

# Untersuchungen zum Vorkommen und zur wirtschaftlichen Bedeutung der Fasciolose in Milchkuhherden Norddeutschlands

---

**MICHAELA RABELER**



**INAUGURAL-DISSERTATION** zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2012

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2012

© 2012 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Institut für Parasitologie  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Betreuer: Prof. Dr. H. Zahner

---

**Untersuchungen zum Vorkommen und zur  
wirtschaftlichen Bedeutung der Fasciolose  
in Milchkuhherden Norddeutschlands**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Michaela Rabeler (geb. Bolln)**

Tierärztin aus Bad Segeberg

Gießen 2011

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. M. Kramer

Gutachter:

Prof. Dr. H. Zahner

Prof. Dr. K. Doll

Tag der Disputation: 09.11.2011

**Für Andi**

Teile der Dissertation wurden bereits auf Tagungen präsentiert:

° BOLLN, M., ZAHNER, H., und BAUER, C. (2007)

Aktuelle Daten zum Vorkommen der Fasciolose in Milchkuhherden in Schleswig-Holstein.

Proc. Meet. "Diagnostik, Epidemiologie und Bekämpfung von Parasitosen bei Nutz-, Haus- und Heimtieren", Dtsch. Veterinärmed. Ges., Celle/D, 2007, Abstr. p. 22

° BOLLN, M., ZAHNER, H., und BAUER, C., (2007)

Estimating the prevalence of *Fasciola hepatica* infection in dairy cow farms in Schleswig-Holstein, Germany.

Proc. 21<sup>st</sup> Int. Conf. Wrld. Ass. Adv. Vet. Parasitol., Gent/B, 2007, Abstr. 587, p. 425

---

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Literaturübersicht .....</b>	<b>4</b>
2.1.	Vorkommen und Verbreitung von <i>Fasciola hepatica</i> in Deutschland .....	4
2.2.	Vorkommen und Verbreitung von <i>Fasciola hepatica</i> in Nachbarländern Deutschlands .....	5
2.3.	Methoden zur Fasciolose- Diagnostik .....	9
2.3.1.	Schlachtleberuntersuchung .....	9
2.3.2.	Kotuntersuchung .....	9
2.3.3.	Gallenflüssigkeitsuntersuchung .....	10
2.3.4.	Serologische Untersuchung .....	10
2.4.	Risikofaktoren für das Vorkommen der Fasciolose .....	12
2.5.	Wirtschaftliche Bedeutung der Fasciolose bei Rindern .....	13
2.6.	Medikamentelle Bekämpfung der Fasciolose beim Rind .....	15
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>17</b>
3.1.	Schlachthofdaten zum Vorkommen der Fasciolose in Schleswig-Holstein .....	17
3.2.	Querschnittsstudie zur Seroprävalenz in Betrieben des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e.V. ....	17
3.2.1.	Stichprobenauswahl .....	17
3.2.2.	Untersuchungszeitraum .....	18
3.2.3.	Probennahme .....	18
3.2.4.	Serologische Untersuchung .....	19

3.3.	Querschnittsstudie zur (Sero)prävalenz in Betrieben des Landkreises	
	Dithmarschen .....	20
3.3.1.	Stichprobenauswahl .....	20
3.3.2.	Betriebsvisiten.....	21
3.3.3.	Erfassung von Betriebs- und Kuhdaten.....	21
3.3.4.	Probennahme und –untersuchung .....	22
3.3.5.	Statistische Auswertung .....	23
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>25</b>
4.1.	Schlachthofdaten .....	25
4.2.	Tankmilchproben des Landeskontrollverbands Schleswig-Holstein e.V. ....	26
4.2.1.	Herdenprävalenz.....	26
4.2.2.	Geografische Lage der beprobten und positiv befundenen Betriebe .....	27
4.3.	Betriebsdaten der beprobten Betriebe des Landkreises Dithmarschen .....	27
4.3.1.	Betriebsstruktur und -Management.....	27
4.3.2.	Haltungs- und Fütterungsmanagement.....	31
4.3.3.	Kenntnisstand der Landwirte über die Leberegelsituation.....	34
4.3.4.	Parasitenmanagement.....	35
4.3.5.	Schlachthofrückmeldungen.....	37
4.4.	Einzeltierdaten der beprobten Betriebe des Landkreises Dithmarschen .....	38
4.4.1.	Alter, Laktation, Leistung .....	38
4.4.2.	Trächtigkeitsstadium zum Zeitpunkt der Beprobung.....	39
4.4.3.	Vorangegangene Fasciolizidbehandlung vor Probennahme .....	39
4.5.	Kotprobenergebnisse.....	39
4.5.1.	Einzeltierprävalenz.....	39
4.5.2.	Herdenprävalenz.....	40
4.6.	Serologische Ergebnisse der Individualmilchproben sowie dazugehöriger	
	Tankmilchproben der beprobten Betriebe.....	41
4.6.1.	Einzeltierprävalenz.....	41
4.6.2.	Herdenprävalenz.....	41

---

4.7.	Wechselwirkungen zwischen dem Nachweis einer <i>Fasciola</i> -Infektion und Betriebsparametern.....	42
4.7.1.	Weide .....	42
4.7.2.	Abzäunung von Wasserstellen .....	42
4.7.3.	Leberegelbehandlung .....	42
4.8.	Wechselwirkungen zwischen dem Nachweis einer <i>Fasciola</i> -Infektion und Einzeltierparametern .....	43
4.8.1.	Laktation.....	43
4.8.2.	Vorangegangene Fasciolizid-Behandlung.....	44
4.8.3.	Alter.....	45
4.8.4.	Gestationsstadium .....	45
4.8.5.	Milchleistung.....	48
4.9.	Methodenvergleich Kotuntersuchung- Milchuntersuchung.....	49
<b>5.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>52</b>
5.1.	Herden- und Einzeltierprävalenzen, Testauswahl.....	52
5.2.	Betriebsdaten, Weide- und Parasitenmanagement, Risikofaktoren .....	55
5.3.	Produktionsdaten und wirtschaftliche Aspekte der Fasciolose .....	57
5.4.	Kenntnisstand und Parasitenmanagement.....	58
5.5.	Schlussfolgerungen .....	61
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>62</b>
<b>7.</b>	<b>Summary .....</b>	<b>65</b>
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>67</b>
<b>9.</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>85</b>



## 1. Einleitung

*Fasciola hepatica* (Großer Leberegel) ist ein in gemäßigten Klimazonen der Welt vorkommender Endoparasit von Haus- und Wildwiederkäuern sowie Kameliden; seltener parasitiert er in anderen Tierarten (Pferd, Schwein, Kaninchen u.a.) oder dem Menschen (Eckert et al., 2008). Dieser digene Trematode durchläuft einen heteroxenen Entwicklungszyklus, der erstmals von Thomas im Jahr 1883 beschrieben wurde. Seine Adultstadien parasitieren in den Gallengängen oder der Gallenblase der als Endwirte dienenden Säugetiere. Diese scheiden mit dem Kot ca. 140x80 µm große, eiförmige, unembryonierte Eier aus. Im ausgeschiedenem Ei entwickelt sich unter günstigen Bedingungen innerhalb weniger Wochen ein Mirazidium (Wimpernlarve), das im wässrigen Milieu schlüpft, um einen geeigneten Zwischenwirt zu suchen. In Mitteleuropa dient vor allem *Galba (Lymnaea) truncatula* (Zwergschlamm Schnecke) als Zwischenwirt für *F. hepatica*. In diesem Zwischenwirt kommt es über ungeschlechtliche Vermehrungsstufen letztlich zur Entwicklung von Zerkarien (Schwanzlarven). Die Zerkarien verlassen die Schnecken, schwimmen umher und haften sich an Pflanzen u.a. an. Dort verlieren sie ihren Schwanz und enzystieren sich zu infektiösen Metazerkarien. Die Infektion des Endwirtes erfolgt durch orale Aufnahme der Metazerkarien. An die Infektion schließt sich die Wanderung der juvenilen Stadien vom Dünndarm über die Peritonealhöhle zur Leber an. Nach Migration durch das Leberparenchym kommt es zur Besiedelung der Gallengänge mit juvenilen und adulten Egel. Die Präpatenz beträgt beim Rind 8-11 Wochen (Eckert et al., 2008). Die Wanderaktivität der juvenilen Egel im Leberparenchym und die dadurch verursachten Läsionen sind verantwortlich für das Krankheitsbild der akuten und subakuten Fasciolose. Diese beiden Verlaufsformen werden hauptsächlich bei Schafen (vor allem Jungtieren) im Spätsommer und Herbst beobachtet. Klinisch äußern sich diese Krankheitsverläufe u.a. in hochgradiger Anämie und plötzlichen Todesfällen (akut) oder in raschem Gewichtsverlust und Ödembildung (subakut). Beim Rind ist dagegen die chronische

Verlaufsform der Fasciolose vorherrschend. Diese wird durch die im Gallengangsystem parasitierenden Adultegel verursacht und ist im Winter und darauffolgendem Frühjahr zu beobachten. Hier stehen Leistungsminderungen im Vordergrund (Mitchell, 2002; Schnieder, 2006; Eckert et al., 2008).

Die wirtschaftliche Bedeutung der Fasciolose liegt in den enormen wirtschaftlichen Verlusten, die in jüngerer Zeit in der Schweiz mit 52 Mio. Euro pro Jahr beziffert wurden, was einen errechneten Schadensbetrag von 376 Euro pro Milchkuh ausmacht (Schweizer et al., 2005 A). Die Schäden entstehen durch verminderte Milchleistung (Ilchmann et al., 2002; Charlier et al., 2007), verminderte Mastleistung (McIlroy et al., 1990; Berning und Daugschies, 2005), reduzierte Fruchtbarkeit (Hope Cawdery, 1984; Charlier et al., 2007) und Leberkonfiskate (Gräfner, 1992).

Zur Diagnostik dieser wichtigen Parasitose stehen heutzutage unterschiedliche Diagnostikverfahren zur Verfügung: der traditionelle koproskopische Nachweis von Eiern mittels Sedimentationsverfahren mit einer Sensitivität von 69 %, die Postmortaldiagnostik durch Beurteilung der Leberveränderungen bei der Schlachtung mit einer Sensitivität von 63 % sowie der serologische Nachweis von Antikörpern in Blut und Milch mit einer Sensitivität von 92-98 % (Reichel, 2002; Reichel et al., 2005; Molloy et al., 2005; Rapsch et al., 2006). Die serologischen Nachweisverfahren gewinnen in jüngerer Zeit für die Herdendiagnostik immer mehr an Bedeutung.

Verfügbare Erkenntnisse über das Auftreten dieser wirtschaftlich bedeutenden Parasitose in Norddeutschland waren zur Zeit der Studienplanung 20-30 Jahre alt (Funk, 1980, 1984; Lemmermöhle, 1984; Messer, 1985; Simmank, 1987; Runge, 1992). Daher war es Ziel der vorliegenden Studie:

- aktuelle Daten über Vorkommen und Verbreitung der Fasciolose bei Milchkuhen in Norddeutschland auf repräsentativer Basis zu eruiieren;
- mögliche Risikofaktoren und wirtschaftliche Auswirkungen dieser Parasitose zu bestimmen.

Dazu wurden:

- Schlachthofdaten aus Schleswig-Holstein ausgewertet,
- eine Querschnittsstudie mit Tankmilchproben des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e.V. sowie
- eine Querschnittsstudie im Landkreis Dithmarschen mit Einzel-, Tankmilch- und Kotproben durchgeführt.

Außerdem sollten zwei diagnostische Methoden zum Nachweis der Fasciolose (koproskopischer Ei-Nachweis, Nachweis spezifischer Antikörper in Milchproben) verglichen werden.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Vorkommen und Verbreitung von *Fasciola hepatica* in Deutschland

Die Prävalenz der Fasciolose unterliegt regionalen, saisonalen und wirtsabhängigen Einflüssen und variiert dementsprechend (Eckert et al., 2008). In Feuchtgebieten, wie der norddeutschen Küstenregion oder auf nicht drainierten Weiden spielt der Leberegelbefall naturgemäß eine größere Rolle als z.B. auf trockenen Standorten (Simmank, 1987).

Zum Vorkommen und zur Verbreitung der Fasciolose bei Rindern in mitteleuropäischen Ländern liegen aus jüngerer Zeit nur wenige Erkenntnisse vor. In großen Teilen Westdeutschlands und auf dem Gebiet der ehemaligen DDR lag die Extensität der Fasciolose bei Weiderindern bis etwa 1970 bei 50-80 % (Tabelle 1). Nachdem Mitte bis Ende der 1970er Jahre in den Weidegebieten Schleswig-Holsteins jährlich wiederkehrende, flächendeckende Behandlungen bei Rindern, z.T. auch bei Schafen, mit Fascioliziden durchgeführt und diese mit weidehygienischen Maßnahmen gekoppelt worden waren, sank die Fasciolose-Prävalenz innerhalb weniger Jahre auf 0,005 % ab (Tabelle 1). Ab Mitte der 1980er Jahre war ein Wiederanstieg des Leberegelbefalls in Schleswig-Holstein festzustellen mit Prävalenzen in den 1990ern von regional bis 17 % (Tabelle 1). Diese Zunahme wurde damit begründet, dass in vielen Regionen der flächendeckende Fasciolizid-Einsatz auch wegen der Rückstandsproblematik milchliefernder Kühe aufgegeben worden war und das Wissen um die wirtschaftlichen Schäden durch einen Leberegelbefall verloren gegangen war (Runge, 1992). Nachdem in Niedersachsen ein Rückgang der Fasciolose-Prävalenz aufgrund flächendeckender Leberegelbehandlungen Anfang bis Mitte der 1990er auf 2 % festgestellt werden konnte, entschied man sich nach einem Wiederanstieg der Prävalenz bis Ende der 1990er auf regional bis 9 % gegen eine Einstellung der Leberegelbehandlungen in weidehaltungs-geprägten Landkreisen (Tabelle 1). Auch in Nordrhein-Westfalen sank die Prävalenz aufgrund flächendeckender Leberegelbehandlungen bis 1974 auf 1-2 % (Tabelle 1). Nach Aufgabe dieser Maßnahmen stieg die Prävalenz erneut auf durchschnittlich 23 % bis

1992 an, wobei Kraneburg (1992) von regionalen Befallshäufigkeiten von 75-100 % ausging. Ein deutlicher Unterschied bestand zwischen Tieren mit und ohne Weidegang (Weichel, 1987). Auch auf dem Gebiet der ehemaligen DDR wurde die Prävalenz der Fasciolose durch weidehygienische Maßnahmen und “Leberegelbehandlungen” von anfänglich 50 % auf 1,5 % in 1981 gesenkt (Gräfner, 1989; 1992). Neuere Untersuchungen in Sachsen-Anhalt und Brandenburg ergaben aber einen Wiederanstieg der Prävalenz auf 20 % (Tabelle 1).

Jüngere Untersuchungen, die mit dem Nachweis *F. hepatica*-spezifischen Antikörpern in Serum- oder Milchproben durchgeführt worden waren, zeigten mit regionalen Schwankungen Seroprävalenzen von 15-80 % (Tabelle 2).

## **2.2. Vorkommen und Verbreitung von *Fasciola hepatica* in Nachbarländern Deutschlands**

Aus den Nachbarländern Deutschlands liegen die neuesten Daten zum Vorkommen der Fasciolose aus der Schweiz und Belgien vor. In der Schweiz schwankte die Prävalenz der Fasciolose von den 1970ern bis heute je nach Untersuchungsmethode zwischen 8-18 % (Tabelle 3). Ähnlich lagen auch die Prävalenzen für Dänemark, Niederlande und Frankreich, wobei hier die letzten Untersuchungen 10-20 Jahre zurücklagen. Polen verzeichnete höhere Prävalenzen von bis zu 35 % zwischen 1980-1992 und auch jüngere Untersuchungen aus Belgien zwischen 2006-2008 zeigten hohe Prävalenzen von bis zu 40 % (Tabelle 3).

Tabelle 1: Verbreitung der Fasciolose bei Rindern in Deutschland

Region	Untersuchungs- periode	Anzahl untersucht	Untersuchungs- methode <sup>1</sup>	Prävalenz %	Autor (en)
Schleswig-Holstein	< 1969	?	L	80	Funk (1973)
"	1976	?	L	2	Funk (1976)
"	1978-1980	?	L	< 1	Funk (1980)
Nordfriesland	1972	?	L	10	Funk (1984)
"	1980	?	L	< 1	Funk (1984)
"	1986-1987	54.614	L	3	Runge (1992)
"	1992	9.524	L	17	Runge (1992)
Gettorf	1969	} > 29.000	L	70	Messer (1985)
"	1977-1978		L	5	Messer (1985)
"	1981		L	36	Messer (1985)
Hamburg	1980-1985	343.302	L	11	Simmank (1987)
Weser-Ems	1990	?	K	10	Anonym (2000)
"	1996	?	K	2	"
"	1997	?	K	3	"
"	1999	?	K	9	"
LK Friesland	1985-1986	886	K	28-78	Berning (2002)
LK Ammerland	1986	630	K	6	Berning (2002)
Zeven	1998-1999	32.623	L	1	Berning (2002)
LK Celle	1997	?	K	0	Berning (2002)
LK Steinfurt	1966	?	L	> 30	Lemmermöhle (1984)
"	1966	?	L	90	Weichel (1987)
"	1969	?	L	29	Weichel (1987)
"	1974	?	L	1-2	Lemmermöhle (1984)
"	1974	?	L	4	Weichel (1987)
„	1983	?	L	3-5	Lemmermöhle (1984)
„	1984	?	L	8	Weichel (1987)
LK Borken/Cösfeld	1987-1992	2.068	K	23	Kraneburg (1992)
ehemalige DDR	1960-1970	?	L+K	50	Gräfner (1989;1992)
"	1976	?	L+K	6	Gräfner (1989;1992)
"	1981	?	L+K	2	Gräfner (1989;1992)
"	1982	?	?	3	Hiepe (1984)
"	1990	?	L	3	Gräfner (1992)

Fortsetzung

Fortsetzung Tabelle 1:

Region	Untersuchungs- periode	Anzahl untersucht	Untersuchungs- methode <sup>1</sup>	Prävalenz %	Autor (en)
Sa-Anh./ Brandenb.	2001	1.260	K	20	Conraths et al. (2002)
RB Freiburg	2000	380	K	9	Koch (2005)
"	2003	285	K	6	Koch (2005)
Traunstein	2005	?	L	17	Koch (2005)
Bayern	2000-2004	24.273	K	11	Koch (2005)

<sup>1</sup> K= Kotuntersuchung, L= Leberbefund bei Schlachtung; LK= Landkreis, RB= Regierungsbezirk

Tabelle 2: Seroprävalenz der Fasciolose bei Rindern in Deutschland

Region	Untersuchungs- periode	Material	Anzahl untersucht	Seroprävalenz (%)		Autor(en)
				Tier	Herde	
Meckl.-Vorp.	2000-2002	Blut	1.537	27	80	Conraths et al. (2002) Hacker et al. (2003)
Voralpenraum	1993-1994	Einzelmilch	?	73	-	Schmitt et al. (1994)
"	2003-2004	Tankmilch	7000-8000	-	70	Pfister und Koch (2004)
Bayern	2003-2005	Tankmilch	5.278	-	32	Koch (2005)
Norddeutsche Marschgebiete	2008	Tankmilch	1.610	-	15-73	Ahrens-Flegel et al. (2010)

Tabelle 3: Verbreitung der Fasciolose bei Rindern in Nachbarländern Deutschlands

Region	Untersuchungs- periode	Anzahl untersucht	Untersuchungs- methode <sup>1</sup>	(Sero)Prävalenz (%) Tier	Herde	Autor (en)
Dänemark	1969-1972	?	L	16	-	Simmanck (1987)
Dänemark	1963-1977	?	K	10	-	Simmanck (1987)
Dänemark	1963-1977	10.540	K	10	-	Henriksen und Pilegaard (1979)
Schweiz	1975	1.496	G	15	-	Eckert et al. (1975)
Schweiz	1991	2.033	G+L	11	-	Ducommun und Pfister (1991)
Ostschweiz	1999-2000	3.267	L	8	-	Schweizer et al. (2003)
Ostschweiz	< 2003	?	K	19	-	Hertzberg et al. (2003)
Schweiz	2004	1.087	L	11	-	Rapsch (2005)
Schweiz	2004	268	K	16	-	Rapsch (2005)
Schweiz	2004	797	G	19	-	Rapsch (2005)
Schweiz	2004	1.026	S	21	-	Rapsch (2005)
Schweiz	2004-2005	1.331	S	18	-	Rapsch et al. (2006)
Tirol	2005	4.657	T	-	73	Matt et al. (2007)
Niederlande	1983	?	?	15-20	-	Hofmann (1984)
Belgien	1960-1997	?	?	10-19	-	Lonneux et al. (2000)
Belgien	2006-2008	1.762	T	-	37-40	Bennema et al. (2009, 2011)
Frankreich	1990-1999	12.389	K	17	-	Mage et al. (2002)
Tschechien	1970-1985	?	L	6-<1	-	Zajicek (1987)
Polen	1980-1992	?	L	<1-35	-	Jarnicka- Stanios et al. (1983); Lis (1989); Michalski et al. (1990); Konopka (1993)
Polen	1998-1999	871	K	4	2-20	Michalski und Romaniuk (2000)

<sup>1</sup> K= Kotuntersuchung, L= Leberbefund bei Schlachtung, G= Gallenflüssigkeitsuntersuchung,

S= Antikörperuntersuchung Blutserum; T= Antikörperuntersuchung Tankmilch

## 2.3. Methoden zur Fasciolose- Diagnostik

Zum Nachweis des *Fasciola*-Befalls eignen sich der Nachweis parasitärer Stadien in der Leber, der Ei-Nachweis im Kot oder in der Gallenflüssigkeit, der Nachweis spezifischer Antikörper in Kot, Serum oder Milch sowie der Nachweis von *Fasciola*-Antigenen im Kot oder Serum.

### 2.3.1. Schlachtleberuntersuchung

Nach der Schlachtung ist die Beurteilung der Leberveränderungen die einfachste Methode um einen Befall mit *F. hepatica* nachzuweisen. Beim Anschnitt des meist marmorierten Organs kommt es zum typischen Knirschen und es können adulte Leberegel in den Gallengängen gefunden werden (Eckert et al., 2008). Allerdings liegt die Sensitivität dieser Nachweismethode nur bei etwa 60-70 % (Rapsch et al., 2006; Charlier et al., 2008). Durch mehrstündige Lagerung der Leber in heißem Wasser und anschließender scheinweise Zerstückelung läßt sich eine Sensitivität von etwa 100 % erreichen (Charlier et al., 2008).

