

I. ABHANDLUNGEN

Aus dem Staatlichen Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Mittelhessen¹, dem Institut für Zoo- und Wildtierkunde in Berlin², dem Staatlichen Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Südhessen³ und dem Arbeitskreis Wildbiologie e. V. an der Justus-Liebig-Universität Gießen⁴.

Seroepidemiologische Untersuchungen zur Verbreitung des European Brown Hare Syndrome (EBHS) und der Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) in Feldhasenbeständen ausgewählter Reviere in der Bundesrepublik Deutschland⁵

Von U. ESKENS^{1, 4}, K. FRÖLICH², B. KUGEL^{1, 4}, J. W. FROST³,
W. J. STREICH² und SYLVIE BENSINGER⁴

1 Einleitung

Das im Jahr 1980 zum ersten Mal in Schweden diagnostizierte European Brown Hare Syndrome (EBHS) (GAVIER u. MÖRNER, 1989) führte in Zentraleuropa in den Jahren 1986 bis 1989 vermehrt zu akuten Todesfällen beim Feldhasen (ESKENS et al., 1987; MORISSE, 1988; HENRIKSEN et al., 1989; OKERMAN et al., 1989; LAVAZZA u. VECCHI, 1989; CHASEY u. DUFF, 1990). Die sowohl klinisch als auch pathologisch anatomisch ähnliche Erkrankung Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) trat in Italien und Südfrankreich gleichzeitig mit dem EBHS in Erscheinung (LAVAZZA u. VECCHI, 1989). Sie wurde dagegen in mehreren anderen europäischen Staaten erst einige Zeit nach der Erstbeobachtung des EBHS registriert (NAUWYNK et al., 1993). Bei beiden Erkrankungen wurden mit der Transmissionselektronenmikroskopie Viruspartikel dargestellt, die als Caliciviren klassifiziert werden konnten (LAVAZZA u. VECCHI, 1989; XU u. CHEN, 1989). Infektionsversuche mit EBHSV an Kaninchen bzw. RHDV an Feldhasen ergaben widersprüchliche Ergebnisse. Über eine erfolgreiche Kreuzinfektion zwischen Kaninchen und Hasen berichten MODUGNO u. NASTI (1990), MORISSE et al. (1990), DU (1991) sowie STEINECK und NOWOTNY (1993). Negative Ergebnisse experimenteller Infektionen mit EBHSV beim Kaninchen bzw. RHDV beim Feldhasen erzielten u. a. CAPUCCI et al. (1991), NAUWYNK et al. (1993) sowie LAVAZZA et al. (1996). Schließlich konnte durch eine phylogenetische Analyse der Genome verschiedener EBHSV- und RHDV- Isolate sowohl deren nahe Verwandtschaft als auch klare Unterscheidbarkeit herausgestellt werden (NOVOTNY et al., 1997). Beide Erkrankungen verlaufen i. d. R. mit hohen Verlusten (LÖLIGER u. ESKENS, 1991). Die aus verschiedenen europäischen Ländern berichteten EBHS-Todesfälle in der Sektionsstatistik sind sehr unterschiedlich und reichen von 56,6 % (ESKENS et al., 1987) bis 4 % (MÜLLER et al., 1996). Im Zusammenhang mit einer EBHS-Epidemie berichten POLI et al. (1991) über eine Reduktion der örtlichen Hasenbestände um 27 % bis 40 %. In italienischen Hasenfarmen beobachteten sie eine Mortalität zwischen 30 % und 90 %.

Die bei der Feldhasenjagd in der Bundesrepublik Deutschland (BRD) seit Anfang der 70er Jahre kontinuierlich abfallenden Jagderfolge (DJV-Handbuch Jagd 1998) lassen die

⁵ Herrn Prof. Dr. R. R. Hofmann anlässlich seines Eintritts in den Ruhestand

Frage nach der Beteiligung von Krankheiten, insbesondere des EBHS, aufkommen. Die vorliegende Arbeit befaßt sich daher mit der seroepidemiologischen Ermittlung der Verbreitung von EBHSV in ausgewählten Gebieten der BRD sowie der beobachtbaren Entwicklung, der epidemiologischen Beziehung von EBHS zur RHD und der anzunehmenden Bedeutung für die Feldhasenpopulation.

2 Material und Methoden

Seren

Das Untersuchungsmaterial wurde in den Jahren 1994 und 1997 entnommen. Im Jahr 1994 beschränkte sich die Probengewinnung auf verschiedene hessische Reviere, die sehr unterschiedliche Hasenbesatzdichten aufwiesen (Tabelle 1). Die Populationsdichten wurden in dem betreffenden Jahr ausschließlich durch Scheinwerferflächentaxation vor den einzelnen Jagdveranstaltungen ermittelt (BECKER, 1995). Die Proben von 1997 stammen teils aus Hessen, teils aus angrenzenden rheinland-pfälzischen Revieren sowie aus je einem Revier in Nordrhein-Westfalen (Xanten) und einem in Schleswig-Holstein (Föhr). Infolge Einstellung der Jagden wegen zu geringer Hasendichten standen 1997 weniger hessische Reviere für die Blutprobengewinnung am Feldhasen zur Verfügung (Tabelle 2). Zwei weitere Reviere, von denen das eine bei Xanten, das andere auf der Insel Föhr (Schleswig-Holstein) liegt, konnten hinzugewonnen werden. Weil auf Föhr und in den Revieren Kriftel und Leeheim keine Zählergebnisse vorlagen, wurden die Besatzdichten in den beiden hessischen Revieren aus Zählungen der drei vorangehenden Jahre arithmetisch gemittelt bzw. auf Föhr aus dem Jagderfolg geschätzt. Dabei wurde davon ausgegangen, daß infolge der hohen jährlichen Zuwachsraten von über 100 % etwa 30 % der Herbstbesatzdichte jagdlich abgeschöpft werden. Das Alter der Tiere wurde durch die Massebestimmung der getrockneten Augenlinsen nach vorangegangener Formalinfixation entsprechend der Methode von ANDERSON und JENSEN (1972) bestimmt.

