruppe wurde die höchste Mortalität der Gnitzen am ersten Fangtag (19.09.2011) notiert, sie belief sich auf 84%. Eine 100%-ige Überlebensrate und somit eine Mortalität von 0% wurde in dieser Gruppe am 04.10.2011 gemessen.



**Grafik 7:** Vergleichende Darstellung der prozentualen Mortalität nach 20 Stunden bei den täglichen Gnitzenfängen in der Behandlungs(B)- und der Kontrollgruppe (K) in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

### 4.2.8 Wetterdaten

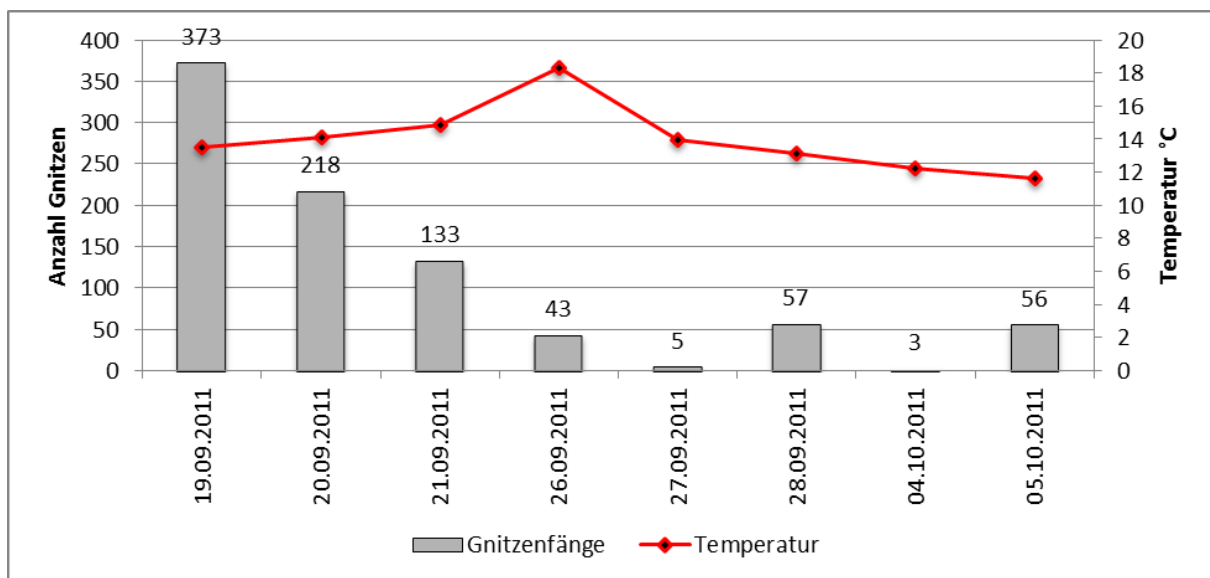
Der Herbst 2011 im Land Brandenburg zeigte sich mit relativ hohen Temperaturen, viel Sonnenschein und wenig Niederschlag. Der September wurde trotz wechselhaften Starts noch sehr sommerlich und lag mit mittleren Temperaturen von 15,3 °C im Flächenmittel um 1,8 °C

höher als im Durchschnitt und war damit der viertwärmste September der letzten 30 Jahre (wetteronline, 2011). Nach den sehr warmen Tagen Anfang September folgte Mitte September ein kühlerer Witterungsabschnitt. Ein Hochdruckeinfluss verbreitete im letzten Monatsdrittel landesweit trockenes „Altweibersommerwetter“ mit Tageshöchstwerten von bis zu 28 °C (wetteronline, 2011).

Eine Vielzahl starker Unwetter kennzeichnete die erste Monatshälfte des Septembers. Trotz lokal hoher Regenmengen unterschritten die mittleren Regenmengen mit 10 Liter pro Quadratmeter ( $l/m^2$ ) das Mittel der letzten 30 Jahre im Land Brandenburg. Somit lagen die Niederschlagsmengen zwar knapp unter dem Durchschnitt, aber noch im Normalbereich (wetteronline, 2011). Der Oktober 2011 zeichnete sich durch überdurchschnittlich viele Sonnenscheinstunden aus. Der warme „Altweibersommer“ beeinflusste die milden Temperaturen am Monatsanfang, herbstliche Kaltluftvorstöße folgten und zeigten sich in Temperaturstürzen mit Stürmen und Regenfällen (Deutscher Wetterdienst, 2011). Insgesamt befanden sich die Temperaturen sowie die Niederschlagsbilanz für diese Region im Normalbereich der letzten 30 Jahre (wetteronline, 2011).

Eine mobile Wetterstation auf der Weide hat die Wetterparameter Temperatur (°C), relative Luftfeuchtigkeit (%), Windgeschwindigkeit (m/s) und Niederschlagsmenge (mm) über den gesamten Versuchszeitraum in zweistündlichen Intervallen aufgezeichnet.

Die Temperatur schwankte während der Pilotstudie (19.09.-05.10.2011) zwischen 15 °C und 24,3 °C und lag im Mittel bei 19,5 °C (Grafik 8). Die Höchsttemperatur wurde am 26.09.2011 mit 24,3 °C erreicht, ab Oktober fielen die Temperaturen auf Tiefstwerte von 6,3 °C in der Nacht.

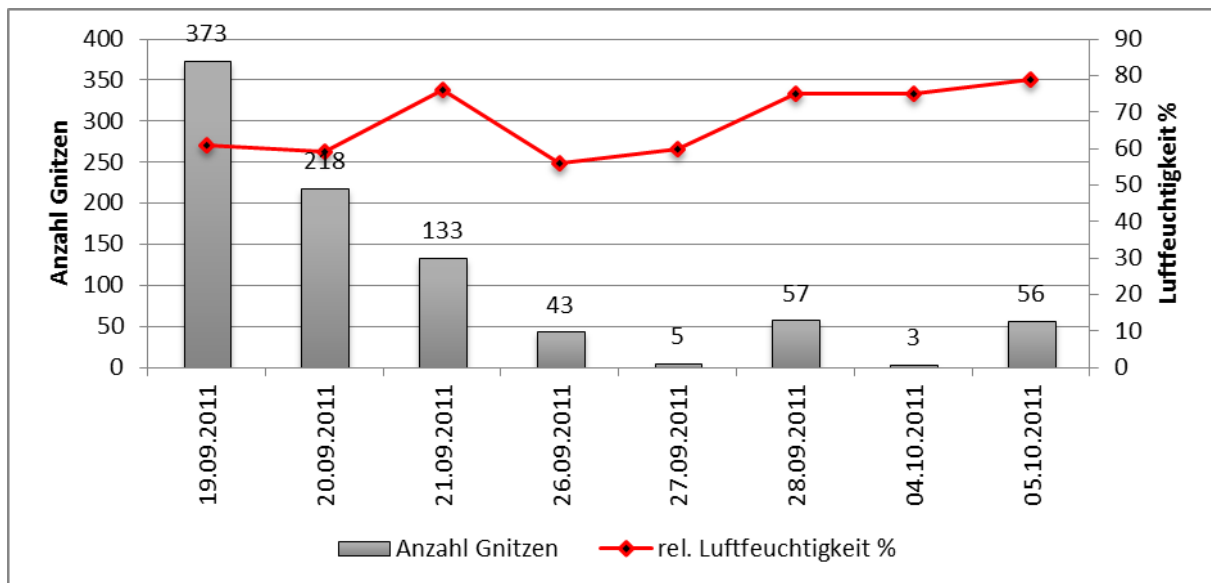


**Grafik 8:** Verlauf der durchschnittlichen Temperatur in °C und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Die relative Luftfeuchtigkeit betrug bei Werten im Bereich von 56 % und 79 % durchschnittlich 68 % (Grafik 9). An sonnigen Tagen waren charakteristische Schwankungen

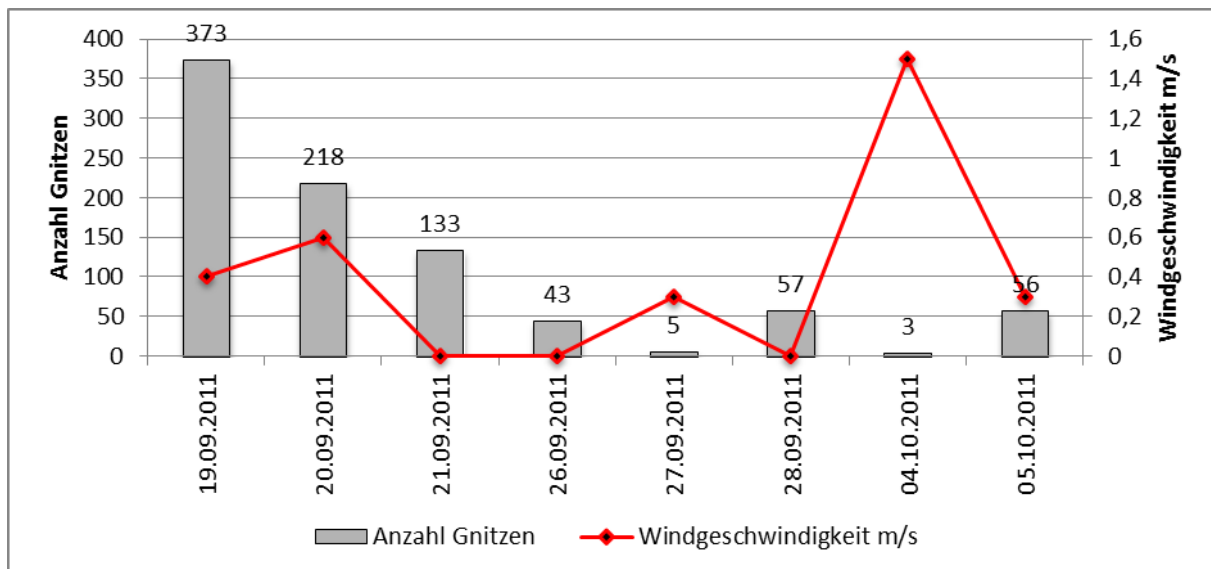
## 4. Ergebnisse

in Abhängigkeit zur Sonnenintensität zu beobachten. Die Tiefstwerte wurden in der Zeit von 12:00-16:00 Uhr gemessen. Zum Abend hin stiegen die Werte wieder kontinuierlich an.



**Grafik 9:** Verlauf der relativen durchschnittlichen Luftfeuchtigkeit in % und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Die Spitzenwindgeschwindigkeit während der Fangzeiten wurde am 04.10.2011 mit 1,5 m/s gemessen, alle anderen Fangtage waren wesentlich windstill. Über den Versuchszeitraum konnte eine durchschnittliche Windgeschwindigkeit von 0,4 m/s ermittelt werden, was als gering zu erachten ist (Grafik 10).

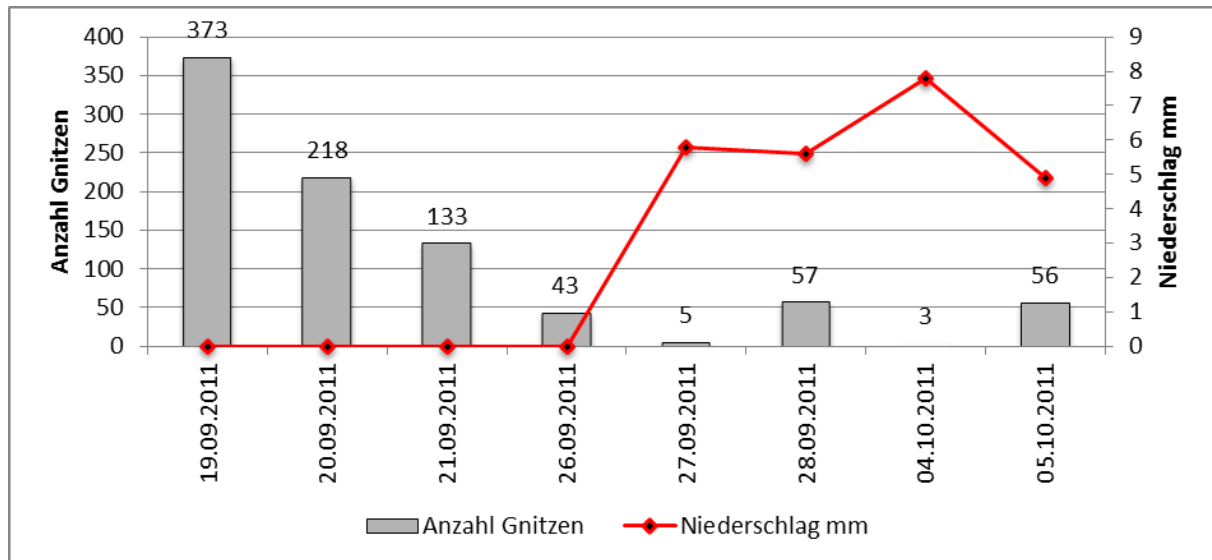


**Grafik 10:** Verlauf der durchschnittlichen Windgeschwindigkeit in m/s und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Es wurden nur an niederschlagsfreien Abenden Gnitzenfänge durchgeführt, deshalb beträgt die Regenmenge für jeden Fangzeitpunkt 0 mm. Im gesamten Fangzeitraum wurden nur an 4



Tagen (27.09., 28.09., 04.10., 05.10.2011) Niederschlagsmengen von durchschnittlich 6 mm gemessen (Grafik 11).



**Grafik 11:** Verlauf der durchschnittlichen Niederschläge in mm und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Pilotstudie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

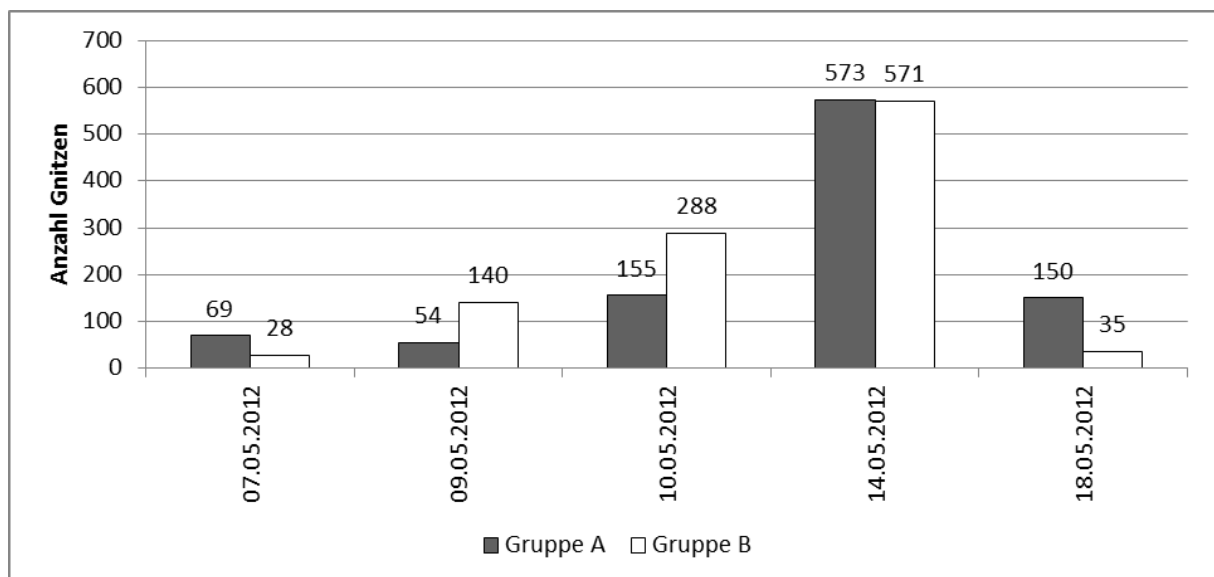
### 4.3 Klinische Studie über die Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on gegen Gnitzen bei Schafen in Brandenburg

#### 4.3.1 Nulldaten

Vom 07.05. bis zum 18.05.2012 konnten an 5 Fangtagen Nulldaten erhoben werden. Insgesamt wurden 2063 Gnitzen gefangen, von denen 1996 (97%) zur Untergattung *Avaritia* Fox zählten und 66 Gnitzen (3%) zur Untergattung *Culicoides* Latreille. 92 Gnitzen (5%) hatten eine Blutmahlzeit aufgenommen.

Obwohl in der zweiten Woche nur an zwei statt wie in der ersten Woche an drei Tagen gefangen wurde, konnten fast doppelt so viele Gnitzen gezählt werden (Grafik 12). Die höchsten Fangzahlen für beide Gruppen wurden am 14.05.2012 erzielt, mit 571 bzw. 573 Gnitzen auf jeder Seite. Den niedrigsten Fang gab es am ersten Fangtag (07.05.2012) mit 69 bzw. 28 Gnitzen.

## 4. Ergebnisse



**Grafik 12:** Vergleichende Darstellung der Gnitzenfänge über den Zeitraum der Nulldatensammlung in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Insgesamt wurden bei der Gruppe A 1001 Gnitzen identifiziert, von denen 48 (4,78%) Blut aufgenommen hatten, und bei der Gruppe B 1061, von denen 44 (4,14%) nach erfolgter Blutaufnahme gefangen wurden. Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Anzahl gefangener Gnitzen ( $p = 0,293$ ; lineares gemischtes Modell) sowie in der Anzahl nach erfolgter Blutaufnahme ( $p = 0,499$ ; lineares gemischtes Modell) zwischen beiden Gruppen (Tab. 10).

**Tabelle 10:** Vergleichende Darstellung der Gnitzenanzahl und der Anzahl Gnitzen nach Blutaufnahme für Schafgruppe A und B zur Zeit der Nulldatenerhebung in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Fangperiode	Gnitzenanzahl		Gnitzen nach Blutaufnahme	
	A	B	A	B
7.05-18.05.12	1001	1061	48 (4,78) <sup>1</sup>	44 (4,14) <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prozentsatz der Gnitzen nach Blutaufnahme

Spezies der Untergattung *Avaritia* Fox bildeten in beiden Gruppen mit 95% bzw. 98% den Hauptanteil gefangener Gnitzen.

Die Wetterdaten wurden bei beiden Gruppen vor jedem Gnitzenfang mit Hilfe zweier mobiler Wetterstationen erhoben und dokumentiert. Die Temperaturen im Fangzeitraum (07.05.-18.05.2012) nahmen Werte zwischen 7,9°C (18.5.2012) und 23,6°C (09.05.2012) an, mit einer Durchschnittstemperatur von 16,7°C.

Die durchschnittliche relative Luftfeuchtigkeit lag bei 56%, mit Werten, die sich zwischen 32% (18.05.2012) und 78% (07.05. und 09.05.2012) bewegten.

Für die Windgeschwindigkeit konnten Werte von durchschnittlich 0,3 m/s dokumentiert werden. Der 18.05.2012 war mit 1,8 m/s der Fangtag mit der höchsten Windgeschwindigkeit. Gnitzenfänge wurden nur an Tagen ohne Niederschlag während des Fangzeitraumes durchgeführt.

### 4.3.2 Hauptuntersuchung

#### 4.3.2.1 Gesamtfänge an Gnitzen

Innerhalb der Studienzeit von sechs Wochen (22.05.-29.06.2012) konnten an 22 Fangtagen bei beiden Schafgruppen insgesamt 19057 Gnitzen gefangen werden. Es entfielen 16126 Gnitzen auf die Spezies der Untergattung *Avaritia* Fox, die mit 84,62% deutlich dominierte (siehe 4.3.6).

#### 4.3.3 Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe

Es wurden in jeder Fangwoche, mit Ausnahme der Fänge am 14. Tag nach der Behandlung, mehr Gnitzen in der unbehandelten Schafgruppe gefangen als in der behandelten. Insgesamt wurden in der Kontrollgruppe 12034 und in der Behandlungsgruppe 7026 Gnitzen gefangen (Tab. 11).

**Tabelle 11:** Übersicht der einzelnen Wirkungsparameter der Behandlungs(BG)- und der Kontrollgruppe (KG) der wöchentlichen Gnitzenfänge

Fang- woche (d p. t.) <sup>1</sup>	Gnitzen fänge		Reduktion %	Blut- aufnahme %		Gnitzen nach Blutaufnahme		Reduktions- rate %
	KG <sup>3</sup>	BG <sup>4</sup>		KG <sup>2</sup>	BG <sup>3</sup>	KG <sup>2</sup>	BG <sup>3</sup>	
1. (1d)	1085	980	9,68	3,50	2,14	38	21	44,74
2. (7d)	2159 <sup>4</sup>	1149 <sup>4</sup>	46,78	3,94	0,96	85 <sup>4</sup>	11 <sup>4</sup>	87,06
3. (14d)	2439	2491	0,0	4,80	1,12	117 <sup>4</sup>	28 <sup>4</sup>	76,07
4. (21d)	3984 <sup>4</sup>	1155 <sup>4</sup>	72,04	6,08	1,13	242 <sup>4</sup>	13 <sup>4</sup>	94,63
5. (28d)	1505 <sup>4</sup>	642 <sup>4</sup>	56,49	15,05	2,34	226 <sup>4</sup>	15 <sup>4</sup>	93,36
6. (35d)	862	609	35,49	5,68	2,46	49	15	69,39
Gesamt	12034	7026	41,47	6,29	1,47	757 <sup>5</sup>	103 <sup>5</sup>	86,39

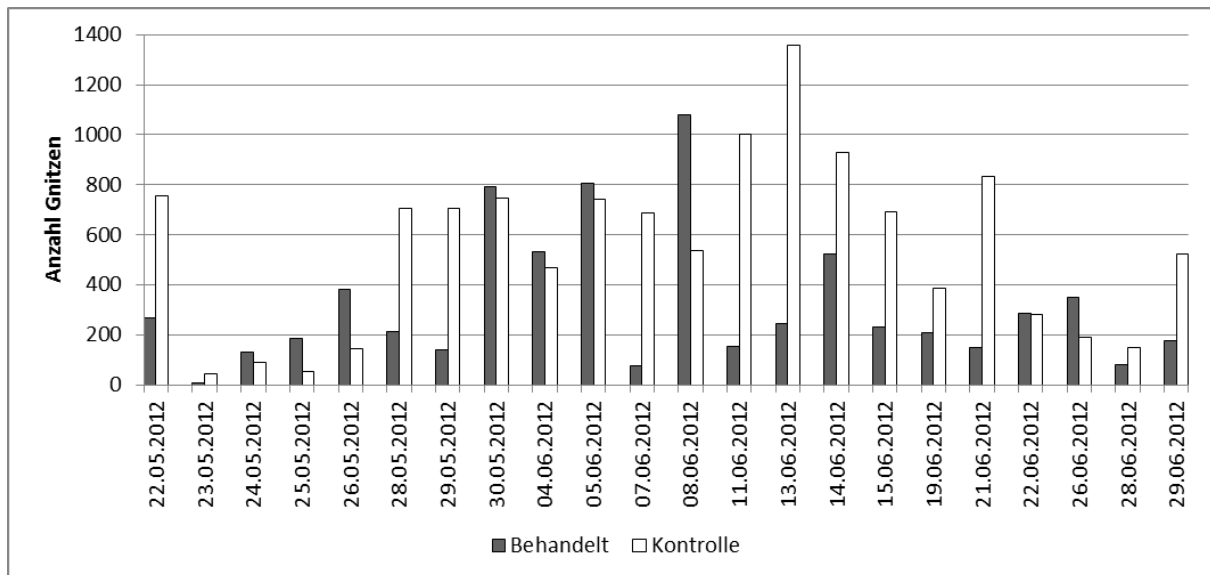
<sup>1</sup> Tag nach der Behandlung, <sup>2</sup> Kontrollgruppe, <sup>3</sup> Behandlungsgruppe,

<sup>4</sup> signifikanter Unterschied, lineares gemischtes Modell ( $p < 0,05$ ),

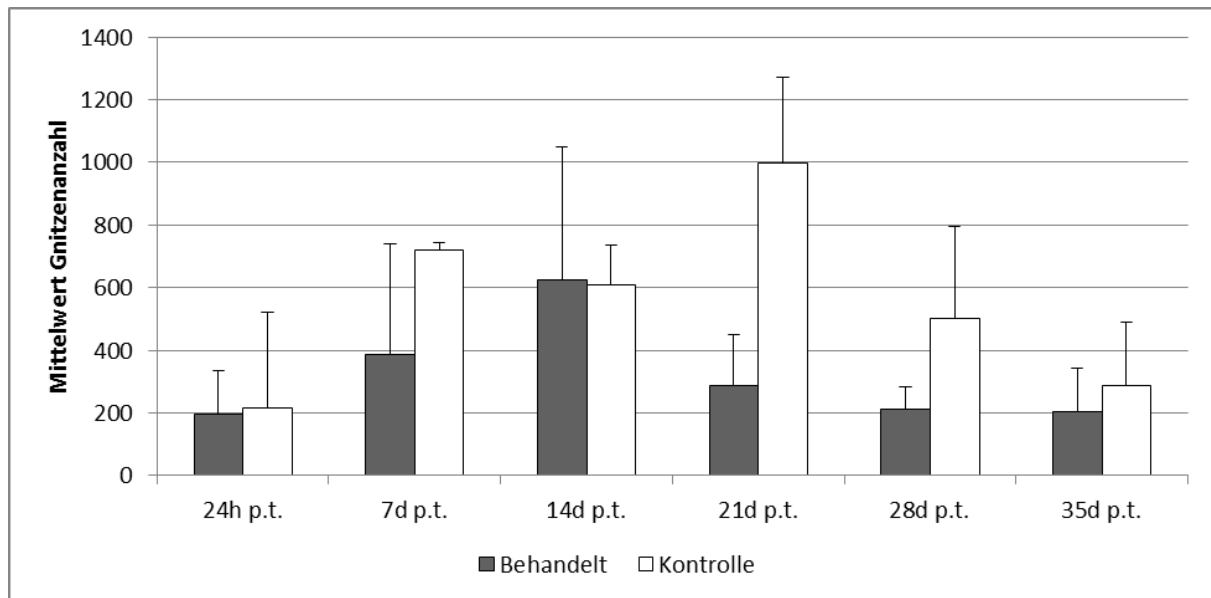
<sup>5</sup> signifikanter Unterschied, Chi-Quadrat ( $p < 0,05$ )

Die höchste Fangzahl wurde am 13.06.2012 mit 1357 in der unbehandelten und am 08.06.2012 mit 1080 in der behandelten Gruppe erzielt (Grafik 13).