### 2.3.2. Kotuntersuchung

Die Standardmethode zum Nachweis eines *F. hepatica*-Befalls am lebenden Tier ist die koproskopische Untersuchung mittels Sedimentationsmethode (Happich und Boray, 1969; Eckert et al., 2008). Hierbei werden die ovalen, gedeckelten, goldgelben, 140x80 µm großen *Fasciola*-Eier nachgewiesen. Die Sensitivität der Nachweismethode wurde, bedingt durch die bei Rindern meist geringe Zahl ausgeschiedener *Fasciola*-Eier mit 30 % (Happich und Boray, 1969) angegeben. Neuere Studien mit Modifikationen der Sedimentationsmethode ergaben eine Sensitivität von 68-69 %, wenn das Volumen der Kotprobe auf 10 g erhöht wird (Wolfensberger, 1993; Rapsch et al., 2006), von 83 %, wenn die Sedimentationszeit auf 10 Minuten verkürzt und dem Sediment ein Detergens zugegeben wird (Conceição et al., 2002), von über 90 %, wenn nicht eine Probe, sondern drei Teilkotproben jedes Tieres untersucht werden (Rapsch et al., 2006). Eine kombinierte Sedimentations-Flotationsmethode unter

Verwendung einer Zinkchlorid-Lösung (spez. Gewicht 1,56) als Flotationsmedium brachte eine Sensitivität von 42-63 % (Charlier et al., 2008).

### 2.3.3. Gallenflüssigkeitsuntersuchung

Eier von *F. hepatica* können auch durch Punktion der Gallenblase und Gewinnung der Gallenflüssigkeit unter Ultraschallkontrolle und anschließender Sedimentation nachgewiesen werden, wobei die Sensitivität mit 93-98 % angegeben wurde (Braun et al., 1995; Rapsch et al., 2006).

### 2.3.4. Serologische Untersuchung

Für die Herdendiagnostik eignen sich besonders immundiagnostische Verfahren (Eckert et al., 2008). Im Gegensatz zur Kotuntersuchung, bei der die Eier von *F. hepatica* erst 8-11 Wochen *post infectionem* nachzuweisen sind (Eckert et al., 2008; Schnieder, 2006) lassen sich *Fasciola*-spezifische Antikörper im Serum bereits 2-4 Wochen *post infectionem* nachweisen (Tabelle 4). Der Nachteil besteht darin, dass diese Antikörper auch nach medikamenteller Elimination des Leberegelbefalls bis zu 8 Monaten (Levieux et al., 1992 A; Boulard et al., 1995; Chauvin et al., 1997) oder bis zu 18 Monaten (Hutchinson und Macarthur, 2003) im Blut persistieren, was zu falsch-positiven Ergebnissen führen kann.

Der von Pourquier et al. (1996) entwickelte, mit einem Tegumentum (f2)-Antigen arbeitende, kommerziell erhältliche indirekte **ELISA** wurde vielfach unter experimentellen und Feldbedingungen verwendet. Seine Ergebnisse stimmen mit jenen des passiven Hämagglutinationstests von Levieux et al. (1992 B) überein. Es besteht jedoch (entgegen den Herstellerangaben) keine statistisch abzusichernde Korrelation zwischen dem ELISA-Resultat und der Eizahl im Kot oder der Zahl der *Fasciola*-Exemplare in der Leber (Reichel, 2002; Rapsch, 2005). Salimi-Bejestani et al. (2005 A) berichteten von einer Sensitivität bei Tankmilchprobenuntersuchungen in England mit einem anderen kommerziell erhältlichen indirekten ELISA basierend auf exkretorisch/sekretorischem Antigen von 96 % und einer Spezifität von 80 % wenn man von einer Herde ausgeht, in der mindestens 25 % aller Tiere *F. hepatica*-positiv sind (Tabelle 4).

Tabelle 4: Serologische Methoden zum Nachweis von *F. hepatica*-Antikörpern bei Rindern

Methode	Sensitivität / Spezifität / positiv...Wochen p.i.			Autor(en)
	Serum	Einzelmilch	Tankmilch	
Passive Hämagglutination (Tegumentum (f2)- Antigen)	96/ 95/ 2-4			Levieux et al. (1992 A)
Indirekter ELISA (exkretorisch/sekretorisches Antigen)	97/ 99/ 2			Ibarra et al. (1998)
Dot-ELISA (exkretorisch/sekretorisches Antigen)	?/ ?/ 2-4			Castro et al. (2000)
Indirekter ELISA (rekombiniertes Cathepsin L-like Protease-Antigen)	90/ 75/ 5-7			Cornelissen et al. (2001)
Indirekter ELISA (exkretorisch/sekretorisches Antigen)	95/ 95/ ?			Şimşek et al. (2006)
Indirekter ELISA (Tegumentum (f2)- Antigen)	98/ 100/ 2			Reichel (2002)
„	99/ 95-98/ ?			Hutchinson und Macarthur (2003)
„	92/ 93/ ?			Rapsch et al. (2006)
„		95/ 98/ ?		Reichel et al. (2005)
„	98/ 98/ ?	98/ 99/ ?		Molloy et al. (2005)
Indirekter ELISA (exkretorisch/sekretorisches Antigen)	98/ 96/ 2-4			Salimi-Bejestani et al. (2005 B)
„			96/ 80/ ?	Salimi-Bejestani et al. (2005 A)
„		92/ 88/ ?		Salimi-Bejestani et al. (2007)

p.i.= post infectionem

Zu den **direkten Nachweismethoden** zählt der Nachweis von *F. hepatica*-Antigen im Kot (Koproantigen) (Espino und Finlay, 1994; Dumenigo et al., 1996; Mezo et al., 2004) oder im Serum (Lecliptieux et al., 1998). Der Vorteil besteht darin, dass Antigene nur bei florierenden Infektionen in Anwesenheit des Egels nachgewiesen werden. Nach erfolgter Chemotherapie und Elimination der Egelbürde sinkt der Antigen Spiegel deutlich, so dass eine Aussage zum Erfolg der Chemotherapie gemacht werden kann (Mezo et al., 2004). Die Sensitivität des Koproantigentests wird mit 93 % angegeben, die Spezifität mit 100 % (Espino und Finlay, 1994). Der Nachweis von *F. hepatica*-Koproantigen ist ab der 4.-6. Woche *post infectionem* möglich; die Antigenmenge im Kot korreliert mit der Zahl der *Fasciola*-Exemplare im Endwirt (Abdel-Rahman et al., 1998). Der Nachweis von im Blut zirkulierendem *F. hepatica*-Antigen (exkretorisch/sekretorisches Antigen) erlaubt bereits ab dem 6. Tag *post infectionem*, also schon in der frühen Präpatenz, die Diagnose eines Befalls mit dem Großen Leberegel (Lecliptieux et al., 1998).

#### **2.4. Risikofaktoren für das Vorkommen der Fasciolose**

Die Risikofaktoren für das Vorkommen der Fasciolose sind eng mit dem Entwicklungszyklus von *F. hepatica* verbunden. Zum einen ist die Verbreitung von *F. hepatica* ohne den Zwischenwirt *Galba (Lymnaea) truncatula* und seinen benötigten feuchten Primär- und Sekundärhabitaten nicht möglich, und zum anderen entwickeln sich aus den in die Außenwelt gelangten Eier nur Mirazidien, wenn die Außentemperatur  $\geq 10$  °C beträgt und die Eier von Kotpartikeln befreit und von Flüssigkeit umgeben sind (Ollerenshaw, 1959; Boray, 1972). Somit ist die Fasciolose an Feuchtgebiete und Weidehaltung gekoppelt (Mitchell, 2002; Matt et al., 2007; Knubben-Schweizer et al., 2010; Bennema et al., 2011). Ihr Auftreten und ihre geografische Ausbreitung werden u.a. durch Klimafaktoren, Bodenbedingungen sowie dem Weide- und Betriebsmanagement beeinflusst. Temperaturen um 22 °C und Niederschlagsmengen von ca. 90 mm/Monat bergen das höchste Risiko einer schnellen Ausbreitung der Fasciolose, da optimale Bedingungen für den Zwischenwirt und die Weiterentwicklung der Eier und Metazerkarien herrschen. Temperaturen  $> 25$  °C und Niederschlagsmengen  $> 210$  mm/Monat hingegen senken das Risiko, da Schnecken und

Zerkarien austrocknen bzw. weggespült werden (Rapsch et al., 2008). Ein neutraler pH-Wert des Bodens sowie ein erhöhter Eisengehalt haben einen negativen Einfluß auf die Entwicklung von Zwischenwirt und –stadien, wohingegen ein sehr feinsandiger Boden mangels Drainage einen positiven Einfluß auf die Entwicklung und Verbreitung von *F. hepatica* hat (McCann et al., 2010). Ein hoher Anteil von Weidegras in der Futtermittelration, längere Weideperioden und ungemähte Weideflächen bergen ebenfalls ein erhöhtes Risiko für eine *F. hepatica*- Infektion (Bennema et al., 2011). Als ein weiterer Risikofaktor für das Auftreten der Fasciolose bei Rindern in Norddeutschland wird auch die gemeinsame Weidehaltung von Rindern und Schafen angesehen (Runge, 1992). Denn Schafe sind als Endwirte für *F. hepatica* sehr empfänglich, entwickeln keine ausreichend schützende Immunität und scheiden daher über lange Zeit große Menge an Leberegeleiern aus (Eckert et al., 2008). Die unzureichende anthelminthische Bekämpfung von *F. hepatica* stellt ebenfalls einen Risikofaktor dar, da regelmäßige anthelminthische Behandlungen der Tiere zu einer Verminderung der Anzahl der Parasiten im Wirt sowie der Eiausscheidung und damit der Weidekontamination führen (Boray, 1971). In Gebieten wo Schafe auf gleichen Weiden wie Rinder gehalten werden, sollten die Schafe ebenfalls gegen *F. hepatica* behandelt werden (Runge, 1992). Die Ursache für die unzureichende anthelminthische Behandlung in jüngerer Zeit ist im mangelnden Problembewußtsein der Landwirte und Tierärzte zu suchen. Die klinische und wirtschaftliche Bedeutung der Fasciolose wurde in den letzten Jahren immer weniger sowohl von Landwirten als auch von Tierärzten wahrgenommen (Schweizer et al., 2005 B).

## **2.5. Wirtschaftliche Bedeutung der Fasciolose bei Rindern**

Die wirtschaftlichen Schäden der bei Rindern meist chronisch verlaufenden Fasciolose sind vielfältig und resultieren, wie in zahlreichen Veröffentlichungen beschrieben, u.a. in Einbußen in Mast- und Milchleistung, Schlachterlös und in verminderter Fruchtbarkeit. Die Ergebnisse aus vorwiegend neueren Studien zeigten:

- **verworfen Lebern:**

In der ehemaligen DDR wurden in den Jahren 1983 und 1987 160.000 kg bzw. 270.000 kg Rinderlebern aufgrund Fasciolose-spezifischer Veränderungen konfisziert und vernichtet (Gräfner, 1992).
- **verminderte Mastleistung:**

Nach Simmank (1987) zeigten infizierte Masttiere eine gegenüber nicht infizierten Kontrolltieren um 10 % verminderte Mastleistung. Berning (2002) bezifferte diese Minderleistung in einer neueren Untersuchung an einem Schlachthof in Niedersachsen mit 5,7-6,8 %. Infizierte Rinder benötigten weiterhin 4-6 Wochen länger, um ihr Mastendgewicht zu erreichen (McIlroy et al., 1990).
- **verminderte Milchleistung:**

Simmank (1987) und Ilchmann et al. (2002) veranschlagten die Milchminderleistung bei Milchkühen mit 450 Litern/Jahr. McIlroy et al. (1990) bewerteten den Leistungsrückgang bei Milchkühen mit 10 %. Tankmilchpobenuntersuchungen in Belgien ließen auf eine Minderleistung von 0,7 kg Milch pro *Fasciola*-infizierter Kuh und Tag und einen um 0,06 % reduzierten Milchfettgehalt schließen (Charlier et al., 2007).

In einer jüngeren in der Schweiz durchgeführten Studie wurden die Fasciolose-bedingten Verluste je Milchkuh und Jahr mit 376 Euro angegeben. Der jährliche Gesamtverlust wurde auf 52 Mio. Euro pro Jahr geschätzt (Schweizer et al., 2005 A).
- **Fruchtbarkeitsstörungen:**

Ein *Fasciola*-Befall kann bei Kühen auch in einer verringerten Fruchtbarkeitsrate und erhöhtem Erstkalbealter resultieren (Oakley et al., 1979; Hope Cawdery, 1984). Die Zwischenkalbezeit war bei *Fasciola*-infizierten Kühen im Vergleich zu nicht infizierten Tiere um 4,7 Tage verlängert (Charlier et al., 2007). Fasciolizid-behandelte Kühe hatten in den USA 1-3 % mehr Kälber als unbehandelte Kühe; das Absetzgewicht ihrer Kälber war zudem 22 kg höher (Kaplan, 1994).

Ältere Schätzungen beziffern die durch *F. hepatica* verursachten wirtschaftlichen Verluste bei Rindern in Nordirland auf 6 Mio. britische Pfund (McIlroy et al., 1990). Der wirtschaftliche Nutzen einer Leberegelbehandlung wurde mit 15-31 US\$ je Kuh und Jahr angegeben (Kaplan, 1994).

## 2.6. Medikamentelle Bekämpfung der Fasciolose beim Rind

Die Auswahl der hier dargestellten Medikamente beschränkt sich auf die zur Zeit der Studie in Deutschland nach der 14. Novelle des Arzneimittelgesetzes vom 12.12.2005 zur Anwendung beim Rind zugelassenen Faszioleizide, die im Anhang I-III der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 aufgeführt sind und für die Rückstandshöchstwerte (MRL) festgelegt wurden (VETIDATA, 2007). Die Wirkstoffe lassen sich in zwei Substanzgruppen unterteilen:

(a) Benzimidazole: Triclabendazol, Albendazol

(b) Salizylsäureanilide: Closantel

**Triclabendazol** wird hauptsächlich über das Tegument von *F. hepatica* aufgenommen (Toner et al., 2010). Sein Wirkungsmechanismus auf Fasciola-Stadien ist aber noch nicht vollständig aufgeklärt. Es hemmt die Kolchizinbindung und Freisetzung proteolytischer Enzyme im Egel (Fairweather und Boray, 1999). Neuere Studien weisen aber darauf hin, dass Triclabendazol als Mikrotubuli-Inhibitor auf *F. hepatica* wirkt (Robinson et al., 2002). Es zeigt eine sehr gute Wirkung gegen juvenile und adulte Egel (Richards et al., 1990; Fairweather und Boray, 1999). Triclabendazol darf in Deutschland nicht bei Tieren angewendet werden, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist oder in der Trockenperiode und bei trächtigen Färsen innerhalb von 2 Monaten vor dem Geburtstermin (VETIDATA, 2007). Die Wartezeit beträgt auf essbares Gewebe je nach Präparat 50-56 Tage (VETIDATA, 2007).

**Albendazol** ist sowohl gegen Nematoden als auch gegen adulte Stadien von *F. hepatica* in einer Dosierung von 10 mg/kg KGW wirksam. Albendazol hemmt die Polymerisation der Mikrotubuli (Scholtysik und Kaufmann, 1996; Ungemach, 2006). Albendazol hat nur eine variable (50-100 %) Wirkung gegen adulte Leberegel (Richards et al., 1990; Fairweather und

Boray, 1999). Die Zulassung beschränkt sich auf die chronische Fasciolose. Albendazol ist der einzige Wirkstoff, der auch eine Zulassung für Milchkühe hat (VETIDATA, 2007). Die Wartezeit beträgt je nach Präparat in Deutschland für essbares Gewebe 14-28 Tage, für Milch 5 Tage. Die Behandlung während des 1. Trächtigkeitsmonats ist wegen der potentiell teratogenen Wirkung der Substanz ausgeschlossen.

**Closantel** gehört zur Gruppe der Salizylsäureanilide, wirkt gegen den adulten Leberegel und besitzt eine Teilwirkung gegen immature > 6 Wochen alte Leberegel (Ungemach, 2006). Es wirkt über die Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung des Parasiten (Scholtysik und Kaufmann, 1996) und ist bei einer Dosierung von 10 mg/kg KGW wirksam (Hertzberg et al., 2002). Es besteht ein Anwendungsverbot für milchliefernde Tiere. Die Wartezeit beträgt in Deutschland 28 Tage für essbares Gewebe (VETIDATA, 2007).

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Schlachthofdaten zum Vorkommen der Fasciolose in Schleswig-Holstein**

An drei Schlachthöfen in Schleswig-Holstein (Husum, Bad Bramstedt, Erfde), in denen etwa 75 % aller Rinder aus Schleswig-Holstein (Gesamtzahl Schlachtrinder: 364.000 in 2005, 369.147 in 2006) geschlachtet werden, wurden mit Hilfe der jeweiligen Fleischbeschautagebücher die aufgrund Leberegelbefalls verworfenen Lebern für die Jahre 2005 und 2006 ermittelt.

#### **3.2. Querschnittsstudie zur Seroprävalenz in Betrieben des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e.V.**

##### **3.2.1. Stichprobenauswahl**

Nach den repräsentativen Erhebungen der Viehbestände der Jahre 2003-2006 und der letzten Viehzählung in Dithmarschen im Jahre 2003, gab es zum Zeitpunkt der Studienplanung und -durchführung im Jahre 2005 in Schleswig-Holstein insgesamt 1.180.557 Rinder, von denen 349.140 Milchkühe waren, verteilt auf insgesamt 9.651 Rinderbetriebe, wobei es sich bei 5.926 Betrieben um Milchkuhbetriebe handelte (Tabelle 5).

Im ersten Teil der Querschnittsstudie wurden 2.136 Tankmilchproben aller Betriebe, die dem Landeskontrollverband Schleswig-Holstein e.V. in Kiel (LKV) angeschlossen waren, untersucht. Der LKV untersucht Milchproben von 52 % (entspricht ca. 3.100 Betrieben) aller Milchkuhbetriebe in Schleswig-Holstein. Die Proben wurden im Rahmen der Routineuntersuchung (Milchfett/Hemmstoff/Eiweiß) gezogen und für die vorliegende Studie zur Verfügung gestellt.

Tabelle 5: Rinder/ Milchkuhbestände in Schleswig-Holstein nach amtlicher Viehzählung Mai 2003 und Erhebungen 2003-2006 (Anonym, 2007)

Jahr	Rinderbestand	Milchkühe	Rinderbetriebe	Milchkuhbetriebe
<u>Mai 2003</u>				
Schleswig-Holstein	1.236.647	357.733	10.228	6.268
Dithmarschen	146.639	34.519	1.107	572
<u>November 2004</u>				
Schleswig-Holstein	1.189.547	362.665	9.900	5.900
<u>November 2005</u>				
Schleswig-Holstein	1.180.557	349.140	9.651	5.926
<u>November 2006</u>				
Schleswig-Holstein	1.147.791	334.654	9.200	5.700

### 3.2.2. Untersuchungszeitraum

Der Probenentnahmezeitraum erstreckte sich von November 2005 bis April 2006.

### 3.2.3. Probennahme

Die Tankmilchproben des LKV wurden an den Anlieferungstagen zufällig ausgewählt und entnommen. Die angelieferten Tankmilchproben werden automatisch bei jeder Leerung des Milchtanks auf den Betrieben durch die Molkerei entnommen und haben ein Volumen von je 50 ml. Die Proben werden im Auftrag der zuständigen Molkereien an entsprechende Untersuchungslabore, wie das LKV, weitergeleitet, um den jeweiligen Fett-/Eiweiß-/Keim-

und möglichen Hemmstoffgehalt zu ermitteln. Die Milchproben sind mit einem Barcode, der den jeweiligen Betrieben zugeordnet werden kann, gekennzeichnet. Der Verfasserin waren aus datenschutzrechtlichen Gründen nur die Postleitzahlen der Proben nach ihrer zufälligen Auswahl zugänglich. Die Proben waren maximal 48 Stunden alt, bei 4 °C gekühlt gelagert und ohne Konservierungsmittel belassen. Es wurden jeweils 12 ml in ein entsprechend gekennzeichnetes Milchprobenröhrchen verbracht und innerhalb von 12 Stunden bei 2000 UpM für 20 Minuten zentrifugiert, um den Rahm abzutrennen. Die entrahmte Restmilch (Milchserum) wurde bei -20 °C bis zur weiteren Analyse eingefroren.

#### 3.2.4. Serologische Untersuchung

Die entrahmten und tiefgefrorenen 2.136 Tankmilchproben wurden nach dem Auftauen mittels eines kommerziell erhältlichen, indirekten ELISA-Testkits (Institut Pourquier, Montpellier, Frankreich) auf spezifische Antikörper gegen *F. hepatica* untersucht. Als Antigen dient bei diesem Test das spezifische, aus exkretorisch/sekretorischen Produkten von *F. hepatica* gewonnene und gereinigte Tegumentum (f2)-Antigen (Pourquier et al., 1995). Die Durchführung des ELISAs erfolgte nach Anweisungen des Herstellers (Stand 06/2005) mit den mitgelieferten Mikrotiterplatten und Reagenzien (Anlagen 2 und 3). Alle Testkits hatten die Chargenbezeichnung 626 und waren von der BGVV zugelassen (Zulassungsnummer: BGVV-B 196). Dafür wurden aufgetaute, unverdünnte, entrahmte Milchserumproben sowie eine Negativ- und zwei Positivkontrollen angesetzt. Am Ende der Reaktion wurde die optische Dichte (OD) bei 450 nm (OD 450) gemessen. Die endgültige Berechnung des Prozentsatzes zwischen der OD der Probe und der OD der positiven Kontrolle erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{S/P\%} = (\text{Netto OD 450 der Probe} / \text{Netto OD 450 der positiven Kontrolle}) * 100$$

Die Interpretation der Einzel- und Tankmilchprobenergebnisse erfolgte nicht nach Angaben des Herstellers, der eine Korrelation zwischen der Zahl der Leberegelexemplare im Tier und der Antikörperantwort angibt (Anhang 3), da vorhergehende Untersuchungen erbracht hatten, dass diese angenommene Korrelation statistisch nicht abzusichern ist (Reichel, 2002; Rapsch, 2005). Bei der Interpretation der Individual- und Tankmilchproben wurden die S/P-Werte  $\geq 30\%$  als positiv und jene  $< 30\%$  als negativ bewertet (Reichel, 2002; Hutchinson und Macarthur, 2003; Molloy et al., 2005).