Die Blutproben wurden unmittelbar nach den einzelnen Jagden durch Punktion der Herzkammern, bei Vorliegen eines Hämothorax durch Entnahme aus dem Brustraum oder auch durch Punktion der unteren Hohlvene nach Eröffnung der Bauchhöhle entnommen und in zentrifugierbaren Kunststoffröhrchen bis zur Serumgewinnung bei 4 °C gelagert. Zur Abtrennung des Serums wurden die Blutproben bei 2000 U 15 Minuten zentrifugiert, der Überstand in 1 ml fassende, verschließbare Eppendorf-Röhrchen gefüllt und bis zur Testung bzw. dem Versand an das Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW) bei -80 °C aufbewahrt.

Erwartungsgemäß wies die überwiegende Mehrzahl der durch Zentrifugation gewonnenen Seren geringe bis mittlere Hämolyseerscheinungen auf. Bis zur Untersuchung wurden die Seren im IZW bei -20 °C gelagert.

Beschreibung der Testsysteme

Antikörper – ELISA

Verwendet wurde ein „Blocking ELISA-Antikörper-Testkit“, der zwischen European Brown Hare Syndrome Virus (EBHSV)- und RHD-Virus (RHDV)- Infektionen unterscheiden kann. Alle Tests wurden in Mikrotiter-Platten durchgeführt (Maxisorp, Nunc-Roskilde, Dänemark). Im folgenden wird nur das Prinzip des ELISA dargestellt und auf die Arbeiten von MOUSSA et al. (1992) sowie FRÖLICH et al. (1996) verwiesen.

Die Vertiefungen wurden mit Kaninchen-Hyperimmun-Anti-EBHSV-Immunglobulin G (IgG) beschichtet, gefolgt von einer EBHSV-Antigen-Suspension. Anschließend wur-

den Serumproben in Verdünnungen 1 : 10, 1 : 100 und 1 : 1000 hinzugefügt. Nach einer Inkubation über Nacht bei 5 °C und anschließendem Waschvorgang wurde in zwei der Vertiefungen Meerschweinchen-Anti-EBHSV-Hyperimmunserum zugefügt und dieselbe Menge an normalem Meerschweinchen-Serum den anderen beiden Vertiefungen pro Testansatz verwendet. Nach einer Inkubation von einer halben Stunde bei 37 °C und nachfolgendem Waschen wurde der Ansatz mit einem Kaninchen-Anti-Meerschweinchen-Peroxidase-Konjugat (Dänemark-Code = 141, Dako A/S) inkubiert. Nach erneutem Waschen reagierte das Enzym 10 Minuten lang mit einem Orthophenyl-Diamin-Perhydrol Substrat (OPD). Die Reaktion wurde mit H₂SO₄ abgestoppt und die Ergebnisse spektrophotometrisch bei 490 nm gemessen (MTF 10, Wissenschaftlicher Gerätebau, Berlin/Deutschland). Die mittlere (x) optische Dichte (OD) der Negativkontrollen (negative Hasenserum, Institut für Versuchstierkunde, Berlin) wurde berechnet. Seren mit einem OD < x - 3 SD (Standardabweichung) mit einem Titer ≥ 10 wurden als EBHSV-Antikörper-positiv bewertet.

*Tabelle 1. Antikörper gegen EBHSV beim Feldhasen/
Differenzierung nach der Herkunft Serumproben aus dem Jahr 1994*

Revier	Serologisch negativ	Titer 10	Titer 100	Titer 1000	Titer 10000	% serologisch positiver Tiere mit 95 % Konfidenzintervall	Herbstbesatz/100 ha	Summe
Biebesheim I	11	0	0	1	0	8 (0-38)	145	12
Biebesheim II	15	1	0	0	1	12 (1-36)	97	17
Biebesheim IV	10	0	2	2	0	29 (8-58)	81	14
Marxheim	10	0	2	0	1	23 (5-54)	79	13
Reinheim	5	0	3	0	0	38 (9-76)	45	8
Weilbach	4	0	1	1	0	33 (4-78)	42	6
Wolfskehlen	0	0	1	0	0	100 (3-100)	33	1
Goddelau	8	0	0	0	1	11 (0-48)	29	9
Menzfelden	3	0	1	0	0	25 (1-81)	28	4
Semd	3	1	0	0	0	25 (1-81)	21	4
Rendel	1	0	0	0	0	0 (0-97)	20	1
Oberhone	6	0	0	0	0	0 (0-46)	17	6
Grebendorf	1	0	0	0	0	0 (0-97)	17	1
Niederhone	1	0	0	0	0	0 (0-97)	11	1
Lindenholzhäuser	1	0	0	0	0	0 (0-97)	9	1
Reichensachsen	1	1	0	0	0	50 (1-99)	6	2
Summe	80	3	10	4	3			100