## 4. Ergebnisse



**Grafik 13:** Vergleichende Darstellung der täglichen Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg



**Grafik 14:** Vergleichende Darstellung der wöchentlichen Mittelwerte mit Standardabweichungen der Gnitzenfangzahlen in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Mit lediglich 44 Gnitzen in der Kontroll- und 10 Gnitzen in der Behandlungsgruppe wurden am 23.05.2012 in beiden Gruppen die niedrigsten Fänge ermittelt. In der 2., 4. und 5. Fangwoche konnte ein signifikanter Unterschied in der Anzahl gefangener Gnitzen zwischen den Gruppen ermittelt werden, in den anderen Fangwochen lag der Unterschied über dem Signifikanzniveau von 5% (Tab. 12).

**Tabelle 12:** Übersicht der wöchentlichen Gruppenunterschiede in der Anzahl gefangener Gnitzen mit resultierenden p-Werten, ausgewertet mit Hilfe eines linearen gemischten Modells (LGM)

Fangwoche	Gnitzenfänge		p-Wert
	KG <sup>1</sup>	BG <sup>2</sup>	
1	1085	980	p = 0,247
2	2159	1149	p = 0,004 <sup>3</sup>
3	2439	2491	p = 0,270
4	3984	1155	p = 0,001 <sup>3</sup>
5	1505	642	p = 0,021 <sup>3</sup>
6	862	609	p = 0,382

<sup>1</sup> Kontrollgruppe, <sup>2</sup> Behandlungsgruppe,

<sup>3</sup> signifikanter Unterschied (p<0,05; LGM)

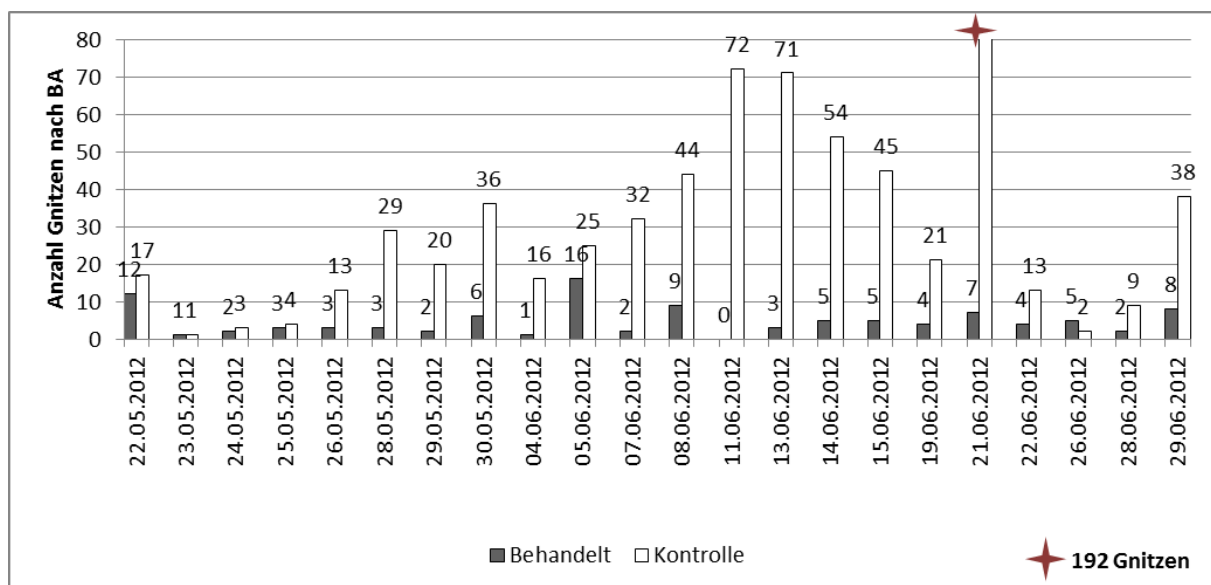
Die Reduktion der Gnitzenfänge in der behandelten Gruppe gegenüber der unbehandelten Gruppe variierte in den Fangwochen zwischen 0 und 72,04% und erzielte über den gesamten Zeitraum einen Wert von 41,47% (Tab. 11).

#### 4.3.4 Anteil der Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme

Die Anzahl der Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme (%), war zu jedem Fangzeitpunkt während der Studie in der Behandlungsgruppe geringer als in der Kontrollgruppe (Tab. 11). Insgesamt konnten in der mit Insektizid behandelten Gruppe 103 von insgesamt 7026 Gnitzen und in der unbehandelten Schafgruppe 757 von 12034 Gnitzen mit Blut im Abdomen gefangen werden (Grafik 15). Bei den Fängen in der Behandlungsgruppe wurde die größte Anzahl Gnitzen nach der Blutmahlzeit mit insgesamt 16 Individuen am 05.06.2012 und die geringste mit keiner Gnitze mit Blut im Abdomen am 11.06.2012 gefangen. Über den gesamten Studienzeitraum hinweg lag der durchschnittliche Wert an Gnitzen nach Blutaufnahme in dieser Gruppe bei 1,47%.

Die höchste Anzahl mit 192 Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme in der Kontrollgruppe wurde am 21.06.2012 und der niedrigste Fang mit lediglich einer mit Blut gefüllten Gnitze am 23.05.2012 dokumentiert. Über den gesamten Zeitraum wurden in dieser Gruppe 6,29% an Gnitzen mit Blut im Abdomen gefangen.

## 4. Ergebnisse



**Grafik 15:** Vergleichende Darstellung der Anzahl an Gniten nach Blutaufnahme (BA) der täglichen Gnitenfänge in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich der Anzahl an Gniten nach Blutaufnahme bestanden von der 2. bis zur 5. Fangwoche (Tab. 13). In der ersten und sechsten Fangwoche lagen die Unterschiede deutlich über der Signifikanzgrenze von 5 % ( $p = 0,334$ ;  $p = 0,150$ ; LGM). Über den gesamten Studienverlauf hinweg wurde ein hochsignifikanter Unterschied für die Blutaufnahme der Gniten zwischen beiden Gruppen ermittelt ( $p < 0,0001$ ; Chi-Quadrat) (Tab. 11). Die Reduktionsrate des Insektizids pendelte zwischen Werten von 44,74 % (1. Woche) und 94,63 % (4. Woche) und erreichte über den kompletten Zeitraum eine Verringerung an Gniten, die Blut am Tier aufnehmen konnten, von insgesamt 86,39 % (Tab. 11).

**Tabelle 13:** Übersicht der wöchentlichen Gruppenunterschiede in der Anzahl an Gniten nach Blutaufnahme mit resultierenden p-Werten, ausgewertet mit Hilfe eines linearen gemischten Modells (LGM)

Fangwoche	Gniten nach Blut-aufnahme		p-Wert
	KG <sup>1</sup>	BG <sup>2</sup>	
1	38	21	$p = 0,334$
2	85	11	$p = 0,000^3$
3	117	28	$p = 0,001^3$
4	242	13	$p = 0,000^3$
5	226	15	$p = 0,001^3$
6	49	15	$p = 0,150$

<sup>1</sup> Kontrollgruppe, <sup>2</sup> Behandlungsgruppe, <sup>3</sup> signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ; LGM)

#### 4.3.5 Reduktionsrate des Präparates

Die Reduktionsrate gibt die Verringerung an Gnitzen nach Blutaufnahme in der behandelten Gruppe im Vergleich zur unbehandelten Gruppe in Prozent an. Der geringste Effekt wurde in der ersten Woche, 24h nach der Behandlung, mit 44,74% verzeichnet. In der vierten Fangwoche konnte mit 94,63% die höchste Reduktionsrate erzielt werden. Über den gesamten Versuchszeitraum wurde eine Verringerung an Gnitzen mit Blut im Abdomen von 86,39% in der behandelten Schafgruppe erreicht (Tab. 11).

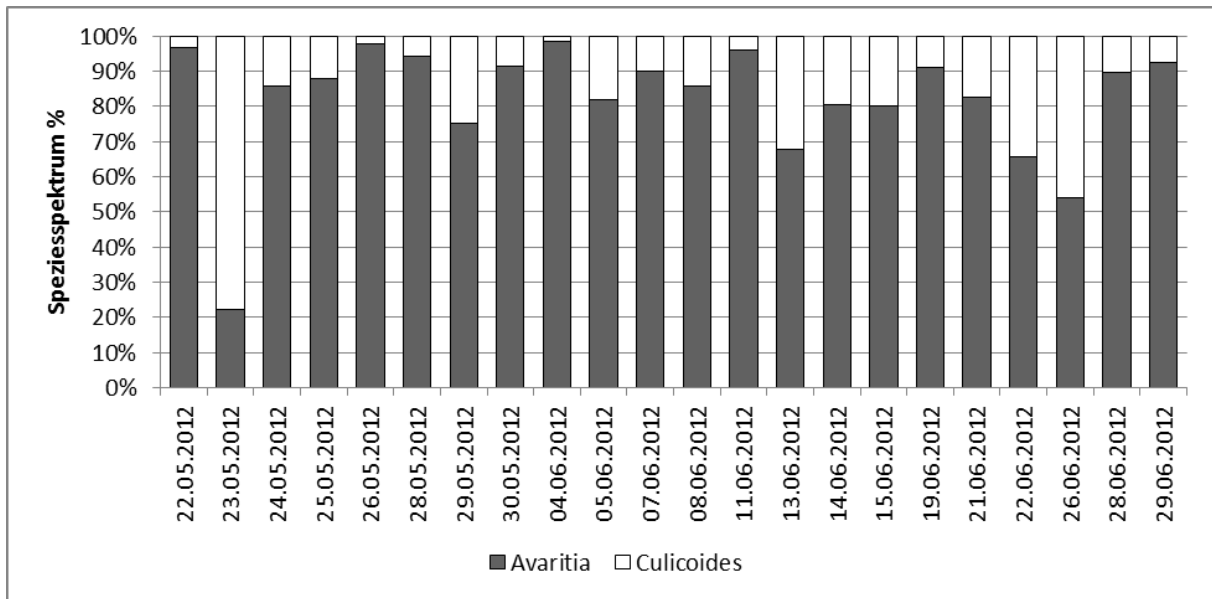
#### 4.3.6 Speziesspektrum der Gnitzenfänge

Alle Gnitzen konnten mit Hilfe morphologischer Methoden identifiziert werden. Sie gehörten den beiden Untergattungen *Avaritia* Fox und *Culicoides* Latreille an. Dabei überwog der Anteil der Gnitzen aus der Untergattung *Avaritia* Fox deutlich mit 84,62%. Ab der 4. Fangwoche wurde in beiden Gruppen ein Anstieg der Spezies der Untergattung *Culicoides* Latreille verzeichnet, die Höchstwerte von 22,27% (KG) bzw. 22,74% (BG) annahmen (Tab. 14). Der geringste Anteil an Gnitzen dieser Untergattung wurde in beiden Gruppen in der ersten Fangwoche mit 9,77% (KG) bzw. 4,29% (BG) dokumentiert. Es bestand weder in einer einzelnen Fangwoche noch über den gesamten Studienzeitraum ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Spezieszusammensetzung zwischen beiden Gruppen ( $p = 0,6921$ ; Chi-Quadrat)(Grafik 16).

**Tabelle 14:** Übersicht der prozentualen Spezieszusammensetzung in den einzelnen Fangwochen für die Behandlungs- und die Kontrollgruppe

Fangwoche	Kontrollgruppe		Behandlungsgruppe	
	%		%	
	<i>Avaritia</i>	<i>Culicoides</i>	<i>Avaritia</i>	<i>Culicoides</i>
1	90,23	9,77	95,71	4,29
2	88,98	11,02	86,42	13,58
3	88,27	11,73	87,07	12,93
4	79,38	20,62	81,59	18,41
5	81,73	18,27	77,26	22,74
6	77,73	22,27	78,01	21,99
Gesamt	84,06	15,94	85,58	14,42

## 4. Ergebnisse



**Grafik 16:** Vergleichende Darstellung des Speziesspektrums in den täglichen Gnitzenfängen von der Behandlungs- und der Kontrollgruppe, Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg (zusammenfassende Darstellung)

### 4.3.7 Wetterdaten

Der Mai 2012 war im Bundesland Brandenburg mit durchschnittlich 15,2°C um 2,1°C wärmer im Vergleich zur internationalen Referenzperiode von 1961-1990 (Deutscher Wetterdienst, 2012).

Mit einem Niederschlag von 24l/m<sup>2</sup> erreichte die Studienregion nicht einmal die Hälfte der üblichen 54l/m<sup>2</sup>. Zudem prägten den Mai 2012 heftige regionale Gewitter und starke Temperaturschwankungen (Deutscher Wetterdienst, 2012).

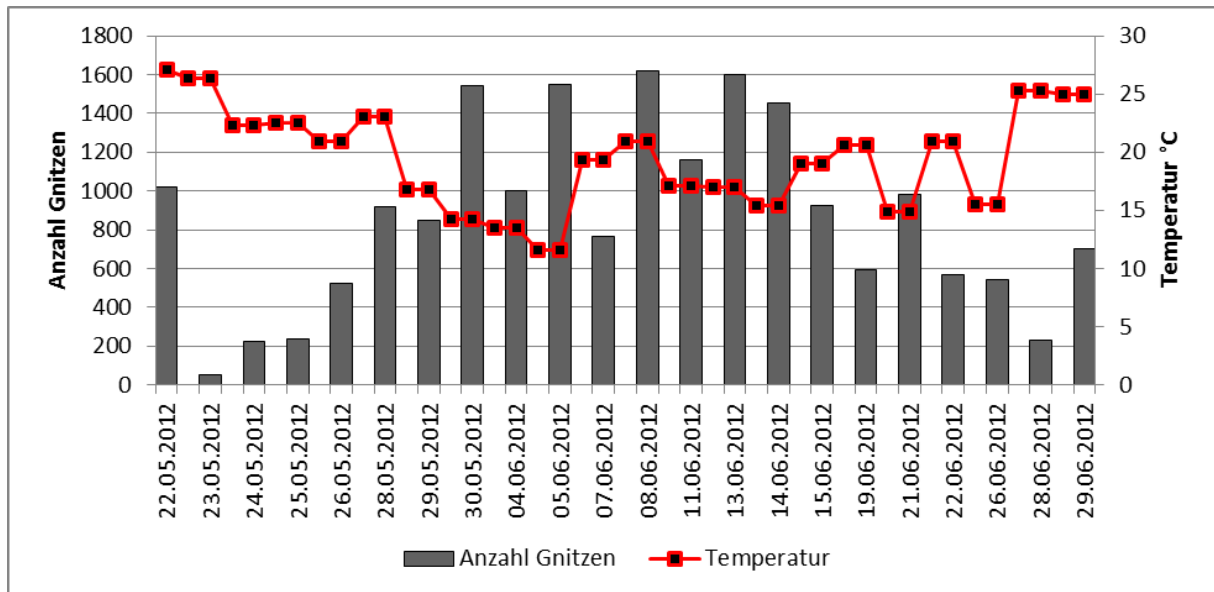
Insgesamt gab es in diesem Monat im Verlauf sehr viel Sonnenschein und daraus resultierend höhere Temperaturen als üblich, bei einem deutlichen Niederschlagsdefizit (Deutscher Wetterdienst, 2012).

Der Juni hatte mit mittleren Werten von 15,5°C deutschlandweit die Temperaturen der Referenzperiode mit 0,1°C nur geringfügig übertroffen (Deutscher Wetterdienst, 2012). Die Studienregion wies teilweise sehr kühle Witterungsabschnitte auf. Örtlich wurden im Land Brandenburg nur mittlere Werte von 15,8°C gemessen, die damit um 0,7°C unter den Temperaturen der Referenzperiode von 1961-1990 lagen (Deutscher Wetterdienst, 2012). Mit Regenmengen von 76l/m<sup>2</sup> in dieser Region wurde der Sollwert um 18% überschritten (Deutscher Wetterdienst, 2012).

Die Temperaturen innerhalb der Fangperiode zum Fangzeitpunkt, in der Zeit von 18:00-22:00 Uhr, bewegten sich zwischen 8,4 und 31,9°C, mit durchschnittlichen Temperaturen von 19,5°C. Zu Beginn der Studie (22.05.-28.05.2012) lagen die Temperaturen mit durchschnittlich 23,7°C am höchsten, gefolgt von einer kühleren Periode mit Werten von nur noch 11,6°C (05.06.2012). Im Anschluss pendelten sich die Temperaturen über den längsten

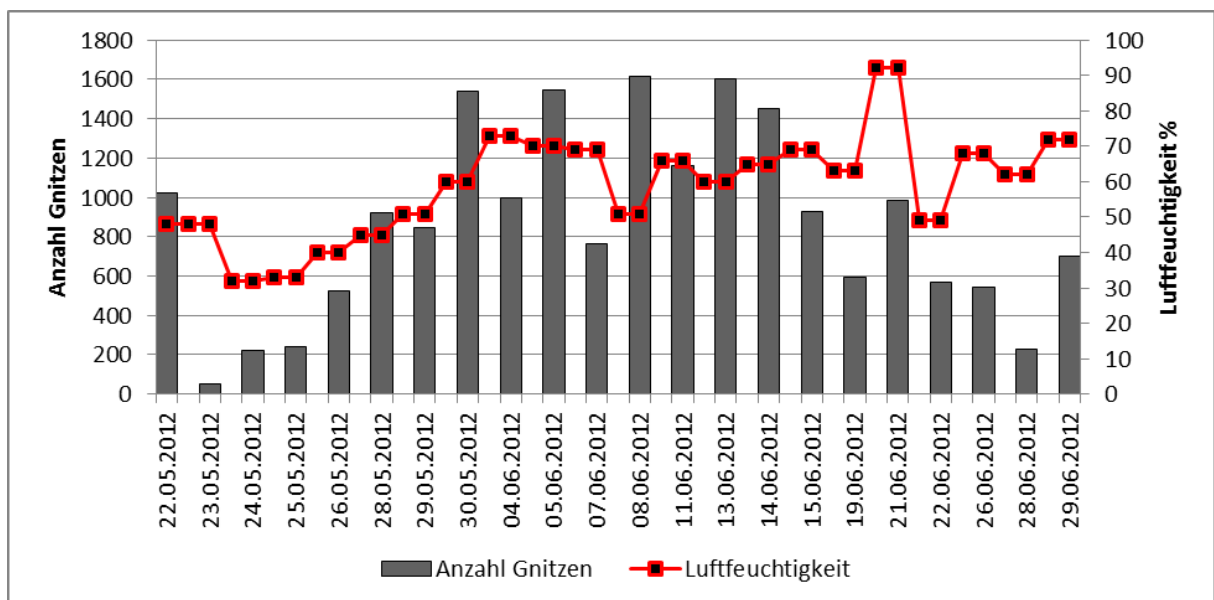


Zeitraum der Studie (07.06.-26.06.2012) zwischen 15 und 20°C ein. An den letzten Fangtagen (28.06.-29.06.2012) wurden während der Fangzeiten erneut hohe Temperaturen um 25°C dokumentiert (Grafik 17).



**Grafik 17:** Verlauf der durchschnittlichen Temperatur in °C und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

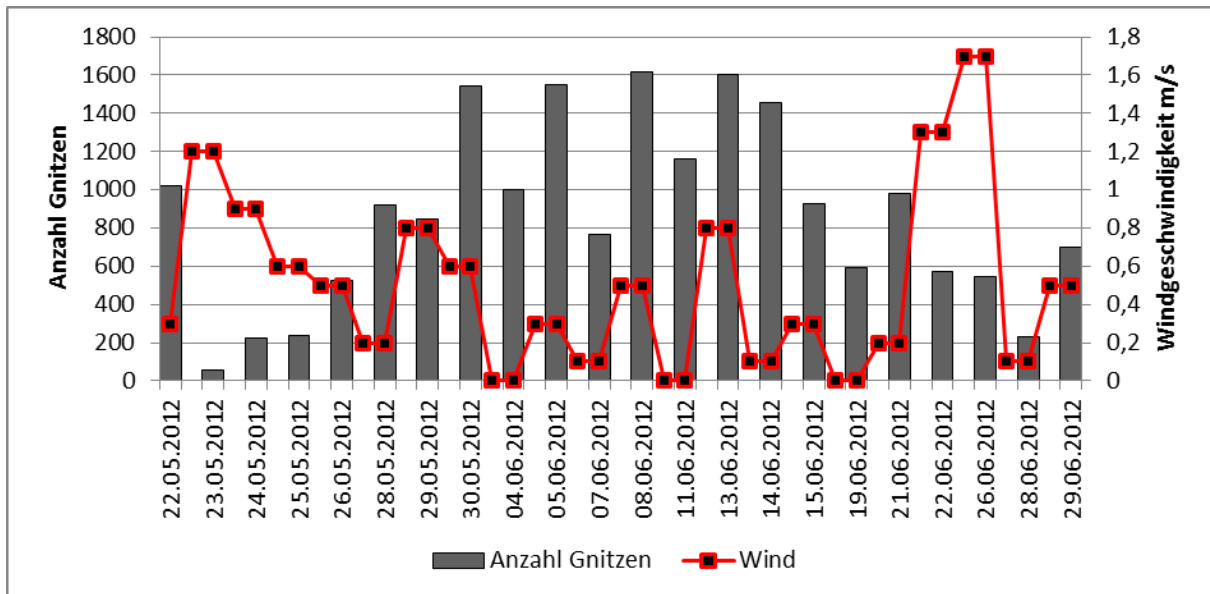
Die durchschnittliche relative Luftfeuchtigkeit betrug 58%; sie schwankte zwischen 32% (24.05.2012) und 92% (21.06.2012) (Grafik 18).