### 3.3. Querschnittsstudie zur (Sero)prävalenz in Betrieben des Landkreises Dithmarschen

#### 3.3.1. Stichprobenauswahl

Die letzte Viehzählung, bei der auch die einzelnen Kreise ausgewertet wurden und die als Grundlage dieser Studie diente, erfolgte im Mai 2003 und ergab für den Landkreis Dithmarschen 146.639 Rinder verteilt auf 1107 Halter. Davon hielten 572 Betriebe insgesamt 34.519 Milchkühe (Tabelle 5). 30 % der Betriebe betreuten weniger als 50 Milchkühe, 60 % der Betriebe hatten 50-90 Milchkühe und bei 10 % der Betriebe bestand die Herde aus mehr als 100 Milchkühen (Anonym, 2005).

**Zielpopulation** dieser Querschnittsstudie waren die 572 in der Viehzählung 2003 registrierten dithmarscher Milchkuhbetriebe. Als **Studienpopulation** wurden genau 198 Milchkuhbetriebe ausgewählt, die der Vereinigung der Rinderspezialberatung Dithmarschen e.V. in Heide angeschlossen waren und deren Mitgliederliste mit Genehmigung der Landwirte zur Verfügung stand. Die **Stichprobenauswahl** erfolgte zweistufig als sog. „two-stage cluster sampling“ (Thrusfield, 1997).

Die **erste Stufe** ist die Ermittlung der Zufallsstichprobe der zu beprobenden Betriebe im Untersuchungsgebiet. Der Umfang einer Stichprobe, die zum Nachweis einer Infektion in einer bestimmten Population dienen soll, ist von drei Faktoren abhängig (Cannon und Roe, 1982):

- (a) Größe der betreffenden Population: In der vorliegenden Studie bestand die Studienpopulation aus 198 Milchkuhbetrieben.
- (b) mutmaßliche Prävalenz der Infektion: Die Herdenprävalenz der Fasciolose wurde in jüngeren Untersuchungen in Mecklenburg-Vorpommern mit 40 % (Hacker et al, 2003), im bayrischen Voralpengebiet mit durchschnittlich 64 % (Koch, 2005) angegeben. Daher wurde für die Untersuchungsregion Dithmarschen eine Herdenprävalenz von 50 % angenommen.

(c) gewünschte Zuverlässigkeit der Aussage: Das in der Querschnittsstudie ermittelte Ergebnis für die Herdenprävalenz sollte den wahren Wert um nicht mehr als +/- 5 % verfehlen. Die Berechnung des Umfangs der Zufallsstichprobe erfolgt nach folgender Formel (Cannon und Roe, 1982):  $1/N_u = 1/N_\infty + 1/N_z$ , wobei  $N_\infty$  der Tabellenwert (hier: 384) für eine "unendlich große" Population (bei einer 5 %igen Genauigkeit und 95 %igen statistischen Sicherheit) unter zu Grunde legen einer vermuteten Prävalenz (hier 50 %) und  $N_z$  der Umfang der Studienpopulation (hier: 198 Betriebe) ist. Daraus ergibt sich eine repräsentative **Untersuchungspopulation** von 131 Betrieben. Deren Auswahl aus der Studienpopulation erfolgte randomisiert per Los ohne Berücksichtigung der Betriebsgröße. Lehnte ein Landwirt die Untersuchung ab, wurde ein Ersatzbetrieb zufällig ausgewählt.

In der **zweiten Stufe** erfolgte die Auswahl der **Zufallsstichprobe** der zu beprobenden Kühe innerhalb eines Betriebes. Es wurden unabhängig von der Herdengröße jeweils sieben Milchkühe pro Betrieb nach dem Zufallsprinzip vor Ort aus der Laktationsherde ohne vorherige Kenntnis des Laktationsstadiums oder Krankheiten ausgewählt und beprobt.

### 3.3.2. Betriebsvisiten

Der Probenentnahmezeitraum erstreckte sich von November 2005 bis April 2006. Die Beprobung der einzelnen Betriebe erfolgte nach vorheriger telefonischer Absprache zeitnah zur jeweiligen Melkzeit.

### 3.3.3. Erfassung von Betriebs- und Kuhdaten

Die Erfassung der Betriebs-, Haltungs-, Fütterung-, Entwurmungs- und Laktationsdaten erfolgte anhand eines mehrseitigen Fragebogens (Anhang 1) zusammen mit dem Landwirt. Der Fragebogen bestand aus einem allgemeinen und einem speziellen Teil, der die Leistungsdaten der sieben beprobten Kühe erfasste. Der Fragebogen enthielt sowohl Fragen, bei denen die Antworten vorgegeben waren (closed-ended questions), als auch Fragen, die mit Zahlen oder Text beantwortet werden mussten (open-ended questions). Die Antworten wurden anschließend mit Hilfe von Microsoft Excel® 2003 in Tabellenform aufgearbeitet.

### 3.3.4. Probennahme und –untersuchung

#### **Kotproben**

Von den ausgewählten sieben Kühen pro Betrieb wurde je eine Kotprobe rektal entnommen und bis zur Untersuchung im gekennzeichnetem Rektalisierhandschuh belassen. Die Kotproben wurden bei 4 °C gelagert und innerhalb von 48 Stunden untersucht. Die Untersuchung der 917 Individualkotproben erfolgte mittels Sedimentationsverfahren nach Boray und Pearson (1960). 10 g Kot der jeweiligen Probe wurden abgewogen, in Wasser homogen suspendiert und durch ein Sieb mit 250 µm Maschenweite in einen Sedimentationskelch (250 ml, Spitzboden) gesiebt. Nach drei Minuten Standzeit wurde der Überstand dekantiert und der Kelch erneut mit Wasser aufgefüllt. Dieser Vorgang wurde noch 2x wiederholt. Nach dem letzten Dekantieren wurde das Sediment in eine Petrischale überführt und bei 40facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop untersucht. Dem Sediment wurden zur besseren Auffindung der *Fasciola*-Eier einige Tropfen einer 1 %igen Methylenblaulösung zugefügt. Die Kotprobe wurde als positiv bewertet, wenn mindestens ein *Fasciola*-Ei gefunden wurde.

#### **Individualmilchproben**

Von den ausgewählten sieben Kühen wurde eine Einzelgemelksprobe entnommen. Vor Entnahme der Individualmilchprobe wurden die Zitzenkuppen desinfiziert, die ersten drei Strahlen verworfen und dann aus allen vier Vierteln zusammen insgesamt 12 ml in ein entsprechend gekennzeichnetes Milchprobenröhrchen gemolken. Die Milchproben wurden auf 4 °C heruntergekühlt und innerhalb von 12 Stunden bei 2000 UpM für 20 Minuten zentrifugiert, um den Rahm abzutrennen. Die entrahmte Restmilch (Milchserum) wurde bei -20 °C bis zur weiteren Analyse eingefroren. Die 917 Individualmilchproben der Betriebe wurden nach dem Auftauen mit dem gleichen Testkit untersucht, wie in Kapitel 3.2.4. für Tankmilchproben bereits beschrieben.

#### **Tankmilchproben**

Im Anschluß der Einzelbeprobung erfolgte die Entnahme einer Tankmilchprobe auf dem Betrieb unabhängig von der Gemelkanzahl, die sich bereits im Tank befand und der letzten Leerung des Tanks. Es musste nur gesichert sein, dass die Milch der sieben zuvor beprobten

Tiere zum Zeitpunkt der Entnahme im Tank war. Die 131 Tankmilchproben wurden wie die Einzelmilchproben weiterbehandelt und untersucht (s.o.).

### 3.3.5. Statistische Auswertung

Die Datenhaltung und –auswertung sowie die Erstellung der grafischen Abbildungen im Rahmen der Ergebnispräsentation erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk (LAN) der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen. Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Statistikprogramm Pakets BMDP/Dynanic, Release 8.1 durchgeführt. Die grafischen Abbildungen wurden auf einem Personalcomputer mit dem Programm PlotIT, Version 2.0, bzw. PlotIT für Windows, Version 3.20h, erzeugt. Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}$ ), Standardabweichungen ( $s$ ), Minima ( $x_{\min}$ ), Maxima ( $x_{\max}$ ) und Stichprobenumfänge ( $n$ ) berechnet und tabellarisch wiedergegeben. Bei den semiquantitativen Variablen erfolgte die Datenbeschreibung durch die Angabe der Mediane ( $x$ ), der Quartile ( $Q_1$  und  $Q_3$ ) sowie der kleinsten und größten Beobachtungen. Die qualitativen Merkmale wurden nach Gruppen getrennt ausgezählt und in Form von zweidimensionalen Häufigkeitstabellen (Kontingenztafeln) dargestellt. Zur statistischen Prüfung des Gruppeneinflusses auf Signifikanz wurde bei den angenähert normalverteilten Merkmalen eine einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Programm BMDP7D durchgeführt. Bei den semiquantitativen Merkmalen kam beim Gruppenvergleich der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test unter Verwendung des Programms BMDP3D zum Einsatz. Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei den quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelations- bzw. Regressionsanalysen mit dem Programm BMDP6D unter Angabe des Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) und der Regressionsgeraden ( $y = m \cdot x + b$ ) bzw. mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ( $r_s$ ). Für die Gegenüberstellung qualitativer Merkmale wurden Häufigkeitstabellen mit dem Programm BMDP4F erzeugt und mit dem Fischer-Test/Chi-Quadrat-Test auf signifikante Zusammenhänge geprüft. Es wurde der verallgemeinerte Fisher-Test für  $2 \times k$ -Konfidenztafeln nach dem Freeman-Halton-Prinzip verwendet. Bei den Bewertungen der statistischen Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$  zugrunde gelegt, d.h. Ergebnisse mit  $p \leq 0,05$  wurden als statistisch signifikant angesehen. Zusätzlich wird- wenn möglich- der exakte p-Wert angegeben. Die weitere

Verarbeitung der ausgewerteten Daten zu grafischen Darstellungen (Histogramme) erfolgte mit Microsoft Excel® XP. Zum Vergleich zweier Testverfahren wurde mittels Vierfeldertafel die Sensitivität, Spezifität und falls nötig, der kappa- Koeffizient berechnet. Zur Überprüfung der Hypothese, dass das Vorhandensein von Gräben und Wasserläufen ein Risikofaktor für die Fasciolose-Prävalenz bei Milchkühen (gemessen mittels Tankmilch-ELISA) ist, wurde ein räumliches Bayesianischen Poisson-Regressionsmodell auf Basis der Postleitzahlgebiete in Schleswig-Holstein aufgebaut. Dies wurde mittels Regressionsanalyse und dem Packet INLA durchgeführt (Anonym 2011; Martino und Rue, 2008). Dabei wurden als Zielvariable die Anzahl positiver Proben und als „offset“ die Anzahl aller gezogenen Proben mit positivem oder negativem Ergebnis in der jeweiligen räumlichen Einheit eingesetzt. Als erklärende Variable wurde die Summe der Länge aller Gräben und Wasserläufen für jede räumliche Einheit in Kilometer eingesetzt. Diese wurde durch Einsatz eines Geoinformationssystems aus den Daten zur CORINE Land Cover (CLC) ermittelt (Anonym, 2009; Anonym, 2010).

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Schlachthofdaten

Die Erfassung der Schlachthofdaten über untaugliche Lebern gelang nur mit Schwierigkeiten und unter Vorbehalt, da nicht alle Daten zu verworfenen Lebern tagtäglich genau aufgezeichnet wurden. Auf den drei befragten Schlachthöfen wurden insgesamt ca. 75 % der 364.000 bzw. 369.147 Gesamtschlachtrinder in 2005 und 2006 in Schleswig-Holstein geschlachtet. Mit Hilfe der Fleischschau-Tagebücher wurden die Daten für 2005 und 2006 ermittelt, wobei nur bei einem Schlachthof (Husum) der genaue Grund und die exakte Anzahl der untauglichen Lebern dokumentiert wurden (Tabelle 6). Nach Aussagen der beschauenden Tierärzte machten aber die anderen zur Untauglichkeit führenden Leberveränderungen (Zirrhose, Fettleber, Abszesse) nur ca. 10 % aus. Aus den Zahlen wird deutlich, dass pro Jahr ca. 10-30 % der Rinderlebern in Schleswig-Holstein wegen Leberegelbefalls verworfen werden mussten.

Tabelle 6: Schlachtzahlen und untaugliche Lebern in den Jahren 2005 und 2006 an Schlachthöfen in Schleswig-Holstein

Schlachthof	Jahr	Rinder n	verworfen Lebern	
			n	%
Danish Crown Husum	2005	91.736	11.593	12,6
	2006	99.041	10.170	10,3
Erfde	2005	30.543	10.626	34,8
	2006	33.742	14.129	41,9
Nordfleisch Bad Bramstedt	2005	152.824	41.090	26,9
	2006	140.435	34.189	24,4

## 4.2. Tankmilchproben des Landeskontrollverbands Schleswig-Holstein e.V.

### 4.2.1. Herdenprävalenz

Von den 2136 mittels ELISA-Testkit untersuchten Tankmilchproben waren 1065 Proben (49,9 %) *F. hepatica*-Antikörper-positiv (Abbildung 1).

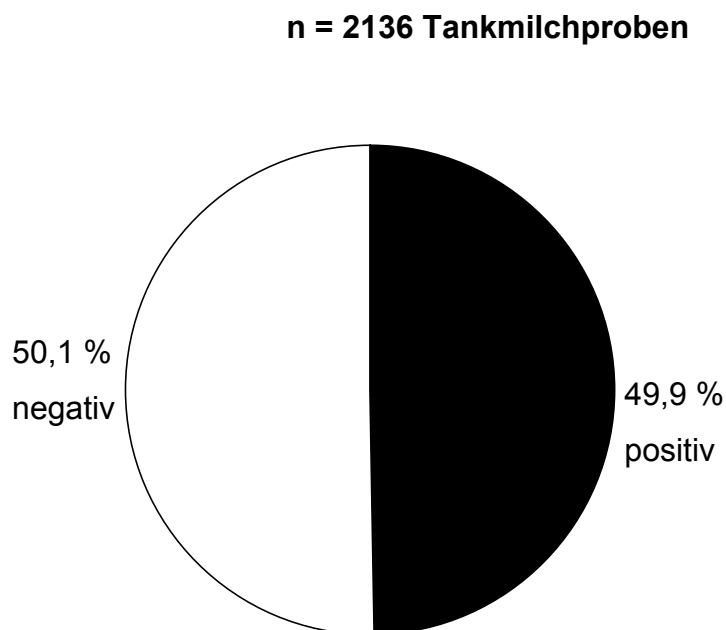


Abbildung 1: Anteil der *Fasciola hepatica*-positiven und -negativen Tankmilchproben (untersucht mit ELISA) von Betrieben des Landeskontrollverbands Schleswig-Holstein e.V.

#### **4.2.2. Geografische Lage der beprobten und positiv befundeten Betriebe**

Die vom Landeskontrollverband Schleswig-Holstein e.V. für die Untersuchung zur Verfügung gestellten Tankmilchproben stammten zum großen Teil aus Schleswig-Holstein, einzelne Proben auch aus Nordniedersachsen und Mecklenburg-Vorpommern (Abbildung 2). Der Anteil *Fasciola*-positiver Betriebe lag mehr oder weniger gleichmäßig über das gesamte Untersuchungsgebiet verteilt. Es waren keine regionalen Schwerpunktregionen für *Fasciola*-positive Betriebe zu erkennen; zwischen Küstenregion, Marschland und Geest bestand kein auffälliger Unterschied (Abbildung 2). Die Regressionsanalyse ergab, dass das auf je 100 Kilometer Grabenlänge bezogene relative Risiko (RR) für einen Milchkuhbetrieb in Schleswig-Holstein, positiv im *Fasciola*-Tankmilch-ELISA zu reagieren, annähernd 1 ist, wobei das berechnete 95%-Konfidenzintervall (KI) die 1 mit einschloss (RR = 0,92; 95 %-KI: 0,77 - 1,10). Somit war in Schleswig-Holstein die Wassergrabenlänge auf Ebene der Postleitzahlgebiete nicht als Risikofaktor für eine erhöhte Seroprävalenz der Fasciolose bei Milchkühen zu identifizieren.

### **4.3. Betriebsdaten der beprobten Betriebe des Landkreises Dithmarschen**

#### **4.3.1. Betriebsstruktur und -Management**

##### **Betriebsgrößen**

Es wurden insgesamt 131 Betriebe besucht, beprobt und Betriebsdaten per Fragebogen erfaßt. Diese 131 Betriebe hatten im Durchschnitt 80 Kühe und 48 ha Weideland bei einer Herdenleistung von 7.679 Litern pro Jahr (Tabelle 7).

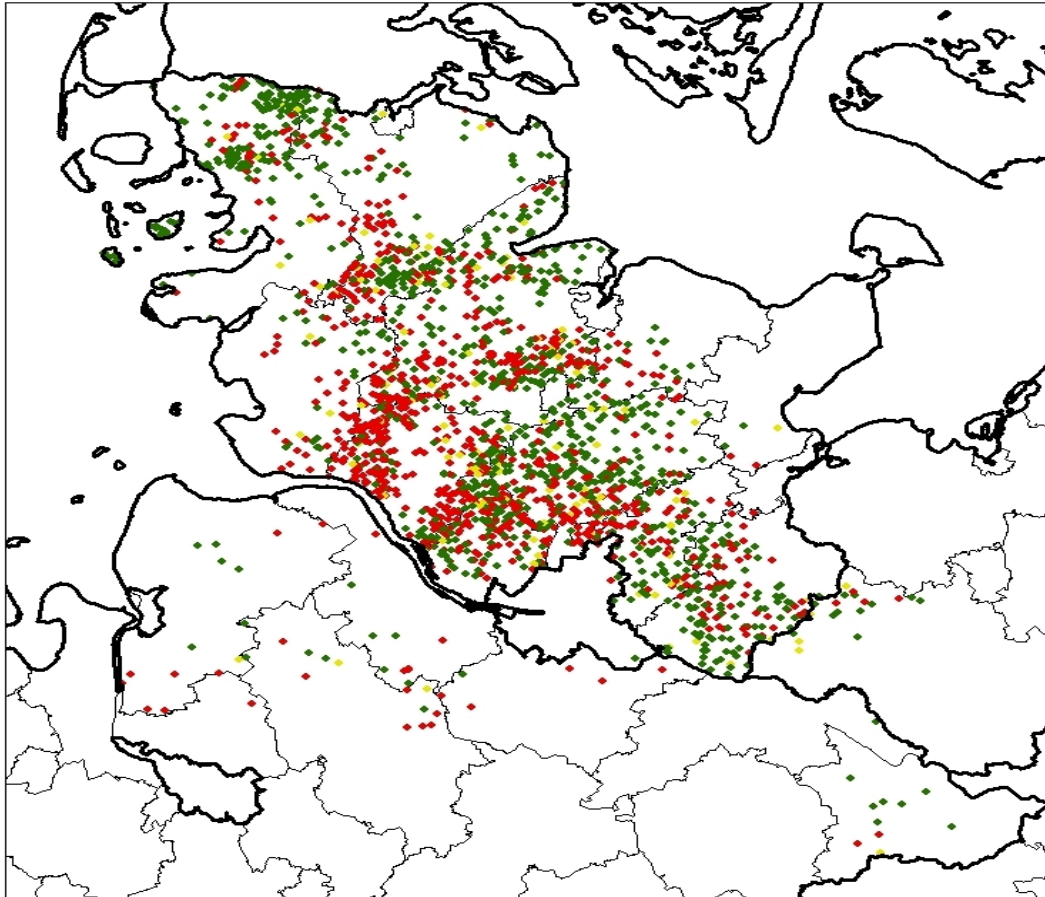


Abbildung 2: Räumliche Verteilung von 2136 beprobten Milchkuhherden des Landeskontrollverbands Schleswig-Holstein e.V. mit stark positiver (S/P-Wert >60 %; roter Punkt), mäßig positiver (S/P-Wert 30-60 %; gelber Punkt) und negativer (S/P-Wert <30 %; grüner Punkt) Reaktion im *F. hepatica*-Tankmilch-ELISA

Tabelle 7: Betriebsdaten der beprobten Betriebe in Dithmarschen

Parameter	m	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
Anzahl Rinder	258	250	65	1000	182	306
Anzahl Kühe	80	75	6	350	59	90
Herdenleistung	7679	7700	4500	10600	7000	8500
Weideland in ha	48	45	2	150	25	70

### Herdengröße

Die Herdengröße der Betriebe aus Dithmarschen lag mit einem Drittel bei 6-60 Kühen und mit einem weiteren Drittel bei 61-80 Kühen. 24 % der Betriebe melkten 81-100 Kühe und nur 15 % der Betriebe in diesem Landstrich melkten Herden mit über 100 Kühen (Abbildung 3).

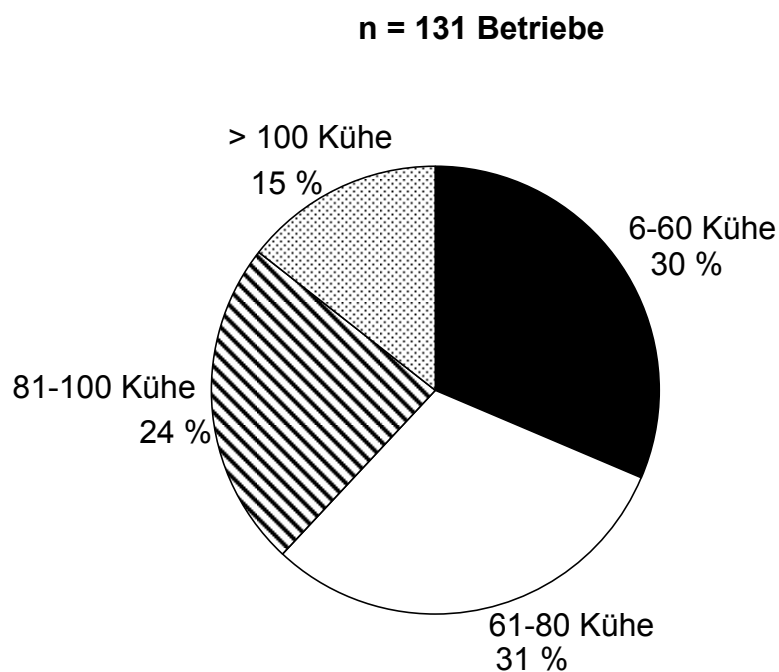


Abbildung 3: Herdengrößen der beprobten Betriebe in Dithmarschen

### Rasseverteilung

Die Rasseverteilung der Betriebe zeigt einen für diesen Landstrich typischen Schwerpunkt bei rotbunten Holstein-Kühen (46 %). Ansonsten wurden schwarzbunte Holstein-Kühe gehalten (19 %) oder es handelte sich um rot-/schwarzbunte Holstein-Mischbestände (35 %) (Abbildung 4).