3 Ergebnisse

Im Jahr 1994 wurden 100 Blutproben auf EBHSV-AK untersucht. Während in den südlich gelegenen Landesteilen Feldhasendichten bis zu 145 Individuen auf 100 ha angegeben wurden, waren in den nördlicher gelegenen Regionen nur mäßige bis geringe Populationsdichten festzustellen (Tabelle 1). 20 von 100 Seren wiesen spezifische Antikörper gegen EBHSV auf (Titer > 1 : 10). Bei 3 Tieren waren diese bis zu einer Verdünnungsstufe von 1/10000 nachweisbar, bei 4 bis 1/1000, bei 10 bis 1/100 und bei 3 bis 1/10. Die Anteile seropositiver Tiere in den einzelnen Revieren schwanken beträchtlich, gehen jedoch z. T. auf sehr geringe Untersuchungszahlen zurück, so daß die errechneten Prävalenzen mit großer Unsicherheit behaftet sind (große Konfidenzintervalle). Wegen dieser Unsicherheit in der Schätzung der einzelnen Prävalenzen wurde eine Korrelation zwischen den in einzelnen Revieren ermittelten Populationsdichten einerseits und Prävalenzen andererseits für 1994 nicht errechnet. Bezieht man nur die 8 Reviere mit mindestens 5 untersuchten Tieren ein, so weist der (χ^2 -Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den Prävalenzen der Reviere aus ($p = 0,446$, FG = 7).

Tabelle 2. Antikörper gegen EBHSV beim Feldhasen/Differenzierung nach der Herkunft/
Serumproben aus dem Jahr 1997

Revier	Serologisch negativ	Titer 10	Titer 100	% serologisch positiver Tiere mit 95% Konfidenzintervall	Herbstbesatz/ 100 ha	Summe
Osthofen ¹	24	6	3	27 (13–46)	101*	33
Leeheim ²	30	2	2	12 (3–27)	72**	34
Föhr ³	56	3	1	7 (2–16)	72***	60
Kriftel ²	22	0	1	4 (0–22)	70**	23
Weilbach ²	45	0	0	0 (0–8)	35	45
Xanten ⁴	84	8	0	9 (4–16)	33	92
Eich ¹	29	5	0	15 (5–31)	23	34
Gimbsheim ¹	15	1	0	6 (0–30)	19	16
Guntersblum ¹	33	7	2	21 (10–37)	17	42
Mechthildshausen ²	19	0	0	0 (0–18)	15	19
Udenheim ¹	4	0	0	0 (0–60)	keine Angaben	4
Summe	361	32	9			402

* Hoher lokaler Hasenbesatz bei geringeren Dichten in angrenzenden Gebieten

** Durchschnittswert errechnet aus den Herbstzählungen 1994–1996

*** Geschätzte Dichte auf Grund eines Jagderfolgs von 24 Hasen auf 100 ha

1 Rheinland-Pfalz

2 Südhessen

3 Schleswig-Holstein

4 Nordrhein-Westfalen

Eine vergleichbare Aufstellung der serologischen Untersuchungsergebnisse aus dem Jahr 1997 findet sich in Tabelle 2. Die Angaben zu den Herbstbesatzdichten schwanken zwischen 15 und 101 Hasen auf 100 ha und die Anteile seropositiver Tiere zwischen 0 % und 27 %. Die Titerhöhen liegen im Gegensatz zu 1994 nunmehr bei 10 und 100, wobei insgesamt 41 von 402 untersuchten Tieren (10 %) seropositiv sind. 32 (8 %) Serumproben weisen niedrige Titer von 10 und 9 (2 %) mittlere Titer von 100 auf.

Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Anteil seropositiver Tiere und der Herbstbesatzdichte in den einzelnen Revieren nachgewiesen werden (Spearman-Korrelationskoeffizient = 0,281, $p = 0,427$, $n = 10$).

Die Anteile seropositiver Tiere in den verschiedenen Revieren unterscheiden sich signifikant ($p = 0,003$, $FG = 10$). Dieses Ergebnis geht auf die unterschiedliche Situation in Osthofen (27 % seropositive Hasen) bzw. Guntersblum (21 % seropositive Hasen) auf der einen und Weilbach auf der anderen Seite zurück, wo trotz serologischer Testung von 45 Proben keine EBHSV-AK nachweisbar waren (Fisher-Test mit Bonferroni-Adjustierung der p -Werte: Osthofen gegen Weilbach: $p = 0,011$, Guntersblum gegen Weilbach: $p = 0,049$).

Zum Vergleich der serologischen Untersuchungsergebnisse von 1994 und 1997 aus den Jagdrevieren Mitteldeutschlands (d. h. ohne die Ergebnisse von Xanten und der Insel Föhr) wurden drei Tests durchgeführt, die auf Grund des geringen Probenumfangs von 1994 jedoch alle nur explorativen Wert haben (siehe Diskussion). Ein U-Test zwischen den Prävalenzen der Reviere mit jeweils mindestens 5 untersuchten Tieren weist keinen signifikanten Unterschied zwischen 1994 und 1997 aus ($p = 0,292$, $n_1 = 8$, $n_2 = 8$). Der Fisher-Test bewertet den Unterschied zwischen den Anteilen seropositiver Feldhasen in den Jahren 1994 (20 %) und 1997 (12 %) als fast signifikant ($p = 0,059$). Der Anteil niedrigtitriger Seren