**Grafik 18:** Verlauf der durchschnittlichen relativen Luftfeuchtigkeit in % und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

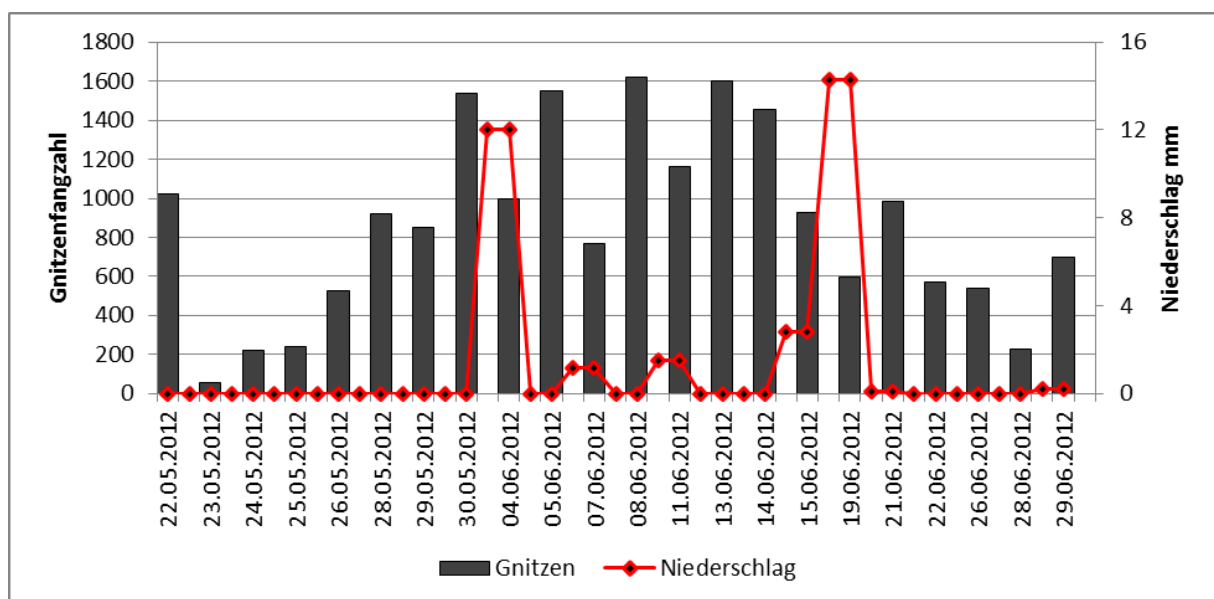
## 4. Ergebnisse

Die mittlere Windgeschwindigkeit im Versuchszeitraum lag bei 0,5 m/s, mit Höchstwerten von 1,7 m/s (26.06.2012) bis 0 m/s (04.06./19.06.2012). Am Ende der Studie wurde eine Periode mit höheren Windgeschwindigkeiten dokumentiert (Grafik 19).



**Grafik 19:** Verlauf der durchschnittlichen Windgeschwindigkeit in m/s und der täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

Die Gnitzenfänge wurden nur an trockenen, niederschlagsfreien Abenden durchgeführt. Die Anfangsperiode Ende Mai war sehr trocken (22.05.-30.05.2012). Der höchste Niederschlag wurde am 31.05.2012 mit 17,6 mm dokumentiert. Im letzten Drittel der Studie war das Wetter wenig beständig, es kam zu zahlreichen, teils heftigen Sommergewittern (Grafik 20).



**Grafik 20:** Verlauf der durchschnittlichen Niederschläge in mm und den täglichen Gnitzenfangzahlen in der klinischen Studie in Groß Kreutz, Landkreis Potsdam-Mittelmark, Brandenburg

### 5. Diskussion

Die vorliegende GCP-Studie verfolgte das Ziel, die Wirksamkeit des Deltamethrinpräparates Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on gegenüber Gnitzen an Schafen zu untersuchen. Für eine geeignete Standortwahl und ein optimales Studiendesign wurden im Vorfeld ein Vorversuch und eine Pilotstudie durchgeführt.

#### Bewertung des Standorts

Die Standortwahl der Weide in Groß Kreuz erfolgte auf Grund der wasserreichen Region und bereits in diesem Bundesland durchgeführter Studien (Bauer *et al.*, 2009; Rohrmann, 2009; Skrock, 2011). Bestätigt wurde die Eignung des Standorts durch die Ergebnisse aus dem Vorversuch (11.06.-14.06.2011) und der Pilotstudie (19.09.-05.10.2011).

Im Vorversuch wurden an drei Fangtagen insgesamt 818 Gnitzen mit Sentinel<sup>®</sup> UV-Lichtfallen der Firma Biogents gefangen. Diese Gnitzenanzahl kann, verglichen mit Ergebnissen anderer Studien, als ausreichend hoch eingestuft werden. In der Studie von Viennet *et al.* (2012) konnten über 12 Fangtage hinweg mit einer UV-Lichtfalle lediglich 136 Gnitzen gefangen werden. In Studien von Liebisch *et al.* (2008a, b) wurden mit UV-Lichtfallen verhältnismäßig deutlich weniger Gnitzen im direktem Umfeld von Rinderweiden gefangen.

In den Studien von Bauer *et al.* (2009), Rohrmann (2009) und Skrock (2011) wurden die Gnitzen mit Hilfe von Sentinel<sup>®</sup> UV-Lichtfallen von Biogents in Rinderstallungen gefangen. Aufgrund der höheren Tieranzahl und der damit ebenfalls erhöhten Attraktivität gegenüber Gnitzen sowie vermuteter vorherrschender Stallpopulationen ist ein direkter Vergleich mit Ergebnissen aus diesen Studien nicht möglich.

In der Pilotstudie wurde darauf geachtet, dass die Studientiere und die Fangmethode der geplanten GCP-Studie entsprachen. An acht Fangtagen wurden mit Hilfe eines Aspirators und eines Fangzettes („drop trap“) insgesamt 888 Gnitzen gefangen. Das sind verhältnismäßig weniger Gnitzen als im Vorversuch. Allerdings wurden Gnitzenfänge nur innerhalb von 2h und nicht wie im Vorversuch über 4h durchgeführt. Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass allein an den ersten drei Tagen 724 Gnitzen gefangen worden sind. Zudem befanden sich an einem von zwei Fangstandorten mit Insektizid behandelte Schafe, mit daraus resultierenden geringeren Gnitzenfangzahlen. Die abnehmende Gnitzenabundanz ist als Konsequenz der sich verschlechternden klimatischen Bedingungen im Herbst 2011 zu interpretieren. Die Temperaturen waren zur Zeit der Gnitzenfänge mit durchschnittlich 19,5°C sehr mild, allerdings wurden Nachttiefstwerte von deutlich unter 10°C gemessen. Als weiterer limitierender Faktor kam der extrem trockene Witterungsabschnitt hinzu, mit durchschnittlichen Niederschlägen von 6 mm an insgesamt vier Tagen. Des Weiteren lag die Studienzeit mit Ende September / Anfang Oktober am Ende der Gnitzensaison. Unter Berücksichtigung dieser Aspekte wurde die Anzahl an gefangenen Gnitzen als ausreichend hoch befunden.

## 5. Diskussion

---

Ein zusätzliches Kriterium der Standortwahl war die schnelle Erreichbarkeit und die Lage zur Freien Universität Berlin. Die Entfernung von 50 km zum Institut und eine sehr gute Verkehrsanbindung durch die direkte Autobahnverbindung hatten eine Fahrtzeit von weniger als 1h zur Folge. Aus diesem Grund war die Weide aus logistischer Sicht ideal und ermöglichte einen täglichen Transport der Mitarbeiter und der Materialien ohne größeren Aufwand. Ebenfalls positiv zu bewerten war die auf Grund der geringen Distanz zum Institut mögliche Entscheidung für oder gegen die Durchführung eines Fangtages noch in Berlin.

### Bewertung der Fangmethode

Ein Fangtag konnte mit zwei Personen für Aufbau und Gnitzenfänge und einem Tierpfleger, der beim Eintreiben der Tiere behilflich war, durchgeführt werden.

Der Aspirator (John W. Hock Company, Gainesville, USA) hatte eine ausreichend hohe Saugleistung, um alle Insekten in die Fanggefäße einzusaugen. Die anhaltende Sogwirkung während der Aspiration schädigte die fragilen Gnitzen nicht, sodass im Anschluss der Fänge eine eindeutige Identifikation erfolgen konnte.

In Probeversuchen hatte sich heraus gestellt, dass die Gaze am Boden der Fangbecher (1 x 1 mm) etwas zu großmaschig war und gefangene *C. obsoletus* zum Teil in der Gaze steckten. Es wurde eine feinere Gaze mit einer Lochgröße von 0,5 x 0,5 mm von der inneren Seite über die bereits bestehende Gaze geklebt. In weiteren Versuchen bestätigte sich diese Modifikation als sehr sinnvoll. Allerdings verringerte sich durch diese Modifikation die Saugleistung des Aspirators deutlich und große Insekten wie z. B. Tabaniden und Musciden konnten während des Saugvorganges selbständig aus dem Fangbecher fliegen. Da es sich bei diesen Insekten um Nicht-Zielinsekten handelte, war es ein Störfaktor während des Fanges, der allerdings keine Konsequenzen für die Ergebnisse hatte.

Das Fangzelt war mit einer Größe von 3 x 3 m ausreichend groß, hatte aber trotz Aluminiumleichtgestänge ein Gewicht von über 50 kg. Daher bedurfte es für den täglichen Transport und Aufbau der Zelte und der anderen Fangmaterialien zweier Personen. Mehrmals im Verlauf der klinischen Studie mussten die Seitenwände des Zeltes wegen starker Verschmutzung per Hand gereinigt werden. Dafür wurde der biologisch abbaubare Frosch<sup>®</sup> Neutralreiniger benutzt, um auszuschließen, dass eventuelle Inhaltsstoffe (Duftstoffe) einen Einfluss auf die Attraktivität gegenüber Gnitzen haben könnten.

Alle Insekten, die sich im Zelt befanden, hielten sich vornehmlich in den Zeltecken bzw. in der Zeltspitze auf. Diese hatten zur Verstärkung einen doppelt genähten Stoff, der nicht allseitig mit der Zeltwand vernäht war und deshalb „Taschen“ bildete. Weil darin viele kleine Insekten Schutz suchten, war dieser Stoff vor Beginn der Studie herausgeschnitten worden. Die Aspiration der Gnitzen mit der relativ großen Saugöffnung ( $\varnothing = 10$  cm) des Aspirators aus den schmalen Ecken des Zeltes gestaltete sich als schwierig, konnte aber mit etwas Geschick durchgeführt werden.

Die Spitze des Zeltdachs befand sich direkt über dem Zwangsstand in 2,90 m Höhe und konnte nur mit Hilfe einer dreistufigen Leiter erreicht werden. Nach mehreren Regentagen war der Boden sehr aufgeweicht und ein sicherer Stand auf der Leiter mitunter schwierig. Ein weiteres Problem gab es bei hoher Luftfeuchtigkeit (>90%). Das entstehende Kondenswasser an den inneren Zeltwänden erschwerte die Aspiration der Gnitzen von der

Zeltunterlage. Der gleiche Effekt wurde bei Regen beobachtet, durch den die Gnitzen förmlich an den Wänden klebten. Unter diesen Bedingungen war die Aspiration sehr erschwert und es wurden vereinzelt Gnitzen an der Zeltplane zerdrückt. Als Konsequenz wurden die Gnitzenfänge bei einsetzendem Regen für diesen Tag abgebrochen.

An Tagen mit hohen Außentemperaturen ( $>27^{\circ}\text{C}$ ) heizte sich das geschlossene Zelt innerhalb von 20 Minuten auf teilweise bis zu  $40^{\circ}\text{C}$  auf. Die Schafe tolerierten die hohen Temperaturen innerhalb dieser kurzen Zeitspanne. Ihnen stand Wasser über den gesamten Fangzeitraum im Zwangsstand *ad libitum* zur Verfügung. Inwieweit diese Temperaturen sich auf die Mortalitätsrate der Gnitzen auswirkte, konnte nicht ermittelt werden. Bei Temperaturen von über  $25^{\circ}\text{C}$  wurden in beiden Gruppen eine geringe Anzahl und eine verminderte Zahl an Gnitzen gefangen, die zuvor am Schaf Blut aufgenommen hatten, was auf einen hemmenden Einfluss hoher Temperaturen auf das Saugverhalten von Gnitzen schließen lässt (Kettle, 1969; Murray, 1987; Baldet *et al.*, 2004).

Insgesamt ist diese Fangmethode arbeitsaufwendiger als andere Fangsysteme (UV-Lichtfallen, MMT<sup>®</sup>). Vor Beginn der Durchführung muss zunächst eine gründliche Planung erfolgen, wo die Zwangsstände positioniert werden, um die Tiere problemlos in diesen treiben zu können. Da die klinische Studie mit einer relativ großen Tieranzahl (20 Schafe pro Gruppe) durchgeführt wurde, musste ein größerer Bereich mit Zaunelementen und Treibgängen aufgebaut werden. Berücksichtigt werden musste auch, dass sich drei Schafe bequem über einen längeren Zeitraum im Zwangsstand aufhalten konnten.

Sicherheitsmaßnahmen sollten Verletzungen der Schafe während der Fänge verhindern. Diese beinhalteten zum einen eine Verankerung des Zwangsstandes mit Stahlstangen an allen vier Ecken 1 m tief im Boden, zum anderen wurde von außen ein feiner Maschendrahtzaun am Zwangsstand befestigt. Dieser verhinderte Verletzungen durch hindurchgesteckte Körperteile.

Der große Vorteil dieser Fangmethode liegt darin, dass die gefangenen Gnitzen nur durch die Attraktivität der unter die Zelte eingestellten Tiere angelockt werden. Es wurde bewusst auf Lockmittel wie z. B. UV-Licht,  $\text{CO}_2$  oder Pheromone verzichtet, die einen objektiven Vergleich zwischen beiden Tiergruppen hätten verfälschen können.

Dadurch werden nicht nur die Gnitzenspezies gefangen, die diese Wirtstiere unter natürlichen Bedingungen anfliegen, sondern es werden mit dieser Methode auch die meisten Gnitzen nach Blutaufnahme erfasst. Für eine Wirksamkeitsstudie unter Feldbedingungen stellte sich diese Fangmethode als optimal heraus. Der Aufbau der Zelte wurde nach einer kurzen Einarbeitungszeit schnell und problemlos bewältigt. Eine geringere Zeltdachhöhe, die den Gebrauch einer Leiter überflüssig macht, würde die Gnitzenfänge erheblich erleichtern. Diese Studie wurde mit weißen Zeltplanen durchgeführt, da auf diesem Untergrund Insekten leichter erkennbar sind und keine zusätzliche Attraktivität gegenüber Gnitzen ausgeübt wird, wie es bei dunklen Farben der Fall ist.

### Bewertung/Optimierung des Studiendesigns

Die Pilotstudie im September 2011 diente der Planung und der Ermittlung der optimalen Bedingungen der geplanten GCP-Studie im Frühling des Folgejahres.

## 5. Diskussion

---

Als nicht optimal erwies sich die Einstellung von nur einem Schaf in den Zwangsstand, da dieses dann sehr unruhig war. Aus diesem Grund wurde die Durchführung an den letzten drei Fangtagen so modifiziert, dass die gesamte Gruppe von drei Schafen in den Zwangsstand gestellt wurde. Diese Maßnahme steigerte das Tierwohlbefinden während des Fanges, erzielte aber keine höheren Gnitzenfangzahlen.

Da sich die Wetterbedingungen zunehmend verschlechterten, mit Nachttiefstwerten nahe dem Nullpunkt, wurden in der zweiten und dritten Fangwoche insgesamt weniger Gnitzen gefangen. Dadurch kam es, trotz gleichbleibender Tendenz zur ersten Fangwoche, zu einer verminderten Aussagekraft der Daten.

Die Aspiration von Gnitzen vom Boden hatte zum Ziel, ebenfalls diejenigen Gnitzen zu erfassen, die, bedingt durch den Kontakt mit den insektizidbehandelten Schafen, flugunfähig geworden waren. Entgegen der Erwartungen wurden vom Boden in der Behandlungsgruppe weniger Gnitzen (32) als in der Kontrollgruppe (84) aspiriert.

Es wurde die gesamte vom Zelt überdachte Fläche abgesaugt, mit Ausnahme des Zwangsstandes. Wenn man davon ausgeht, dass es zum raschen „Knock-down“-Effekt der Gnitzen nach einem kurzen Kontakt mit den behandelten Tieren kommt (Mehlhorn *et al.*, 2008a, b; Schmahl *et al.*, 2009a, b), würde man den Großteil der flugunfähigen Gnitzen auf und in der unmittelbaren Umgebung der behandelten Schafe auffinden.

Die direkte Aspiration der Schafe und des Bodens innerhalb des Zwangsstandes war auf Grund der Sicherheitsvorkehrungen und der Bauweise des Zwangsstandes nicht möglich. Ein feiner Maschendrahtzaun, der von außen an den Zwangsständen befestigt worden war, verhinderte die Aspiration des Bodens unterhalb der Schafe. Aus diesem Grund konnten die Tiere auch nicht direkt abgesaugt werden, da lediglich die dorsale Rückenpartie durch ein Übergreifen erreichbar gewesen wäre. Ein weiteres Hindernis wäre die Kontamination mit Urin und Kot, die eine Aspiration des Bodens ausschließen.

Bisher sind aus anderen Studien keine repräsentativen Ergebnisse durch Bodenfänge bekannt. In der Studie von Mullens *et al.* (2010) wurde an sieben Fangtagen lediglich eine Gnitze bei einem unbehandelten Schaf vom Boden aspiriert. Beim behandelten Schaf konnten keine Gnitzen vom Boden aspiriert werden.

Eine exakte Erfassung toter bzw. flugunfähiger Gnitzen ist in Feldstudien mit Wirtstieren derzeit nicht realisierbar. Eine mögliche Erklärung für die bisher ernüchternden Ergebnisse könnte ein passiver Transport der winzigen Gnitzen durch Luftbewegungen unterhalb der Zeltplanen sein.

Aus diesen Gründen wurden in der GCP-Studie keine weiteren Bodenfänge durchgeführt.

Die Überlebensrate nach 20h wurde in der Pilotstudie erhoben, um festzustellen, ob eine eventuelle Wirkverzögerung (erhöhte Mortalitätsrate) bei den Gnitzen, die bei den behandelten Schafen gefangen wurden, aufgezeigt werden kann. Dafür wurden die Gnitzen direkt nach der Aspiration nach Fängen und Gruppe getrennt und in Freiflugboxen überführt. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 20h sollten so wenig Manipulationen wie möglich auf die natürlichen Umweltbedingungen ausgeübt werden, um einen Einfluss auf die

Mortalitätsrate zu verhindern. Dafür wurden die Freiflugboxen bis zur Erhebung der Mortalitätsrate der Gnitzen in den Außenbereich des Hofes des LVAT gestellt. Da Gnitzen sehr sensibel auf äußere Witterungsbedingungen wie Trockenheit und Extremtemperaturen reagieren, wurden die Freiflugboxen mit einer schützenden Plane umhüllt.

Obwohl mehrere unterschiedliche Standorte ausprobiert wurden, war die durchschnittliche Überlebensrate in der Kontrollgruppe mit 53 % viel zu gering und damit als Referenzwert zur Behandlungsgruppe nicht geeignet. Andere Studien belegen, dass ein Gnitzenmonitoring über einen längeren Zeitraum nur unter konstanten Rahmenbedingungen möglich ist (Mullens, 1993; Mullens *et al.*, 2000; Mehlhorn *et al.*, 2007, 2008a, b; Schmahl *et al.* 2008, 2009a, b; Reeves *et al.*, 2009; Papadopoulos *et al.*, 2009, 2010; Venail *et al.*, 2011). Alle Autoren gewährleisteten konstante Temperaturen von 20 °C (+/- 1 °C), eine Luftfeuchtigkeit von 75 % und einen mit einer Wasser-Zucker-Lösung getränkten Baumwolltupfer. Gnitzen reagieren, bedingt durch ihre geringe Größe, in Gefangenschaft sehr empfindlich auf veränderte Umweltbedingungen. Eventuell entspricht auch die Überlebensrate von durchschnittlich 50 % den natürlichen Gegebenheiten bei suboptimalen Bedingungen. Es wurden in diesem Bereich bisher keine Studien durchgeführt, so dass diese Frage nicht sicher beantwortet werden kann. Allerdings sind Gnitzen weltweit in der Lage, in fast allen Klimazonen zu überleben. Eine Erklärung könnte die sehr spezifische Anpassung einzelner Gnitzenspezies an extreme Witterungsbedingungen sein. Da aber auch einheimische Spezies nachgewiesenermaßen milde Winter überleben, ist es wahrscheinlich, dass sie sich Unterschlupfmöglichkeiten, z. B. unter Laub oder in der Nähe von Tieren, suchen. Genaueres ist bisher nicht bekannt, außer dass Gnitzen in Tierstallungen ganzjährig vorkommen (Clausen *et al.*, 2009; Bauer *et al.*, 2009; Rohrman, 2009; Skrock, 2011).

Da die Überlebensrate nach 20h in der Kontrollgruppe trotz Modifikationen nicht permanent erhöht werden konnte, ist sie statistisch wenig aussagekräftig und wurde deshalb in der klinischen Studie nicht mehr erhoben.

In der Pilotstudie wurden die ersten Gnitzenfänge eine Woche nach der Behandlung und danach in wöchentlichen Abständen durchgeführt. In der ersten Woche konnte bereits ein deutlicher Wirkstoffeffekt nachgewiesen werden, der sich in der Gesamtzahl gefangener Gnitzen in der Behandlungs- (117) und in der Kontrollgruppe (607) widerspiegelt. Um eine eventuelle frühere Wirkung des Insektizids zu ermitteln, wurde die GCP-Studie so konzipiert, dass die Gnitzenfänge bereits ab dem ersten Tag nach der Behandlung und dann in wöchentlichen Abständen durchgeführt wurden. Aus anderen Studien ist bekannt, dass bereits einige Stunden nach der Behandlung merkliche Unterschiede zwischen einer Behandlungs- und einer Kontrollgruppe bestehen (Doherty *et al.*, 2001; Mullens *et al.*, 2010; Papadopoulos *et al.*, 2009, 2010).

### Auswertung der Wetterdaten

Mit Hilfe der Software „Heavy Weather Pro WS 2800“ und eines dazugehörigen USB-Sticks wurden die Wetterdaten zweimal wöchentlich von den mobilen Wetterstationen auf den Laptop übertragen. Nach Programminstallation erwies sich die Verwendung der Wetterstation sehr benutzerfreundlich. Im Laufe der Studien fiel vereinzelt die Übertragung der Werte der

## 5. Diskussion

---

Regen- und Windsensoren aus. In diesem Fall wurden die Daten der zweiten Wetterstation bzw. jene der örtlichen Wetterstation in Potsdam genutzt.

Vor Beginn der Studien wurden die klimatischen Bedingungen für die Durchführung eines Fanges festgelegt. Bei Temperaturen von unter 10 °C, Windstärken von mehr als 5 m/s oder einsetzendem Niederschlag wurden keine Gnitzenfänge durchgeführt bzw. die begonnenen Fänge abgebrochen. Diese klimatischen Rahmenbedingungen wurden als Konsequenz aus vorherigen Erfahrungen und aus der Literaturrecherche gezogen (Olbrich, 1987; Boorman, 1993; van der Rijt *et al.*, 2008), wonach Gnitzen unter diesen Bedingungen die Wirtstiere nicht mehr eigenständig anfliegen.

In diesen Studien hätten geringe Gnitzenfangzahlen in beiden Gruppen zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen können. Aus diesem Grund wurden Fänge nur unter den genannten Vorbedingungen durchgeführt, mit der Konsequenz, dass eine direkte Korrelation zwischen Gnitzenaufkommen und Wetterparametern nicht erhoben werden konnte.

Beobachtet werden konnte, dass bereits bei Windstärken von 3 m/s, mit einem häufigen Wechsel der Windrichtung, nahezu keine Gnitzen mehr gefangen wurden. Ebenfalls wurden bei geringen (<12 °C) und hohen (>25 °C) Temperaturen nur geringe Fangzahlen und eine verminderte Blutaufnahme von Gnitzen erzielt.