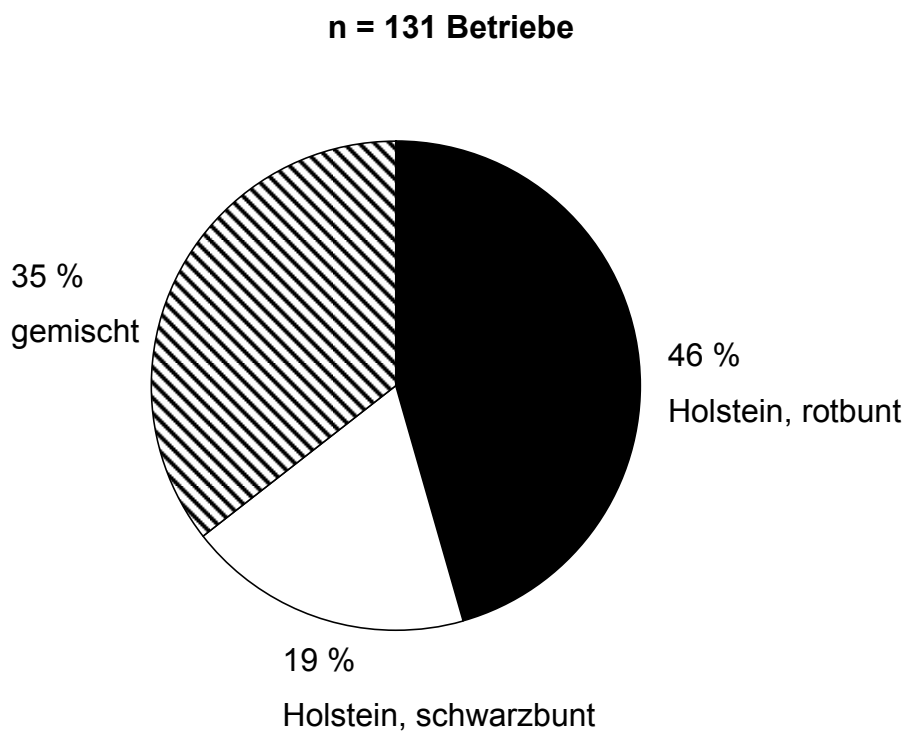


Abbildung 4: Rassenverteilung in den beprobten Betrieben in Dithmarschen

### Betriebsalter, Zukauf, Haltungsart

Fast  $\frac{3}{4}$  aller besuchten Betriebe (74 %) existierte schon länger als 50 Jahre. Nur 1,5 % der Höfe existierten weniger als 10 Jahre. Über die Hälfte der beprobten Betriebe (55 %) in Dithmarschen kaufte keine Tiere zu. Je 22 % der Betriebe kauften zu oder taten dies zumindest gelegentlich. Über 90 % der Betriebe hielten ihre Kühe in Boxenlaufställen, nur 6 % noch in der Anbindehaltung.

### 4.3.2. Haltungs- und Fütterungsmanagement

#### Weidemanagement

Der überwiegende Teil der Betriebe gewährte den Milchkühen Weidegang, lediglich in 9,2 % der Höfe wurde eine ganzjährige Stallhaltung betrieben (Tabelle 8).

Tabelle 8: Weide- und Stallhaltung der beprobten Betriebe

		Weidegang	Stallhaltung	Gemischt
Kühe	Betriebe (n)	103	12	16
	%	78,6	9,2	12,2
Jungtiere	Betriebe (n)	120	2	9
	%	91,6	1,5	6,9

Die Weideperiode dauerte beim überwiegenden Teil der Betriebe (79,1 %) zwischen 3-6 Monate an. In 25 Betrieben (19,4 %) dauerte sie sogar länger als 6 Monate. 67,7 % der Betriebe hatten getrennte Kuh- und Jungtierweiden, 32,3 % ließen ganz oder zumindest teilweise ihre Kühe auf die gleichen Weiden wie das Jungvieh. 26,2 % der Betriebe bevorzugten eine Standweide, bei 43,8 % wurden Wechselweiden mit Wechsel zwischen 1-42 Tagen genutzt und 30,0 % der Betriebe besaß Wechsel- und Standweiden. Über die Hälfte der Betriebe (55 %) hielten auf ihren Weiden ausschließlich Kühe bzw. Jungtiere, ein Drittel der Betriebe (35,9 %) nutzte die Rinderweiden auch für Schafe. Weiterhin wurden in 109 Betrieben (83,2 %) Wildwiederkäuer auf den Kuh- und Jungtierweiden beobachtet, lediglich in 12 Betrieben war dies noch nicht beobachtet worden.

#### Düngung, Zufütterung

Der überwiegende Teil der Betriebe düngte die Weideflächen mit Gülle oder Mist (78,6 %). Die Düngung erfolgte bei 90,4 % der Betriebe 1-2 x im Jahr. Nur 21,4 % ließen das Grünland ungedüngt. Die gedüngten Flächen blieben zu 47,1 % weniger als 8 Wochen nach Gülleausbringung unbeweidet. Während der Weidesaison fütterten 53 Betriebe (40,5 %) über die gesamte Weidesaison (72,2 %) auf der Weide zu. Von den zufütternden Betrieben erfolgte bei 27,8 % die Zufütterung nur, wenn zu wenig Grundfutter auf der Weide vorzufinden war. 58,8 % der Betriebe fütterten auf der Weide nicht zu.

### Wasserversorgung

Während der Weidesaison muß eine Wasserversorgung auf der Weide gewährleistet sein. Die Herkunft dieses Wassers war sehr unterschiedlich. Gut ein Drittel der Betriebe (38,2 %) hielt einen Tränkwagen oder eine Tränke mit Frischwasseranschluß in Trinkwasserqualität für ihre Tiere bereit. Alle anderen Betriebe nutzten zur Wasserversorgung ihrer Weidetiere zusätzlich oder allein Bach- oder Grabenwasser (Tabelle 9).

Tabelle 9: Wasserversorgung auf der Weide der beprobten Betriebe

Art der Wasserversorgung	Betriebe	
	n	%
Tränkwagen/Frischwasseranschluß	50	38,2
Bachwasseranschluß	11	8,4
Wassergraben	3	2,3
Zugang z. Wassergraben/Bachwasser	34	26
Kombinationstränke Bach- m. Frischwasser	56	42,7

Bei über der Hälfte der beprobten Betriebe waren die Tränkestellen jeglicher Art unbefestigt (61,5 %). Natürliche Wasserstellen wie Gräben oder Seen, die bei ca. einem Drittel der Betriebe auf den Weideflächen vorzufinden waren (Tabelle 10), wurden von 23,3 % der Betriebe nicht abgezäunt.

Tabelle 10: Natürliche Wasserstellen auf den Weiden der beprobten Betriebe

Natürliche Wasserstellen	Betriebe	
	n	%
keine	50	38,2
Wassergräben	27	20,6
Teich/See	13	9,9
davon Wassergräben, Teiche/Seen nicht abgezäunt	30	23,3
tiefe Spurrillen	10	7,6

### Heu, Grassilage

Bei 26,7 % der Dithmarscher Betriebe wurde Heu in der Stallperiode zugefüttert. Die eigenproduzierte Grassilage wurde zu 42,0 % von wissentlich leberegelgefährdeten Weideflächen gewonnen. 47,3 % silierten das Grundfutter der Milchkühe von unbedenklichen Weiden. Die Grassilos wurden frühestens nach 4 Wochen geöffnet und verfüttert.

### Weideböden

Bei einem Drittel der beprobten Betriebe war der Hauptbestandteil der Weideflächen Geestboden. Bedingt durch die Küstenlage Dithmarschens war auch der fruchtbare Marschboden weit verbreitet (Abbildung 5). Einen beachtlichen Anteil an den Weideflächen hatten Moorböden bzw. Weiden mit Mooranteil. Über die Hälfte der Befragten (51,1 %) gab an, auf ihren Weiden Ton, Lehm oder Schlamm zu haben.

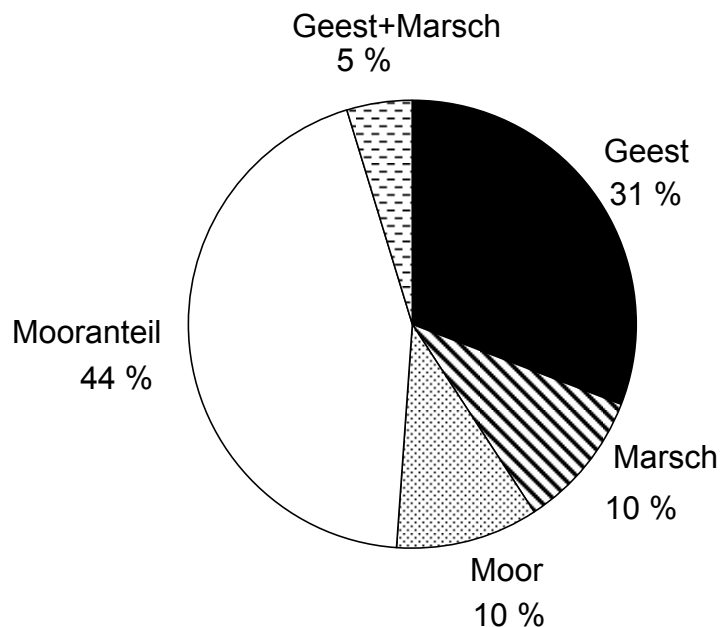


Abbildung 5: Bodenverteilung auf Weideflächen der beprobten Betriebe

### 4.3.3. Kenntnisstand der Landwirte über die Leberegelsituation

Fast allen Landwirten war der große Leberegel bekannt (95,4 %). Nach genauerem Nachfragen über Krankheitsbild, Ansteckung, Vorbeuge und Therapie bewiesen jeweils über die Hälfte der Befragten richtige Kenntnisse (Tabelle 11).

Tabelle 11: Kenntnisstand der Landwirte über den Großen Leberegel

	ja (n)	ja (%)	n (%)
Leberegel bekannt	125	95,4	
Krankheitsbild bekannt	70	53,4	
struppiges Haarkleid	6		8,6
Abmagerung/ Kümmerer	8		11,4
Durchfall	6		8,6
Sonstiges	22		31,4
mehr als 1 richtige Antwort	28		40
Ansteckungsweg bekannt	88	67,2	
nasses Gras	17		19,3
Schnecke	23		26,1
Wasserlöcher u. ä.	21		23,9
Sonstiges	9		10,2
mehr als 1 richtige Antwort	18		20,5
Vorbeuge bekannt	87	66,4	
Flächen trocknen/ Einzäunen	28		32,2
Schneckenbekämpfung	0		0
Entwurmung	21		24,1
Sonstiges	27		31
mehr als 1 richtige Antwort	11		12,6
Therapie bekannt	70	53,4	
Entwurmung	65		92,9
Lebertherapie d. Kuh	0		0
Sonstiges	5		7,1

#### 4.3.4. Parasitenmanagement

Die überwiegende Zahl der Landwirte (89,3 %) führte eine regelmäßige Parasitenbekämpfung durch. Dabei wurden die Landwirte hauptsächlich vom Tierarzt (61,6 %) beraten. Allerdings führten mehr als die Hälfte der Landwirte (51,9 %) keine Leberegelbehandlungen durch, wobei als Hauptgründe mangelnde Notwendigkeit (36,8 %), keine für Milchkühe verfügbaren Präparate (10,3 %) und arbeitsintensive Tätigkeit (10,3 %) genannt wurden.

#### Behandlungsintervalle bei der Leberegelbehandlung

Knapp die Hälfte der Landwirte (48,1 %) führte Leberegelbehandlungen durch und zwar überwiegend 1x jährlich (85,7 %), 12,7 % taten dies 2x jährlich. Die Betriebe, die eine Behandlung durchführten, taten dies schon seit mehr als 10 Jahren (58,7 %). Die Behandlung erfolgte bei über der Hälfte der beprobten Betriebe (60,3 %) im Januar/Februar, bei 22,2 % der Betriebe erfolgte die Behandlung im Herbst zur Aufstallung. Behandelt wurden fast nur die weibliche Tiere und hier zu 27,0 % sowohl die Kühe und Trockensteher als auch die erstömmrigen weiblichen Rinder und die tragenden Färsen. 11,1 % der Betriebe behandelten auch die erstömmrigen männlichen Rinder mit. Insgesamt wurden bei 47,7 % der Betriebe auch die Kühe in die Leberegelbehandlung miteinbezogen.

#### Eingesetzte Fasciolizide

Über die Hälfte der Betriebe setzte zur Leberegelbehandlung Triclabendazol ein (58,7 %). Behandlungen mit Albendazol sowie Kombinationsbehandlungen mit Triclabendazol und Albendazol wurden zu je 7,9 % durchgeführt (Tabelle 12). Closantel kam bei 4,8 % der Betriebe zum Einsatz. Gut einem Drittel (31,7 %) der Landwirte war ein weiteres Leberegelpräparat als das von ihnen verwendete bekannt.

Tabelle 12: Eingesetzte Fasciolizide der beprobten Betriebe

Wirkstoff(e)	n	%
Triclabendazol	37	58,7
Albendazol	5	7,9
Closantel	3	4,8
Kombination Triclabendazol+ Closantel	5	7,9
Kombination Triclabendazol+ Albendazol	5	7,9
weiß nicht	8	12,7

### Applikationsform

Bei der Durchführung der Entwurmung hielten sich 40 Betriebe (63,5 %) an die Angaben des Herstellers und applizierten das Medikament jedem Tier einzeln ins Maul. Bei 18 Betrieben (28,6 %) erfolgte eine Gemeinschaftsbehandlung über das Futter.

### Zeitraum der letzten Leberegelbehandlung vor Probennahme

Die letzte Leberegelbehandlung vor dem Zeitpunkt der Probennahme (November 2005-April 2006) erfolgte fast bei der Hälfte der Betriebe (41,1 %) im Frühjahr oder Herbst 2005 (Abbildung 6). Bei einem Drittel der Betriebe (29,4 %) lag die letzte Behandlung schon mindestens zwei Jahre zurück.

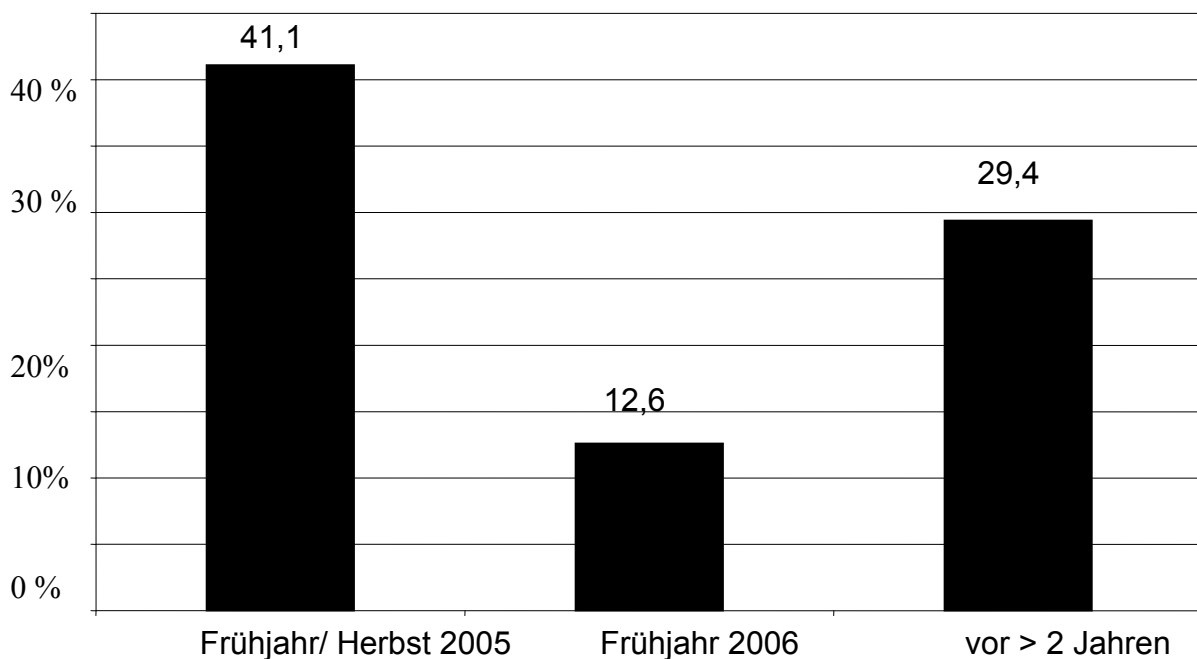


Abbildung 6: Letztmalig durchgeführte Leberegelbehandlung vor der Probennahme (Nov. 2005 – April 2006)

### Weidehygiene-Maßnahmen

Bezüglich des Leberegels trafen 17,6 % der Betriebe vorbeugende Maßnahmen, wobei das verbesserte Weidemanagement wie Naßflächen drainieren, Zäune ziehen und saubere Tränken bereithalten mit 64,7 % am häufigsten praktiziert wurde.

### Behandlung gegen Magen-Darm-Würmer

Zum "Parasitenmanagement" gehörten auch die Behandlungen gegen Magen-Darm-Würmer. Hier führten 127 Betriebe (96,9 %) regelmäßig Behandlungen durch. Die Hälfte der Betriebe (49,6 %) verwendeten pour-on Präparate oder eine Kombination aus Bolus und pour-on Präparaten. Die Kühe wurden bei einem Drittel der Betriebe (30 %) in die Maßnahmen miteinbezogen. Über die Hälfte der Landwirte (65,4 %) entwurmt ihre Tiere prophylaktisch 1-2 x jährlich, ein weiteres Drittel (29,1 %) taten dies 2-3 x jährlich.

### Behandlung gegen Ektoparasiten

Knapp ein Viertel der Landwirte (22,9 %) gab an, keine Ektoparasiten in ihrem Betrieb beobachtet zu haben. Räudemilben, Haarlinge und Läuse sowie Fliegen traten bei den Betrieben etwa zu gleichen Teilen (14-19 %) auf. Der überwiegende Teil der Landwirte (83,2 %) führte Behandlungen gegen Ektoparasiten durch. Bei 73,1 % der Betriebe kam ein pour-on Präparat zum Einsatz und 11,1 % der Landwirte bezog den Stall in die Maßnahmen mit ein. Über die Hälfte der Landwirte (57,4 %) behandelte alle Tiere einer Gruppe, ein Drittel der Landwirte (30,6 %) behandelte den Gesamtbestand. 12 % der Landwirte behandelte nur die befallenen Tiere. Über die Hälfte der Landwirte (54,1 %) führte eine Ektoparasitenbehandlung prophylaktisch 1-2x jährlich durch, 36 % taten dies nur bei akutem Befall.

#### 4.3.5. Schlachthofrückmeldungen

Über die Hälfte der Betriebe (53,4 %) hatte in den letzten 3 Jahren noch nie eine Meldung wegen verworfener Lebern vom Schlachthof erhalten. Nur 2,3 % der Betriebe hatten mehr als 10x eine entsprechende Rückmeldung erhalten (Tabelle 13). Der überwiegende Teil der Landwirte (86,3 %) hatte sich selbst noch nie beim Schlachthof nach verworfenen Lebern ihrer angelieferten Tiere erkundigt, nur 13,7 % der Betriebe hatten selbst nachgefragt.

Tabelle 13: Schlachthofrückmeldungen der beprobten Betriebe

Rückmeldung vom Schlachthof	n	%
keine in 3 Jahren	70	53,4
1x in 3 Jahren	26	19,8
2- 10x in 3 Jahren	32	24,4
> 10x in 3 Jahren	3	2,3

## 4.4. Einzeltierdaten der beprobten Betriebe des Landkreises Dithmarschen

### 4.4.1. Alter, Laktation, Leistung

Auf 131 Betrieben wurden je sieben Kühe beprobt und die dazugehörigen Milchleistungs- und Produktionsdaten erfaßt, insgesamt von 917 Tieren. Das Durchschnittsalter der beprobten Tiere lag bei 4,7 Jahren, die durchschnittliche Leistung bei 7271 Litern in 2,5 Laktationen. 75 % der Kühe waren jünger als 6 Jahre (Tabelle 14).

Tabelle 14: Einzeltiermilchleistungsdaten der beprobten Betriebe in Dithmarschen

Parameter	m	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
Alter (Jahre)	4,7	4	2	15,5	3	6
Laktationszahl	2,5	2	1	13	1	3
305-Tage-Leistung in Liter	7271	7187	3044	11983	6250	8178

Die weiteren statistischen Auswertungen ergaben zwei signifikante Zusammenhänge: Mit steigender Anzahl der Laktationen stieg die Jahresmilchleistung (305-Tage-Leistung) im Mittel um knappe 200 Liter pro Kuh mit einem p-Wert von  $< 0,001$  und Korrelationskoeffizienten  $r_s = 0,273$ . Ebenso produziert eine Kuh in jedem Lebensjahr durchschnittlich 150 Liter Milch mehr als im Vorjahr ( $p = 0,001$ ,  $r_s = 0,226$ ).

#### 4.4.2. Trächtigkeitsstadium zum Zeitpunkt der Beprobung

Die Mehrzahl der beprobten Kühe befand sich im 1. oder 2. Trächtigkeitsdrittel, 22,9 % der Kühe waren nicht tragend (Tabelle 15).