**Tabelle 3. Antikörper gegen EBHSV bei Feldhasen/Differenzierung nach Geschlecht/
Serumproben aus dem Jahr 1994**

Geschlecht	EBHSV-Antikörpertiter						Summe
	serologisch negativ	Titer 10	Titer 100	Titer 1000	Titer 10000	% serologisch positiver Tiere	
Männliche Feldhasen	35	0	4	2	1	10	42
Weibliche Feldhasen	45	3	6	2	2	16	58
Summe	80	3	10	4	3	13	100

**Tabelle 4. Antikörper gegen EBHSV bei Feldhasen/Differenzierung nach Geschlecht/
Serumproben aus dem Jahr 1997**

Geschlecht	EBHSV-Antikörpertiter				Summe
	serologisch negativ	Titer 10	Titer 100	% serologisch positiver Tiere	
Männliche Feldhasen	160	13	3	9,1	176
Weibliche Feldhasen	200	19	6	11,1	225
Geschlecht nicht bestimmt	1	0	0	0,0	1
Summe	361	32	9	10,2	402

unter den positiven Seren ist mit 78 % in 1997 signifikant höher als 3 Jahre zuvor mit 15 % (Fisher-Test, $p < 0,001$). Auffallend ist, daß im Jahr 1997 in Weilbach trotz serologischer Untersuchung von 45 Feldhasen der Nachweis von EBHSV-AK nicht gelang, während 1994 von 6 Tieren 2 Antikörpertiter von 100 bzw. 1000 aufwiesen.

In den Tabellen 3 und 4 sind die serologischen Untersuchungsergebnisse auf EBHSV-AK für männliche und weibliche Feldhasen dargestellt:

Sowohl im Jahr 1994 als auch in 1997 ist die Zahl der zur Untersuchung vorliegenden männlichen Tiere deutlich geringer als die der weiblichen. Der Anteil seropositiver männlicher Hasen an der Gesamtzahl aller untersuchten männlichen Tiere ist in beiden Jahren etwas geringer als der entsprechende Anteil der weiblichen Tiere. Die etwas größere Differenz des Jahres 1994 geht aber auf vergleichsweise geringe Zahlen zurück. Die Untersuchung einer größeren Zahl von Serumproben in 1997 ergibt nur geringe Unterschiede, so daß zwischen beiden Geschlechtern keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit von EBHSV-Infektionen vorliegen (1994: $p = 0,614$, 1997: $p = 0,619$).

Tabelle 5. Antikörper gegen EBHSV bei Feldhasen/Differenzierung nach dem Alter/ Serumproben aus dem Jahr 1994

Alter	EBHSV-Antikörpertiter						Summe
	serologisch negativ	Titer 10	Titer 100	Titer 1000	Titer 10000	% serologisch positiver Tiere	
Junghasen	35	1	4	2	1	19	43
Althasen	45	2	6	2	2	21	57
Summe	80	3	10	4	3	20	100

Tabelle 6. Antikörper gegen EBHSV bei Feldhasen/Differenzierung nach dem Alter/ Serumproben aus dem Jahr 1997

Alter	EBHSV-Antikörpertiter				Summe
	serologisch negativ	Titer 10	Titer 100	% serologisch positiver Tiere	
Junghasen	120	8	4	9	132
Althasen	153	11	3	8	167
Summe	273	19	7	9	299

Zwischen den Altersgruppen ergeben sich entsprechend den in den Tabellen 5 und 6 dargestellten Sachverhalten keine Unterschiede hinsichtlich der relativen Häufigkeit des EBHSV-AK-Nachweises (1994: $p = 0,806$, 1997: $p = 0,839$):

Die Gesamtzahl der in Tabelle 6 dargestellten Tiere ist um 103 vermindert, da bei diesen Tieren die zur Altersbestimmung benötigten Augenlinsen nicht entnommen werden konnten.

Tabelle 7 und Abbildung 1 stellen die Beziehung zwischen den mit dem HAH nachgewiesenen RHDV-AK-Titern und den im AK-Elisa festgestellten EBHSV-AK-Titern dar:

Die EBHSV-AK- sowie die RHDV-AK-Titer sind, wie aus der oben stehenden Tabelle und der zugehörigen Abbildung hervorgeht, voneinander unabhängig. Es gibt sowohl