### Bewertung und Diskussion der Ergebnisse der GCP-Studie

Die Gnitzenfänge 24h p. t. waren in beiden Gruppen nahezu identisch. Es wurde eine Reduktionsrate von 44,74% erzielt, die im Vergleich zur durchschnittlichen Reduktionsrate der gesamten Studie (86,39%) deutlich geringer war. Dieses Ergebnis deutet auf eine beginnende, aber noch nicht vollständige Wirkstoffverteilung des Präparats hin. Das Präparat wurde als „pour on“-Formulierung entlang der Rückenlinie appliziert, von dort aus verteilt es sich mit dem Fettfilm der Haut über den gesamten Körper. Dass einen Tag nach der Behandlung die Blutaufnahme der Gnitzen in der Behandlungsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht einmal um die Hälfte reduziert worden ist, spricht für eine nicht vollständige Verteilung des Insektizids bis an die distalen Regionen des Körpers. Dafür würde ebenfalls die Tatsache sprechen, dass die bevorzugten Landungszonen für Gnitzen ebendiese distalen Körperregionen sind (Braverman, 1988; Werner, 2010; Ayllón *et al.*, 2013).

Andere Studien mit pour on-Präparaten erzielten signifikante Ergebnisse ab dem 3. bis 4. Tag nach der Behandlung (Mullens, 1993; Mullens *et al.*, 2000, 2010; Griffioen *et al.*, 2011).

Berücksichtigt werden muss, dass in diesen Studien eine Wirkung vor dem 3. Tag p. t. nicht untersucht wurde und die Durchführung mit anderen Wirkstoffen und Tierarten erfolgte.

Venail *et al.* (2011) hat nach einer pour on-Applikation von Butox<sup>®</sup> bei Schafen die Mortalitätsraten am 1., 4. und 7. Tag ermittelt. Die höchste Rate wurde dabei mit 45% am 4. Tag p. t. erhoben. Aufgrund unterschiedlicher Studiendesigns, Wirkstoffe und Tierarten ist ein direkter Vergleich mit den Ergebnissen aus der vorliegenden Studie nicht möglich.

Anhand der hier erhobenen Daten liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Verteilung von Butox<sup>®</sup> nach einer pour on-Applikation an Schafen nach 24h noch nicht vollständig beendet ist.

Am 7. Tag nach der Behandlung konnte in der Behandlungsgruppe eine durchschnittliche Reduktion der Blutaufnahme durch Gnitzen von 87,06% erzielt werden. Das lässt den Schluss



auf eine vollständige Verteilung zu diesem Zeitpunkt zu. Eine Aussage, ob dieser Schutz eventuell bereits schon Tage zuvor bestand, kann anhand der zeitlichen Abstände der Gnitzenfänge nicht gemacht werden.

Die wöchentlichen Gnitzenfänge von der 1.-4. Woche p. t. waren, mit Ausnahme der 2. Woche, hinsichtlich der Gesamtzahl sowie der Anzahl von Gnitzen nach Blutaufnahme zwischen beiden Gruppen signifikant unterschiedlich.

Es ist unerklärlich, warum an drei von vier Fangtagen, zwei Wochen nach der Behandlung, mehr Gnitzen in der Behandlungsgruppe gefangen wurden. Unwahrscheinlich ist eine verminderte Wirkung des Insektizids, da signifikante Unterschiede eine Woche zuvor und ebenfalls wieder eine Woche danach bestanden. Des Weiteren war die Blutaufnahme der Gnitzen mit 1 % in der Behandlungsgruppe, im Gegensatz zu 8 % in der Kontrollgruppe, auch in der 2. Woche p. t. signifikant geringer. Denkbar ist, dass eine passive Verdriftung der Gnitzen mit einzelnen Windböen ausschlaggebend gewesen sein könnte (Boorman, 1993; Baylis *et al.*, 1998; Mellor *et al.*, 2000; van der Rijt *et al.*, 2008).

In der letzten Studienwoche (35d p. t.) wurden über 35 % weniger Gnitzen in der Behandlungsgruppe gefangen, mit einer Reduktionsrate von 69 %, was auf eine noch bestehende, aber nachlassende Wirkung des Präparats schließen lässt.

Dieses Ergebnis entspricht den Resultaten anderer Studien, die für die Dauer der Wirksamkeit nach einer pour on-Applikation von Deltamethrin eine Zeitspanne von 4-5 Wochen angeben (Mehlhorn *et al.*, 2008; Schmahl *et al.*, 2009a, b).

Dabei stellt eine Reduktion in der Anzahl von Gnitzen nach der Blutaufnahme eine Verringerung des Infektionsrisikos dar. Diese war mit 103 Gnitzen (1,47 %) in der Behandlungsgruppe wesentlich geringer als in der Kontrollgruppe mit 757 Gnitzen (6,29 %). Zwischen beiden Gruppen konnte über den gesamten Zeitraum ein hochsignifikanter Unterschied bezüglich der Gnitzenanzahl nach erfolgter Blutaufnahme ermittelt werden ( $p = 0,0001$ , Chi-Quadrat). Dieses Resultat ist für einen Studienzeitraum bis zur 4. Woche p. t. unter Feldbedingungen sehr zufriedenstellend. In der Studie von Mullens *et al.* (2010) wurde in einem ähnlichen Studiendesign bei den behandelten Schafen am Tag der Behandlung und 4d p. t. keine Gnitze mit Blut im Abdomen gefangen. Allerdings war die Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme in der Kontrollgruppe ebenfalls so gering, dass kaum ein Unterschied zwischen beiden Gruppen bestand.

Auch wenn man die nichtsignifikanten Fangdaten vom ersten Tag und der fünften Woche nach der Behandlung statistisch nicht berücksichtigt, haben insgesamt noch 67 Gnitzen in der Behandlungsgruppe Blut aufgenommen. Dieses Ergebnis weist auf einen relativen Schutz gegenüber der Blutaufnahme durch Gnitzen hin. Da im Falle eines Seuchengeschehens bereits die Blutaufnahme weniger infizierter Gnitzen für ein Krankheitsgeschehen ausreichend sein kann, müssten für einen absoluten Schutz zusätzliche Maßnahmen ergriffen werden.

Auffällig war das unterschiedliche Verhalten beider Schafgruppen ab der 1. Woche nach der Behandlung, die in der Zeit während der Fänge am Abend gemacht wurden. Die Tiere der Behandlungsgruppe wirkten allgemein ruhiger, grasten und legten sich in regelmäßigen

## 5. Diskussion

---

Abständen ab. Im Gegensatz dazu weideten die Schafe der Kontrollgruppe ebenfalls, rannten aber während der Abenddämmerung mehrmals für einige Minuten wild über die gesamte Weide. Sie waren generell mehr in Bewegung und zeigten, wenn sie sich für eine längere Zeit an einer Stelle aufhielten, Abwehrbewegungen in Form von Kopfschütteln und eines Schlagens mit den Hinterläufen gegen den Bauch. Dieses unterschiedliche Verhalten beider Gruppen lässt auf eine deutlich geringere Insektenbelastung der behandelten Tiere auf der Weide schließen, was den behandelten Tieren einen höheren Lebenskomfort ermöglicht und sich über einen längeren Zeitpunkt positiv auf diverse Leistungsparameter auswirken könnte.

Über den gesamten Studienzeitraum kam es zu keiner Irritation der Haut, Vliesveränderungen oder sonstigen pathologischen Erscheinungen bei den behandelten Schafen, was auf eine sichere Anwendung des Präparates schließen lässt.

### Bewertung/Optimierung der Wirksamkeit des Insektizids

Die prädestinierten Landungszonen für die meisten Gnitzenarten sind wenig behaarte Körperregionen wie der Bauch, die Extremitäten, der Innenschenkelbereich und der Kopf (Braverman, 1988; Werner, 2010).

Die Fragestellung, ob sich ein pour on-Präparat über den gesamten Tierkörper, vor allem bis zu den distalen Körperregionen, gleichmäßig verteilt, wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Ergebnissen untersucht.

Laborstudien mit Haaren der distalen Gliedmaßen von behandelten Wirtstieren wurden mit Wildfängen von Gnitzen zusammengebracht und ergaben 100%-ige Mortalitätsraten von Gnitzen bis zu 4-5 Wochen nach der Behandlung, selbst bei einer kurzen Kontaktzeit von 15s (Mehlhorn *et al.*, 2008; Schmahl *et al.*, 2008b, 2009a, b; Papadopoulos *et al.*, 2009, 2010). Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muss bedacht werden, dass es sich um *in vitro*-Studien mit konstanten Rahmenbedingungen handelte. Inwieweit diese Resultate unter Feldbedingungen erzielt werden können, wurde nicht untersucht.

Mullens (1993) nahm Haare von unterschiedlichen Körperregionen behandelte Tiere und untersuchte, ob diese unterschiedliche Auswirkungen auf die Blutaufnahme von Gnitzen ausübten. Dafür wurden Haare der entsprechenden Region mit einer Membranfütterung von Gnitzen kombiniert. Es bestanden signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Körperregionen. Die Bauchhaare reduzierten für den kürzesten (4-6d p. t.), die Rückenhaare für den längsten Zeitraum (39-41d p. t.) die Blutaufnahme durch Gnitzen. Da die Rückenhaare gleichzeitig dem Applikationsort entsprachen, kann nicht von einer gleichmäßigen Verteilung des Insektizids ausgegangen werden.

Die Untersuchung von Stendel *et al.* (1992) untermauert ebenfalls die Tatsache, dass eine einmalige Applikation eines pour on-Präparates am Rücken unterschiedliche Wirkstoffkonzentrationen am Körper bewirkt. Nach einer pour on-Applikation von Flumethrin (1 mg/kg Körpergewicht) entlang der Rückenlinie von Rindern wurden die Wirkstoffkonzentrationen in den Haaren von Rücken, Flanken, Bauch und Beinen bestimmt. Der Flumethringehalt der Haare variierte von 0,2 mg/m<sup>2</sup> (Beine) bis 126 mg/m<sup>2</sup> (Rücken) am 1. Tag p. t. und von 0,1 mg/m<sup>2</sup> (Beine) bis 8 mg/m<sup>2</sup> (Rücken) am 10. Tag p. t. Die Experimente

beweisen eine unterschiedliche Wirkstoffkonzentration in Abhängigkeit zur Entfernung vom Applikationsort. Um einen wirksamen Schutz zu erzielen, muss das Präparat nach einer pour on-Applikation am Rücken in der Region, die am weitesten vom Applikationsort entfernt ist, eine Konzentration erzielen, die eine Blutaufnahme von Gnitzen verhindert. Im Umkehrschluss bedeutet es, dass man am Rücken ein um ein Vielfaches erhöhtes Wirkstoffvolumen bzw. eine um ein Vielfaches erhöhte Wirkstoffkonzentration verabreichen müsste, um eine ausreichende Konzentration in distalen Bereichen zu erlangen. Daher ist zu überlegen, ob das Präparat nicht näher an den Prädilektionsstellen von Gnitzen angewendet werden sollte.

Bisher wurden in Studien eine kombinierte Applikation an verschiedenen Körperregionen (Mullens *et al.* 2010; Doherty *et al.* 2001, 2004; Mehlhorn *et al.* 2008a; Schmahl *et al.*, 2009a, b; Papadopoulos *et al.* 2009), eine vollständige Behandlung des gesamten Tieres mit Hilfe eines Schwammes (Papadopoulos *et al.*, 2010), sowie eine Verabreichung des Insektizids entlang des Bauches durchgeführt (Mullens *et al.*, 2001). Leider wurde in allen Studien jeweils nur eine Applikationsform getestet, ohne eine vorhandene Vergleichsgruppe mit einem anderen Applikationsort. Aus diesem Grund kann keine Aussage im Hinblick auf eine bessere Wirksamkeit auf Grund des veränderten Applikationsortes getroffen werden. Ein Vergleich der Studien untereinander ist nicht möglich, da unterschiedliche Insektizide, Tierarten und Studiendesigns angewandt wurden. Die Verabreichung am Bauch und an den Flanken ist wahrscheinlich die erfolgversprechendste Anwendung, weil so die von Gnitzen bevorzugten Regionen sich näher am Applikationsort befinden. Zu überlegen wäre, ob das Volumen erhöht werden sollte, ohne die Dosierung zu verändern. Das geringe Gesamtvolumen von 10 ml/Tier, aufgeteilt auf mehrere Körperregionen, birgt die Gefahr einer nicht gleichmäßigen und damit unsicheren Anwendung. Es bedarf vergleichender Wirksamkeitsstudien für unterschiedliche Applikationsorte, um diese Frage zu beantworten.

Die Dosierempfehlung für Rinder sieht 10 ml/100 kg, 20 ml/200 kg und eine Höchstmenge von 30 ml für Rinder ab 300 kg Körpergewicht vor. Dabei weisen ausgewachsene Tiere ein deutlich höheres Gewicht auf, was eine Erklärung für eine geringere Wirksamkeit bei Rindern sein könnte. Laut Herstellerangaben ist eine Butox<sup>®</sup>-Behandlung als einmalige Anwendung vorgesehen, kann jedoch gegen Weidefliegen in einem Abstand von 6-10 Wochen wiederholt werden, wenn die Tiere nicht auf der gleichen Weide behandelt werden (msd-tiergesundheits, 2012). Die Wartezeit beträgt nach der Anwendung beim Rind für essbares Gewebe 18d und für Milch 0d. Nach der Anwendung von Butox<sup>®</sup> beim Schaf muss eine Wartezeit von 1d für essbares Gewebe und 12h für Milch eingehalten werden (Vetidata, 2012). Deltamethrin ist für Bienen, Fische und andere aquatische Lebensformen toxisch, eine Anreicherung im Boden sowie im Grundwasser ist strikt zu vermeiden. Da eine Anwendung mit Butox<sup>®</sup> maximal alle 6 Wochen erlaubt ist, besteht anhand der vorliegenden Ergebnisse ein zweiwöchiges Zeitfenster mit einem verminderten Schutz der Tiere. Bisher wurde nicht untersucht, ob eine regelmäßige Anwendung eine erhöhte Wirksamkeit gegenüber Gnitzen erzielt. Weil ein erhöhter Einsatz von Insektiziden auch die Gefahr von Resistenzen steigert, sollte nur ein gezielter Einsatz erfolgen. Bisher wurde nachgewiesen, dass Musciden gegen Pyrethroide

## 5. Diskussion

---

Resistenzen aufweisen. In Brandenburg erwiesen sich Feldstämme von *Musca domestica* mit über 80 % als resistent gegenüber Deltamethrin (Jandowsky *et al.*, 2009; Jandowsky, 2010; Jandowsky *et al.*, 2010).

Weil durch eine einmalige Behandlung mit Butox<sup>®</sup> pour on entlang der Rückenlinie kein 100%-iger Schutz der Tiere gewährleistet werden kann, müssen im Tierseuchengeschehen zusätzliche Maßnahmen ergriffen werden.

### Alternative Schutzmaßnahmen

Als alternative Schutzmaßnahmen sind ein Aufstallen der Tiere von vor Sonnenuntergang bis nach Sonnenaufgang, eine Umgebungsbehandlung mit Insektiziden, physikalische Barrieren mit und ohne Insektizide, der Einsatz von Larviziden, der zusätzliche Gebrauch von Lockfallen und die Minimierung von Bruthabitaten zu nennen.

Alle Maßnahmen setzen einen hohen Wissensstand der Biologie im Hinblick auf Bruthabitate und Wirtstierfindung der einzelnen Gnitzenspezies voraus. Viele ökologische Details, wie zum Beispiel Überlebensstrategien bei Über- und Unterschreitung klimatischer Rahmenbedingungen oder der Wirtstierfindung, sind wenig erforscht. Erschwerend für weitere Studien sind die Laborbedingungen für Gnitzen zu sehen, die eine Laborzucht und ein genaues biologisches Studium bisher nur für einige wenige Arten (*C. nubeculosus*, *C. sonorensis*, *C. brevitarsis*) ermöglichen.

Im Rahmen des BTV-Ausbruchs 2006/2007 in Nordeuropa wurde den Tierhaltern als präventive Maßnahme das Halten der Tiere in Stallungen von vor Sonnenuntergang bis nach Sonnenaufgang angeraten (EFSA, 2008). Dabei ist eine Aufstallung von Tieren nur dann sinnvoll, wenn der Stall gegenüber einem Einflug von Gnitzen geschützt ist und sich der Hauptvektor exophil verhält. Die in Nordeuropa für BTV und SBV verantwortlichen *C. obsoletus* und *C. pulicaris* scheinen sowohl eine exo- als auch teilweise eine endophile Lebensweise zu besitzen. Sie konnten massiv in Rinderstallungen gefangen werden (Bauer *et al.*, 2009; Rohrman, 2009; Clausen *et al.*, 2009; Skrock, 2011). Das Eindringen von Gnitzen in Gebäude wurde bereits nachgewiesen (Kühlhorn, 1964; Baldet *et al.*, 2008; Meiswinkel *et al.* 2008b; Baylis *et al.*, 2010). Dabei scheinen vorherrschende Wetterbedingungen ausschlaggebend für die Endophilie von Gnitzen zu sein (Carpenter *et al.*, 2008a; Meiswinkel *et al.*, 2008b; Baylis *et al.*, 2010).

Bei der Aufstallung der Tiere muss das Stallgebäude durch feinmaschige Insektennetze an Fenstern und Türen umgerüstet werden, um das Eindringen von Gnitzen zu verhindern. Dieser Umbau stellt einen hohen Kosten- und Arbeitsaufwand in alten Stallanlagen dar, um alle baulichen Mängel (Risse, Löcher), die einen Einflug ermöglichen, zu beseitigen. Weiter ist zu berücksichtigen, dass eine Aufstallung bei einer großen Tieranzahl und extensiv gehaltener Schafrassen ungeeignet sein kann, da sich diese Maßnahme eventuell negativ auf die Tiergesundheit auswirken kann (EFSA, 2008). Nach Abwägung dieser Faktoren kann eine Aufstallung der Weidetiere einen zusätzlichen Schutz darstellen. Generell sollte in Bezug auf Stallgebäude, Herdengröße und vorherrschende Gnitzenabundanz für eine sinnvolle Aufstallung der Einzelfall geprüft werden.

Die Effizienz einer Umgebungsbehandlung mit Insektiziden führte bisher zu sehr unterschiedlichen Resultaten. Die Behandlung mit Myrocip® (Pyrethroidderivat) über 1 ha großes Farmland führte in der Feldstudie von Satta *et al.* (2004) zu keiner signifikanten Reduktion von Gnitzen und wurde von den Autoren als ungeeignet eingeschätzt. Generell sollte eine flächenhafte Ausbringung von Insektiziden im Freien in Anbetracht der Umwelttoxizität (Anreicherung im Boden und im Grundwasser), der Toxizität gegenüber Nicht-Zielinsekten und Resistenzentwicklungen unterlassen werden.

Eine Behandlung von Stallungen, von Gegenständen im unmittelbaren Tierumfeld und von Tiertransportfahrzeugen könnte sich als durchaus geeignet erweisen. In der Laborstudie von Schmahl *et al.* (2008) konnten durch eine Behandlung von Holzplatten mit Oxyfly® (lambda-Cyhalothrin) hohe Mortalitätsraten gegenüber Gnitzen bis zu 3 Wochen nach Auftrag erzielt werden. Ein temporärer zusätzlicher Einsatz wäre bei einer hohen Tieranzahl in Stallgebäuden denkbar. Limitierend ist der Einsatz durch die Gefahr einer Resistenzbildung z. B. bei Musciden zu berücksichtigen.

Als physikalische Barrieren gegen Gnitzen fungieren einerseits die bereits besprochenen Stallgebäude, andererseits könnten zum Schutz der Tiere Insektennetze eingesetzt werden. Die Anwendung unbehandelter Netze führte zu keiner signifikanten Reduktion in Rinderstallungen (Skrock, 2011). Studien mit insektizidbehandelten Netzen um Tierstallungen erzielten, abhängig von Netztyp und vorhandener Maschenweite und dem Insektizid, welches im unverkapselten oder verkapselten Zustand aufgebracht wurde, sehr unterschiedliche Resultate (Bauer *et al.*, 2009; Rohrmann, 2009; Skrock, 2011). Die besten Ergebnisse erzielte dabei ein Netz mit einem aufgetragenen, verkapselten Deltamethrin (115 mg/m<sup>2</sup>) und einer Maschenweite von 1,6 x 1,7 mm. Durch einen umgebenden Netzzaun von 1,80 m Höhe konnten Gnitzenzahlen signifikant reduziert werden (Skrock, 2011). Positiv zu werten ist die Tatsache, dass nach einem einmaligen Aufbau des Netzzaunes mit einem verkapselten Deltamethrin ausreichende hohe Konzentrationen noch nach 2 Jahren bestehen (Bauer, persönliche Mitteilung). Eine Auswaschwirkung und damit die Gefahr einer Anreicherung im Boden und im Grundwasser bestehen bei diesen Netzen nicht (Skrock, 2011). Ein Einsatz auf der Weide ist als Ergänzungsmaßnahme sehr effizient, bietet aber keinen kompletten Schutz. Außerdem ist die unerwünschte Wirkung auf Nicht-Zielinsekten auf Weiden zu berücksichtigen (Zaspel, 2008). Eine Einzäunung ist zunächst arbeitsaufwendiger als andere Schutzmaßnahmen, und die Umsetzbarkeit ist im Einzelfall zu überprüfen.

Der Einsatz von Larviziden ist vor allem dadurch limitiert, dass die genauen Bruthabitate der einzelnen Spezies noch nicht bekannt sind und ein gezielter Einsatz daher nicht möglich ist. Zum anderem nutzt z. B. *C. obsoletus* viele verschiedene Biotope für die Eiablage (EFSA, 2008). Eine flächenhafte Ausbringung von Insektiziden ist gesetzlich untersagt. Der Einsatz von insektenpathogenen Pilzen auf larvale Stadien wurde in der Laborstudie von Ansari *et al.* (2010) mit der Gattung *Metharhizium* erfolgreich untersucht. Ob ein Einsatz im Feld überhaupt möglich ist, muss noch getestet werden. Der Gebrauch von Larviziden ist nach heutigem Wissensstand wenig zweckmäßig, auf einen Einsatz sollte hinsichtlich der Resistenzentwicklungen von Insekten verzichtet werden.

## 5. Diskussion

---

Da sich Wachstumsregulatoren nicht nur spezifisch auf Gnitzen auswirken, ist ein Ausbringen im Feld untersagt. Ein Einsatz könnte in Tierstallungen erfolgen, um die Entwicklung von Gnitzen und Lästlingsinsekten aus eventuell bestehenden Bruthabitaten im direkten Tierumfeld zu verhindern. Der Gebrauch setzt wiederum die Kenntnisse geeigneter Bruthabitate in Stallungen voraus. Eine generelle Behandlung von Mist bzw. Einstreu ist untersagt, weil diese zu einem späteren Zeitpunkt auf Felder ausgebracht werden. Daher ist der Einsatz von Wachstumsregulatoren in Stallungen derzeit nicht angezeigt.

Die Vernichtung geeigneter Brutplätze durch das Trockenlegen von Feuchtbiotopen ist eine sehr effektive Bekämpfungsmethode (Soulsby, 1983; Boorman, 1993; Taylor *et al.*, 2007; Carpenter *et al.*, 2008a), die allerdings ökologisch bedenklich ist. Beim Stallmanagement hingegen kann auf potentielle Bruthabitate positiv Einfluss genommen werden (siehe 2.3.1). Die Einhaltung von Hygienestandards ist eine der effektivsten und kostengünstigsten Methoden, um vorherrschende Stallpopulationen zu minimieren und sollte daher primär durchgeführt werden.

Der Einsatz von Anlockfallen führte in der Untersuchung von Cilek *et al.* (2003) mit „Mosquito Magnet“<sup>®</sup>-Fallen zu einer Minimierung der Gnitzenpopulation. Fallen, die mit Lockmitteln (Pheromone, CO<sub>2</sub>, UV-Licht) arbeiten, können die Gnitzenabundanz in Ställen reduzieren. Sie sollten allerdings nur in geschlossenen Ställen eingesetzt werden, die von einem Neueinflug von Gnitzen geschützt sind, andernfalls könnten diese Fallen das Gnitzenaufkommen eventuell sogar erhöhen.