Tabelle 15: Trächtigkeitsstadien bei Beprobung

Trächtigkeitsstadium	Kühe (n)	%
nicht tragend	151	22,9
frühtragend	231	35,1
2. Drittel	228	34,7
hochtragend	48	7,3

#### 4.4.3. Vorangegangene Fasciolizidbehandlung vor Probennahme

Die Beprobung der Kühe fand im November 2005 bis April 2006 statt. Da die routinemäßige Entwurmung gegen Leberegel durch den Landwirt bei Aufstallung im Herbst oder im Februar erfolgte, lag die letzte Leberegelbehandlung durchschnittlich ca. 10 Monate zurück (Tabelle 16).

Tabelle 16: Abstand von letzter Fasciolizidbehandlung zur Probennahme

	m	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
Monate	10,6	10	0,1	33	5	14

### 4.5. Kotprobenergebnisse

#### 4.5.1. Einzeltierprävalenz

In 133 (14,5 %) der insgesamt 917 untersuchten Kotproben wurde mindestens ein Ei von *Fasciola hepatica* nachgewiesen.

#### 4.5.2. Herdenprävalenz

In etwas mehr als der Hälfte der beprobten Betriebe wurden bei keiner der jeweils 7 untersuchten Kühe Leberegeleier nachgewiesen. In 4 % der Herden schieden mehr als 50 % der untersuchten Kühe Leberegeleier aus (Abbildung 7).

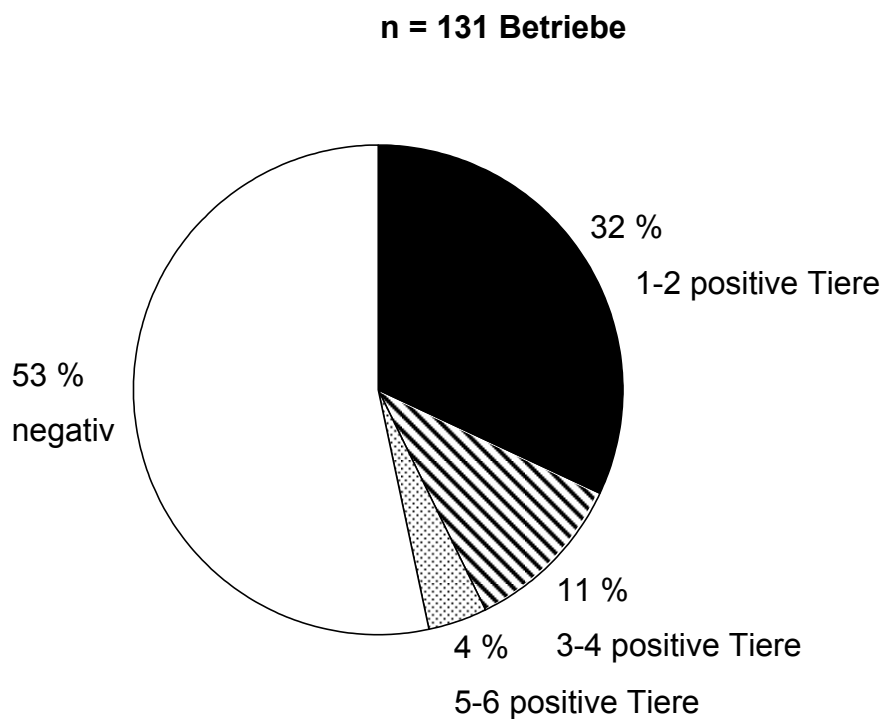


Abbildung 7: Verteilung der innerbetrieblichen Prävalenz der *Fasciola*-Ei-Ausscheidung der jeweils 7 beprobten Milchkühe in Dithmarscher Herden

## 4.6. Serologische Ergebnisse der Individualmilchproben sowie dazugehöriger Tankmilchproben der beprobten Betriebe

### 4.6.1. Einzeltierprävalenz

411 (44,8 %) Proben der insgesamt 917 Individualmilchproben, die mit Hilfe des ELISA-Testkits auf Antikörper gegen *F. hepatica* untersucht worden waren, erwiesen sich als positiv.

### 4.6.2. Herdenprävalenz

In 73,3 % der 131 beprobten Dithmarscher Betriebe ließen sich bei mindestens einer von 7 untersuchten Individualmilchproben *Fasciola*-Antikörper nachweisen; in 16 % der Betriebe erwiesen sich alle 7 beprobten Kühe als Antikörper-positiv (Abbildung 8).

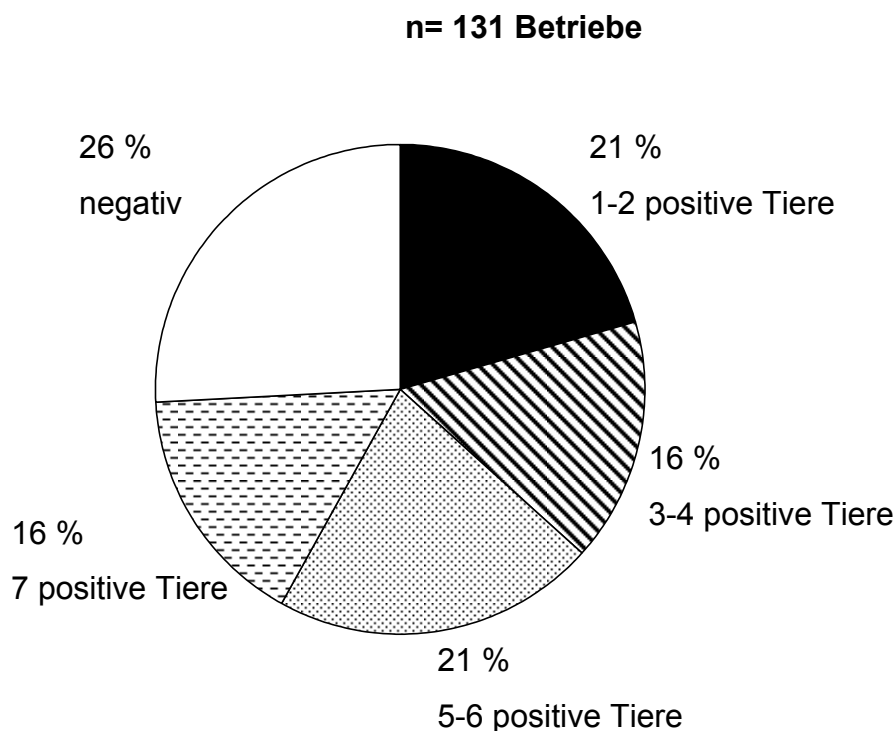


Abbildung 8: Verteilung der innerbetrieblichen Prävalenz des Nachweises von *F. hepatica*-Antikörpern (ELISA) in Individualmilchproben der beprobten Dithmarscher Herden

## **4.7. Wechselwirkungen zwischen dem Nachweis einer *Fasciola*-Infektion und Betriebsparametern**

### **4.7.1. Weide**

Zwischen dem Nachweis von *Fasciola*-Eiern im Kot oder von *Fasciola*-spezifischen Antikörpern in der Milch und einem gewährten Weidegang für die Milchkühe bestand kein signifikanter Zusammenhang ( $p > 0,05$ ; verallgemeinerter Fisher-Test nach dem Freeman-Halton-Prinzip). Es konnte auch kein statistisch gesicherter Zusammenhang zum gemeinsamen Beweiden der Kuhweiden mit Schafen oder anderen Tieren nachgewiesen werden (Anhang 4).

### **4.7.2. Abzäunung von Wasserstellen**

Betriebe, in denen natürliche Wasserstellen nicht ausgezäunt waren, waren im Individualmilch-ELISA tendentiell häufiger *Fasciola*-positiv als jene, in denen Wasserstellen ausgezäunt waren; dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht abzusichern ( $p = 0,077$ ) (Anhang 4).

### **4.7.3. Leberegelbehandlung**

Es bestand weiterhin keine signifikante Wechselwirkung zwischen einem positiven *Fasciola*-Nachweis und etwaigen auf dem jeweiligen Betrieb durchgeführten Leberegelbehandlungen (Anhang 4).

## 4.8. Wechselwirkungen zwischen dem Nachweis einer *Fasciola*-Infektion und Einzeltierparametern

### 4.8.1. Laktation

Der Anteil *Fasciola*-Ei-ausscheidender Kühe war im 1. Laktationsjahr tendenziell am höchsten und nahm in den folgenden Laktationsjahren ab (Abbildung 9). Dies war allerdings statistisch nicht abzusichern ( $p > 0,05$ ).

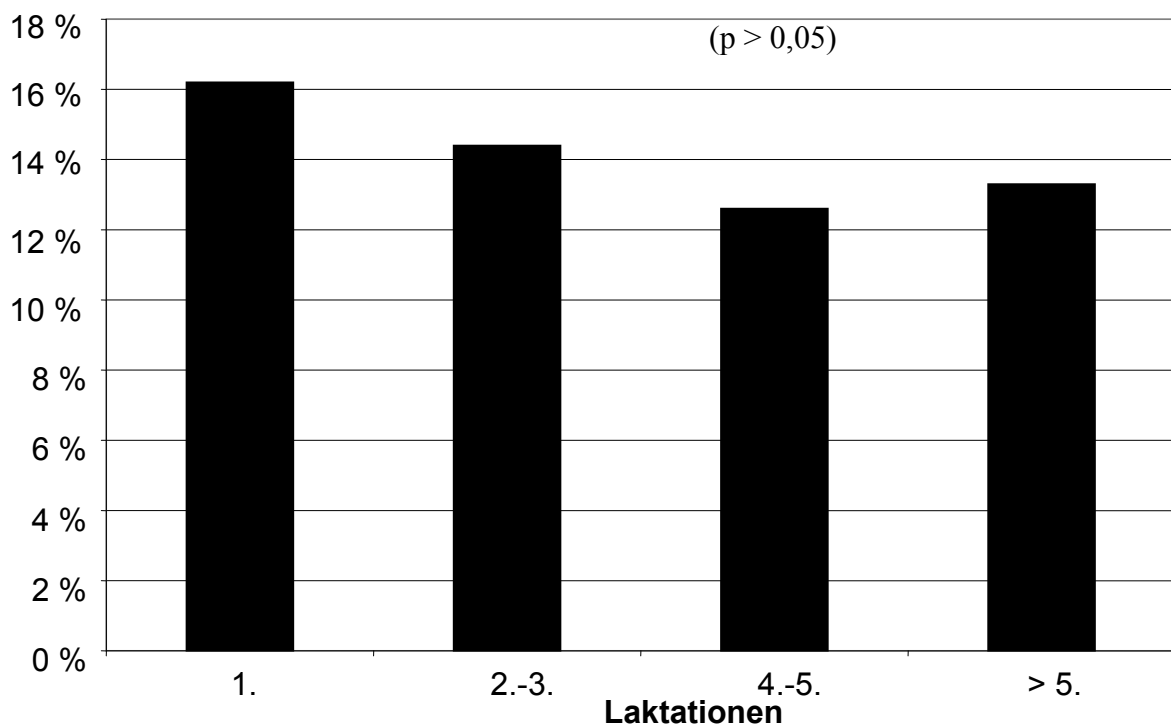


Abbildung 9: Anteil (%) der Kühe mit einer *Fasciola*-Ei-Ausscheidung in Abhängigkeit von der Laktationszahl

Auch der Anteil *Fasciola*-Antikörper-positiver Kühe war im 1. Laktationsjahr tendenziell am höchsten und nahm in den folgenden Laktationsperioden ab (Abbildung 10). Auch dies war statistisch nicht abzusichern ( $p > 0,05$ ).

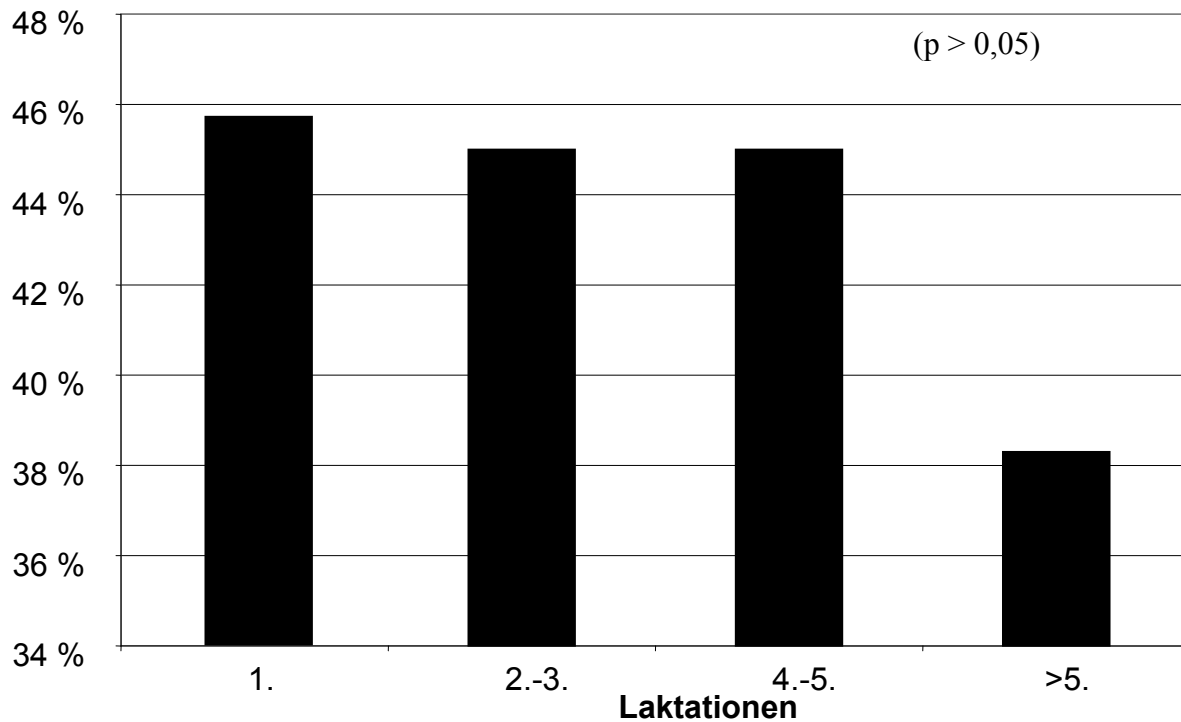


Abbildung 10: Anteil (%) der Kühe mit *Fasciola*-spezifischen Antikörpern in der Milch in Abhängigkeit von der Laktationszahl

#### 4.8.2. Vorangegangene Fasciolizid-Behandlung

Zwischen dem Nachweis von *Fasciola*-Eiern und dem Zeitintervall zur vorherigem Fasciolizid-Medikation bestand keine statistisch abzusichernde Korrelation ( $p > 0,05$ ). Der Anteil von Eiausscheidern bei Kühen, deren Behandlung 2-3 Monate, 4-6 Monate oder  $>7$  Monate zurücklag, betrug 4,5 %, 13,5 % bzw. 8,2 %. Insgesamt waren bei 8,1 % aller Fasciolizid-behandelten Kühe *Fasciola*-Eier nachzuweisen.

Insgesamt waren bei 39 % aller Fasciolizid-behandelten Kühe *Fasciola*-spezifische Antikörper in der Milch nachzuweisen. Es bestand jedoch keine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl *Fasciola*-Antikörper-positiver Kühe und dem Zeitintervall zur letzten Fasciolizid-Behandlung ( $p > 0,05$ ). Kühe, bei denen der Fasciolizid-Einsatz  $<1$  Monat, 2-3 Monate, 4-6 Monate oder  $>7$  Monate zurücklag, waren Individualmilch-ELISA zu 47,1 %, 50,0 % 35,1 % bzw. 37,6 % Antikörper-positiv.

#### 4.8.3. Alter

*Fasciola*-Ei-ausscheidende und -Antikörper-positive Kühe ließen sich in allen Altersstufen nachweisen. Jüngere Kühe (2-3½ Lebensjahre) waren zu 15,8 % und 45,5 % Ei- bzw. Antikörper-positiv. Kühe mittleren Alters waren zu 14,9 % und 46,9 % (4½-5 Lebensjahre) sowie zu 11,7 % und 40 % (6-7½ Lebensjahre) Ei- bzw. Antikörper-positiv. Bei alten Kühen ( $> 8$  Lebensjahre) betrug der Anteil von *Fasciola*-Eiausscheidern oder -Antikörperträgern 14,6 % bzw. 42,7 %. Insgesamt war das Alter der Milchkühe nicht signifikant ( $p > 0,05$ ) mit dem koproskopischen oder serologischen Nachweis einer *Fasciola*-Infektion korreliert.

#### 4.8.4. Gestationsstadium

Das Gestationsstadium der beprobten Kühe war signifikant mit dem positiven Nachweis einer *Fasciola*-Infektion assoziiert: Mit zunehmender Trächtigkeitsdauer stieg der Anteil Eiausscheidender (Abbildung 11) und Antikörper-positiver Kühe (Abbildung 12) an.

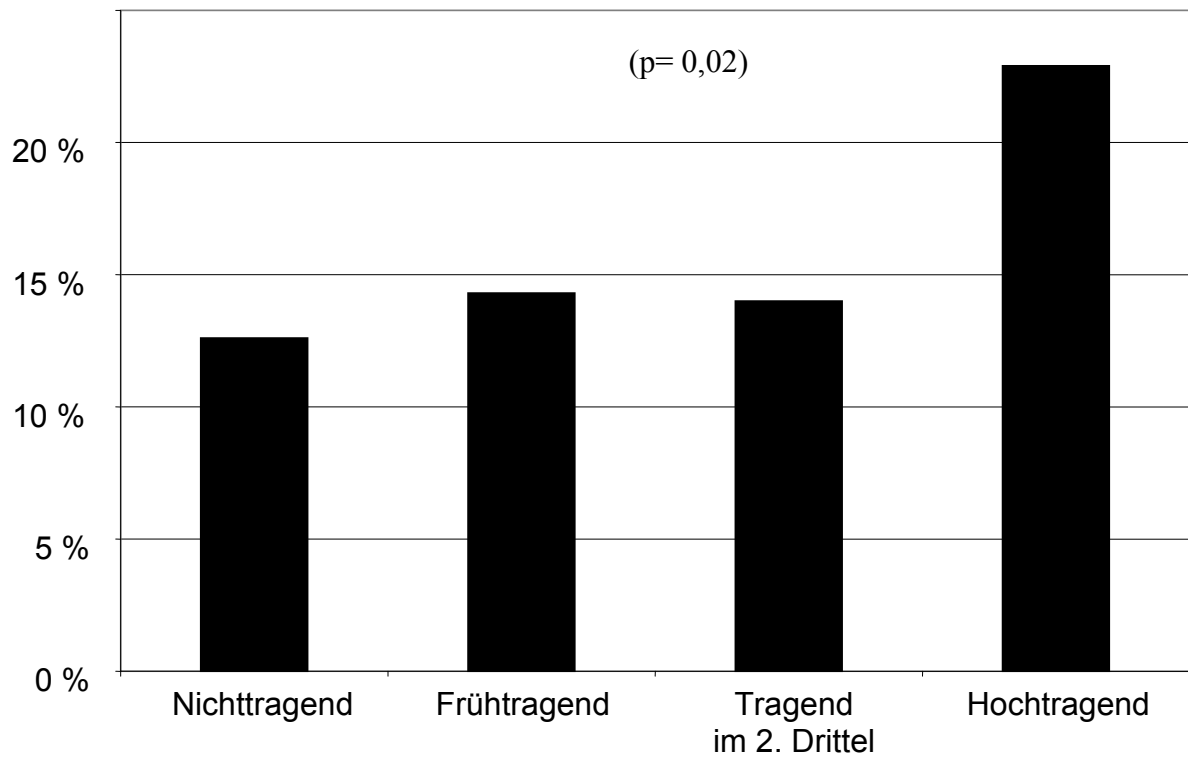


Abbildung 11: Anteil (%) der Kühe mit *Fasciola*-Ei-Ausscheidung in Abhängigkeit vom Gestationsstadium

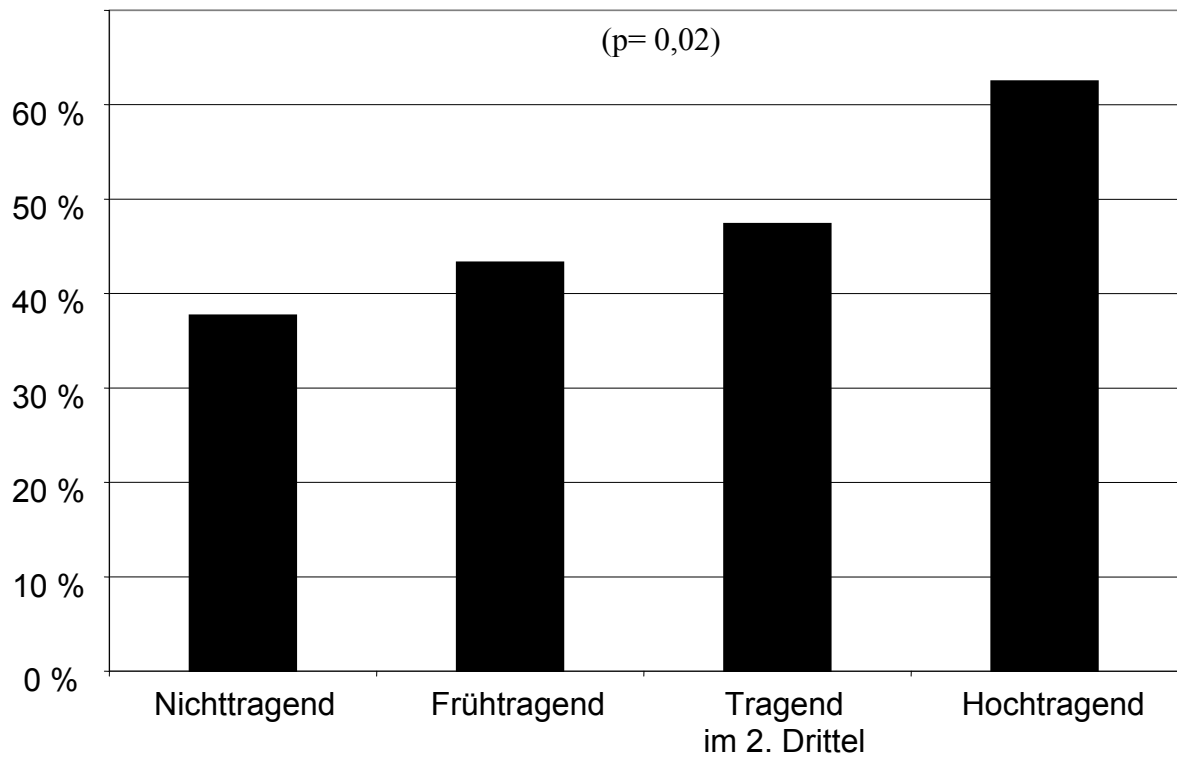


Abbildung 12: Anteil (%) der Kühe mit *Fasciola*-spezifischen Antikörpern in der Milch in Abhängigkeit vom Gestationsstadium

#### 4.8.5. Milchleistung

Zwischen dem diagnostizierten *Fasciola*-Befall und der Jahresmilchleistung (305-Tage-Leistung) bestand eine statistisch abgesicherte Assoziation: Die Jahresmilchleistung der Kühe mit nachgewiesener Ei-Ausscheidung (Tabelle 17) oder Nachweis *Fasciola*-spezifischer Antikörper (Tabelle 18) war im Mittel 417 Liter bzw. 279 Liter geringer als jene der negativen Kühe.