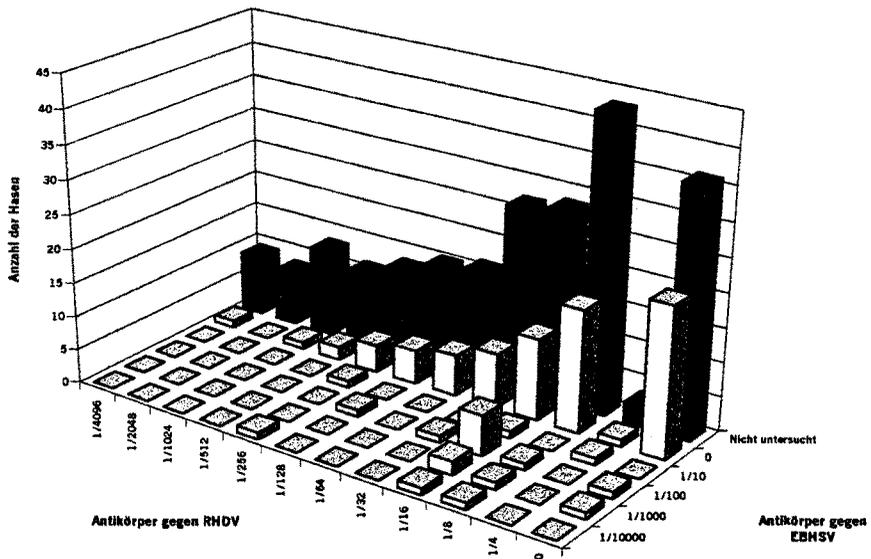


Abb. 1. Zusammenhang zwischen RHD- und EBHS-Antikörpertitern

Tabelle 7. Beziehung zwischen Antikörpern gegen EBHSV und RHDV

		Antikörpertiter gegen EBHSV					
Antikörpertiter gegen RHDV (HAH)	Nicht auf EBHSV-AK untersucht	0	10	100	1000	10000	Summe
0	36	22		1	1		60
4	3	1	1				5
8	43	18		1	1	1	64
16	28	12	1	6	2	1	50
32	27	8		1			36
64	16	6					22
128	15	5		1			21
256	13	4	1			1	19
512	11	2					13
1024	13	1					14
2048	8						8
4096	9	1					10
Summe	222	80	3	10	4	3	322

Hasenserien, die gegen RHDV sehr hoch- und gegen EBHSV niedrigtitrig bzw. negativ sind, als auch solche, die gegen RHDV niedrigtitrig oder negativ sind, gegen EBHSV aber einen Antikörpertiter von 10.000 aufweisen. Nach Zusammenfassung aller EBHSV-AK-positiven Seren sowie der Proben mit einem RHDV-AK-Titer (≥ 8 weist der Fisher-Test Unabhängigkeit der serologischen Reaktionen gegen die beiden Viren aus ($p = 0,264$)). Auffallend ist die Anhäufung von gegen EBHSV hochtitrigen Seren unter den Proben, bei denen Antikörper gegen RHDV noch gerade in einer Verdünnung von 1/16 nachweisbar sind.

4 Diskussion

Die Auswirkung des EBHS auf die Hasenpopulation ist auf Grund der hier dargestellten Ergebnisse zumindest für die von uns untersuchten Regionen wohl zu vernachlässigen. Für diese Feststellung spricht die Unabhängigkeit der Verbreitung dieser Krankheit von der Feldhasenpopulationsdichte in den verschiedenen Regionen. So tritt die Infektion entsprechend der serologischen Untersuchungsergebnisse sowohl in Häufigkeiten von über 10 % oder 20 % in Gebieten mit höherer Hasendichte auf, wie aus der Tabelle 2 für die Reviere Osthofen und Leeheim dargestellt ist, als auch mit etwa gleich hoher Infektionsrate in Revieren mit geringer Populationshöhe wie beispielsweise in Guntersblum. Andererseits liegen ähnliche Infektionsraten auf der Insel Föhr und dem Revier bei Xanten vor. Diese beiden Reviere sind insofern von besonderem Interesse, als auf Föhr bekanntermaßen gute Hasendichten auf Grund hoher Zuwachsraten vorkommen (PEGEL, 1986). Laut Auskunft des Revierinhabers war in Xanten in Teilbereichen ein Zusammenbruch der Population zu verzeichnen. Die jagdliche Nutzung beschränkte sich daher auf die Gebiete mit ausreichender Besatzdichte. Ähnliches läßt sich auch für Reviere mit geringeren Hasendichten feststellen. Die Ermittlung der Besatzdichten erfolgte dabei durch unterschiedliche Personen und nach verschiedenen Methoden, so daß mit relativ hohen Fehleinschätzungen gerechnet werden muß. Die Unterschiede zwischen den Revieren liegen allerdings in Größenordnungen, die ein Vielfaches der Reviere mit den niedrigsten Besatzdichten betragen. Fehleinschätzungen der Populationsdichten auf Grund von Jagdstrecken und Scheinwerttaxationen dürften weit unter diesen Bereichen liegen, so daß vernünftigerweise eine realistische Einordnung der einzelnen Reviere nach ihren jeweiligen Hasenbesatzdichten angenommen werden kann.

Ein weiterer Hinweis auf die sinkende Bedeutung ist die nur geringe Beeinflussung der hessischen Jagdstrecken, wie anhand der Jagdstatistik nachgewiesen werden kann (DJV-Handbuch Jagd 1998). Hier ist in den Jahren 1986 bis 1994, in denen EBHS beim Feldhasen beobachtet wurde, zwar ein kontinuierlicher Rückgang zu beobachten. Dieser beginnt aber schon Mitte der 60er Jahre und setzt sich bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt fort. In der Sektionsstatistik über Feldhasen aus dem Einzugsbereich Hessens wird EBHS seit 1994 nicht mehr gesehen. Allenfalls eine in den Jahren 1986 und 1987 aufgetretene, gering verstärkte Abnahme der Jagdstrecken könnte auf eine begrenzte Auswirkung einer EBHS-Epidemie zurückzuführen sein (ESKENS et al., 1999). Demgegenüber berichten POLI et al. (1991) über eine erhebliche Reduktion italienischer Feldhasenpopulationen von 27 % bis 40 %, wobei hier jedoch der Anteil der an EBHS verendeten Hasen nicht genannt wird. Noch stärkere Auswirkungen beschreiben die Autoren für Hasenfarmen, die 30 % bis 90 % Mortalitätsrate aufwiesen. Die in der vorliegenden Arbeit geäußerte Auffassung, daß das EBHS einen nur geringen Einfluß auf die Populationsdynamik des Feldhasen habe, wird auch von GAVIER-WIDÉN und MÖRNER (1993) unterstützt, die aus Schweden über ein Anwachsen der Zahl erlegter Hasen berichten, obwohl EBHS zu diesem Zeitpunkt weit

verbreitet auftrat und in der Sektionsstatistik die häufigste Erkrankung bei dieser Tierart darstellte.