Die „Push-pull-Strategie“ (Logan *et al.*, 2010) könnte eine wirksame Maßnahme gegenüber dem Anflug von Gnitzen darstellen, setzt jedoch einen hohen Wissensstand über Gnitzen voraus, der zurzeit nicht besteht. Theoretisch bewirkt die „push (engl.: *abstoßen*)-Strategie“, dass das Wirtstier unattraktiv wird und daher für die Insekten abstoßend ist. Gleichzeitig werden mit der „pull (engl.: *anziehen*)–Taktik“ Insekten mit Hilfe spezifischer Attraktantien, die sich räumlich entfernt von den zu schützenden Tieren befinden, angelockt und gefangen. Da bei Gnitzen der Geruchssinn am besten ausgeprägt ist, könnte ein Einsatz, wie bereits bei Tsetsefliegen genutzt, erfolgversprechend sein (Logan *et al.*, 2010).

Die Wirtstierfindung von Gnitzen besteht aus einer komplexen Abfolge verschiedener Stimuli. Auf weite Distanzen finden Gnitzen die potentiellen Wirtstiere durch Kairomone (chemischer Botenstoff). Zu ihnen zählen z. B. CO<sub>2</sub>, Aceton, Butanon, Milchsäure und ein Mix aus Körperausdünstungen (Gibson & Torr, 1999; Bhasin *et al.*, 2000a,b, 2001; Logan & Birkett, 2007). Diese werden durch die Wirtstiere mit der Atemluft bzw. über die Haut und über Ausscheidungen abgegeben. Leider reagieren die einzelnen Gnitzenspezies auf sehr spezifische Kairomone, die bei den meisten Spezies bisher noch unbekannt sind, weil *in vitro*-Versuche für einen Großteil der *Ceratopogonidae* auf Grund fehlender Laborzuchten nicht durchführbar sind. In unmittelbarer Umgebung zum Wirt reagieren Gnitzen zusätzlich auf Konvektionswärme (Brown *et al.*, 1951), Luftfeuchtigkeit, aber auch auf visuelle Reize wie Form, Größe, Farbe und Kontrast des Wirtstieres (Khan, 1977; Takken, 1991; Muir *et al.*, 1992; Bidlingmayer, 1994; Bernier *et al.*, 1999). Ein schwarzer Untergrund übt z. B. auf *C. impunctatus* einen effektiven Landungsstimulus aus (Gibson & Torr, 1999; Logan *et al.*,

2010). Insgesamt wurden bisher kaum Substanzen gefunden, die einen repellenten Effekt auf Gnitzen ausüben und einen Einsatz am Tier ermöglichen. Pflanzenöle wie Zitronen-, Eukalyptus- und Niembaumöl verhindern effektiv den Anflug von *C. impunctatus* (Trigg, 1996, Blackwell *et al.*, 2004), verlieren allerdings schon nach kurzer Zeit ihre Wirkung. Die oben genannten Beispiele verdeutlichen, dass sich die Gnitzenforschung aufgrund ihrer langen Bedeutungslosigkeit in der veterinärmedizinischen Entomologie in den gemäßigten Klimaregionen noch in den Anfängen befindet.

Neben der weiteren Erforschung ihrer Biologie und der Wirtstierökologie sollte die Entwicklung neuer Ektoparasitika zum Schutz von Nutztieren intensiv verfolgt werden. Es ist schwer nachzuvollziehen, dass domestizierte Haustiere wie Hunde bis zu acht Monaten gegen Ektoparasiten geschützt werden können, während bei Nutztieren ein relativer Schutz von 3-4 Wochen erreicht werden kann. So ist zu hoffen, dass der Ausbruch der Blauzungkrankheit und der Schmollenberg-Virus-Infektion der Forschung einen Auftrieb geben wird.

### Schlussfolgerungen

Eine Behandlung mit Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on von Schafen in der empfohlenen Dosis von 10ml/Tier zeigte in der doppelt verblindeten GCP-Studie einen guten Schutz gegenüber Gnitzen in Groß Kreutz, Brandenburg. Einen Schutz gegenüber dem Anflug und der Blutaufnahme von Gnitzen konnte vom 7. bis zum 28. Tag nach der Behandlung festgestellt werden. In dieser Zeit konnte die Gesamtanzahl von Gnitzen in der Behandlungsgruppe gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe durchschnittlich um 46,1 % und die Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme um 90 % reduziert werden. Um die Wirksamkeit zu verbessern, könnte die Dosis erhöht werden, oder der Applikationsort geändert werden, um ausreichende Wirkstoffkonzentrationen an den von Gnitzen bevorzugten Körperregionen zu erreichen. Da eine Dosiserhöhung eventuell mit einer negativen ökotoxikologischen Bilanz einhergeht, sollte zum Schutz von Nicht-Zielinsekten diese Maßnahme zuvor eingehend geprüft werden. Um die relative Schutzwirkung zu verbessern, sollten zusätzliche Maßnahmen im Hygiene- und Managementbereich ergriffen werden.

### 6. Zusammenfassung

*Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) stellen den Hauptvektor für die Blauzungenkrankheit und die Schmallenberg-Virus-Infektion bei Wiederkäuern dar. Beide Erkrankungen traten in den letzten Jahren erstmalig in Deutschland auf und führten vor allem bei Schafen zu erheblichen Leiden und ökonomischen Verlusten bei den Schafhaltern. Bisher ist kein Insektizid für Wiederkäuer zugelassen, das eine nachgewiesene Wirkung gegenüber Gnitzen aufweist. Eine Feldstudie sollte daher die Wirksamkeit einer gegen Weidefliegen zugelassenen pour on-Formulierung eines Deltamethrinpräparates (Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on, MSD Tiergesundheit Deutschland) bei Schafen gegenüber Gnitzen untersuchen.

Eine ca. 2 ha große Weide wurde mittels Elektrozäunen in zwei identisch große Teilweiden unterteilt. Ein Doppelzaun bildete einen Korridor von 2m Breite und sollte den Kontakt zwischen beiden Schafgruppen verhindern. Auf jeder Teilweide stand eine Gruppe (A, B) von 20 weiblichen Merino-Landschafen mit einem Körpergewicht von ca. 40 kg. Die Behandlungsgruppe wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen mit 10 ml Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on behandelt; dafür wurde die jeweilige Untergruppe (A1-A5, B1-B5) von drei Schafen und einem Ersatztier am Tag der Behandlung von der Gesamtgruppe auf einen eigens eingezäunten Bereich der Weide geführt und für ca. 24h separiert. Durch diese Maßnahme sollte eine Kontamination der noch unbehandelten Tiere verhindert werden; ein Kälberiglu sollte für diesen Zeitraum Schutz gegenüber Niederschlägen bieten, um eine Auswaschwirkung des Insektizids zu vermeiden. Mit den Schafen der Kontrollgruppe wurde in gleicher Weise verfahren, ohne dass eine Behandlung erfolgte.

Die Gnitzenfänge wurden am 1., 7., 14., 21., 28. und 35. Tag nach der Behandlung von ca. 2 Stunden vor bis 2 Stunden nach Sonnenuntergang durchgeführt. Während der Fänge befand sich die jeweilige Untergruppe von 3 Schafen in einem Zwangsstand, der sich unter einem 3 x 3 m großen Zelt (drop trap) befand. Alle vier Seitenwände des Zeltes konnten vollständig nach oben gerollt und befestigt sowie durch Lösen von Klippverschlüssen rasch herabgelassen und verschlossen werden. Die Schafe standen zunächst für 15 Minuten im geöffneten und dann für weitere 20 Minuten im geschlossenen Zelt. Mit Hilfe eines Aspirators wurden alle im Zelt befindlichen Insekten von den Zeltwänden und vom Zeltdach gesaugt. Ein Fangdurchlauf dauerte ca. 1 Stunde, sodass an einem Abend vier Fänge durchgeführt werden konnten. An Tagen mit Niederschlag, Temperaturen von unter 10 °C oder Windgeschwindigkeiten von mehr als 5 m/s wurden keine Gnitzenfänge durchgeführt.

Anhand der Gesamtanzahl sowie der Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme in der Behandlungs- und in der Kontrollgruppe wurde die Wirksamkeit des Insektizids ermittelt. In der 6-wöchigen Feldstudie wurden an 22 Fangtagen insgesamt 19057 Gnitzen gefangen. In der Behandlungsgruppe waren es 7026 Gnitzen, von denen 103 (1,47%) Blut aufgenommen hatten. Bei den unbehandelten Schafen wurden 12034 Gnitzen gefangen, mit insgesamt 757 (6,29%) Gnitzen mit Anzeichen einer erfolgten Blutaufnahme. Die Gnitzen waren der Untergattung *Avaritia* Fox (86,62 %) bzw. *Culicoides* Latreille (13,38 %) zugehörig. Die Fänge am ersten und am 35. Tag nach der Behandlung ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen hinsichtlich der Gesamtanzahl an Gnitzen und



Gnitzenanzahl nach erfolgter Blutaufnahme. Signifikante Unterschiede zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe bestanden vom 7. bis zum 28. Tag nach der Behandlung in der Anzahl an Gnitzen nach Blutaufnahme. Ebenfalls konnte eine signifikant geringere Gesamtanzahl gefangener Gnitzen am 7., 21. und 28. Tag nach der Behandlung in der Behandlungsgruppe ermittelt werden. Über den gesamten 6-wöchigen Studienzeitraum konnte durch eine einmalige Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on Behandlung die Anzahl an Gnitzen nach erfolgter Blutaufnahme um durchschnittlich 86,39% und die Gesamtanzahl an Gnitzen um durchschnittlich 41,47% reduziert werden. Wenn man die nicht signifikanten Fangdaten der Fänge am ersten und 35. Tag nach der Behandlung ausschließt, konnte die Blutaufnahme von Gnitzen um 90 % und die Gesamtanzahl an Gnitzen um 46,1 % bei den behandelten Tieren herabgesetzt werden.

Diese Ergebnisse demonstrieren eine hohe Wirksamkeit von Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml pour on in der empfohlenen Dosis gegenüber dem Anflug und der Blutaufnahme von Gnitzen bei Schafen. Bei einem Tierseuchenausbruch ist eine pour on-Behandlung mit Butox<sup>®</sup> 7,5 mg/ml bei Schafen sinnvoll. Für einen erhöhten Schutz der Tiere sollten zusätzliche Maßnahmen ergriffen werden.

### 7. Summary

#### **Field evaluation of the efficacy and safety of a deltamethrin pour on formulation (Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml pour on) for the control of *Culicoides* midges in sheep**

*Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) are the main vectors of Bluetongue and Schmallenberg virus disease, which are infectious diseases of ruminants. Recently, both viral diseases occurred for the first time in Germany and caused substantial suffering and large economic losses, primarily in sheep flocks. None of the currently available insecticides is registered to control infestations with *Culicoides* midges in ruminants. This study aimed to assess the safety and efficacy of a pour on formulation of a deltamethrin preparation (Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml pour on, MSD Tiergesundheit Germany) against midges in sheep.

In a double blind study, a two hectare pasture in Gross Kreutz (Brandenburg) was divided by electric fences into two parts. A double fence formed a 2 m wide corridor, ensuring that contact between the two sheep flocks was prevented. Each pasture housed a group (A, B) of 20 female Merino sheep with approximately 40 kg body weight. The treatment groups were treated with 10 ml Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml pour on during five consecutive days. For this purpose, the respective subgroup (A1-A5, B1-B5) of three sheep plus one spare sheep was separated from the main group for 24 hours in an extra fenced section of the pasture to prevent the carry-over contamination of the veterinary product to untreated sheep. The treatment area was equipped with a calf igloo to protect the treated sheep against rainfall and a potential washing out of the insecticide. Sheep of the control group received a similar treatment, but were not treated with Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml pour on.

The midge catches were carried out on day 1, 7, 14, 21, 28 and 35 after the initial treatment, each time within a time window of 2 hours before to 2 hours after sunset. For the midge collections, a subgroup of three sheep was led inside a crush pen which was located under a 3x3 m marquee (drop trap). All four side walls of the drop trap could be raised and fastened or quickly dropped. The sheep were kept in the drop trap for 15 minutes with the walls raised, followed by 20 minutes under the closed drop trap with the walls dropped. With the aid of an aspirator, all insects inside the drop trap were collected from the tent walls and the ceiling for 15 min. A single collection took about 1 hour in total, allowing four catches on one evening. Collections were not made on days with rainfall, temperatures below 10 °C or wind speed above 5m/s.

A calculation of the efficacy of the insecticide was made by comparing the total number of collected midges and the total number of collected engorged midges from the treatment and from the control group.

During the field study of six weeks, a total of 19,057 midges were caught on 22 catching days in both groups. 7,026 midges were caught in the treatment group, with 103 engorged midges (1.47%). In the control group, 12,034 midges were caught, including 757 engorged midges (6.29%). The midges belonged to the subspecies *Avaritia* Fox (86,62 %) or *Culicoides* Latreille (13,38 %).

The catches on day 1 and 35 after the treatment showed no substantial differences between both groups. Significant differences regarding the number of engorged midges were observed from day 7 to day 28 between the treatment group and the control group. The total number of midges collected in the treated group on day 7, 21 and 28 after treatment was lower in comparison to the control group. The Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml treatment effectively reduced the number of engorged midges by 86.39%, and the total number of midges by 41.47% over the entire study period.

These results show a high efficacy of Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml pour on against midges infesting sheep. The pour on treatment of sheep with Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml may be useful during outbreaks of animal diseases associated with midges. Additional safety measures should be implemented for an increased protection of the animals.

## 8. Anhang

### 8. Anhang

**Tabelle 15:** Zuordnung der weiblichen Versuchsschafe der Rasse Merino-Landschaf

<b>Gruppe/ Kennzeichnung</b>	<b>Ohrmarkennummer</b>	<b>Geburtsdatum</b>	<b>Gewicht (kg) (02.05.2012)</b>
A1	276011210207987	14.01.2012	40,0
A1	276011210207991	15.01.2012	34,0
A1	276011210219763	26.01.2012	37,5
A1 (Ersatztier)	276011210208016	26.01.2012	35,0
A2	276011210207977	19.01.2012	45,0
A2	276011210208002	21.01.2012	43,0
A2	276011210208015	25.01.2012	38,0
A2 (Ersatztier)	276011210219807	28.01.2012	34,0
A3	276011210207986	17.01.2012	37,5
A3	276011210207989	18.01.2012	38,5
A3	276011210219805	27.01.2012	37,0
A3 (Ersatztier)	276011210208023	25.01.2012	39,0
A4	276011210208001	24.01.2012	37,0
A4	276011210208009	23.01.2012	37,5
A4	276011210219758	31.01.2012	40,5
A4 (Ersatztier)	276011210207968	21.01.2012	42,0
A5	276011210207970	20.01.2012	36,5
A5	276011210208004	25.01.2012	41,5
A5	276011210208020	25.01.2012	38,0
A5 (Ersatztier)	276011210219795	03.02.2012	33,0
B1	276011210207988	13.01.2012	45,5
B1	276011210208010	25.01.2012	34,5
B1	276011210219765	31.01.2012	36,5
B1 (Ersatztier)	276011210208003	21.01.2012	45,0
B2	276011210207976	19.01.2012	34,5
B2	276011210208000	26.01.2012	43,0
B2	276011210219806	29.01.2012	34,0
B2 (Ersatztier)	276011210208019	24.01.2012	36,5
B3	276011210207969	14.01.2012	41,5
B3	276011210208008	22.01.2012	34,0
B3	276011210219756	01.02.2012	35,0
B3 (Ersatztier)	276011210219757	29.01.2012	36,5
B4	276011210207990	18.01.2012	34,5
B4	276011210208018	23.01.2012	37,0
B4	276011210219818	09.02.2012	37,5
B4 (Ersatztier)	276011210207982	18.01.2012	35,5
B5	276011210207981	19.01.2012	35,0
B5	276011210207995	17.01.2012	36,0
B5	276011210219803	28.01.2012	40,0
B5 (Ersatztier)	276011210208014	24.01.2012	36,5

Field study to assess the efficacy and safety of Butox 7.5 pour on, against  
*Culicoides* midges in sheep.

PN1205  
V-0193-1517

**Appendix 3 continued**

Project Number: PN0841  
Intervet Study Number: V-0193-1349



**Form 9: *Culicoides* Midge Collection**

Date: (ddMmmyy) \_\_\_\_\_ Time: (hh:mm) \_\_\_\_\_ Investigator Code: \_\_\_\_\_

Animal Study ID's: (4 digits) \_\_\_\_\_

Treatment group: (circle): **A.....B**  Yes  No<sup>A</sup>

Animals all appear normal including condition of skin/ hair coat? <sup>A</sup> Complete Form 7: Adverse Event Record

**Collection 1:**

Temperature: (xx.x °c) \_\_\_\_\_ Wind speed: (x m/s) \_\_\_\_\_ Humidity: (%) \_\_\_\_\_ Sun / Cloud  
(Circle)

Rainfall in last (insert number) hours: (x mm) \_\_\_\_\_ Conditions suitable for sample collection?  Yes  No

Action	Time (hh:mm)	Notes	Collected by (initial)	Recorded by (initial)
1	Animals into trap	Leave for approx. 15 mins		
2	Drop sides of trap	Leave for 20 mins		
3	Start aspiration of trap	For 10 – 15 mins		
4	Raise sides of trap	End of collection 1		

**Start collection 2 (a minimum of 15 minutes after action 4):**

Temperature: (xx.x °c) \_\_\_\_\_ Wind speed: (x m/s) \_\_\_\_\_ Humidity: (%) \_\_\_\_\_ Sun / Cloud  
(Circle)

Rainfall in last (insert number) hours: (x mm) \_\_\_\_\_ Conditions suitable for sample collection?  Yes  No

Action	Time (hh:mm)	Notes	Collected by (initial)	Recorded by (initial)
5	Drop sides of trap	Leave for 20 mins		
6	Start aspiration of trap	For 10 – 15 mins		
7	Raise sides of trap	End of collection 2		

Animal and weather details recorded by: \_\_\_\_\_

Sign \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_

Reviewed by Investigator: \_\_\_\_\_

Sign \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_

**Abbildung 2:** Protokoll zur Durchführung der Gnitzenfänge

Project Number: PN0841  
 Intervet Study Number: V-0193-1349



**Form 9: *Culicoides* Midge Collection (continued)**

Date: (ddMmmyy) \_\_\_\_\_

Treatment group: (circle): **A.....B**

**Start collection 3 (a minimum of 15 minutes after action 7):**

Temperature: (xx.x °C) \_\_\_\_\_ Wind speed: (x m/s) \_\_\_\_\_ Humidity: (%) \_\_\_\_\_ Sun / Cloud  
 (Circle)

Rainfall in last (insert number) \_\_\_\_\_ hours: (x mm) \_\_\_\_\_ Conditions suitable for sample collection?  Yes  No

Action	Time (hh:mm)	Notes	Collected by (initial)	Recorded by (initial)
8	Drop sides of trap	Leave for 20 mins		
9	Start aspiration of trap	For 10 – 15 mins		
10	Raise sides of trap	End of collection 3		

**Start collection 4 (a minimum of 15 minutes after action 10):**

Temperature: (xx.x °C) \_\_\_\_\_ Wind speed: (x m/s) \_\_\_\_\_ Humidity: (%) \_\_\_\_\_ Sun / Cloud  
 (Circle)

Rainfall in last (insert number) \_\_\_\_\_ hours: (x mm) \_\_\_\_\_ Conditions suitable for sample collection?  Yes  No

Action	Time (hh:mm)	Notes	Collected by (initial)	Recorded by (initial)
11	Drop sides of trap	Leave for 20 mins		
12	Start aspiration of trap	For 10 – 15 mins		
13	Raise sides of trap	End of collection 4		
14	Animals out of trap			

Animal and weather details recorded by:

\_\_\_\_\_ Sign \_\_\_\_\_ Date

Reviewed by Investigator:

\_\_\_\_\_ Sign \_\_\_\_\_ Date

**Abbildung 3: Protokoll zur Durchführung der Gnitzenfänge (Fortsetzung)**

Project Number: PN0841  
 Intervet Study Number: V-0193-1349



### Form 10: *Culicoides* Midge Counting and Processing

Date of collection:(ddMmmyy) \_\_\_\_\_ Investigator code: \_\_\_\_\_

Animal Study ID's: (4 digits) \_\_\_\_\_

Treatment group: (circle)      **A**      **B**

Collection number: (circle)	1	2	3	4	Result	Recorded by (Initial)	Date recorded
1	Total midge count						
2	Total number of engorged midges						
3	Please record species identified and total number against each species	C.					
		C.					
		C.					
		C.					
		C.					

Collection number: (circle)	1	2	3	4	Result	Recorded by (Initial)	Date recorded
1	Total midge count						
2	Total number of engorged midges						
3	Please record species identified and total number against each species	C.					
		C.					
		C.					
		C.					
		C.					

Reviewed by Investigator: \_\_\_\_\_  
 Sign \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_

Abbildung 4: Erhebungsbogen zur Auszählung der Gnitzenfänge

### 9. Literaturverzeichnis

- Adam, D., Christ, W., 1987. Antibiotika und Chemotherapeutika. In: Pharmakologie und Toxikologie. BI Wissensverlag Mannheim, Deutschland: 580-715.
- AGRAVIS, 2008. Der Hygienemanager – Neue Konzepte gegen Fliegen und Insekten. Kundenmagazin von DESINTEC Hygiene für Stall und Tier 1, 1-23.
- Alexander, K.A., MacLachlan, N.J., Kat, P.W., House, C., O'Brien, S.J., Lerche, N.W., Sawyer, M., Frank, L.G., Holekamp, K., Smale, L., McNutt, W.J., Laurensen, M.K., Mills, M.G.L., Ossburn, B.I., 1994. Evidence of natural bluetongue virus infection among African carnivores. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 51 (5): 568-576.
- Anderson, J.R., Linhares, A.X., 1989. Comparison of several different trapping methods for *Culicoides variipennis* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of the American Mosquito Control Association* 5 (3): 325-334.
- Ansari, M.A., Pope, E.C., Carpenter, S., Scholte, E.J., Butt, T.M., 2011. Entomopathogenic fungus as a biological control for an important vector of livestock disease: The *Culicoides* biting midge. *PLoS ONE* 6 (1): e16108.
- Ayllón, T., Nijhof, A.M., Weiher, W., Bauer, B., Clausen, P.H., 2013. Feeding behaviour of *Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) on cattle and sheep in northeast Germany. Tagung der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten". 08.-10.07.2013, Gießen, Abstract.
- Badolo, A., Ilboudo-Sanogo, E., Ouédraogo, A.P., Costantini, C., 2004. Evaluation of the sensitivity of *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes to two insect repellents: DEET and KBR 3023. *Tropical Medicine and International Health* 9 (3): 330-334.
- Baker, K.P., Quinn, P.J., 1978. A report on clinical aspects and histopathology of sweet itch. *Equine Veterinary Journal* 10 (4): 243-248.
- Baldet, T., Delécolle, J.C., Mathieu, B., de La Rocque, S., Roger, F., 2004. Entomological surveillance of bluetongue in France in 2002. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 226-231.
- Baldet, T., Delécolle, J.C., Cêtre-Sossah, C., Mathieu, B., Meiswinkel, R., Gerbier, G., 2008. Indoor activity of *Culicoides* associated with livestock in the bluetongue virus (BTV) affected region of northern France during autumn 2006. *Preventive Veterinary Medicine* 87 (1-2): 84-97.
- Barnard, B.J., 1997. Some factors governing the entry of *Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) into stables. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 64 (3): 227-233.