Tabelle 17: Jahresmilchleistung der beprobten Kühe mit positivem und negativem *Fasciola*-Ei-Nachweis

	<i>Fasciola</i> - Ei positive Kühe	<i>Fasciola</i> - Ei negative Kühe
Jahresmilchleistung in Litern (305-Tage)		
m	6913	7330
Minimum	3588	3044
Maximum	10633	11983

Tabelle 18: Jahresmilchleistung der beprobten Kühe mit positivem und negativem *Fasciola*-Antikörper-Nachweis in der Milch

	Antikörper- positive Kühe	Antikörper- negative Kühe
Jahresmilchleistung in Litern (305-Tage)		
m	7117	7396
Minimum	3248	3044
Maximum	11950	11983

#### 4.9. Methodenvergleich Kotuntersuchung- Milchuntersuchung

Ein *Fasciola*-Befall wurde mit der koproskopischen Untersuchung bei 133 (14,5 %) der 917 in Dithmarscher Betrieben beprobten Milchkühe diagnostiziert. Dabei schieden 411 (44,8 %) der 917 Kühe spezifische Antikörper mit der Milch aus (Abbildung 13). Der Unterschied der Ergebnisse beider Methoden war hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ; Chi-Quadrat-Test).

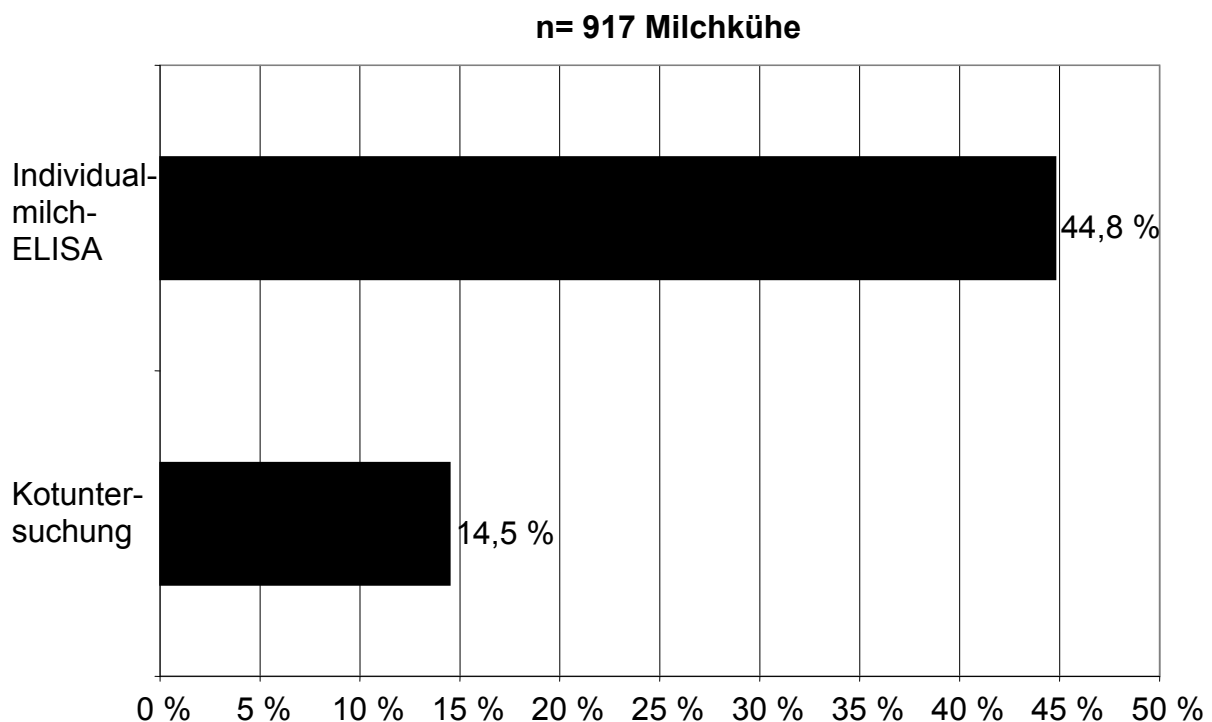


Abbildung 13: Anteil (%) von Milchkühen mit *Fasciola*-Befall, nachgewiesen mittels Kotuntersuchung (Sedimentationsverfahren) oder ELISA-Untersuchung von Individualmilchproben

Auf Einzeltierebene wurde beim Methodenvergleich nur eine geringe Übereinstimmung ( $\kappa = 0,29$ ) der Ergebnisse der Kotuntersuchung und des Individualmilch-ELISA festgestellt. Wenn die zur Kotuntersuchung als "Goldstandard" gewählt wurde, war die relative Sensitivität und relative Spezifität des Individualmilch-ELISA knapp 92 % bzw. 63 % (Tabelle 19).

Auch auf Betriebsebene ergab sich eine nur geringe Übereinstimmung ( $\kappa = 0,36$ ) der Ergebnisse aus Kotuntersuchung und Tankmilch-ELISA-Untersuchung. Für den Tankmilch-ELISA wurde im Vergleich zur Kotuntersuchung eine relative Sensivität von 93 % und eine relative Spezifität von 44 % ermittelt (Tabelle 19).

Tabelle 19: Vergleich der mittels Kotuntersuchung (Sedimentationsverfahren) und Milch-ELISA-Untersuchung gewonnenen Ergebnisse des *Fasciola*-Nachweises

	Milchkuh (Individualmilch-ELISA)		Betrieb (Tankmilch-ELISA)	
	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Kot positiv	122	11	57	4
Kot negativ	289	495	39	31
Rel. Sensitivität (%)	91,7 (85,7 – 95,8) <sup>1</sup>		93,4 (84,1 – 98,2)	
Rel. Spezifität (%)	63,1 (59,7 – 66,5)		44,3 (32,4 – 56,7)	
Kappa-Koeffizient	0,29 (0,24 – 0,34)		0,36 (0,21 – 0,51)	

<sup>1</sup>95 %-Konfidenzintervall

Nach Untersuchung von Individualmilchproben oder Tankmilchproben mit dem *F. hepatica*-ELISA erwiesen sich 96 (73,3 %) bzw. 97 (74,0 %) der 131 Dithmarscher Betriebe als *Fasciola*-positiv (Abbildung 14); dieser Unterschied war nicht signifikant ( $p > 0,05$ ; Chi-Quadrat-Test). So war auf Betriebsebene die Übereinstimmung der Resultate des Individualmilchproben-ELISA und des Tankmilchproben-ELISA gut ( $\kappa = 0,73$ ). Bei Verwendung des Individualmilch-ELISA als “Goldstandard” hatte der Tankmilch-ELISA eine relative Sensivität von 91,8 % und eine relative Spezifität von 82,4 % (Tabelle 20).

Tabelle 20: Vergleich der mittels Individualmilch- und Tankmilch-*Fasciola*-ELISA gewonnenen Ergebnisse

		Tankmilch-ELISA	
		Positiv	Negativ
Individualmilch-ELISA	Positiv	89	8
	Negativ	6	28
Rel. Sensitivität (%)		91,8 ( 84,4 – 96,4) <sup>1</sup>	
Rel. Spezifität (%)		82,4 ( 65,4 – 93,2)	
Kappa-Koeffizient		0,73 (0,58 – 0,87)	

<sup>1</sup>95 %-Konfidenzintervall

Der Anteil der mittels Kotuntersuchung als *Fasciola*-positiv identifizierten Dithmarscher Betriebe (46,6 %) war hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ; Chi-Quadrat-Kontingenztafel-Test) niedriger als jener nach Untersuchung mit dem Individualmilch- oder Tankmilch-ELISA (Abbildung 14).

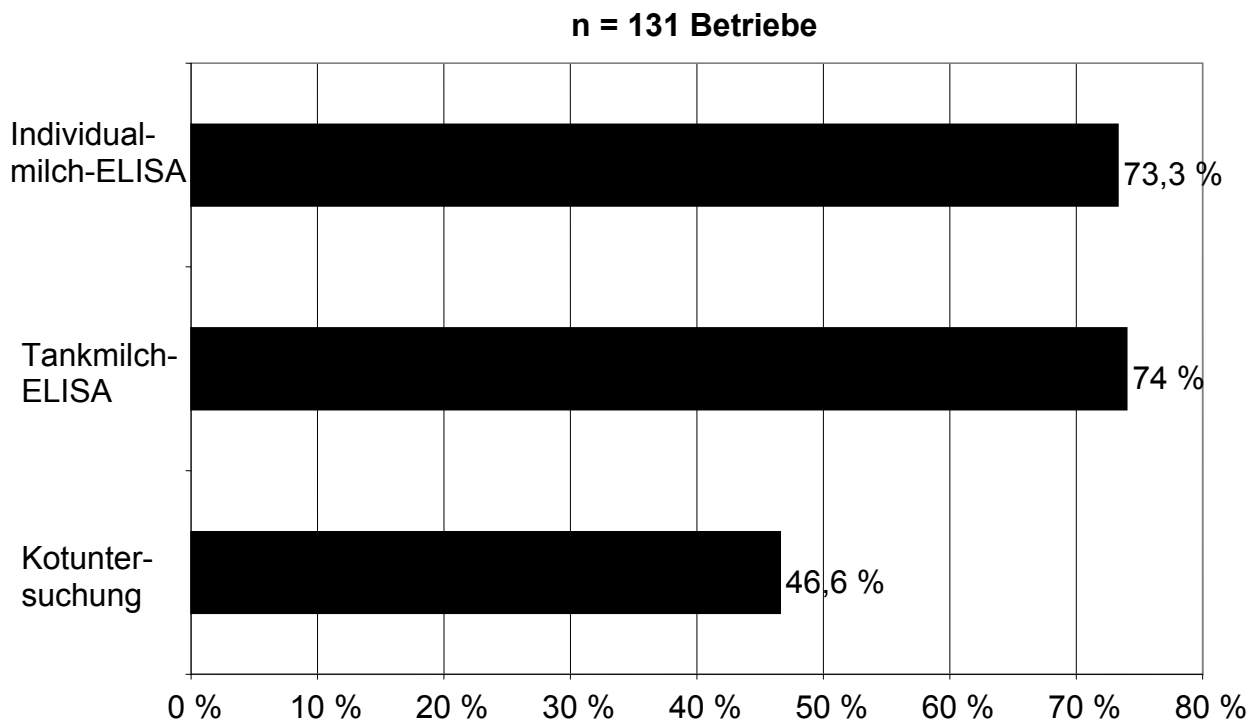


Abbildung 14: Anteil (%) der als *Fasciola*-positiv ermittelten Milchkuhbetriebe bei Anwendung der Kotuntersuchung (Sedimentationsverfahren) oder dem Milch-ELISA (Individualmilch- oder Tankmilchproben)

## 5. Diskussion

### 5.1. Herden- und Einzeltierprävalenzen, Testauswahl

Die letzten Daten zum Vorkommen und zur Verbreitung des *Fasciola*-Befalls in Milchkuhherden in Schleswig-Holstein liegen etwa 20 Jahre zurück. Ende der 1960er Jahre wurde die Prävalenz mit ca. 80 % angegeben (Funk, 1973). Ab Mitte der 1970er Jahre erfolgten flächendeckende, planmäßige Bekämpfungsmaßnahmen, die – möglicherweise begünstigt durch Klimabedingungen (Siegert, 1984) – zu einer wesentlichen Reduktion der Fasciolose-Prävalenz auf  $< 0,01$  % führten (Funk, 1980). Nachdem die flächendeckende Bekämpfung ab 1982 eingestellt worden war, nahm die Prävalenz wieder auf  $> 15$  % im Jahre 1992 zu (Runge, 1992). Die damaligen Methoden zum Nachweis der Fasciolose beschränkten sich auf Inspektionen der Lebern von Schlachttieren und koproskopische Untersuchungen. Die koproskopische Untersuchung besitzt, bedingt durch die unregelmäßige Ausscheidung von Leberegeliern, bei Rindern eine Sensitivität von 69 % (Rapsch et al., 2006). Die Sensitivität der postmortalen Untersuchung (Leberveränderungen) wird mit 63 % angegeben (Rapsch et al., 2006). Heutzutage stehen unter anderem auch immunologische Diagnosemethoden zur Verfügung, deren Sensitivität wesentlich höher ist und die verlässlichere Daten über die Fasciolose-Verbreitung liefern können, als es zuvor möglich war.

Hauptziele der eigenen Untersuchungen war es, aktuelle und repräsentative Daten zur Prävalenzsituation der Fasciolose in Milchkuhbetrieben in Schleswig-Holstein zu erhalten sowie verschiedene Nachweismethoden zu vergleichen. Dafür wurden zwei Querschnittsstudien durchgeführt. Die erste Querschnittsstudie erfolgte auf Herdenbasis mit einem ELISA zum Nachweis von *F. hepatica*-Antikörpern in Tankmilchproben von 2.136 Betrieben, die dem Landeskontrollverband Schleswig-Holstein e.V. angeschlossen waren. Die zweite Querschnittsstudie wurde mit 131 randomisiert ausgewählten Milchkuhbetrieben des Landkreises Dithmarschen durchgeführt, wobei jeweils 7 Einzeltiere koproskopisch auf

*Fasciola*-Eier und ihre Milchproben auf *F. hepatica*-Antikörper sowie zusätzlich Tankmilchproben der Betriebe mittels ELISA untersucht wurden.

In beiden Querschnittsstudien kam ein ELISA-Testkit der Fa. Pourquier zum Einsatz, das sowohl für Einzelmilch- und –serumproben geeignet ist, als auch für Tankmilchproben. Dieses Testsystem besitzt laut Reichel et al. (2005) für Milchproben eine Spezifität von 98,2 % und eine Sensitivität von 95 %. Es ist für Aussagen zur momentanen Herdensituation, epidemiologische Studien und Identifizierung von Risikogebieten geeignet (Pourquier et al., 1996). Die Spezifität des ELISA in dieser Studie lag für Tankmilchproben im Vergleich zu Individualmilchproben bei 82,4 % und die Sensivität bei 91,8 % (Tabelle 20) und unterstützt vorher genannte Aussagen zu diesem Testsystem. Da die Gewinnung einer Milchprobe im Gegensatz zur Gewinnung einer Blutprobe ein nichtinvasives, billiges und mit wenig Arbeitsaufwand für Landwirt und Tierarzt verbundenes Verfahren darstellt, wurden in dieser Studie Tank- und Einzelmilchproben zur Herden- und Einzeltierdiagnostik gewählt. Die Einzeltierdiagnostik wurde mit korrespondierenden Kotprobenuntersuchungen ergänzt.

In der landesweit durchgeführten Untersuchung von 2.136 Tankmilchproben ergab sich mithilfe der Antikörperuntersuchung eine Herdenprävalenz von 50 % (Abbildung 1), die somit wieder in etwa so hoch liegt, wie es vor 40 Jahren der Fall war. Ähnlich hohe Prävalenzen wurden in vergleichbaren Studien in Tirol (Matt et al., 2007) nachgewiesen. In Bayern ergab eine ähnliche Studie eine Herdenprävalenz von 32 % (Koch, 2005). Es ließen sich im Gegensatz zu Untersuchungen in anderen Bundesländern allerdings keine regionalen Leberegelschwerpunktregionen erkennen (Abbildung 2). Dies könnte an den geografischen Verhältnissen und traditionellen Haltungsbedingungen in Schleswig-Holstein liegen. Dieses Bundesland war und ist ein traditionelles Weidehaltungsgebiet mit durchschnittlich sechs Monaten Weidegang für Kühe und Jungtiere. Es gibt keine ausgesprochenen Niederungen oder Höhen in den Weidegebieten dieses norddeutschen Bundeslandes. Viele der Viehweiden finden sich in Küstenregionen, die einen dementsprechend hohen Marsch- und Moorbodenanteil (Abbildung 5) besitzen. Weidehaltung auf Feuchtgebieten sehen auch Knubben-Schweizer et al. (2010) als wichtigen Faktor für die geografische Ausbreitung von *F. hepatica* an. Klimafaktoren, wie die relativ hohe Niederschlagsmenge, nicht zu heißen Sommer und milden Winter in diesem Küstenbundesland begünstigen ebenfalls die

Verbreitung von *F. hepatica* (Rapsch et al., 2008; Bennema et al., 2011). Alle genannten Faktoren zusammen sorgen für optimale Lebensbedingungen der Zwischenwirtsschnecke *Galba (Lymnaea) truncatula*, ohne die das Auftreten der Fasciolose unmöglich wäre. Durch die Weidehaltung ist eine kontinuierliche Verseuchung und Ansteckung auf den Weiden gewährleistet. So läßt sich die hohe Prävalenz in Schleswig-Holstein erklären.

Die zweite Querschnittsstudie, die im Küstenlandkreis Dithmarschen auf Herden- und Einzeltierbasis durchgeführt wurde, brachte ähnlich hohe Prävalenzen. Die anhand von Milch-Antikörpern ermittelte Herdenprävalenz für 131 zufällig ausgewählte dithmarscher Milchkuhbetriebe betrug 73 %. Die mittels Milch-ELISA bestimmte Einzeltierprävalenz lag bei 45 % bezogen auf die 917 untersuchten Milchkühe. Dabei wurden in mehr als einem Drittel der untersuchten Betriebe 5-7 der jeweils sieben zufällig ausgewählten Kühe als *Fasciola*-Antikörper-positiv identifiziert (Abbildung 8). Im Gegensatz dazu betragen die mit der Koproskopie ermittelte Einzeltierprävalenz nur 14,5 % und die Herdenprävalenz bei 47 % (Abbildung 7). Dies zeigt, dass die Diagnostik von *F. hepatica*-Infektionen mittels Milch-ELISA-Untersuchung signifikant mehr befallene Tiere identifizieren kann, als die Kotprobenuntersuchung allein. Dies wurde in anderen Untersuchungen ebenfalls bestätigt (Rapsch, 2005; Molloy et al., 2005; Salimi- Bejestani et al., 2008) und liegt an der oben erwähnten geringen Sensitivität der koproskopischen Untersuchungsmethode. Damit kann die alleinige Kotprobenuntersuchung für eine Herdendiagnostik, die heutzutage bei immer wachsenden Herdengrößen gefordert ist, als alleinige Diagnosemethode nicht mehr empfohlen werden. Auch der Arbeitsaufwand von Kotuntersuchungen im Rahmen der Bestandsdiagnose wird als zu groß angesehen. Die Antikörperuntersuchung in der Tankmilch eignet sich durchaus für epidemiologische Studien und zur Abschätzung der Herdenprävalenz; allerdings kann damit nicht zwischen einer frischen oder überstandenen Leberegelinfektion unterschieden werden. So ist auch eine Therapiekontrolle nicht möglich, denn *Fasciola*-Antikörper persistieren nach erfolgreicher Elimination der Trematoden noch für 7-18 Monate (Levieux et al., 1992 A; Hutchinson und McArthur, 2003). Andererseits liefert die serologische Untersuchung auf *Fasciola*-spezifische Antikörper bereits etwa 2 Wochen nach einer erfolgten Infektion, also noch in der Präpatenz, ein positives Ergebnis (Reichel, 2002; Salimi- Bejestani et al., 2005 B).

## 5.2. Betriebsdaten, Weide- und Parasitenmanagement, Risikofaktoren

Die explorative Auswertung der 131 Fragebögen zu Betriebsdaten und dem Weide- und Parasitenmanagement gab ein paar interessante Einblicke in die Betriebsstrukturen dithmarscher Landwirte und verdeutlicht die Risikofaktoren dieser Parasitose. Die Herdengröße Dithmarscher Betriebe lag im Schnitt bei 80 Kühen (Tabelle 7). Dies ist eine Herdengröße, die noch bequem als Familienbetrieb zu bewirtschaften ist und bei der die Landwirte therapierte, leistungsschwache oder gesunde Kühe ohne Herdenmanagementprogramm noch gut voneinander unterscheiden können. Diese durchschnittliche Herdengröße ist deutlich größer als in Süddeutschland und deutlich kleiner als in Ostdeutschland. Die Landwirte bewirtschafteten im Schnitt 48 ha Weideland. Die Durchschnittsmilchleistung lag bei 7679 Litern/Jahr (Tabelle 7). Diese Milchleistung liegt in den Augen der norddeutschen Landwirte nur im oberen Mittelfeld der anzustrebenden Leistung einer Milchkuh, um heutzutage ökonomisch wirtschaften zu können. Man muss aber berücksichtigen, dass in Dithmarschen traditionell viele rotbunte Kühe der Rasse "Holstein" mit geringerem Holstein-Friesian-Anteil gehalten werden, als z.B. in Niedersachsen, wo hauptsächlich schwarzbunte Kühe der Rasse "Holstein" mit entsprechend hohem Holstein-Friesian-Anteil und damit genetisch determinierten Potential für hohe Milchleistung gehalten werden. In Dithmarschen wird traditionell viel Vieh zugekauft (55 %). Bei jedem Zukauf besteht die Gefahr, leberegelbefallene Tiere zuzukaufen, denn eine parasitologische Untersuchung vor Kauf ist unüblich, wäre aber sinnvoll. 79 % der Betriebe hielten ihre Kühe traditionell in Weidehaltung (Tabelle 8). Da eine Infektion mit dem Leberegel fast ausschließlich bei Weidehaltung erfolgen kann, liegt hier ein Hauptrisikofaktor für Fasciolose, auch wenn ein direkter Zusammenhang in dieser Studie statistisch nicht gesichert werden konnte. Abhilfe könnte die ganzjährige Stallhaltung schaffen, die aber im Sinne des Kuhkomforts umstritten ist und bei so viel vorhandenem Weideland unwirtschaftlich wäre. Während der ca. 6-monatigen Weideperiode halten ein Drittel der Betriebe Jungtiere auf den gleichen Weiden wie Kühe. Nochmal ein gutes Drittel hält im Wechsel auch Schafe auf denselben Weiden. Somit ist ein zusätzlicher Eintrag über infizierte Schafe möglich. Dies ist besonders bei Weideschäfern ein Problem, da dem Landwirt der Parasitenstatus der weidenden Schafe unbekannt ist. Ein statistischer Zusammenhang zwischen der gemeinsamen

Beweidung von Rindern und Schafen und einem erhöhten Risiko der Fasciolose konnte aber nicht nachgewiesen werden.