Die Beziehung zwischen dem EBHS und der RHD wurde zunächst auf der Basis von Kreuzinfektionsversuchen definiert. Die Ergebnisse waren widersprüchlich: Von einer gelungenen Übertragung des EBHSV auf Hauskaninchen mit hierdurch ausgelöster Erkrankung und Tod der Versuchstiere berichten DI MODUGNO u. NASTI (1990) und MORISSE et al. (1991), über eine erfolgreiche Infektion des Feldhasen mit RHDV DU (1991). Andere Kreuzinfektionsversuche schlugen fehl (CAPUCCI et al., 1991), wobei einige Autorengruppen auch nachwiesen, daß die durch heterologe Infektion entstandenen niedrigen Antikörpertiter keine schützende Wirkung bei einer anschließenden homologen Infektion zeigten (NAUVYNK et al., 1993; LAVAZZA et al., 1996). Erst genetische Analysen der Genome von EBHSV und RHDV von NOWOTNY et al. (1997) zeigten die nahe Verwandtschaft, aber auch die deutlichen Unterschiede zwischen den Erregern. Entsprechend unabhängig sind die gegen EBHSV und RHDV gerichteten AK-Titer in den Hasensereren der Untersuchungen aus dem Jahr 1994. Die Häufung gegen EBHSV hochtitriger Seren, die gleichzeitig einen AK-Titer gegen RHDV von 16 aufweisen, dürfte auf geringe immunologische Kreuzreaktionen zurückzuführen sein. Die hier vorliegenden Befunde bestätigen die von STEINEK u. NOWOTNY (1993) in Österreich gemachten Beobachtungen, daß hohe RHDV- mit niedrigen EBHSV-Titern gemeinsam vorkommen können, somit die Kreuzreaktionen zwischen den beiden Virusarten gering sind und Infektionen unabhängig voneinander auftreten.

Zwischen den Geschlechtern bestehen hinsichtlich der Prozentsätze EBHSV-seropositiver Tiere keine Unterschiede. Allerdings gibt es einen deutlichen Unterschied zwischen den Anteilen männlicher und weiblicher Feldhasen an den Jagdstrecken. Dies hängt offensichtlich mit dem unterschiedlichen Verhalten männlicher und weiblicher Feldhasen bei Treibjagden zusammen (SPÄTH, 1989).

Der Anteil der serologischen Reagenten bei Jung- und Althasen ist in beiden Jahren gleich. Statistische Unterschiede zwischen beiden Altersgruppen ließen sich nicht errechnen. Der insgesamt für eine geographisch weitverbreitete Infektionskrankheit niedrige Prozentsatz serologischer Reagenten von ca. 20 % im Jahr 1994 und ca. 10 % im Jahr 1997 spricht unter der Prämisse einer relativ hohen Tenazität (HAAS und THIEL, 1983) für eine geringe Kontagiosität des Erregers in frei lebenden Hasenpopulationen, während der gleich hohe Anteil bei Jung- und Althasen trotz niedriger Kontagiosität auf eine relativ stabile Infektionslage hinweist. Möglicherweise spielen vertikale Übertragungswege eine entscheidende Rolle.

Insgesamt gibt es für eine Abnahme des Infektionsgeschehens von 1994 bis 1997 einige Hinweise, was sicher im Sinne einer erfolgreichen Auseinandersetzung der Feldhasenpopulation mit der 1986 in Hessen zum ersten Mal beobachteten EBHS-Infektion interpretiert werden kann. Der Stichprobenumfang von 1994 reicht jedoch nicht aus, um diese Hinweise statistisch abzusichern. Einerseits müssen die Ergebnisse des U-Tests wegen der großen Konfidenzintervalle der Revier-Prävalenzen von 1994 mit Vorsicht interpretiert werden. Andererseits führt die Zusammenfassung der Proben aus allen hessischen Revieren für 1994 bzw. hessischen und rheinland-pfälzischen Revieren 1997 zu heterogenen Stichproben, deren Gesamtprävalenz potentiell beeinflusst wird durch die Größe des Beitrages der einzelnen Reviere. Die gleiche Einschränkung gilt für den Vergleich der Geschlechter, der Altersgruppen sowie zwischen EBHSV und RHDV, da auch hierfür die Stichproben aller Reviere zusammengefaßt wurden.

Zusammenfassung

Bei Untersuchungen von 100 Feldhasenserum aus dem Jahr 1994 und von 402 Feldhasenserum aus dem Jahr 1997 auf Antikörper gegen EBHSV (EBHSV-AK) mit einem Antikörper-ELISA konnten 20 % resp. 10 % Reagenten ermittelt werden. Die Blutproben stammten von frisch erlegten Feldhasen verschiedener hessischer, angrenzender rheinland-pfälzischer und zweier außerhalb dieser Region liegender Reviere. Die festgestellten Titerhöhen – im Jahr 1994 bis 10.000, im Jahr 1997 bis 100 – differierten zwischen den beiden Zeiträumen. Signifikante Unterschiede ergaben sich hinsichtlich des Anteils der serologischen Reagenten in den einzelnen Revieren. Eine Beziehung zwischen der Zahl der Reagenten und der meist durch Scheinwertertaxation geschätzten Besatzdichte ergab sich nicht. In den Seren von 1994 mit der Hämagglutinationshemmungsreaktion (HAH) ermittelte Antikörper gegen RHDV zeigten eine weitgehende Unabhängigkeit von den jeweiligen EBHSV-Antikörpertitern. Bei bis zu einem Jahr alten Jungtieren ließen sich EBHSV-AK in gleicher Frequenz und Höhe nachweisen wie bei Alttieren. Die vorliegenden Daten weisen auf eine zurückgehende Bedeutung des EBHS für die Hasenpopulationen der untersuchten Gebiete hin.