- Barratt-Boyes, S.M., MacLachlan, N.J., 1994. Dynamics of viral spread in bluetongue virus infected calves. *Veterinary Microbiology* 40 (3-4): 361-371.
- Bartsch, S., 2010. Bestimmung der Wirtstierarten in Blutmahlzeiten von Gnitzen (Diptera: *Ceratopogonidae*) aus dem *Culicoides obsoletus*- und *C. pulicaris*-Komplex mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion. Dissertation Freie Universität Berlin, Journal Nr.: 3453, Mensch & Buch Verlag, ISBN 978-3-86664-945-3.
- Bartsch, S., Bauer, B., Wiemann, A., Clausen, P.H., Steuber, S., 2009. Feeding patterns of biting midges of the *Culicoides obsoletus* and *Culicoides pulicaris* groups on selected farms in Brandenburg, Germany. *Parasitology Research* 105 (2): 373-380.
- Bauer, B., Jandowsky, A., Schein, E., Mehlitz, D., Clausen, P.H., 2009. An appraisal of current and new techniques intended to protect bulls against *Culicoides* and other haematophagous nematocera: the case of Schmergow, Brandenburg, Germany. *Parasitology Research* 105 (2): 359-365.
- Baylis, M., Bouayoune, H., Touti, J., El Hasnaoui, H., 1998. Use of climatic data and satellite imagery to model the abundance of *Culicoides imicola*, the vector of African horse sickness virus, in Morocco. *Medical Veterinary Entomology* 12 (3): 255-266.
- Baylis, M., O'Connell, L., Purse, B.V., 2004. Modelling the distribution of bluetongue vectors. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 176-181.
- Baylis, M., Parkin, H., Kreppel, K., Carpenter, S., Mellor, P.S., McIntyre, K.M., 2010. Evaluation of housing as a means to protect cattle from *Culicoides* biting midges, the vectors of bluetongue virus. *Medical and Veterinary Entomology* 24 (1): 38-45.
- Becker, P., 1960. Observations on the live cycle and immature stages of *Culicoides circumscriptus* Kieff. (Diptera, *Ceratopogonidae*). *Proceeding of the Royal Society of Edinburgh B* 67 (4): 363-386.
- Bernier, U.R., Booth, M.M., Yost, R.A., 1999. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/ mass spectrometry. 1. Thermal desorbition of attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) from handled glass beads. *Analytical Chemistry* 71: 1-7.
- BGBL. Zweite Verordnung zur Änderung der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten.  
[http://www.rechtliches.de/info\\_Zweite\\_Verordnung\\_zur\\_Aenderung\\_der\\_Verordnung\\_ueber\\_meldepflichtige\\_Tierkrankheiten.html](http://www.rechtliches.de/info_Zweite_Verordnung_zur_Aenderung_der_Verordnung_ueber_meldepflichtige_Tierkrankheiten.html). (Stand: 05.04.2012)
- Bhasin, A., Mordue Luntz, A.J., Mordue, W., 2000a. Responses of the biting midge *Culicoides impunctatus* to acetone, CO<sub>2</sub> and 1-octen-3-ol in a wind tunnel. *Medical Veterinary Entomology* 14 (3): 300-307.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Bhasin, A., Mordue Luntz, A.J., Mordue, W., 2000b. Electrophysiological and behavioural identification of host kairomones as olfactory cues for *Culicoides impunctatus* and *C. nubeculosus*. *Physiological Entomology* 25(1): 6-16.
- Bhasin, A., Mordue Luntz, A.J., Mordue, W., 2001. Field studies on efficacy of host odour baits for the biting midge *Culicoides impunctatus* in Scotland. *Medical and Veterinary Entomology* 15 (2): 147-156.
- Bidlingmayer, W.L., 1994. How mosquitoes see traps: role of visual responses. *Journal of the American Mosquito Control Association* 10 (2): 272-279.
- Blackwell, A., Evans, K.A., Strang, R.H., Cole, M., 2004. Toward development of neem-based repellents against the Scottish Highland biting midge *Culicoides impunctatus*. *Medical Veterinary Entomology* 18 (4): 449-452.
- Blagburn, B.L., Lindsay, D.S., 1995. Ectoparasiticides. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press, Ames, USA: 984-1003.
- Blanton, F.S., Wirth, W.W., 1979. The sandflies (*Culicoides*) of Florida (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Arthropods of Florida and Neighboring Land Areas* 10: 1-204.
- BMELV, 2010. Allgemeines zur Blauzungenkrankheit und zur Impfung. URL: [http://www.bmelv.de/cln\\_172/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Tier/Tierge-sundheit/Blauzungenkrankheit/Blauzungenkrankheit.html](http://www.bmelv.de/cln_172/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Tier/Tierge-sundheit/Blauzungenkrankheit/Blauzungenkrankheit.html).
- Boakye, D.A., Tang, J., Truc, P., Merriweather, A., Unnasch, T.R., 1999. Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Medical Veterinary Entomology* 13 (3): 282-287.
- Boorman, J., 1986. Presence of bluetongue virus vectors on Rhodes. *Veterinary Record* 118 (1): 21.
- Boorman, J., 1993. Biting midges (*Ceratopogonidae*). In: Lane, P.R., Crosskey, R.W. (Eds.), *Medical Insects and Arachnids*, 1. Auflage, Chapman & Hall, London, 288-304.
- Boorman, J.P., Wilkinson, P.J., 1983. Potential vectors of bluetongue in Lesbos, Greece. *Veterinary Record* 113 (17): 395-396.
- Borkent, A., 2012. World species of biting midges (Diptera: *Ceratopogonidae*). <http://www.inhs.illinois.edu/files/8413/4219/9566/CeratopogonidaeCatalog.pdf> (Stand:28.02.2012).
- Bouwknegt, C., van Rijn, P.A., Schipper, J.J., Hölzel, D., Boonstra, J., Nijhof, A.M., van Rooij, E.M., Jongejan, F., 2010. Potential role of ticks as vectors of bluetongue virus. *Experimental & Applied Acarology* 52 (2): 183-192.
- Braverman, Y., 1988. Preferred landing sites of *Culicoides* species (Diptera: *Ceratopogonidae*) on a horse in Israel and its relevance to summer seasonal recurrent dermatitis (sweet itch). *Equine Veterinary Journal* 20 (6): 426-429.

- Braverman, Y., 1989. Control of biting midges *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*), vectors of bluetongue and inducers of sweet itch. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 45: 124-129.
- Braverman, Y., 1994. Nematocera (*Ceratopogonidae*, *Psychodidae*, *Simuliidae* and *Culicidae*) and control methods. *Revue Scientifique et Technique* 13 (4): 1175-1199.
- Braverman, Y., Ungar-Waron, H., Frith, K., Adler, H., Danieli, Y., Baker, K.P., Quinn, P.J., 1983. Epidemiological and immunological studies on sweet itch in horses in Israel. *Veterinary Report* 112 (22): 521-524.
- Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., 1997. Repellency of synthetic and plant-derived preparations for *Culicoides imicola*. *Medical Veterinary Entomology* 11 (4): 255-360.
- Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., 1998. Duration of repellency of various synthetic and plant-derived preparations for *Culicoides imicola*, the vector of African horse sickness virus. *Archives of Virology (Supplement)* 14: 165-174.
- Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., Mullens, B.A., 1999. Mosquito repellent attracts *Culicoides imicola* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of Medical Entomology* 36 (1): 113-115.
- Braverman, Y., Wegis, M.C., Mullens, B.A., 2000. Response of *Culicoides sonorensis* (Diptera: *Ceratopogonidae*) to 1-octen-3-ol and three plant-derived repellent formulations in the field. *Journal of the American Mosquito Control Association* 16 (2): 158-163.
- Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., Pener, H., Wilamowski, A., 2004. Susceptibility and repellency of *Culicoides imicola* and *Culex pipiens* to lambda-cyhalothrin. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 336-339.
- Brewer, A.W., MacLachlan, N.J., 1994. The pathogenesis of bluetongue virus infection of bovine blood cells in vitro: ultrastructural characterization. *Archives of Virology* 136 (3-4), 287-298.
- Brown, A.W.A., Sarkaria, D.S., Thompson, R.P., 1951. Studies on the responses of the female *Aedes* mosquito. 1. The search for attractant vapours. *Bulletin of Entomology Research* 42(1): 105-114.
- Brown, S.E., Gorman, B.M., Tesh, R.B., Knudson, D.L., 1992. Isolation of bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses from mosquitoes collected in Indonesia. *Veterinary Microbiology* 32 (3-4): 241-251.
- Buckley, J.J.C., 1938. On *Culicoides* as a vector of *Onchocerca gibsoni* (Cleland & Johnson 1910). *Journal of Helminthology* 16: 121-158.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Calvete, C., Calvo, J.H., Calavia, R., Miranda, M.A., Borrás, D., Estrada, R., Lucientes, J., Manuz, B., Romero, L., 2008. *Culicoides* species and transmission of bluetongue virus in Spain. *Veterinary Record* 162 (8): 255.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M.A., Del Rio, R., Borrás, D., Beldron, F.J., Martínez, A., Calvo, A.J., Lucientes, J., 2010. Protection of livestock against bluetongue virus vector *Culicoides imicola* using insecticide-treated netting in open areas. *Medical Veterinary Entomology* 24 (2): 169-175.
- Campbell, M.M., Kettle, D.S., 1975. Oogenesis in *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: *Ceratopogonidae*) and the development of a plastron-like layer on the egg. *Australian Journal of Zoology* 23 (2): 203-218.
- Campbell, M.M., Kettle, D.S., 1976. Number of adult *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: *Ceratopogonidae*) emerging from bovine dung exposed under different conditions in the field. *Australian Journal of Zoology* 24 (1): 75-85.
- Carpenter, S., Eyres, K., McEndrick, I., Smith, L., Turner, J., Mordue, W., Mordue Luntz, A.J., 2005. Repellent efficiency of BayRepel<sup>®</sup> against *Culicoides impunctatus* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Parasitology Research* 95: 427-429.
- Carpenter, S., Mellor, P.S., Torr, S.J., 2008a. Control techniques for *Culicoides* biting midges and their application in the U.K. and northwestern Palearctic. *Medical Veterinary Entomology* 22 (3): 175-187.
- Carpenter, S., Szmaraagd, C., Barber, J., Labuschagne, K., Gubbins, S., Mellor, P., 2008b. An assessment of *Culicoides* surveillance techniques in northern Europe: have we underestimated a potential bluetongue virus vector? *Journal of Applied Ecology* 45: 1237-1245.
- Caterino, M.S., Cho, S., Sperling, F.A., 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annual Review of Entomology* 45: 1-54.
- Cêtre-Sossah, C., Baldet, T., Delécolle, J.C., Mathieu, B., Perrin, A., Grillet, C., Albina, E., 2004. Molecular detection of *Culicoides* spp. and *Culicoides imicola*, the principal vector of bluetongue (BT) and African horse sickness (AHS) in Africa and Europe. *Veterinary Research* 35 (3): 325-337.
- Chamberlain, R.W., Sudia, W.D., 1961. Mechanism of transmission of viruses by mosquitoes. *Annual Review of Entomology* 6: 371-390.
- Cheah, T.S., Rajamanickam, C., 1991. Occurrence of *Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) in sheep sheds and their relevance to bluetongue in Peninsular Malaysia. *Tropical Animal Health and Production* 23 (1): 63-65.
- Cilek, J.E., Kline, D.L., 2002. Adult biting midge response to trap type, carbon dioxide, and an octenol-phenol mixture in northwestern Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18 (3): 228-231.

- Cilek, J.E., Kline, D.L., Hallmon, C.F., 2003. Evaluation of a novel removal trap system to reduce biting midge (Diptera: *Ceratopogonidae*) populations in Florida backyards. *Journal of Vector Ecology* 28 (1): 23-30.
- Cilek, J.E., Hallmon, C.F., 2005. The effectiveness of the Mosquito Magnet<sup>®</sup> trap for reducing biting midge (Diptera: *Ceratopogonidae*) populations in coastal residential backyards. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21 (2): 218-221.
- Clausen, P.H., Stephan, A., Bartsch, S., Jandowsky, A., Hoffmann-Köhler, P., Schein, E., Mehlitz, D., Bauer, B., 2009. Seasonal dynamics of biting midges (Diptera: *Ceratopogonidae*, *Culicoides* spp.) on dairy farms of Central Germany during the 2007/2008 epidemic of bluetongue. *Parasitology Research* 105 (2): 381-386.
- Cohen, J., Cohen, P., West, S.G., Aiken, L.S., 2002. Applied multiple regression/correlation analysis for the behavioral Sciences. Lawrence Erlbaum Association Inc., London.
- Coverdale, O.R., Cybinski, D.H., St. George, T.D., 1979. A study of the involvement of three Simbu group arboviruses in bovine congenital arthrogryposis and hydranencephaly in the New England area of New South Wales. *Arboviruses Research in Australia* 2: 130-139.
- Dal Pozzo, F., Saegerman, C., Thiry, E., 2009. Bovine infection with bluetongue virus with special emphasis on European serotype 8. *Veterinary Journal* 182 (2): 142-151.
- Darpel, K.E., Batten, C.A., Veronesi, E., Shaw, A.E., Anthony, S., Bachanek-Bankowska, K., Kgosana, L., bin-Tarif, A., Carpenter, S., Müller-Doblies, U.U., Takamatsu, H.H., Mellor, P.S., Mertens, P.P., Oura, C.A., 2007. Clinical signs and pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006 outbreak in northern Europe. *Veterinary Record* 161 (8): 253-261.
- Dassanayake, R.S., Gunawardene, Y.I.N.S., Nissanka, B.D.D., De Silva, K., 2008. ITS-2 secondary structures and phylogeny of *Anopheles culicifacies* species. *Bioinformation* 2 (10): 456-460.
- Delécolle, J.C., 1985. Nouvelle contribution à l'étude systématique et iconographique des espèces du genre *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*) du Nord-Est de la France. In Thèse de Doctorat d'Université mention Sciences. Université Louis Pasteur de Strasbourg. 238 pp.
- Depaquit, J., Ferté, H., Léger, N., Killick-Kendrick, R., Rioux, J.A., Killick-Kendrick, M., Hanafi, H.A., Gobert, S., 2000. Molecular systematics of the phlebotomine sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (diptera, psychodidae, phlebotomus) based on ITS2 rDNA sequences. Hypotheses of dispersion and speciation. *Insect Molecular Biology* 9 (3): 293-300.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Deutscher Wetterdienst, 2011. Pressemitteilung 30.11.2011.  
[http://www.dwd.de/bvbw/appmanager/bvbw/dwdwwwDesktop?\\_nfpb=true&\\_pageLabel=dwdwww\\_menu2\\_presse&T98029gsbDocumentPath=Content%2FPresse%2FPressemitteilungen%2F2011%2F20111129\\_DeutschlandwetterHerbst\\_2011\\_news.html](http://www.dwd.de/bvbw/appmanager/bvbw/dwdwwwDesktop?_nfpb=true&_pageLabel=dwdwww_menu2_presse&T98029gsbDocumentPath=Content%2FPresse%2FPressemitteilungen%2F2011%2F20111129_DeutschlandwetterHerbst_2011_news.html)
- Deutscher Wetterdienst, 2012. Pressemitteilung 30.05.2012.  
[http://www.dwd.de/bvbw/appmanager/bvbbw/dwdwwwDesktop?\\_nfpb=true&\\_pageLabel=dwdwww\\_menu2\\_presse&T98029gsbDocumentPath=Content%2FPresse%2FPressemitteilungen%2F2012%2F20120530\\_DeutschlandwetterimMai2012\\_news.html](http://www.dwd.de/bvbw/appmanager/bvbbw/dwdwwwDesktop?_nfpb=true&_pageLabel=dwdwww_menu2_presse&T98029gsbDocumentPath=Content%2FPresse%2FPressemitteilungen%2F2012%2F20120530_DeutschlandwetterimMai2012_news.html)
- Doherty, W.M., Johnson, S.J., Reid, A.E., 2001. Suppression of *Culicoides brevitarsis* (Kieffer) (Diptera: *Ceratopogonidae*) on cattle in Queensland with Deltamethrin and Cypermethrin. *General and Applied Entomology* 30: 45-47.
- Doherty, W.M., Bishop, A.L., Melville, L.F., Johnson, S.J., Bellis, G.A., Hunt, N.T., 2004. Protection of cattle from *Culicoides* spp. in Australia by shelter and chemical treatments. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 320-323.
- Downes, J.A., 1962. What is an arctic insect? *Canadian Entomologist* 94 (2): 143-162.
- Drew, C.P., Heller, M.C., Mayo, C., Watson, J.L., Maclachlan, N.J., 2010. Bluetongue virus infection activates bovine monocyte-derived macrophages and pulmonary artery endothelial cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 136 (3-4): 292-296.
- Ducheyne, E., De Deken, R., Bécu, S., Codina, B., Nomikou, K., Mangana-Vougiaki, O., Georgiev, G., Purse, B.V., Hendickx, G., 2007. Quantifying the wind dispersal of *Culicoides* species in Greece and Bulgaria. *Geospatial Health* 1 (2), 177-189.
- Dukes, J.C., Axtell, R.C., 1976. Residual effectiveness of insecticide-treated screens for control of biting midges, *Culicoides furens* (Poey), (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Mosquito News* 36(4): 488-491.
- Dyce, A.L., 1968. The recognition of nulliparous and parous *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*) without dissection. *Australian Journal of Entomology* 8 (1): 11-15.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2012. New Orthobunyavirus isolated from infected cattle and small livestock- potential implications for human health. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TER-Joint-ECDC-RIVM-RKI-Rapid-Risk-Assessment-Schmallenberg-virus-May-2012.pdf>. (Stand: 08.05.2012)
- Eckert, J., Friedhoff, K.T., Zahner, H., Deplazes, P., 2008. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*, 2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart.
- Edwards, P.B., 1977. Biology and bionomics of the biting midge *Culicoides subimmaculatus* Lee and Reye (Diptera: *Ceratopogonidae*) and other coastal *Culicoides* in southeast Queensland. PhD thesis, University of Queensland, Brisbane, Australia.

- EFSA, 2007a. Bluetongue Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare. The EFSA Journal 479/480.
- EFSA, 2007b. Report on Epidemiological analysis of the 2006 bluetongue virus serotype 8 epidemic in north-western Europe.  
[http://www.efsa.europa.eu/EFSA/1178620925100/efsa\\_locale-1178620753812\\_Bluetongue.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/1178620925100/efsa_locale-1178620753812_Bluetongue.htm) (Stand: 01.07.2008).
- EFSA, 2008. Bluetongue Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare. The EFSA Journal 735: 1-70.
- EFSA, 2012. "Schmallenberg" virus: Analysis of the Epidemiological Data and Assessment of Impact. EFSA Journal 2012, 10 (6): 2768.
- Elbers, A.R., Backx, A., Meroc, E., Gerbier, G., Staubach, C., Hendrickx, G., van der Spek, A., Mintiens, K., 2008. Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006. I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. Preventive Veterinary Medicine 87 (1-2): 21-30.
- Evermann, J.F., 2008. Accidental introduction of viruses into companion animals by commercial vaccines. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 38 (4): 919-929.
- Fletcher, M.G., Turner, E.C., Hansen, J.W., Perry, B.D., 1988. Horse-baited insect trap and mobile insect sorting table used in a disease vector identification study. Journal of the American Mosquito Control Association 4 (4): 431-435.
- FLI, 2010. Blauzungenkrankheit in Deutschland,  
[http://www.fli.bund.de/no\\_cache/de/startseite/aktuelles-presse/aktuelles-tierseuchengeschen/blauzungenkrankheit.html](http://www.fli.bund.de/no_cache/de/startseite/aktuelles-presse/aktuelles-tierseuchengeschen/blauzungenkrankheit.html). (Stand: 01.03.2012)
- FLI, 2011. Loeffler Nr. 9. Heft 1/2011.  
[www.fli.bund.de/fileadmin/dam\\_uploads/Publikationen/Loeffler/Loeffler05201101.pdf](http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam_uploads/Publikationen/Loeffler/Loeffler05201101.pdf). (Stand: 10.11.2012)
- FLI, 2013. Schmallenberg-Virus.  
<http://www.fli.bund.de/de/startseite/aktuelles/tierseuchengeschehen/schmallenberg-virus.html>. (Stand: 21.02.2013)
- FLI, 2013. Nationales Referenzlabor für Afrikanische Pferdepest (AHS).  
<http://www.fli.bund.de/de/startseite/institute/institut-fuer-virusdiagnostik/referenzlabore/nrl-fuer-ahs.html>. (Stand: 21.02.2013)
- Foxi, C., Delrio, G., 2010. Larval habitats and seasonal abundance of *Culicoides* biting midges found in association with sheep in northern Sardinia, Italy. Medical Veterinary Entomology 24 (2): 199-209.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Freeman, W.M., Walker, S.J., Vrana, K.E., 1999. Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. *Biotechniques* 26 (1): 112-122.
- Frey, H.H. & Löscher, W., 2007. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. 2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, Deutschland.
- Fu, H., Leake, C.J., Mertens, P.P., Mellor, P.S., 1999. The barriers to bluetongue virus infection, dissemination and transmission in the vector, *Culicoides variipennis* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Archives of Virology* 144 (4): 747-761.
- Gambles, R.M., 1949. Bluetongue of sheep in Cyprus. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 59: 176-190.
- Garigliany, M.M., Hoffmann, B., Dive, M., Sartelet, A., Bayrou, C., Cassart, D., Beer, M., Desmecht, D., 2012. Schmallenberg virus in calf born at term with porencephaly, Belgium. *Emerging Infectious Diseases* 18 (6): 1005-1006.
- Garnham, P.C.C., Heisch, R.B., Minter, D.M., Phipps, J.D., Ikata, M., 1961. *Culicoides adersi* Ingram and Macfie, 1923, a presumed vector of *Hepatozoon* (=Plasmodium) *kochi* (Laveran, 1899). *Nature* 190 (4777): 739-741.
- Garros, C., Mathieu, B., Balenghien, T., Cêtre-Sossah, C., Delécolle, J.C., 2010. Suggesting synonymies? Comments on Kiehl *et al.* (2009) “the European vectors of Bluetongue virus: are there species complexes, single species or races in *Culicoides obsoletus* and *C. pulicaris* detectable by sequencing ITS-1, ITS-2 and 18S-rDNA?” *Parasitology Research* 107 (3): 731-734.
- Garros, C., Gardès, L., Allène, X., Rakotoarivony, I., Viennet, E., Rossi, S., Balenghien, T., 2011. Adaption of a species-specific multiplex PCR assay for the identification of blood meal source in *Culicoides* (*Ceratopogonidae*: Diptera): applications on Palaearctic biting midge species, vectors of Orbiviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 11 (5): 1103-1110.
- Garzia-Saenz, A., McCarter, P., Baylis, M., 2011. The influence of host number on the attraction of biting midges, *Culicoides* spp., to light traps. *Medical Veterinary Entomology* 25 (1): 1103-11010.
- Gerry, A.C., Sarto i Monteys, V., Moreno Vidal, J.O., Francino, O., Mullens, B.A., 2009. Biting rates of *Culicoides* midges (Diptera: *Ceratopogonidae*) on Sheep in northeastern Spain in relation to midge capture using UV light and carbon dioxide-baited traps. *Journal of Medical Entomology* 46(3): 615-624.
- Gibbs, E.P., Greiner, E.C., 1994. The epidemiology of bluetongue. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 17 (3-4): 207-220.
- Gibson, G., Torr, S.J., 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Medical Veterinary Entomology* 13(1): 2-23.