In 83 % der Betriebe wurden Wildwiederkäuer auf den Viehweiden beobachtet. Da Wildwiederkäuer als Träger von *F. hepatica* bekannt sind, halten diese eine kontinuierliche Verseuchung der Weiden aufrecht.

Bei der Auswertung der Wasserversorgung auf den Weiden gaben 26 % der Betriebe an, ihren Kühen freien Zugang zur Bach- oder Grabentränke zu gewähren bzw. hatten 42 % eine Tränke mit Bachwasseranschluß oder Tränkekombinationen mit Bachwasseranschluß auf ihren Weiden (Tabelle 9). Natürliche Wasserstellen wurden bei 23 % der Betriebe nicht abgezäunt und bei über der Hälfte der Betriebe (62 %) waren die Tränkwasserstellen nicht befestigt (Tabelle 10). Bei diesen verschiedenen Wasserstellen handelt es sich sowohl um Primär- als auch Sekundärhabitats von *Galba (Lymnea) truncatula*, die als Zwischenwirt von *F. hepatica* fungiert und ohne die ein Auftreten der Fasciolose nicht möglich wäre (Ollerenshaw, 1959; Boray, 1972). Somit ist hier ein weiterer wichtiger Risikofaktor der Fasciolose zu sehen, der aber statistisch nicht signifikant war. Solange diese Habitats existieren, kann es zu keiner dauerhaften Reduktion der Infektion kommen. Eine Vermeidung bzw. Verringerung dieser Habitats ist durch weidehygienische Maßnahmen wie Zäune, Drainieren, Befestigen der Tränkestellen und Bereitstellung von Tränken mit Frischwasseranschluß zu erreichen und stellt eine vergleichsweise einfache, billige und wirkungsvolle Form der Fasciolose-Prophylaxe da.

Die Böden der Weiden setzten sich in Dithmarschen aus drei Gruppen zusammen: schwerer, fruchtbarer Marschboden, Geestboden und feuchter Moorboden (Abbildung 5). 44 % der Betriebe gaben an, zumindest einen Mooranteil in der Weidefläche zu besitzen und 51 % der befragten Betriebe wussten, dass im Boden Ton, Lehm oder Schlamm enthalten war. Dies sind bevorzugte Bodenarten von *Galba (Lymnea) truncatula* (Eckert et al., 2008) und somit ein weiterer Aspekt für die Infektion; allerdings können Landwirte an der Bodenbeschaffenheit ihrer Weiden nichts ändern.

### 5.3. Produktionsdaten und wirtschaftliche Aspekte der Fasciolose

Die im Landkreis Dithmarschen durchgeführte Querschnittsstudie hatte außer der Ermittlung der Prävalenz auch das Ziel, durch die verlässliche Erfassung von Leistungs- und Betriebsdaten sowie Daten über Weide- und Parasitenmanagement, Risikofaktoren, Ursachen und wirtschaftliche Aspekte der Fasciolose zu ermitteln. Es gibt erstaunlich wenige Studien über die tatsächlichen Einflüsse einer *F. hepatica*-Infektion auf die Leistung von Milchkühen. Oakley et al. (1979) und Hope Cawdery (1984) sprachen von verminderter Futtermittelverwertung, verminderter Fruchtbarkeit, erhöhtem Erstkalbealter und verminderter Milchleistung. Ilchmann et al. (2002) bezifferten den Milchverlust mit 450 Litern pro Jahr. Nach Charlier et al. (2007) liegt der Milchverlust bei 0,7 kg Milch/Kuh/Tag, was bei durchschnittlich 305 Laktationstagen eine Minderleistung von etwa 213 Liter je Kuh ergeben würde. Desweiteren wurde eine Verringerung des Milchfettgehalts um 0,06 % und eine Verlängerung der Zwischenkalbezeit um 4,7 Tage beobachtet (Charlier et al., 2007). McIlroy et al. (1990) berichteten von einer 10 %igen geringeren Milchleistung bei infizierten Kühen.

In der vorliegenden eigenen Untersuchung erbrachte die Auswertung der Produktionsdaten der Einzeltiere einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nachweis eines *Fasciola*-Befalls und der Milchleistung: Unabhängig von der verwendeten Untersuchungsmethode (koproskopischer Ei-Nachweis oder Antikörperrnachweis in der Milch) produzierten *Fasciola*-positive Kühe signifikant weniger Milch als negative Tiere (Tabelle 17+18). So war die Jahresmilchleistung von *Fasciola*-positiven Kühen im Mittel um 417 Liter und 279 Liter verringert, wenn als Bezugsgröße das Ergebnis der Koproskopie bzw. des Milch-ELISAs verwendet wurde. Wenn für den Landwirt ein Milchpreis von 30 Cent/Liter angenommen und von einer durchschnittlichen Jahresmilchleistung (305-Tage-Leistung) von 7500 Liter/Kuh ausgegangen wird, bedeutet die *Fasciola*-bedingte Minderleistung für den Landwirt einen Einkommensverlust von 84-125 € je Milchkuh. Daraus resultiert ein jährlicher Gesamtverlust von ca. 6.696-10.008 € für einen Betrieb mit einer mittleren Herdengröße von 80 Kühen (Tabelle 7). Untersuchungen aus der Schweiz erbrachten einen jährlichen Verlust pro infizierter Milchkuh von 376 Euro, wobei man berücksichtigen muß, dass der Milchpreis in der Schweiz generell höher ist (Schweizer et al., 2005 A). Dies zeigt, wie wichtig es ist, einen

eventuellen *F. hepatica*-Befall in einer Milchkuhherde zu diagnostizieren und gegebenenfalls zu behandeln, denn eine Entwurmung der Kühe wäre vergleichsweise billig. In dieser Untersuchung lag das Durchschnittsalter der beprobten Tiere bei nur 4,7 Jahren mit durchschnittlich 2,5 Laktationen (Tabelle 14). In den beprobten Herden gab es also dementsprechend weniger ältere Kühe mit 3 oder mehr Laktationen als jüngere Kühe. Da mit steigendem Alter und Laktationsjahren die Milchproduktion einer Kuh um 150-200 Liter steigt, was sich als statistisch gesichert herausstellte, erhebt sich die Frage, warum die Kühe so kurzlebig sind. Eine häufige Abgangsursache ist die Milchminderleistung der Kuh im Vergleich zur Herdenleistung, die u.a. auch durch eine Leberfunktionsstörung der Kuh verursacht sein kann. Neben einer ketotischen Stoffwechsellaage und Infektionen kann auch eine chronische Fasciolose zu einer Einschränkung der Leberfunktion führen und somit für einen früheren Abgang des Tieres aus dem Betrieb verantwortlich sein. Obwohl sich in dieser Studie kein signifikanter Zusammenhang zwischen Laktationsjahren oder Alter der Kuh und einem *F. hepatica*-Befall ergab, wäre es für die Betriebe ökonomisch sinnvoll, die Langlebigkeit einer Milchkuh mit einer gesunden, leberegelfreien Leber anzustreben, um von der steigenden Milchleistung pro Laktationsjahr zu profitieren.

Ein signifikanter Zusammenhang ergab sich zwischen einem ELISA- oder Ei-positiven Ergebnis und der bestehenden Trächtigkeitsdauer bei Beprobung der Kühe (Abbildung 11+12). Befanden sich die Kühe im letzten Trächtigkeitsdrittel waren 63 % der Milchproben ELISA-positiv bzw. 23 % Ei-positiv. Ein Grund hierfür kann die Zulassungsbeschränkung der Fasciolizide bei tragenden Tieren sein, so daß hochtragende Kühe generell nicht mehr in das Entwurmungsprogramm miteinbezogen werden. Sowohl bei Triclabendazol als auch Albendazol ist eine Behandlung wegen der potentiell teratogenen Wirkung während der Trächtigkeit vom Hersteller ausgeschlossen.

#### **5.4. Kenntnisstand und Parasitenmanagement**

Derart hohe Fasciolose-Prävalenzen wie die hier vorgefundenen könnten auch auf ein mangelndes Wissen oder Problembewußtsein seitens der Landwirte in Bezug auf den

Leberegel hindeuten (Schweizer et al., 2005 B). Hierzu zeigte aber die Auswertung der Fragebögen zum Kenntnisstand der Landwirte ein anderes Bild. Fast allen befragten Betrieben war der Leberegel bekannt (95 %). Von diesen 95 % machte über die Hälfte korrekte Angaben zum Krankheitsbild, Ansteckungswegen und Prophylaxemaßnahmen (Tabelle 11). Bei genauerer Analyse wurden zu den Ansteckungswegen zu je 1/5 nasses Gras, Wasserlöcher und das Vorkommen der Zwergschlammschnecke genannt. Das Trockenhalten der Weideflächen bzw. das Einzäunen von Wasserlöchern war 28 % der befragten Landwirte als vorbeugende Maßnahme bekannt (Tabelle 11). Überraschenderweise lagen aber im Weidehygienemanagement große Mängel vor. Über die Hälfte der beprobten Betriebe hatte ihre Tränkestellen auf den Weiden nicht befestigt und fast ein Viertel der Betriebe hatte Wassergräben u.ä. nicht abgezäunt (Tabelle 10). Das bestehende Wissen über die Verbreitung des Leberegels wurde hier seitens der Landwirte nicht umgesetzt.

Die Auswertung der Parasitenmanagement ergab, dass obwohl über die Hälfte der befragten Landwirte die Entwurmung als wichtigste Therapie- und Vorbeugemaßnahme bei einem Leberegelbefall nannten (Tabelle 11), 52 % der beprobten Betriebe keine Leberegelbehandlungen durchführten, weil sie "keine Notwendigkeit" darin sehen (37 %) würden. Gründe für die Fehleinschätzung der Problematik könnten sein, dass eine leberegelinfizierte Milchkuh adspektorisch zunächst unauffällig erscheint und eine geringe Milchminderleistung nicht bemerkt oder nicht auf eine Leberegelinfektion zurückgeführt wird. Die Leberegelsituation in Dithmarschen wird damit weitestgehend unterschätzt. 10 % der befragten Betriebe führten keine Leberegelbehandlungen durch, weil ihnen die Applikationsart der Fasziozide *per os* zu arbeitsintensiv erscheint. Es wären sicherlich mehr Betriebe zu einer Therapie bereit, wenn eine andere Applikationsart zur Verfügung stehen würde. Bei der Bekämpfung der Magen-Darm-Würmer werden Präparate, die z. B. als spot-on Applikation angeboten werden von 50 % der befragten Betriebe eingesetzt. 28 % der Betriebe gaben an, dass Leberegelpräparat über das Futter als Gruppenbehandlung anzuwenden, um die Arbeitsintensität gering zu halten. Bei dieser Anwendung ist jedoch keine korrekte Dosierung der einzelnen Kuh möglich, so dass trotz erfolgter Entwurmung chronische Verlaufsformen bestehen bleiben können. Die Entwicklung einer anderen

Applikationsart für Faszioleaze wäre wünschenswert und könnte zu einer Senkung der Leberegelverbreitung beitragen.

Weitere 10 % der befragten Betriebe führten keine Leberegelbehandlungen durch, weil keine Zulassung der Präparate für milchliefernde Tiere vorliegt. Dadurch kann keine Bestandsbehandlung erfolgen bzw. die Kühe können nicht zu parasitologisch sinnvollen Zeitpunkten behandelt werden. Trotz Zulassungsbeschränkungen wurden Triclabendazole am häufigsten eingesetzt (58 %) (Tabelle 12). Obwohl es bei diesem Wirkstoff bekannt ist, dass er alle Leberegelstadien erfasst und somit eine Aufstallungsbehandlung im Herbst am sinnvollsten wäre, wendete der überwiegende Teil der Landwirte diese Präparate erst im Januar/Februar an. In früheren Jahren standen zur Leberegeltherapie nur Wirkstoffe zur Verfügung, die auf adulte Leberegel wirkten und daher erst im Januar/Februar eingesetzt werden konnten. Ursache dieses parasitologisch und ökonomisch ungünstigen Entwurmungszeitpunkts mit Triclabendazolen könnte daher mangelndes Wissen der Landwirte um Wirkungsweisen neuerer Präparate sein. Hier sollte mehr Aufklärungsarbeit seitens der Tierärzte und Beratungsringe erfolgen, denn eine frühzeitige Entwurmung verringert die Folgeschäden. Allerdings ergab sich in dieser Untersuchung kein statistisch gesicherter Zusammenhang zwischen einer kurz zuvor erfolgten (vor 2-3 Monaten) oder länger zurückliegenden (> 7 Monate) Leberegelbehandlung und einer *F. hepatica*-Infektion.

Um Landwirte auf das Leberegelproblem aufmerksam zu machen, wäre eine regelmäßige Rückmeldung seitens der Schlachthöfe, ob überhaupt und aus welchen Gründen Lebern verworfen werden mussten, sinnvoll. Es erfolgte bei über der Hälfte der Betriebe in den letzten drei Jahren keine Rückinformation (Tabelle 13). Die Schlachthöfe sind nicht zu exakten Rückmeldungen verpflichtet und der Landwirt sieht an seiner Abrechnung vom Schlachthof nicht, ob ein Teil der Lebern wegen Leberegelbefalls verworfen werden mußte. Die Dokumentation auf den Schlachthöfen durch die beschauenden Tierärzte zeigte weiterhin deutliche Defizite auf. Hier wäre eine Dokumentation zu jeder verworfenen Leber wünschenswert und hilfreich, zumal die wegen Fasciolose untauglich gemachten Lebern einen Prozentsatz zwischen 10-30 % ausmachten (Tabelle 6).

## 5.5. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend konnte mit diesen beiden Querschnittsstudien gezeigt werden, dass die Prävalenz der Fasciolose in Schleswig-Holstein hoch ist. Bei einer derart hohen Prävalenz muss durchaus an geeignete flächendeckende Maßnahmen gedacht werden. Desweiteren ist eine Aufklärungsarbeit bei jungen Landwirten und jungen Tierärzten vonnöten, um das Krankheitsbild, die wirtschaftlichen Schäden und die Diagnostikmöglichkeiten ins Gedächtnis zu rufen. Da viele junge Grosstierärzte nicht aus den Gegenden stammen, in denen sie praktizieren, sind ihnen oft die Weideverhältnisse nicht bekannt. Den Altenteilern in Schleswig-Holstein ist das flächendeckende Bekämpfungsprogramm vor 30 Jahren sicherlich noch im Gedächtnis, aber bei der jungen Generation ist das Wissen um die Fasciolose zwar vorhanden, aber die Notwendigkeit einer Bekämpfung wird nicht erkannt. Es sollten Beratungen hinsichtlich weidehygienischen Maßnahmen erfolgen, denn diese Prophylaxe ist die am kostengünstigste für den Landwirt und kann zumindest die Habitate des Zwischenwirtes von *F. hepatica* und damit die Ansteckung auf den Weiden eindämmen.

Zum verwendeten Testsystem ist zu sagen, dass es sich durchaus eignet, Leberegel-infizierte Herden zu identifizieren. Da der verwendete ELISA aber keine Aussagen zur Intensität des Befalls oder eines chemotherapeutischen Erfolges machen kann, sollte eine Weiterentwicklung des Testsystems erfolgen bzw. ein Koproantigentest für solche Fragestellungen verwendet werden.

Weiterhin wäre eine engere Zusammenarbeit mit den Schlachthöfen wünschenswert bzw. sollte den Landwirten geraten werden, selbständig beim Schlachthof wegen eines möglichen Leberegelbefalls der abgelieferten Tiere nachzufragen.

In klassischen Weidegebieten ist es daher unerlässlich regelmässige diagnostische Kontrollen durchzuführen und mehr Aufklärungsarbeit zu leisten.

## 6. Zusammenfassung

Michaela RABELER (2011):

### **Untersuchungen zum Vorkommen und zur wirtschaftlichen Bedeutung der Fasciolose in Milchkuhherden Norddeutschlands.**

Veterinärmed. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.

Die Ziele dieser Dissertation waren:

- aktuelle und repräsentative Daten über die Prävalenzsituation der Fasciolose in Milchviehbetrieben in Schleswig-Holstein mit Hilfe zweier im Zeitraum November 2005 bis April 2006 durchgeführter Querschnittsstudien und Auswertung von Daten aus lokalen Schlachthöfen von 2005 und 2006 zu erhalten,
- mögliche Risikofaktoren und wirtschaftliche Auswirkungen der Fasciolose zu bestimmen,
- die Effizienz des Sedimentationsverfahrens nach Boray und Pearson zum Nachweis von *Fasciola hepatica*-Eiern im Kot mit der eines kommerziellen ELISA-Testkits für Serum-, Tank- und Einzelmilchproben (Institut Pourquier) zum Nachweis von *F. hepatica*-spezifischen Antikörpern zu vergleichen.

Zur Ermittlung der Prävalenz wurden in der ersten bundeslandweiten Querschnittsstudie insgesamt 2136 Tankmilchproben des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e.V. - dies entspricht ca. 35 % der 5926 zu diesem Zeitpunkt gemeldeten schleswig-holsteinischen Milchviehbetriebe - mittels eines kommerziellen ELISA-Testkit (Institut Pourquier) milchserologisch auf *F. hepatica*-spezifische Antikörper untersucht. Die Untersuchung ergab eine Herdenprävalenz für Schleswig-Holstein von 50 % und liegt damit vergleichbar hoch wie vor 40 Jahren. Es konnten keine Leberegelschwerpunktgebiete für dieses Bundesland ermittelt werden.

Bei der Auswertung der Schlachthofdaten ergab sich ein Prozentsatz von 10-30 % verworfener Lebern aufgrund eines Leberegelbefalls, wobei diese Zahlen vorsichtig betrachtet werden müssen, da keine lückenlose Dokumentation seitens der Schlachthöfe vorlag.

In der zweiten Querschnittsstudie wurden von 131 randomisiert ausgewählten Milchviehbetrieben aus den Mitgliedsbetrieben der Vereinigung der Rinderspezialberatung des Landkreises Dithmarschen insgesamt 131 Tankmilchproben sowie 917 Einzelmilch- und korrespondierende Kotproben von je 7 zufällig selektierten Kühen pro Betrieb genommen. Die Milchproben wurden mittels desselben ELISA-Testkits untersucht. Es ergab sich eine Herdenprävalenz von 73 % und eine Einzeltierprävalenz von 45 %. Die koproskopischen Untersuchungen zeigten eine individuelle Prävalenz von 14,5 % und eine Herdenprävalenz von 47 %.

Von jedem der 131 Betriebe wurde zusätzlich ein Fragebogen zum Betriebs-, Haltungs-, Fütterungs- und Parasitenmanagement sowie zum Kenntnisstand des Landwirtes bezüglich des großen Leberegels und der Fasciolose erhoben und explorativ ausgewertet, um mögliche Risikofaktoren und Zusammenhänge zu analysieren. Ebenfalls wurden die Leistungsdaten der beprobten Kühe erfasst, um mögliche wirtschaftliche Auswirkungen darzulegen. Die durchschnittliche Herdengröße betrug 80 Milchkühe mit einer durchschnittlichen 305-Tage-Milchleistung von 7679 Litern in 2,5 Laktationen. 55 % der Betriebe kauften Tiere dazu. 79 % der Milchkühe wurde in Weidehaltung zum Teil im Wechsel mit Jungtieren oder Schafen gehalten. Statistisch konnte kein Zusammenhang zwischen Weidehaltung allein oder im Wechsel mit anderen Tieren und einem erhöhten Fasciolose-Risiko gesichert werden ( $p > 0,05$ ). 26 % der weidenden Kühe hatten freien Zugang zu Bach- oder Grabentränken, bei 62 % der Betriebe waren die Tränkestellen nicht befestigt und bei 23 % vorhandene natürliche Wasserlöcher nicht abgezäunt. Diese vermuteten Risikofaktoren konnten statistisch nicht bewiesen werden ( $p > 0,05$ ). 95 % der befragten Landwirte gaben richtige Antworten zum Leberegel und zur Fasciolose. Nur die Hälfte der besuchten Betriebe führte überhaupt eine chemotherapeutische Leberegelbehandlung durch. Als Hauptgrund wurde mit 37 % "keine Notwendigkeit" angegeben. Es ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Entwurmungen und einem *Fasciola*-Nachweis ( $p > 0,05$ ). Bei der Auswertung der Leistungsdaten ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem Leberegelbefall und der Jahresmilchleistung der betroffenen Kuh ( $p < 0,05$ ). Ei-positive Tiere gaben im Schnitt 417 Liter Milch/Jahr weniger, ELISA-positive Tiere 279 Liter Milch/Jahr weniger als *Fasciola*-freie Tiere. Bei einem Milchpreis von zur Zeit 30 Cent und einer

Durchschnittsleistung von 7500 Litern Milch/Jahr errechnet sich daraus ein Milchgeldverlust von 84-125 Euro pro Tier. Bei einer Herdengröße von durchschnittlich 80 Kühen entspricht dies einem Verlust von 6.696-10.008 Euro pro Betrieb.

Der direkte Vergleich von 917 Kotproben, die einmalig mittels Sedimentationsverfahren untersucht wurden, und 917 korrespondierenden Milchproben, die mittels ELISA untersucht wurden, ergab eine Einzeltierprävalenz von 14,5 % (Kot) bzw. 45 % (Milch). Die ermittelten Herdenprävalenzen liegen bei 47 % (Kot) und 73 % (Milch). Dies zeigt, dass sich die Kotprobenuntersuchung mittels einmalig durchgeführten Sedimentationsverfahrens nicht für Einzeltieruntersuchungen oder ein Herden-Screening eignet. Die Spezifität des ELISAs lag in dieser Studie für Tankmilchproben im Vergleich zu Individualmilchproben bei 82,4 %, die Sensitivität bei 91,8 % bei einem Kappa-Wert von 0,727.