Summary

Seroepidemiological investigations on the distribution of European Brown Hare Syndrome (EBHS) and Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) in the field hare populations of selected districts in the Federal Republic of Germany

During the investigations of 100 field hare sera from the year 1994 and 402 field hare sera from 1997 for antibodies to EBHSV (EBHSV-AK) using an antibody-ELISA 20 % respectively 10 % reagents could be determined. The blood samples came from freshly killed field hares from various districts in Hesse, neighboring Rhineland-Palatinate, as well as two districts not from this region. The determined titers – in 1994 up to 10000, in 1997 up to 100 – differed during these two periods. Significant differences in respect to the proportion of serological reagents were observed in the individual districts. A correlation between the number of reagents and the population density mostly assessed by headlight counting could not be determined. In the sera of 1994 with the hemagglutination inhibiting reaction (HAH) determined antibodies to RHDV were highly independent of the respective EBHSV-antibodies. For animals up to one year of age the frequency and amount of EBHSV-AK were the same as for old animals. The presented data show a decreased significance in the importance of EBHS for the field hare populations in the investigated areas.

Transl.: PHYLLIS KASPER

Résumé

Recherches séro-épidémiologiques sur la dispersion du syndrome du Lièvre brun d'Europe (EBHS) et de la maladie hémorragique du Lapin (RHD) dans des peuplements de Lièvre d'un choix de territoires de la République fédérale allemande

L'examen de 100 lièvres en 1994 et de 402 sérums de lièvres de l'année 1997 quant à la production d'anticorps contre l'EBHSV (EBHSV-AC) au moyen d'un anticorps ELISA donnèrent lieu à respectivement 20 % et 10 % de réactions. Les échantillons de sang provenaient de lièvres récemment récoltés dans différents territoires de chasse de Hesse, de la Rhénanie-Palatinat voisine ainsi que dans deux territoires situés en dehors de cette région. Les teneurs observées – en 1994 jusqu'à 10.000, en 1997 jusqu'à 100 – étaient différentes pour chacune de ces deux périodes. Des différences significatives ont été constatées quant à la proportion des réactions sérologiques dans les différents territoires. Une relation n'a pu être établie entre le nombre de réactions et la densité de population déterminée par dénombrement au phare. Dans les sérums de 1994, la présence d'anticorps contre le RHDV obtenue par la réaction limitante d'hémo-agglutination (HAH) révéla une large indépendance par rapport aux teneurs d'anticorps contre le EBHSV. Chez les sujets juvéniles de moins d'un an, l'anticorps contre l'EBHSV présenta la même fréquence et le même niveau que chez les sujets adultes. Les données présentées ici montrent une régression de l'incidence de l'EBHSV dans les populations de lièvres étudiées.