- Goffredo, M., Meiswinkel, R., 2004. Entomological surveillance of bluetongue in Italy: methods of capture, catch analysis and identification of *Culicoides* biting midges. *Veterinaria Italiana* 40(3): 260-265.
- Goffredo, M., Conte, A., Meiswinkel, R., 2004a. Distribution and abundance of *Culicoides imicola*, *Obsoletus* Complex and *Pulicaris* Complex (Diptera: *Ceratopogonidae*) in Italy. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 270-273.
- Goffredo, M., Calistri, P., Capelli, G., Dottori, M., Mignone, W., Accorsi, A., Calzolari, M., Giuliano, I., Montarsi, F., Di Nicola, F., Micarelli, G., Ippoliti, C., Lelli, R., 2008. Distribution and abundance of BTV-8 potential vectors in Northern Italy. Proceedings of the Bluetongue Satellite Symposium "Bluetongue in Europe, back to the future!!". Brescia, Italy, 7 June 2008. 82.
- Greiner, E.C., Fadok, V.A., Rabin, E.B., 1988. Equine *Culicoides* hypersensitivity in Florida: biting midges collected in light traps near horses. *Medical Veterinary Entomology* 2 (2): 129-135.
- Griffioen, K., van Gemst, D.B., Pieterse, M.C., Jacobs, F., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M., 2011. *Culicoides* species associated with sheep in the Netherlands and the effect of a permethrin insecticide. *Veterinary Journal* 190 (2): 230-235.
- Halldorsdottir, S., Larsen, H.J., Mehl, R., 1989. Intradermal challenge of Icelandic horses with extracts of four species of the genus *Culicoides*. *Research in Veterinary Science* 47 (3): 283-287.
- Hardy, J.L., 1988. Susceptibility and resistance of vector mosquitoes. In: *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*, Vol. I, T.P. Monath, Ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 87-126.
- Hardy, J.L., Houk, E.J., Kramer, L.D., Reeves, W.C., 1983. Intrinsic factors affecting vector competence of mosquitoes for arboviruses. *Annual Review of Entomology* 28: 229-262.
- Heimberg, P.; Adam, F.; Holsteg, M., 2008. Blauzungenkrankheit bei Rind, Schaf und Ziege – Klinik, Schäden Verluste. Landwirtschaftskammer NRW, Tiergesundheitsdienst <http://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/tiergesundheit/pdf/2008-11-10-bluzungenkrankheit.pdf>. (Stand: 10.11.2008)
- Hemati, B., Contreras, V., Urien, C., Bonneau, M., Takamatsu, H.H., Mertens, P.P., Bréard, E., Sailleau, C., Zientara, S., Schwartz-Cornil, I., 2009. Bluetongue virus targets conventional dendritic cells in skin lymph. *Journal of Virology* 83 (17): 8789-8799.
- Hendl, M., 1994. Das Klima des Norddeutschen Tieflandes, In: Liedtke, H.J.M. (Eds.) *Physische Geographie Deutschlands* pp. 559.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Biological Sciences* 270: 313-321.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Hiepe, T., Lucius, R., Gottstein, B., 2006. Allgemeine Parasitologie mit den Grundzügen der Immunbiologie, Diagnostik und Bekämpfung. 1. Auflage, Parey MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co.KG.
- Hill, M.A., 1947. The live-cycle and habits of *Culicoides impunctatus* Goetghebuer and *Culicoides obsoletus* Meigen, together with some observations on the live-cycle of *Culicoides odibilis* Austen, *Culicoides pallidicornis* Kieffer, *Culicoides cubitalis* Edwards and *Culicoides chiopterus* Meigen. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 41 (1): 55-115.
- Hoffmann, B., Bauer, B., Bauer, C., Bätza, H.J., Beer, M., Clausen, P.H., Geier, M., Gethmann, J.M., Kiel, E., Liebisch, G., Liebisch, A., Mehlhorn, H., Schaub, G.A., Werner, D., Conraths, F.J., 2009. Monitoring of putative vectors of bluetongue virus serotype 8, Germany. *Emerging Infectious Diseases* 15 (9): 1481-1484.
- Hoffmann, B., Scheuch, M., Höper, D., Jungblut, R., Holsteg, M., Schirrmeier, H., Eschbaumer, M., Goller, K.V., Wernike, K., Fischer, M., Breithaupt, A., Mettenleiter, T.C., Beer, M., 2012. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerging Infectious Diseases* 18 (3): 469-472.
- Holbrook, F.R., Mullens, B.A., 1994. Effects of ivermectin on survival, fecundity and egg fertility in *Culicoides variipennis* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of the American Mosquito Control Association* 10 (1): 70-73.
- Hoshino, C., 1985. Note on biting midges collected by light traps at a cowshed in Ishigakijima, Ryukyu Islands Japan. *Medical Entomology & Zoology* 36: 55-58.
- Iben, B., 2006. Nicht länger mehr nur exotische Erkrankung-Blauzungenkrankheit jetzt auch in Deutschland. *Großtierpraxis* 7 (10): 418-427.
- Inaba, Y., Matumoto, M., 1981. Congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome. In: *Virus Diseases of Food Animals. Vol. II: Diseases Monographs*, Gibbs, E.P.J. (Eds.), San Francisco: Academic Press, 653-671.
- Inaba, Y., Kurogi, H., Omori, T., 1975. Letter: Akabane disease: epizootic abortion, premature birth, stillbirth and congenital arthrogryposis-hydranencephaly in cattle, sheep and goats caused by Akabane virus. *Australian Veterinary Journal* 51 (12): 584-585.
- Jandowsky, A., 2010. Vorkommen und Verbreitung von Insektizidresistenzen bei Fliegen (*Musca domestica*) in Milchviehbetrieben im Bundesland Brandenburg, Deutschland. Dissertation, Freie Universität Berlin, Journal-Nr.:3340. Mensch und Buch Verlag, ISBN 978-3-8664-751-0.

- Jandowsky, A., Schein, E., Clausen, P.H., Sievert, K., Bauer, B., 2009. Vorkommen und Verbreitung von Insektizidresistenzen bei Fliegen (*Musca domestica*) in Milchviehbetrieben Brandenburgs. In: Tagung der DVG-Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, Leipzig, pp. 47-48.
- Jandowsky, A., Clausen, P.H., Schein, E., Bauer, B., 2010. Vorkommen und Verbreitung von Insektizidresistenzen bei Fliegen (*Musca domestica* L.) in Milchviehbetrieben Brandenburgs. *Praktischer Tierarzt* 91 (7): 590-598.
- Kaufmann, C., Schaffner, F., Mathis, A., 2009. BTV vector studies in Switzerland. [www.paras.uzh.ch/research/entomology/presentations/Kaufmann-et-al-SOVE2009\\_Culicoides.pdf](http://www.paras.uzh.ch/research/entomology/presentations/Kaufmann-et-al-SOVE2009_Culicoides.pdf).
- Kaufmann, C., Schaffner, F., Ziegler, D., Pflüger, V., Mathis, A., 2012. Identification of field-caught *Culicoides* biting midges using matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *Parasitology* 139 (2): 248-258.
- Kettle, D.S., 1969. The biting habits of *Culicoides furens* (Poey) and *C. barbosai* Wirth & Blanton. I. The 24-h cycle, with a note on differences between collectors. *Bulletin of Entomological Research* 59 (1): 21-31.
- Kettle, D.S., 1984. *Ceratopogonidae* (Biting midges). *Medical and Veterinary Entomology*. 1. Auflage, Croom Helm Ltd. London & Sydney, 137-158.
- Kettle, D.S., 1995. *Medical and Veterinary Entomology*. 2<sup>nd</sup> Ed., Wallingford, Oxon, UK : CAB International.
- Kirschvink, N., Raes, M., Saegerman, C., 2009. Impact of a natural bluetongue serotype 8 infection on semen quality of Belgian rams in 2007. *Veterinary Journal* 182 (2): 244-251.
- Kirstein, F., Gray, J.S., 1996. A molecular marker for the identification of the zoonotic reservoirs of Lyme borreliosis by analysis of the blood meal in its European vector *Ixodes ricinus*. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (11): 4060-4065.
- Kline, D.L., 1999. Comparison of two American biophysics mosquito traps: the professional and a new counterflow geometry trap. *Journal of the American Mosquito Control Association* 15 (3): 276-282.
- Kühlhorn, F., 1964. Über das Vorkommen von *Culicoides* – Mücken im Nutztviehbereich. *Gesundheitswesen Desinfektion* 56: 99-103.
- Kühnert, M., 1991. *Veterinärmedizinische Toxikologie: Allgemeine und klinische Toxikologie. Grundlagen der Ökotoxikologie*. 1. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, Deutschland.
- Kunkel, G., 1997. An updated review of ectoparasiticide treatments in dogs and cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 20 (1): 110-112.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Goto, Y., 1977a. Experimental infection of pregnant goats with Akabane virus. National Institute of Animal Health Quarterly (Tokyo). 17 (1): 1-9.
- Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Satoda, K., 1977b. Congenital abnormalities in newborn calves after inoculation of pregnant cows with Akabane virus. Infection and Immunity 17 (2): 338-343.
- Larsen, H.J., Bakke, S.H., Mehl, R., 1988. Intradermal challenge of Icelandic horses in Norway and Iceland with extracts of *Culicoides* spp. Acta Veterinaria Scandinavica 29 (3-4): 311-314.
- Lassen, S.B., Nielsen, S.A., Skovgård, H., Kristensen, M., 2011. Molecular identification of bloodmeals from biting midges (Diptera: *Ceratopogonidae*: *Culicoides* Latreille) in Denmark. Parasitology Research 108 (4): 823-829.
- Levings, R.L., Wilbur, L.A., Evermann, J.F., Stoll, I.R., Starling, D.E., Spillers, C.A., Gustafson, G.A., McKeirman, A.J., Rhyan, J.C., Halverson, D.H., Rosenbusch, R.F., 1996. Abortion and death in pregnant bitches associated with a canine vaccine contaminated with bluetongue virus. Developments in Biological Standardization 88: 219-220.
- Liebisch, A.M., 1980. Beitrag zur Therapie der Psoroptes- und Sarcoptesräude verschiedener Haustierarten mit dem Phosphorsäureester Sebacil<sup>®</sup>. Veterinärmedizinische Nachrichten 1: 3-15.
- Liebisch, A., Liebisch, G., Heine, S., Thienel, S., Hinrichs, P., 2008a. Wirksamkeit von Auriplak<sup>®</sup> Ohrclips (Permethrin) gegen Gnitzen (*Culicoides*) als Überträger des Bluetongue Virus bei Rindern. Praktischer Tierarzt 89 (2): 128-141.
- Liebisch, G., Krieger, K., Heine, S., Thienel, S., Hinrichs, P., Liebisch, A., 2008b. Bayofly Pour on<sup>®</sup> (Cyfluthrin) bei der Abwehr und Bekämpfung von Gnitzen (*Ceratopogonidae*: *Culicoides*) den Überträgern des Bluetongue Virus: Felduntersuchungen und Bioassay mit Milchkühen und Jungrindern. Praktischer Tierarzt 89 (5), 411-426.
- Lievaart-Peterson, K., Luttikholt, S.J.M., van den Brom, R., Vellema, P., 2012. Schmallenberg virus infection in small ruminants – First review of the situation and prospects in Northern Europe. Small Ruminant Research 106 (2-3): 71-76.
- Linley, J.R., Adams, G.M., 1972. A study of the mating behaviour of *Culicoides melleus* (Coquillett) (Diptera: *Ceratopogonidae*). Transactions of the Royal Entomological Society of London 124 (2): 81-121.
- Linley, J.R., Hoch, A.L., Pinheiro, F.P., 1983. Biting midges (Diptera: *Ceratopogonidae*) and human health. Journal of Medical Entomology 20 (4): 347-364.

- Logan, J.G., Birkett, M.A., 2007. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation. *Pest Management Science* 63 (7): 647-657.
- Logan, J.G., Cook, J.I.; Mordue Luntz, A.J., Kline, D.L., 2010. Understanding and exploiting olfaction for the surveillance and control of *Culicoides* biting midges (*Ceratopogonidae*). In: Takken, W., Knols, B.G.J. (Eds.), *Ecology and control of vector-borne diseases (2): Olfaction in vector-host interactions*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, 10: 217-246.
- Losson, B., Mignon, B., Paternostre, J., Madder, M., De Deken, R., De Deken, G., Deblauwe, I., Fassotte, C., Cors, R., Defrance, T., Delécolle, J.C., Baldet, T., Haubruge, E., Frédéric, F., Bortels, J., Simonon, G., 2007. Biting midges overwintering in Belgium. *Veterinary Record* 160 (13): 451-452.
- Lucius, R., Loos-Frank, B., 2008. *Biologie von Parasiten*, 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Luedke, A.J., Jones, R.H., Walton, T.E., 1977. Overwintering mechanism for bluetongue virus: biological recovery of latent virus from a bovine by bites of *Culicoides variipennis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 26 (2): 313-325.
- Maan, S., Maan, N.S., Nomikou, K., Veronesi, E., Bachanek-Bankowska, K., Belaganahalli, M.N., Attoui, H., Mertens, P.P.C., 2011. Complete genome characterisation of a novel 26th bluetongue virus serotype from Kuwait. *PloS One* 6 (10): e26147.
- MacLachlan, N.J., Jagels, G., Rossitto, P.V., Moore, P.F., Heidner, H.W., 1990. The pathogenesis of experimental bluetongue virus infection of calves. *Veterinary Pathology* 27 (4): 223-229.
- MacLachlan, N.J., Conley, A.J., Kennedy, P.C., 2000. Bluetongue and equine viral arteritis viruses as models of virus-induced fetal injury and abortion. *Animal Reproduction Science* 60-61: 643-651.
- MacLachlan, N.J., 2004. Bluetongue: pathogenesis and duration of viraemia. *Veterinaria Italiana* 40 (4): 462-467.
- MacLachlan, N.J., Gard, G., 2009. Clinical signs and pathology. In: Mellor, P.; Baylis, M.; Mertens, P.P.C. (Eds.): *Bluetongue*. Academic Press, London. 285-293.
- MacLachlan, N.J., Drew, C.P., Darpel, K.E., Worwa, G., 2009. The Pathology and pathogenesis of bluetongue. *Journal of Comparative Pathology* 141 (1): 1-16.
- Mands, V., Kline, D.L., Blackwell, A., 2004. *Culicoides* midge trap enhancement with animal odour baits in Scotland. *Medical and Veterinary Entomology* 18 (4): 336-342.
- Martini, E., 1946. *Lehrbuch der medizinischen Entomologie*. Gustav Fischer Verlag Jena.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Mathieu, B., Perrin, A., Baldet, T., Delécolle, J.C., Albina, E., Cêtre-Sossah, C., 2007. Molecular identification of Western European species of *Obsoletus* Complex (Diptera: *Ceratopogonidae*) by an internal transcribed spacer-1 rDNA multiplex polymerase chain reaction assay. *Journal of Medical Entomology* 44 (6): 1019-1025.
- Mayo, C.E., Mullens, B.A., Gerry, A.C., Barker, C.M., Mertens, P.P., Maan, S., Maan, N., Gardner, I.A., Guthrie, A.J., MacLachlan, N.J., 2012. The combination of abundance and infection rates of *Culicoides sonorensis* estimates risk of subsequent bluetongue virus infection of sentinel cattle on California dairy farms. *Veterinary Parasitology* 187 (1-2): 295-301.
- Mayr, A., 1984. *Medizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre*. 5. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart.
- McLintock, J., 1978. Mosquito-virus relationships of American encephalitides. *Annual Review of Entomology* 23: 17-37.
- Meermann, A., 1978. Bekämpfung der Psoroptisräude bei Schafen mit Phosphorsäureestern in Nordfriesland. Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover, Nr. 8.
- Mehlhorn, H., 2001. *Encyclopedic Reference of Parasitology: Biology, Structure, Function*. 2. Auflage Springer Verlag Berlin, Heidelberg.
- Mehlhorn, H., Walldorf, V., Klimpel, S., Jahn, B., Jaeger, F., Eschweiler, J., Hoffmann, B., Beer, M., 2007. First occurrence of *Culicoides obsoletus*-transmitted Bluetongue virus epidemic in Central Europe. *Parasitology Research* 101(1):219-228.
- Mehlhorn, H., Schmahl, G., D'Haese, J., Schumacher, B., 2008a. Butox<sup>®</sup> 7.5 pour on: a deltamethrin treatment of sheep and cattle: pilot study of killing effects on *Culicoides* species (*Ceratopogonidae*). *Parasitology Research* 102 (3): 515-518.
- Mehlhorn, H., Schmahl, G., Schumacher, B., D'Haese, J., Walldorf, V., Klimpel, S., 2008b. Effects of Bayofly<sup>®</sup> on specimens of *Culicoides* species when incubated in hair taken from the feet of previously treated cattle and sheep. *Parasitology Research* 102(3), 519-522.
- Mehlhorn, H., Walldorf, V., Klimpel, S., Schaub, G., Kiel, E., Focke, R., Liebisch, G., Liebisch, A., Werner, D., Bauer, C., Clausen, P.H., Bauer, B., Geier, M., Hörbrand, T., Bätza, H.J., Conraths, F.J., Hoffmann, B., Beer, M., 2009. Bluetongue disease in Germany (2007-2008): monitoring of entomological aspects. *Parasitology Research* 105 (2): 313-319.
- Meiswinkel, R., 1989. Afrotropical *Culicoides*: a redescription of *C. (Avaritia) imicola* Kieffer, 1913 (Diptera: *Ceratopogonidae*) with description of the closely allied *C. (A.) bolitinos* sp. nov. reared from the dung of the African buffalo, blue wildebeest and cattle in South Africa. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 56 (1): 23-39.

- Meiswinkel, R., Nevill, E.M., Venter, G.J., 1994. Vectors: *Culicoides* spp. In: Coetzer J.A.W., Thomson G.R., Tustin, R.C. (Eds.): Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa. Vol.1. Oxford University Press, Cape Town. 68-89.
- Meiswinkel, R., Baylis, M., Labuschagne, K., 2000. Stabling and the protection of horses from *Culicoides bolitinos* (Diptera: *Ceratopogonidae*), a recently identified vector of African horse sickness. *Entomological Research* 90 (6): 509-515.
- Meiswinkel, R., Gomulski, L.M., Delécolle, J.C., Goffredo, M., Gasperi, G., 2004. The taxonomy of *Culicoides* vector complexes – unfinished business. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 151-159.
- Meiswinkel, R., Baldet, T., de Deken, R., Takken, W., Delécolle, J.C., Mellor, P.S., 2008a. The 2006 outbreak of bluetongue in northern Europe – the entomological perspective. *Preventive Veterinary Medicine* 87 (1-2), 55-63.
- Meiswinkel, R., Goffredo, M., Dijkstra, E.G., Van der Ven, I.J., Baldet, T.; Elbers, A., 2008b. Endophily in *Culicoides* associated with BTV-infected cattle in the province of Limburg, south-eastern Netherlands, 2006. *Preventive Veterinary Medicine* 87 (1-2): 182-195.
- Mellor, P.S., 1990. The replication of bluetongue virus in *Culicoides* vectors. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 162: 143-161.
- Mellor, P.S., 2000. Replication of arboviruses in insect vectors. *Journal of Comparative Pathology* 123 (4): 231-247.
- Mellor, P.S., 2001. Bluetongue virus. In: Service, M.W. (Eds.): *The encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections*. CAB International, Wallingford Oxon, UK: 78-83.
- Mellor, P.S., 2004. Infection of the vectors and bluetongue epidemiology in Europe. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 167-174.
- Mellor, P.S., Boorman, J.P.T., Wilkinson, P.J., Martinez-Gomez, F., 1983. Potential vectors of bluetongue and African horse sickness viruses in Spain. *Veterinary Record* 112: 229-230.
- Mellor, P.S., Boormann, J., 1995. The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 89 (1): 1-15.
- Mellor, P.S., Boorman, J., Baylis, M., 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology* 45: 307-340.
- Mellor, P.S., Wittmann, E.J., 2002. Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *Veterinary Journal* 164 (1): 20-37.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Melville, L., Hunt, N., Bellis, G., Pinch, D., 2001. Evaluation of chemical treatments to prevent *Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) feeding on cattle in the Northern Territory. *General and Applied Entomology* 30: 41-44.
- Melville, L., Hunt, N., Bellis, G., Hearnden, M., 2005a. Protection of cattle from NT vectors of bluetongue and BEF viruses by covered pens and chemicals. *Arbovirus Research in Australia* 9: 224-229.
- Melville, L., Hunt, N.T., Bellis, G., Hearnden, M., Pinch, D., 2005b. Response of *Culicoides* spp. (Diptera: *Ceratopogonidae*) to covers over cattle and lights. *Arbovirus Research in Australia* 9: 230-239.
- Metzner, M., 2012. Schmallenberg-Virus-Infektion. Klinik für kleine Wiederkäuer am Zentrum für klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München. [www.rinderskript.net/skripten/b11-4.html](http://www.rinderskript.net/skripten/b11-4.html).
- Mo, C.L., Thompson, L.H., Homan, E.J., Oviedo, M.T., Greiner, E.C., González, J.; Sáenz, M.R., 1994. Bluetongue virus isolations from vectors and ruminants in Central America and the Caribbean. Interamerican Bluetongue Team. *American Journal of Veterinary Research* 55 (2): 211-215.
- Modrow, S., Falke, D., Truyen, U., Schätzl, H., 2010. *Molekulare Virologie*. 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.
- Mordue Luntz, A.J., Mordue, B., 2003. Biting midge chemical ecology. *Biologist* 50 (4): 159-162.
- Morrow, A.N., Quinn, P.J., Baker, K.P., 1986. Allergic skin reactions in the horse: response to intradermal challenge with fractionated *Culicoides*. *Journal of Veterinary Medicine* B 33 (1-10): 508-517.
- Msd-tiergesundheits (Stand: 02.2012).  
[www.msd-tiergesundheits.de/products/butox\\_75\\_pour\\_on/butox\\_protect\\_75.aspx](http://www.msd-tiergesundheits.de/products/butox_75_pour_on/butox_protect_75.aspx)
- Mullen, G.R., Durden, L.A., 2009. *Medical and Veterinary Entomology*. Second Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Mullens, B.A., 1993. In vitro assay for permethrin persistence and interference with bloodfeeding of *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*) on animals. *Journal of the American Control Association* 9 (3): 256-259.
- Mullens, B.A., Holbrook, F.R., 1991. Temperature effects on the gonotrophic cycle of *Culicoides variipennis* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of the American Mosquito Control Association* 7 (4): 588-591.
- Mullens, B.A., Tabachnick, W.J., Holbrook, F.R., Thompson, L.H., 1995. Effects of temperature on virogenesis of bluetongue virus serotype 11 in *Culicoides variipennis sonorensis*. *Medical and Veterinary Entomology* 9 (1): 71-76.



- Mullens, B.A., Velten, R.K., Gerry, A.C., Braverman, Y., Endris, R.G., 2000. Feeding and survival of *Culicoides sonorensis* on cattle treated with permethrin or pirimiphos-methyl. *Medical and Veterinary Entomology* 14: 313-320.
- Mullens, B.A., Gerry, A.C., Velten, R.K., 2001. Failure of a permethrin treatment regime to protect cattle against bluetongue virus. *Journal of Medical Entomology* 38 (5): 760-762.
- Mullens, B.A., Owen, J.P., Heft, D.E., Sobock, R.V., 2005. *Culicoides* and other biting flies on the Palos Verdes Peninsula of Southern California, and their possible relationship to equine dermatitis. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21 (1): 90-95.
- Mullens, B.A., Cardona, C.J., McClellan, L., Szijj, C.E., Owen, J.P., 2006. *Culicoides bottimeri* as a vector of *Haemoproteus lophortyx* to quail in California, USA. *Veterinary Parasitology* 140 (1-2): 35-43.
- Mullens, B.A., Gerry, A.C., Monteys, V.S., Pinna, M., González, A., 2010. Field studies on *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*) activity and response to deltamethrin applications to sheep in northeastern Spain. *Journal of Medical Entomology* 47(1): 106-110.
- Müller, U., Sauerwein, H., 2010. Blauzungenkrankheit bei Rind und Schaf: Art und Umfang der entstehenden Verluste in der Produktion anhand von Beispielbetrieben in Nordrhein-Westfalen sowie Monitoring der Impferfolge. *Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL Nr. 162, 56 Seiten.*
- Murray, M.D., 1987. Akabane epizootics in New South Wales: evidence for long-distance dispersal of the biting midge *Culicoides brevitarsis*. *Australian Veterinary Journal* 64 (10): 305-308.
- Muskens, J., Smolenaars, A.J.G., van der Poel, W.H.M., Mars, M.H., van Wuijckhuise, L., Holzhauser, M., van Weering, H., Kock, P., 2012. Diarree en productiedaling op Nederlandse melkveebedrijven door het Schmollenbergvirus. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 137 (2): 112-115.
- Nentwig, G., 2003. Use of repellents as prophylactic agents. *Parasitology Research* 90 Suppl. 1: 40-48.
- Nolan, D.V., Carpenter, S., Barber, J., Mellor, P.S., Dallas, J.F., Mordue Luntz, A.J., Piertney, S.B., 2007. Rapid diagnostic PCR assays for members of the *Culicoides obsoletus* and *Culicoides pulicaris* species complexes, implicated vectors of bluetongue virus in Europe. *Veterinary Microbiology* 124 (1-2): 82-94.
- OIE, 2010. Listed diseases.  
[http://www.oie.int/eng/maladies/en\\_classification2010.htm?e1d7](http://www.oie.int/eng/maladies/en_classification2010.htm?e1d7)

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Olbrich, S., 1987. Untersuchungen zur Biologie von Gniten der Gattung *Culicoides* Latreille (Diptera: *Ceratopogonidae*) an Weiderindern in Norddeutschland. Ergebnisse aus dem Freiland und dem Laboratorium. Dissertation der Naturwissenschaftlichen Universität Hannover.
- Olsen, O.W., 1974. Animal Parasites, their live cycles and ecology. University Park Press, 3. Auflage: 1-562.
- Osburn, B.I., 1994. The impact of bluetongue virus on reproduction. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 17 (3-4): 189-196.
- Osburn, B.I., Silverstein, A.M., Prendergast, R.A., Johnson, R.T., Parshall, C.J., 1971. Experimental viral-induced congenital encephalopathies. I. Pathology of hydranencephaly and porencephaly caused by bluetongue vaccine virus. *Laboratory Investigation* 25 (3): 197-205.
- O'Toole, D., Pérez de León, A.A., Hearne, C., McHolland, L., Yun, L., Tabachnick, W., 2003. Papular dermatitis induced in guinea pigs by the biting midge *Culicoides sonorensis* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15 (1): 67-71.
- Page, P.C., Labuschagne, K., Nurton, J.P., Venter, G.J., Guthrie, A.J., 2009. Duration of repellency of N,N-diethyl-3-methylbenzamide, citronella oil and cypermethrin against *Culicoides* species when applied to polyester mesh. *Veterinary Parasitology* 163 (1-2): 105-109.
- Pajor, I.T., 1987. A collapsible, semi-automatic, tent-type, emergence trap, suitable for sampling *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*) from a wide range of habitats. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 54 (2): 99-101.
- Papadopoulos, E., Bartram, D., Carpenter, S., Mellor, P., Wall, R., 2009. Efficacy of alphacypermethrin applied to cattle and sheep against the biting midge *Culicoides nubeculosus*. *Veterinary Parasitology* 163 (1-2), 110-114.
- Papadopoulos, E., Rowlinson, M., Bartram, D., Carpenter, S., Mellor, P., Wall, R., 2010. Treatment of horses with cypermethrin against the biting flies *Culicoides nubeculosus*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Veterinary Parasitology* 169 (1-2): 165-171.
- Parker, A.H., 1950. Studies on the eggs of certain biting midges (*Culicoides* Latreille) occurring in Scotland. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A* 25 (4-6): 43-52.
- Perris, E.E., 1995. Parasitic dermatoses that cause pruritus in horses. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 11 (1): 11-28.

- PIK, 2013. [www.pik-potsdam.de/service/klima-wetter-potsdam/klimazeitreihen](http://www.pik-potsdam.de/service/klima-wetter-potsdam/klimazeitreihen). (Stand: 02.02.2012)
- Porter, J.F., 1959. Some effects of screens in retarding entry of the common salt-marsh sand fly *Culicoides furens* (Poey) (Diptera: *Heleidae*). *Mosquito News* 19: 159-163.
- ProMed-mail, 2012a. Schmallenberg virus – Europe: vector, morphology. ProMed-mail, 11 May, 20120511.1129973. <http://www.promedmail.org>
- Purse, B.V., Mellor, P.S., Rogers, D.J., Samuel, A.R., Mertens, P.P., Baylis, M., 2005. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology* 3 (2): 171-181.
- Quinn, P.J., Baker, K.P., Morrow, A.N., 1983. Sweet itch: responses of clinically normal and affected horses to intradermal challenge with extracts of biting insects. *Equine Veterinary Journal* 15 (3): 266-272.
- Radostits, O.M.; Blood, D.C; Gay, C.C., 1994. *A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 8<sup>th</sup> ed. VB Saunders Company Ltd. 1028-1033.
- Rasmussen, L.D., Kristensen, B., Kirkeby, C., Rasmussen, T.B., Belsham, G.J., Bødker, R., Bøtner, A., 2012. Culicoids as vectors of Schmallenberg virus. *Emerging infectious diseases* 18 (7): 1204-1206.
- Rawlings, P., 1996. A key, based on wing patterns of biting mitges (Genus *Culicoides* Latreille- Diptera: *Ceratopogonidae*) in the Iberian Peninsula, for use in epidemiological studies. *Graellsia* 52: 57-71.
- Rawlings, P., Capela, R., Pro, M.J., Ortega, M.D., Pena, I., Rubio, C., Gasca, A., Mellor, P.S., 1998. The relationship between climate and the distribution of *Culicoides imicola* in Iberia. *Archives of Virology. Supplementum* 14: 95-102.
- Reeves, W.K., Nol, P., Miller, M.M., Jones, G.Z., 2009. Effects of ivermectin on the susceptibility of *Culicoides sonorensis* (Diptera: *Ceratopogonidae*) to bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses. *Journal of Vector Ecology* 34 (1): 161-163.
- Riek, R.F., 1954. Studies on the allergic dermatitis (Queensland Itch) of the horse: the aetiology of the disease. *Australian Journal of Agricultural Research* 5 (1): 109-129.
- Rohrmann, K.M.A., 2009. Die Wirksamkeit insektizidbehandelter Netze zum Schutz von Rindern vor Gnitzen und Lästlingsinsekten in Milchviehstallungen. Dissertation Freie Universität Berlin, Journal-Nr.: 3344, Mensch & Buch Verlag, ISBN 978-3-86664-752-7
- Root, D.S., Gerhardt, R.R., 1991. Seasonal emergence patterns of *Culicoides* (Diptera: *Ceratopogonidae*) in eastern Tennessee. *Journal of Agricultural Entomology* 8 (2): 127-135.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Saegerman, C., Bolkaerts, B., Baricalla, C., Raes, M., Wiggers, L., de Leeuw, I., Vandenbussche, F., Zimmer, J.Y., Haubruge, E., Cassart, D., De Clercq, K., Kirschvink, N., 2011. The impact of naturally-occurring, trans-placental bluetongue virus serotype-8 infection on reproductive performance in sheep. *Veterinary Journal* 187 (1): 72-80.
- Sánchez-Cordón, P.J., Rodríguez-Sánchez, B., Rialde, M.A., Molina, V., Pedrera, M., Sánchez-Vizcaino, J.M., Gómez-Villamandos, J.C., 2010. Immunohistochemical detection of bluetongue virus in fixed tissue. *Journal of Comparative Pathology* 143 (1): 20-28.
- Satta, G., Goffredo, M., Sanna, S., Vento, L., Cubeddu, G.P., Mascherpa, E., 2004. Field disinfection trials against *Culicoides* in north-west Sardinia. *Veterinaria Italiana* 40 (3): 329-335.
- Schmahl, G., Walldorf, V., Klimpel, S., Al-Quraishy, S., Mehlhorn, H., 2008. Efficacy of Oxyfly<sup>®</sup> on *Culicoides* species- the vectors of Bluetongue virus- and other insects. *Parasitology Research* 103 (5): 1101-1103.
- Schmahl, G., Klimpel, S., Walldorf, V., Al-Quraishy, S., Schumacher, B., Jatzlau, A., Mehlhorn, H., 2009a. Pilot study on deltamethrin treatment (Butox<sup>®</sup> 7.5, Versatrine<sup>®</sup>) of cattle and sheep against midges (*Culicoides* species, *Ceratopogonidae*). *Parasitology Research* 104 (4): 809-813.
- Schmahl, G., Klimpel, S., Walldorf, V., Schumacher, B., Jatzlau, A., Al-Quraishy, S., Mehlhorn, H., 2009b. Effects of permethrin (Flypor<sup>®</sup>) and fenvalerate (Acadrex 60<sup>®</sup>, Arkofly<sup>®</sup>) on *Culicoides* species-the vector of Bluetongue virus. *Parasitology Research* 104 (4): 815-820.
- Schmahl, G., Mehlhorn, H., Abdel-Ghaffar, F., Al-Rasheid, K., Schumacher, B., Jatzlau, A., Pohle, H., 2009c. Does rain reduce the efficacy of Butox<sup>®</sup> 7.5 pour on (deltamethrin) against biting midges (*Culicoides* specimens)? *Parasitology Research* 105 (6): 1763-1765.
- Scholtysik, G. & Steuber, S., 2002. Antiparasitäre Chemotherapie. In: Frey, H.H.; Löscher, W. (Eds.), *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 7. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart.
- Schulz, K.F., Grimes, D.A., 2007. Reihe Epidemiologie 8: Verblindung in randomisierten Studien: Wie man verdeckt, wer was erhalten hat. *Zeitschrift für ärztliche Fortbildung und Qualität im Gesundheitswesen* 101: 630-637.
- Selbitz, H.J., Truyen, U., Valentin-Weigand, P., 2011. *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 9. Auflage, Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart.

- Skrock, O., 2011. Zur Wirksamkeit unterschiedlicher Netzprototypen zum Schutz von Milchvieh und Kälbern vor Überträgern (Gnitzen, *Culicoides* spp.) der Blauzungkrankheit und anderen Lästlingsinsekten. Dissertation Freie Universität Berlin, Journal-Nr.: 3512, Mensch & Buch Verlag, ISBN 978-3-86387-056-0
- Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M., 2001. Immune mediated and allergic diseases. In: Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M. & Knottenbelt, D.C. (Eds.), Practitioner's guide to equine dermatology, Libre, Leeuwarden. The Netherlands, pp: 52-53.
- Sollai, G., Solari, P., Masala, C., Crnjar, R., Liscia, A., 2007. Effects of avermectins on olfactory responses of *Culicoides imicola* (Diptera: *Ceratopogonidae*). Journal of Medical Entomology 44 (4): 656-659.
- Soulsby, E.J.L., 1983. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 7. Auflage, Lippincott Williams and Wilkins, London, 404-405.
- Standfast, H.A., Dyce, A.L., 1972. Arthropods biting cattle during an epizootic of ephemeral fever in 1968. Australian Veterinary Journal 48 (3): 77-80.
- Stendel, W., Hamel, H.D., Sieveking, H.U., Brühne, D., 1992. Analytical determination of the distribution of flumethrin on the body surface of cattle following topical pour-on application. Veterinary Parasitology 42 (1-2): 137-143.
- Stott, J.L., Osburn, B.I., Alexander, L., 1985. *Ornithodoros coriaceus* (pajaroello tick) as a vector of bluetongue virus. American Journal of Veterinary Research 46 (5): 1197-1199.
- Stuart, A.E., Brooks, C.J., Prescott, R.J., Blackwell, A., 2000. Repellent and antifeedant activity of salicylic acid and related compounds against the biting midge, *Culicoides impunctatus* (Diptera: *Ceratopogonidae*). Journal of Medical Entomology 37(2): 222-227.
- Tagungsbericht, 2010. Vektorübertragene Krankheiten- ein zunehmendes Problem? Fortbildungsveranstaltung des FLI-Fördervereins zu BTV, Zecken übertragenen Krankheiten und West-Nil-Fieber. Tierärztliche Umschau 65: 347-349.
- Taylor, L.R., 1962. The absolute efficiency of insect suction traps. Annals of Applied Biology 50 (3): 405-421.
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L.E., 2007. Veterinary Parasitology. 3. Auflage, Blackwell Publishing, Oxford.
- Thanwisai, A., Kuvangkadilok, C., Baimai, V., 2006. Molecular phylogeny of black flies (Diptera: *Simuliidae*) from Thailand, using ITS2 rDNA. Genetica 128 (1-3): 177-204.
- TKrMeldpflV, 1983. Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten. [www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tkrmeldpflv\\_1983/gesamt.pdf](http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tkrmeldpflv_1983/gesamt.pdf). (Stand: 11.02.2011)

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Trigg, J.K., 1996. Evaluation of a eucalyptus-based repellent against *Anopheles* spp. in Tanzania. *Journal of the American Mosquito Control Association* 12: 243-246.
- Tsuda, T., Yoshida, K., Ohashi, S., Yanase, T., Sueyoshi, M., Kamimura, S., Misumi, K., Hamana, K., Sakamoto, H., Yamakawa, M., 2004. Arthrogryposis, hydranencephaly and cerebellar hypoplasia syndrome in neonatal calves resulting from intrauterine infection with Aino virus. *Veterinary Research* 35 (5): 531-538.
- Türringer Tierseuchenkasse. "Schmallenberg-Virus" bei Schafen, Ziegen und Rindern [www.thueringertierseuchenkasse.de/download/Schmallenberg-Virus in Thüringen.pdf](http://www.thueringertierseuchenkasse.de/download/Schmallenberg-Virus%20in%20Thuringen.pdf). (Stand: 18.09.2012)
- Tweedle, N. & Mellor, P.S., 2002. Technical review - Bluetongue: The virus, hosts and vectors, 2002.. Version 1.5. Report to the Department of Health, Social Services and Public Safety U.K. (DEFRA), 25 p.  
[http://archive.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/diseases/atoz/documents/bluetongue\\_technical.PDF](http://archive.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/diseases/atoz/documents/bluetongue_technical.PDF).(Stand: 21.11.2002)
- Ungar-Waron, H., Braverman, Y., Gluckman, A., Trainin, Z., 1990. Immunogenicity and allergenicity of *Culicoides imicola* (Diptera: *Ceratopogonidae*) extracts. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine B* 37 (1): 64-72.
- Ungemach, F.R., 2006. Antiparasitika. In: Löscher, W., Ungemach, F.R., Kroker, R. (Eds.), *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. 7. Auflage, Parey-Verlag, Stuttgart, 312-329.
- Unkel, M., 1985. Zur genetischen Fundierung des Sommerkezems beim Islandpferd. *Dissertation Universität Bonn*, PPN: 022841334.
- Valkiunas, G., Liutkevicius, G., Iezhova, T.A., 2002. Complete development of three species of *Haemoproteus* (Haemosporida, *Haemoproteidae*) in the biting midge *Culicoides impunctatus* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of Parasitology* 88 (5): 864-868.
- Vanbinst, T., Vandenbussche, F., Vandemeulebroucke, E., De Leeuw, I., Deblauwe, I., De Deken, G., Madder, M., Haubruge, E., Losson, B., De Clercq, K., 2009. Bluetongue virus detection by real-time RT-PCR in *Culicoides* captured during the 2006 epizootic in Belgium and development of an internal control. *Transboundary and Emerging Diseases* 56 (5): 170-177.
- Van den Brom, R., Lutikholt, S.J., Lievaart-Peterson, K., Peperkamp, N.H., Mars, M.H., van der Poel, W.H., Vellema, P., 2012. Epizootic of ovine congenital malformations associated with Schmallenberg virus infection. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*. 137 (2): 106-111.
- Van der Rijt, R., van den Boom, R.; Jongema, Y., van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M., 2008. *Culicoides* species attracted to horses with and without insect hypersensitivity. *Veterinary Journal* 178 (1): 91-97.

- Van Dijk, A.A., Huismans, H., 1982. The effect of temperature on the in vitro transcriptase reaction of bluetongue virus, epizootic haemorrhagic disease virus and African horsesickness virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 49 (4): 227-232.
- Venail, R., Mathieu, B., Setier-Rio, M.L., Borba, C., Alexandre, M., Viudes, G., Garros, C., Allene, X., Carpenter, S., Baldet, T.; Balenghien, T., 2011. Laboratory and field-based tests of deltamethrin insecticides against adult *Culicoides* biting midges. *Journal of Medical Entomology* 48(2): 351-357.
- Venter, G.J., Paweska, J.T., Van Dijk, A.A., Mellor, P.S., Tabachnick, W.J., 1998. Vector competence of *Culicoides bolitinos* and *C. imicola* for South African bluetongue virus serotypes 1, 3 and 4. *Medical and Veterinary Entomology* 12 (4): 378-385.
- Venter, G.J., Hermanides, K.G., 2006. Comparison of black and white light for collecting *Culicoides imicola* and other livestock-associated *Culicoides species* in South Africa. *Veterinary Parasitology* 142 (3-4): 383-385.
- Venter, G.J., Hermanides, K.G., Boikanyo, S.N., Majatladi, D.M., Morey, L., 2009. The effect of light trap height on the numbers of *Culicoides* midges collected under field conditions in South Africa. *Veterinary Parasitology* 166 (3-4): 343-345.
- Venter, G.J., Labuschagne, K., Boikanyo, S.N., Majatladi, D.M., Morey, L., 2011. The effect of 1-octen-3-ol and 4-methylphenol on *Culicoides* midge numbers collected with suction light traps in South Africa. *Veterinary Parasitology* 175 (1-2): 182-186.
- Verwoerd, D. & Erasmus, B.J., 2004. In: *Bluetongue. Infection Diseases of Livestock*. Coetzer, J.A., Tustin, R.C. (Eds.), 2. Auflage, Oxford University Press, Cape Town, 1201-1230.
- Vetidata, 2012. *Arzneimittelanwendungen*, [www.vetidata.de](http://www.vetidata.de). (Stand: 02.2012).
- Viennet, E., Garros, C., Lancelot, R., Allène, X., Gardès, L., Rakotoarivony, I., Crochet, D., Delécolle, J.C., Moulia, C., Baldet, T., Balenghien, T., 2011. Assessment of vector/host contact: comparison of animal-baited traps and UV-light/suction trap for collecting *Culicoides* biting midges (Diptera: *Ceratopogonidae*), vectors of Orbiviruses. *Parasites and Vectors* 4: 119.
- Viennet, E., Garros, C., Gardès, L., Rakotoarivony, I., Allène, X., Lancelot, R., Crochet, D., Moulia, C., Baldet, T., Balenghien, T., 2012. Host preferences of Palearctic *Culicoides* biting midges: implications for transmission of orbiviruses. *Medical and Veterinary Entomology* doi: 10.1111/j.1365-2915.2012.01042.x.
- Wenk, C.E., Kaufmann, C., Schaffner, F., Mathis, A., 2012. Molecular characterization of Swiss *Ceratopogonidae* (Diptera) and evaluation of real-time PCR assay for the identification of *Culicoides* biting midges. *Veterinary Parasitology* 184 (2-4): 258-266.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- Werner, D., 2010. Forschungsvorhaben 2808HS007 "Entomologische Untersuchung zur Bekämpfung der Blauzungenkrankheit". Leibnitz-Zentrum für Agrarlandschaftsforschung (ZALF) e.V. <http://download.ble.de/08HS007.pdf> (Stand:20.06.2010).
- Werner, D., Kampen, H., 2007. Gnitzen (Diptera: *Ceratopogonidae*): Informationsschrift zur Morphologie, Lebensweise und Verbreitung der Mücken sowie zum Schadbild und zur Epidemiologie der Blauzungenkrankheit in Deutschland. *Studia Dipterologica* 14 (1): 231-257.
- Wetteronline, 2011. Rückblick September 2011. Altweibersommer in Höchstform. [http://www.wetteronline.de/wotexte/redaktion/rueckblick/2011/09/0929\\_rm\\_Rueckblick-September-2011.htm](http://www.wetteronline.de/wotexte/redaktion/rueckblick/2011/09/0929_rm_Rueckblick-September-2011.htm)
- White, D.M., Wilson, W.C., Blair, C.D., Beaty, B.J., 2005. Studies on overwintering of bluetongue viruses in insects. *Journal of General Virology* 86 (2): 453-462.
- WHO, World Health Organization, 1967. Arboviruses and Human disease. World Health Organization. Technical Report. Series n: 369.
- Wieser-Schimpf, L., Foil, L.D., Holbrook, F.R., 1990. Comparison of New Jersey light traps for collection of adult *Culicoides varripennis* (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Journal of the American Mosquito Control Association* 6 (3): 537-538.
- Wikipedia, 2011. Groß Kreutz (Havel), [http://de.wikipedia.org/wiki/Groß\\_Kreutz](http://de.wikipedia.org/wiki/Groß_Kreutz). (Stand: 31.12.2011)
- Wilson, W.C., 1999. Preliminary description of a polymerase chain reaction test for bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viral RNA in bovine semen. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11: 377-379.
- Winder, J.A., 1978. Cocoa flower Diptera; their identity, pollinating activity and breeding sites. *Tropical Pest Management* 24 (1): 5-18.
- Wirth, W.W., Hubert, A.A., 1989. The *Culicoides* of Southeast Asia (Diptera: *Ceratopogonidae*). *Memoirs of the American Entomological Institute* 44, Gainesville, Florida.
- Wittmann, E.J., Baylis, M., 2000. Climate change: effects on *Culicoides*-transmitted viruses and implications for the UK. *Veterinary Journal* 160 (2): 107-117.
- Wittmann, E.J., Mellor, P.S., Baylis, M., 2002. Effect of temperature on the transmission of orbiviruses by the biting midge, *Culicoides sonorensis*. *Medical and Veterinary Entomology* 16 (2): 147-156.
- Yeruham, I., Perl, S., Braverman, Y., 2004. Seasonal allergic dermatitis in sheep associated with *Ctenocephalides* and *Culicoides* bites. *Veterinary Dermatology* 15 (6): 377-380.



## Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits veröffentlicht:

Weiber, W., Bauer, B., Nijhof, A.M., Mehlitz, D., Clausen, P.-H., Hunter, R., Cox, P., 2012. Investigation on the efficacy of Butox<sup>®</sup> 7.5 mg/ml Pour-on against autochthonous midges (*Culicoides* spp.) attacking sheep in Brandenburg, Germany. Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG) und Deutschen Gesellschaft für Parasitologie (DGP). 14.-17.03.2012, Heidelberg, Abstract: 82.

Weiber, W., Bauer, B., Mehlitz, D., Nijhof, A.M., Clausen, P.-H., 2013. Field evaluation of the efficacy and safety of a deltamethrin pour on formulation (Butox protect<sup>®</sup> 7.5 mg/ml) for the control of *Culicoides* midges in sheep. Tagung der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten". 08.-10.07.2013, Gießen, Poster.

Weiber, W., Bauer, B., Mehlitz, D., Nijhof, A.M., Clausen, P.-H., 2014. Field trials assessing deltamethrin (Butox<sup>®</sup>) treatments of sheep against *Culicoides* species. Parasitology Research, DOI 10.1007/s00436-014-3916-7.

### Danksagung

Herrn Prof. Dr. Peter-Henning Clausen danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas und die kontinuierliche Unterstützung und Betreuung. Zudem möchte ich mich für die kritische und schnelle Durchsicht der Dissertationsschrift bedanken. Durch seine fachliche Betreuung und seine fortwährende Geduld schaffte er ein angenehmes Arbeitsklima, das mir die Arbeit selbst in kräftezehrenden Zeiten erleichterte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Burkhard Bauer, Herrn Dr. Ard M. Nijhof und Herrn Prof. Dr. Dieter Mehlitz für die fachlichen Anregungen, die kontinuierliche Hilfe bei der Studiendurchführung und die zahlreichen persönlichen Gespräche. Auch für das zeitaufwendige Korrekturlesen möchte ich mich bedanken.

Bei den Mitarbeitern des Instituts für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin bedanke ich mich für die freundliche Aufnahme und fortwährende Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Ferner gilt mein Dank der Firma MSD Animal Health Innovation SAS für die finanzielle Unterstützung und die Bereitstellung der Materialien sowie der Firma Triveritas für die gute Zusammenarbeit, insbesondere Herrn Dr. Peter Cox (MSD Animal Health) sowie Herrn Richard Hunter, Frau Lindsey Edwards, Herrn Dr. Roland Ludwig und Herrn Dr. Olaf Fialkowski (Triveritas) möchte ich danken.

Bei den Mitarbeitern des LVAT Groß Kreutz möchte ich mich für die Betreuung der Tiere und für die Bereitstellung der Weideflächen bedanken. Mein besonderer Dank gilt Herrn Detlef May. Ich danke ihm für seine kritischen und wertvollen Ratschläge bei der Studienplanung. Durch ihn konnte die Studie praktisch optimal umgesetzt werden.

Bei der statistischen Beratungseinheit der Freien Universität Berlin, insbesondere bei Frau Ekaterina Edelstein, möchte ich mich für die Mühe und Hilfestellung bei der Auswertung und der Darstellung der Ergebnisse bedanken.

Für die tatkräftige Hilfe bei den Fängen, bei der Identifizierung der Gnitzen und für die aufbauenden, persönlichen Gespräche möchte ich mich bei Tania Ayllón, Claudia Meier, Susanne Helm, Bettina Boehme, Marthe Arends und Antje Hoppenheit bedanken.

All meinen Freunden danke ich von ganzem Herzen, dass sie für mich da waren, wann immer ich ihre Hilfe benötigte.

Ganz besonders danke ich meiner Familie für das mühsame Korrekturlesen, aber vor allem für den seelischen Rückhalt und die Motivation während der Promotion.

**Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 16.05.2014

Wiebke Weiher