Trad.: S. A. DE CROMBRUGGHE

Literatur

- ANDERSON, J., JENSEN, B., 1972: The weight of the eye lens in the European hares of known age. *Acta Theriol.* 8, 116–127.
- BECKER, R. W., 1995: Zwischenbericht zum „Hessischen Feldhasen-Untersuchungs-Programm“. *Hessenjäger* 3, 5.
- CAPUCCI, L., SCIACLUNA, M. T., LAVAZZA, A., 1991: Diagnosis of viral haemorrhagic disease of rabbits and the European brown hare syndrome. In *Maladie hémorragique virale du lapin et syndrome du lièvre brun européen*. *Revue Scientifique et Technique – Office International des Epizooties* 10, 347–370.
- CHASEY, D., DUFF, P., 1990: European brown hare syndrome and associated virus particles in the UK. *The Veterinary Record* 126, 623–624.
- DJV-Handbuch, 1998: Deutscher Jagdschutz-Verband e. V. (Hersg.), Mainz: Dieter Hoffmann.
- DU, N. X., 1991: Molecular biology of the viral haemorrhagic disease virus of rabbits. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 10, 325–336.
- ESKENS, U., KLIMA, H., NILZ, J., WIEGAND, D., 1987: Leberdystrophie bei Hasen. Pathologie und epidemiologische Untersuchungen eines Feldhasensterbens in Mittelhessen. *Tierärztliche Praxis* 15, 229–235.
- FRÖLICH, K., MEYER, H. H. D., PIELOWSKI, Z., RONSHOLT, L., SECK-LANZENDORT, S. v., STOLTE, M., 1996: European Brown Hare Syndrome in free-ranging Hares in Poland. *Journal of Wildlife Diseases*, 32, 280–285.
- GAVIER, D., MÖRNER, T., 1989: The European brown hare syndrome in Sweden. *Verhandlungsbericht des 31. Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere (Dortmund)*; Berlin: Akademie-Verlag, 261–264.
- GAVIER-WIDÉN, D., MÖRNER, T., 1993: Descriptive epizootiological study of European brown hare syndrome in Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 29, 15–20.
- HAAS, B., THIEL, H.-J., 1993: Die Hämorrhagische Krankheit der Kaninchen „Rabbit Hemorrhagic Disease“ (RHD). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 100 (4), 131–137.
- HENRIKSEN, P., GAVIER, D., ELLING, F., 1989: Acute necrotising hepatitis in Danish farmed hares. *The Veterinary Record* 125, 486–487.
- LAVAZZA, A., VECCHI, G., 1989: Osservazioni su alcuni episodi di mortalità nelle lepri. Evidenziazione al microscopio elettronico di una particella virale. *Nota preliminare. Selezione veterinaria* 30, 461–467.
- LAVAZZA, A., SCIACLUNA, M. T., CAPUCCI, L., 1996: Susceptibility of Hares and Rabbits to the European Brown Hare Syndrome Virus (EBHSV) and Rabbit Haemorrhagic Disease Virus (RHDV) under Experimental Conditions. *Journal of Veterinary Medicine B* 43, 401–410.
- LÖLIGER, H.-CH., ESKENS, U., 1991: Incidence, epizootiology and control of viral haemorrhagic disease of rabbits and the European brown hare syndrome in Germany. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 10, 423–434.
- MODUGNO, G. D. DI., NASTI, R., 1990: Viral hemorrhagic disease of rabbits in Apulia, experimental infection of rabbits and hares. *Rivista di Coniglicultura* 27, 25–32.
- MORISSE, J. P., 1988: Haemorrhagic septicemic syndrome in rabbit. First observation in France. *Le Point Veterinaire* 20, 835–839.
- MORISSE, J. P., PICAULT, J. P., BOILLETOT, E., MORIN, N., 1990: Relations étiologiques entre le syndrome du lièvre brun européen (EBHS) et la maladie hémorragique virale du apin (VHD). *Cuniculture* 95, 19–23.
- MOUSSA, A., CHASEY, D., LAVAZZA, A., CAPUCCI, L., SMID, B., MEYERS, G., ROSSI, C., THIEL, H.-J., VLASAK, R., RONSHOT, L., NOWOTNY, N., MCCULLOUGH, K., GAVIER-WIDÉN, D., 1992: Haemorrhagic disease of lagomorphs: evidence for a calicivirus. *Veterinary Microbiology* 33, 375–381.
- MÜLLER, K., H., NÖSEL, H., SCHLEGELMILCH, R., 1996: Hasenforschungsprojekt in Thüringen – erste Ergebnisse. *Unsere Jagd* (1), 12–15.
- NAUWYNK, H., CALLEBAUT, P., PEETERS, J., DUCATELLE, R., UYTTEBROEK, E., 1993: Susceptibility of hares and rabbits to a belgian isolate of European brown hare syndrome virus. *Journal of Wildlife Diseases*, 29, 203–208.
- NOWOTNY, N., ROS BASCUNANA, C., BALLAGI-PORDÁNY, A., GAVIER-WIDÉN, D., UHLÉN, M., BELÁK, S., 1997: Phylogenetic analysis of rabbit haemorrhagic disease and European brown hare syndrome viruses by comparison of sequences from the capsid protein gene. *Archives of Virology* 142, 657–673.

- OKERMAN, L., KERCKHOVE, VAN DE, P., OSAER, S., DEVRIEZE, L., UYTTEBROEK, E., 1989: European brown hare syndrome bij in gevangenschap levende hazen (*Lepus capensis*) in België. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 58, 44–46.
- PEGEL, M., 1986: Der Feldhase (*Lepus europaeus* PALLAS) im Beziehungsgefüge seiner Um- und Mitweltfaktoren. Schriften des Arbeitskreises Wildbiologie und Jagdwissenschaft an der Justus-Liebig-Universität Gießen, Heft 16. Stuttgart: Ferdinand Enke.
- POLI, A., NIGRO, M., GALLAZZI, D., SIRONI, G., LAVAZZA, A., GELMETTI, D., 1991: Acute Hepatitis in the European Brown Hare (*Lepus europaeus*) in Italy. Journal of Wildlife Diseases, 27, 621–629.
- SPÄTH, V., 1989: Untersuchungen zur Populationsökologie des Feldhasen (*Lepus europaeus* Pallas) in der Oberrheinebene. Dissertation Universität Freiburg, Band 8, Freiburger Waldschutz-Abhandlungen.
- STEINECK, TH., NOWOTNY, N., 1993: European brown hare syndrome (EBHS) in Österreich: Epizootiologische Untersuchungen. Tierärztliche Umschau 48, 225–229.
- XU, Z. J., CHEN, W. X., 1989: Viral haemorrhagic disease in rabbits: a review. Veterinary Research Communications 13, 205–212.

Anschriften der Autoren: Dr. U. ESKENS, Staatliches Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Mittelhessen, Marburger Straße 54, 35396 Gießen, Dr. K. FRÖLICH, Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW) im Forschungsvorbund Berlin e. V., Alfred-Kowalke-Str. 17, 10315 Berlin (Friedrichsfelde), B. KUGEL, Ortsstraße 23 b, 74722 Buchen-Unternendorf, Dr. J. W. FROST, Staatliches Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Südhessen, Deutschordenstraße 48, 60528 Frankfurt, Dr. W. J. STREICH, SYLVIE BENSINGER, Arbeitskreis Wildbiologie an der Justus-Liebig-Universität e. V., Heinrich-Buff-Ring 25, 35392 Gießen.