## 7. Summary

Michaela RABELER (2011):

**Investigations on the occurrence and economic importance of fasciolosis in dairy cow herds in northern Germany.**

Dr. med. vet. thesis, Justus Liebig University Giessen.

Objectives of the present study were:

- current and representative data for the prevalence of fasciolosis in dairy cow farms in Schleswig-Holstein, northern Germany: two cross-sectional studies were performed between November 2005 and April 2006 in addition data from local abattoirs on confiscation of livers due to *F. hepatica* in the years 2005 and 2006 were evaluated,
- to analyse possible risk factors and economical losses of fasciolosis,
- to compare the diagnostic efficacy of coproscopical investigation, performed by the sedimentation technique of Boray and Pearson with antibody determination using a commercial ELISA-kit for serum, milk and bulk-tank milk (Institut Pourquier).

For the first cross-sectional survey 2136 bulk-tank milk samples were collected from 35 % of the 5926 dairy herds registered in the federal state of Schleswig-Holstein. Samples were analysed with the commercial ELISA kit. The herd-level seroprevalence in Schleswig-Holstein was 50 % and was as high as in the 1970's. There was no accumulation of *F. hepatica* infections in particular areas of the state of Schleswig-Holstein.

In the years 2005-2006 10-30 % of all cattle livers were confiscated due to fluke-infection however these data must be interpreted with qualifications because they were not documented properly by the abattoirs.

The second cross-sectional survey was performed on 131 dairy farms randomly selected from the members of the cattle association of the Dithmarschen district, Schleswig-Holstein. On these farms 131 bulk-tank milk samples and 917 individual milk and corresponding fecal samples from 7 cows randomly selected on each of the farms were collected. Employing the commercial ELISA kit the herd-level and individual seroprevalences were 73 % and 45 %

respectively. Koproscopy revealed herd-level and individual prevalences of *F. hepatica* egg excretion of 47 % and 14,5 % respectively.

The selected 131 farmers were interviewed on farm-management, husbandry-management, pasturing- and feeding-management, parasite-management and their knowledge on flukes and fasciolosis by a questionnaire. These were exploratively analysed to evaluate significant risk factors and associations. The production parameters of the sampled cows were also analysed to find infection dependend economical losses. The average dairy herd consisted of 80 cows which produced 7679 liters of milk per laktation. 55 % of the farms bought animals in addition from other farms. 79 % of the cows were pastured and partly rotated with young cattle or sheep. There was no significant association ( $p > 0,05$ ) between pasturing alone or in rotation with other animals and a higher risk of liver fluke infection. 26 % of the grazing cows had access to naturally flowing waters (e.g. brooks); there was no bottom attachment of watering places in 62 % of the farms. 23 % of the farms did not fence natural water sources. There was no significant evidence ( $p > 0,05$ ) for this as a potential risk factor. 95 % of the farmers answered correctly concerning the fluke and fasciolosis but only half of them performed chemotherapeutic fluke treatment. The most given reason for that (37 %) was that the farmers did not see any necessity for treatment. There was no significant relationship ( $p > 0,05$ ) between chemotherapeutic treatment and the detection of *F. hepatica* eggs. When evaluating the production parameters there was a significant ( $p < 0,05$ ) association between an infection with flukes and the annual average milk yield. Egg-positive animals had a decrease of 417 liters annual average milk yield and ELISA-positive animals a decrease of 279 liters when compared with *F. hepatica*-negative animals. Assuming a price of 30 cents/liter milk and an average milk yield of 7500 liter/lactation this suggests an economic loss of 84-125 Euro per animal and of 6.696-10.008 Euro per herd of 80 dairy cows per year.

Comparing the rates of prevalence detected by faecal examination and antibody determination in milk a single coproscopical examination using the sedimentation method is not as qualified for estimating the individual- or herd-prevalence of *F. hepatica*. In this study the specificity of the ELISA for bulk-milk compared to individual-milk was 82,4 %, the sensitivity was 91,8 % ( $\kappa = 0,727$ ).

## 8. Literaturverzeichnis

ABDEL-RAHMAN, S. M., O'REILLY, K. L. und MALONE, J. B. (1998)  
Evaluation of a diagnostic monoclonal antibody-based capture enzyme-linked immunosorbent assay for detection of a 26- to 28-kd *Fasciola hepatica* coproantigen in cattle.  
Am. J. Vet. Res. 59: 533–537

AHRENS-FLEGEL, B., BEHMANN, C. und FOLTE, M. (2010)  
Prävalenz von *Fasciola hepatica* in Milchviehherden in norddeutschen Marschregionen stärker als erwartet.  
Fachgruppe Parasitologie, Dtsch. Vet. Med. Ges., München,  
Tierärztl. Prax. C38: A22, Abstr. p. 24

ANONYM (2000)  
Tätigkeits- und Befundbericht für den Bereich Tiergesundheit 1997, 1998 und 1999.  
Institut für Tierzucht, Tierhaltung und Tiergesundheit Oldenburg,  
Landwirtschaftskammer Weser-Ems, Oldenburg, 51-53

ANONYM (2005)  
Die Viehwirtschaft in Hamburg und Schleswig-Holstein 2003.  
Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein, Statistischer Bericht CIII-j/03 S  
<http://www.statistik-nord.de>, letzter download 31.12.2007

ANONYM (2007)  
Viehbestände in Hamburg und Schleswig-Holstein; Rinder-, Schaf-, und Schweinebestände 2003 bzw. 2003-2006.  
Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein  
<http://www.statistik-nord.de>, letzter download 31.12.2007

ANONYM (2009)

ESRI Inc. ArcGIS 9.3.1. ESRI 2009 Available from:

<http://www.arcgis.com>

ANONYM (2010)

European Environment Agency. Datasets.

<http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data#c12=corine+land+cover+version+13>

ANONYM (2011)

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011:07-0. Available from:

<http://www.r-project.org>

BENNEMA, S., VERCRUYSSSE, J., CLAEREBOU, E., SCHNIEDER, T., STRUBE, C., DUCHEYNE, E., HENDRICKX, G. und CHARLIER, J. (2009)

The use of bulk tank ELISAs to assess the spatial distribution of *Fasciola hepatica*, *Ostertagia ostertagi* and *Dictyocaulus viviparus* in dairy cattle in Flanders (Belgium).

Vet. Parasitol. 165: 51-57

BENNEMA, S. C., DUCHEYNE, E., VERCRUYSSSE, J., CLAEREBOU, HENDRICKX, G. und CHARLIER, J. (2011)

Relative importance of management, meteorological and environmental factors in the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in a temperate climate zone.

Int. J. Parasitol. 41: 225-233

BERNING, H. (2002)

Vorkommen und Bedeutung der Rinderfasciolose in Nord-Niedersachsen anhand von Schlachtungsbefunden.

Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover

BERNING, H. und DAUGSCHIES, A. (2005)

Vorkommen und Bedeutung der Rinderfasciolose in Nord-Niedersachsen anhand von Schlachtungsbefunden.

Prakt. Tierarzt 86: 50-55

BORAY, J. C. (1971)

Fortschritte in der Bekämpfung der Fasciolose.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 113: 361-386

BORAY, J. C. (1972)

Bekämpfung der Fasciolose und der Dicrocoeliose des Rindes.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 114: 639-651

BOULARD, C., CARRERAS, F. und VAN GOOL, F. (1995)

Evaluation of nitroxynil and closantel activity using ELISA and egg counts against *Fasciola hepatica* in experimentally and naturally infected cattle.

Vet. Res. 26: 249-255

BRAUN, U., WOLFENSBERGER, R. und HERTZBERG, H. (1995)

Diagnosis of liver flukes in cows - a comparison of the finding in the liver, in the feces and in the bile.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 137: 438-44.

CANNON, R. M. und ROE, R. T. (1982)

Livestock disease surveys: A Field Manual for Veterinarians.

Australian Bureau of Animal Health, Canberra

CASTRO, E., FREYRE, A. und HERNANDEZ, Z. (2000)

Serological responses of cattle after treatment and during natural re-infection with *Fasciola hepatica*, as measured with a dot-ELISA system.

Vet. Parasitol. 90: 201-208

CHARLIER, J., DUCHATEAU, L., CLAEREBOU, E., WILLIAMS, D. und  
VERCRUYSSSE, J. (2007)

Association between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds.

Prev. Vet. Med. 78: 57-66

CHARLIER, J., DE MEULEMEESTER, L., CLAEREBOU, E., WILLIAMS, D. und  
VERCRUYSSSE, J. (2008)

Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle.

Vet. Parasitol. 153: 44-51

CHAUVIN, A., MOREAU, E. und BOULARD, C. (1997)

Diagnosis of bovine fasciolosis using serology on pools of sera. Interpretation in field conditions.

Vet. Res. 28: 37-43

CONCEIÇÃO, M. A. P., DURÃO, R. M., COSTA, I. H. und CORREIA DA COSTA, J. M.  
(2002)

Evaluation of a simple sedimentation method (modified McMaster) for diagnosis of bovine fasciolosis.

Vet. Parasitol. 105: 337-343

CONRATHS, F. J., SCHARES, G. und WACKER, K. (2002)

Parasiteninfektionen in Mutterkuhherden.

In: Forschungsreport: Verbraucherschutz - Ernährung – Landwirtschaft, Wusterhausen  
1/2002, Heft 25

CORNELISSEN, J. B. W. J., GAASENBEEK, C. P. H., BORGSTEEDE, F. H. M., HOLLAND, W. G., HARMSSEN, M. M. und BOERSMA, W. J. A. (2001)

Early immunodiagnosis of fasciolosis in ruminants using recombinant *Fasciola hepatica* cathepsin L-like protease.

Int. J. Parasitol. 31: 728-737

DUCOMMUN, D. und PFISTER, K. (1991)

Prevalence and distribution of *D. dentriticum* and *F. hepatica* infections in cattle in Switzerland.

Parasitol. Res. 77: 364-366

DUMÉNIGO, B. E., ESPINO, A. M. und FINLAY, C. M. (1996)

Detection of *Fasciola hepatica* antigen in cattle faeces by a monoclonal antibody-based sandwich immunoassay.

Res. Vet. Sci. 60: 278–279

ECKERT, J., SAUERLÄNDER, R. und WOLFF, K. (1975)

Häufigkeit und geographische Verbreitung von *Fasciola hepatica* in der Schweiz.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 117: 173-184

ECKERT, J., FRIEDHOFF, K. T., ZAHNER, H. und DEPLAZES, P. (2008)

Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin.

Enke Verlag, Stuttgart, 2. Aufl., S. 153-164

ESPINO, A. M. und FINLAY, C. M. (1994)

Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detection of excretory/secretory antigens in humans with fascioliasis.

J. Clin. Microbiol. 32: 190–193

FAIRWEATHER, I. und BORAY, J. C. (1999)

Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its management.

Vet. J. 158: 81-112

FUNK, G. (1973)

Organisation, Entwicklung und Stand der Leberegelbekämpfung in Schleswig-Holstein.  
zit. nach RUNGE, C. (1992)

FUNK, G. (1976)

Wiederbefall mit Leberegeln (*F. hepatica*) beim Rind nach zweijähriger Aussetzung der großflächigen Bekämpfung im Gebiet des ehemaligen Kreises Südtondern.  
zit. nach RUNGE, C. (1992)

FUNK, G. (1980)

10 Jahre Leberegelbekämpfung in Nordfriesland.  
zit. nach RUNGE, C. (1992)

FUNK, G. (1984)

Leberegelbekämpfung in Nordfriesland seit 1969.  
Tierärztl. Umsch. 39: 318

GRÄFNER, G. (1989)

Zur derzeitigen Verbreitung, Bedeutung und Bekämpfung der Weideparasitosen des Rindes in der DDR.  
Mh. Vet.-Med. 44: 435-437

GRÄFNER, G. (1992)

Fasziola-Befall beim Rind in den neuen Bundesländern.  
in: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Tagung der Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, Husum 1992  
Teil 1, 40-45

HACKER, U., KONOW, M., WOLF, C. und REHBOCK, F. (2003)

Untersuchungen zur Erfassung des Leberegelbefalls in Mutterkuhherden Mecklenburg-Vorpommerns.

Infoheft des FRV (Fleischrindzuchtverband) I/2003

HAPPICH F. A. und BORAY, J. C. (1969)

Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis.

1. Comparative studies on quantitative faecal examinations for chronic *Fasciola hepatica* infections in sheep.

Aust. Vet. J. 45: 326-328

HENRIKSEN, S. A. und PILEGAARD-ANDERSEN, C. (1979)

(*Fasciola hepatica* in Denmark. A survey on 15 years diagnostic examination on bovine faeces samples.) (in Dänisch)

Nord. Vet. Med. 31: 6-13

HERTZBERG, H., OCHS, H., EBEID, M. und BAUER, C. (2002)

Merkblätter zur Parasitenbekämpfung, Rind, Schaf, Ziege.

Institut für Parasitologie Gießen, 3. Aufl.

HERTZBERG, H., FIGI, R. und HECKENDORN, F. (2003)

Parasitenproblematik in Rinder-Weidemast-Betrieben in der Schweiz.

In: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e. V., Tagung der Fachgruppe "Epidemiologie und Bekämpfung von Parasitosen", Leipzig 2003

HIEPE, T. (1984)

Weideparasitosen – ein aktuelles Problem in der Jungrinderaufzucht.

Tierzucht 38: 182-184

HOFMAN, J. (1984)

Derde jaarverslag van de stichting Gezondheidsdienst voor Dieren in Noord-Nederland, 1 januari 1983-1 januari 1984 (Third annual report of the Health Service for Animals in North Netherlands, January-December 1983)  
Drachten, Niederlande

HOPE CAWDERY, M. J. (1984)

Review of the economic importance of fascioliasis in sheep and cattle.  
Ir. Vet. News, September: 14-22

HUTCHINSON, G. W. und MACARTHUR, E. (2003)

Validation of French antibody ELISA for liver fluke.  
In: Meat and Livestock Australia, July 2003, project code AHW.021  
Locked Bag 991, North Sydney NSW 2059

IBARRA, F., MONTENEGRO, N., VERA, Y., BOULARD, C., QUIROZ, H., FLORES, J. und OCHOA, P. (1998)

Comparison of three ELISA tests for seroepidemiology of bovine fasciolosis.  
Vet. Parasitol. 77: 229–236

ILCHMANN, G., GOLZE, M. und KRIPPEENER, S. (2002)

Betriebswirtschaftliche Aspekte des Parasitenbefalls bei Rindern.  
Tierärztl. Prax., 30: 273-276

JARNICKA, S., BIADUN, W. und CISZ, B. (1983)

(Prevalence and seasonal dynamics of *Fasciola hepatica* in cattle in the Lublin region).  
(in Polnisch)

Biuletyn Lubielskiego Towarzystwa Naukowego, Biologia 25: 47-52

KAPLAN, R. M. (1994)

Liver flukes in cattle: control based on seasonal transmission dynamics.

Compend. contin. Educ. Pract. Vet. 16: 687-693

KNUBBEN-SCHWEIZER, G., DEPLAZES, P., TORGERSON, P. R., RAPSCH, C., MELI, M. L. und BRAUN, U. (2010)

Bovine Fasciolose in der Schweiz: Bedeutung und Bekämpfung.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 152: 223-229

KOCH, S. (2005)

Untersuchung zur Verbreitung von *Fasciola hepatica* im bayrischen Milchviehbestand.

Vet. Med. Diss., Ludwig- Maximilian-Universität München

KONOPKA, B. (1993)

(Occurrence of parasites in slaughter animals in Kielce region [central Poland] in 1987-1992.) (in Polnisch)

Med. Weter. 49: 373-374

KRANEBURG, W. (1992)

Koprologische Untersuchung von Rinderbeständen auf Leberegelbefall in Feuchtgebieten in Nordrhein-Westfalen.

in: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Tagung der Fachgruppe

„Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, Husum 1992

Teil 1, 31-39

LECLIPTIEUX, TH., TORGERSON, P. R., DOHERTY, M. L., McCOLE, D., PROTZ, M., FARNIR, F. und LOSSON, B. (1998)

Use of excretory/secretory antigens in a competition test to follow the kinetics of infection by *Fasciola hepatica* in cattle.

Vet. Parasitol. 77: 103–114.

LEMMERMÖHLE, G. (1984)

Fasciolose im Kreis Steinfurt.

Tierärztl. Umsch. 39: 318-319

LEVIEUX, D., LEVIEUX, A., MAGE, C. und GAREL, J.-P. (1992 A)

Immunological detection of chemotherapeutic succes in bovine fasciolosis using the specific antigen f2.

Vet. Parasitol. 45: 81-88

LEVIEUX, D., LEVIEUX, A., MAGE, C. und VENIEN, A. (1992 B)

Early immunodiagnosis of bovine fascioliasis using the specific antigen f2 in a passiv hemagglutination test.

Vet. Parasitol. 44: 77-86

LIS, H. (1989)

(Evaluation of the results of veterinary inspection of slaughter animals and meat in Poland.)

(in Polnisch)

Med. Weter. 45: 92-95

LONNEUX, J. F., BOELAERT, F., VANDERGHEYNST, D., BIRONT, P. und MEULEMANS, G. (2000)

*Fasciola hepatica* in Belgium: survey of the disease's prevalence and comparisons with previous simulations.

Epidemiol. Networks and Interactions, Theme 6: 56-57

MAGE, C., BOURGNE, H., TOULLIEU, J-M., RONDELAUD, D. und DREYFUSS, G. (2002)

*Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years.

Vet. Res. 33: 439-447

MARTINO, S. und RUE, H. (2008)

Implementing approximate Bayesian inference using Integrated Nested Laplace Approximation: A manual for the inla program (2008). Available from: <http://citeseer.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.142.3845>

MATT, M., SCHÖPF, K. und MADER, C. (2007)

Leberegelmonitoring: flächendeckende Untersuchung zum *Fasciola hepatica*-Befall in Tirol. Wien. Tierärztl. Mschr. 94: 210-213

McCANN, C. M., BAYLIS, M. und WILLIAMS, D. J. L. (2010)

The development of linear regression models using environmental variables to explain the spatial distribution of *Fasciola hepatica* infection in dairy herds in England and Wales.

Int. J. Parasitol. 40: 1021-1028

McILROY, S. G., GODDALL, E. A., STEWART, D. A., TAYLOR, S. M. und McCracken, R. M. (1990)

A computerised system for the accurate forecasting of the annual prevalence of fasciolosis.

Prev. Vet. Med. 9: 27-35

MESSER, J. (1985)

1969-1983: 14 Jahre praktische Feststellung des Leberegelbefalls im Fleischbeschaubezirk Gettorf I und seine Folgerungen.

Tierärztl. Umsch. 40: 123-124

MEZO, M., GONZÁLEZ-WARLETAM, M., CARRO, C. und UBEIRA, F. M. (2004)

An ultrasensitive capture ELISA for detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in sheep and cattle using a new monoclonal antibody (MM3).

J. Parasitol. 90: 845-52

MICHALSKI, M. M., GACA-LAGODZINSKA, K. und BRZESKA, E. (1990)  
(Prevalence of *Fasciola hepatica* infestation in cattle from Olsztyn region in 1980-1987.)  
(in Polnisch)

Acta Academiae Agriculturae ac Technicae Olstenensis, Veterinaria No. 19: 47-56

MICHALSKI, M. und ROMANIUK, K. (2000)  
(Liver fluke (*Fasciola hepatica* L.) in dairy cows in North-East Poland.) (in Polnisch)  
Med. Weter. 56: 182-184

MITCHELL, G. (2002)  
Update on fasciolosis in cattle and sheep.  
In Practice 24: 378-385

MOLLOY, J. B., ANDERSON, G. R., FLETSCHER, T. I., LANDMANN, J. und  
KNIGHT, B. C. (2005)  
Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for detecting  
antibodies to *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in cattle, sheep and buffaloes in  
Australia.  
Vet. Parasitol. 130: 207- 212

OAKLEY, G. A., OWEN, B. und KNAPP, N. H. (1979)  
Production effects of subclinical liver fluke infection in growing dairy heifers.  
Vet. Rec. 104: 503–507

OLLERENSHAW, C. B. (1959)  
The ecology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*).  
Vet. Rec. 71: 957-965

PFISTER, K. und KOCH, S. (2004)

Vorläufige Ergebnisse von Tankmilch-Untersuchungen zum *Fasciola hepatica*-Befall in bayrischen Milchviehherden.

Tierärztl. Prax. 32: 316-319

POURQUIER, PH., CAQUINEAU, L., GALAUP, M., GLEVAREC, M., Le MOAL, Y., MARTAIN, L., SALINGARDES, F. und TURMEL, R. (1996)

Serologische Kontrolle des chemotherapeutischen Erfolges bei boviner Fasciolose mittels eines ELISAS auf der Grundlage des spezifischen Antigens F2.

Tierärztl. Umsch. 51: 730-733

RAPSCH, C. (2005)

Diagnostische und epidemiologische Untersuchungen zur bovinen Fasciolose in der Schweiz.  
Vet. Med. Diss., Vetsuisse- Fakultät Universität Zürich

RAPSCH, C., SCHWEIZER, G., GRIMM, F., KOHLER, L., BAUER, C., DEPLAZES, P., BRAUN, U. und TORGERSON, P. R. (2006)

Estimating the true prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle slaughtered in the absence of an absolute diagnostic test.

Int. J. Parasitol. 36: 1153-1158

RAPSCH, C., DAHINDEN, T., HEINZMANN, D., TORGERSON, P. R., BRAUN, U., DEPLAZES, P., HURNI, L., BÄR, H. und KNUBBEN-SCHWEIZER, G. (2008)

An interactive map to assess the potential spread of *Lymnaea truncatula* and the free-living stages of *Fasciola hepatica* in Switzerland.

Vet. Parasitol. 154: 242-249

REICHEL, M. P. (2002)

Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in sheep and cattle.

Vet. Parasitol. 107: 65-72

REICHEL, M. P., VANHOFF, K. und BAXTER, B. (2005)

Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay performed in milk for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in cattle.

Vet. Parasitol. 129: 61-66

RICHARDS, R. J., BOWEN, F. L., ESSENWEIN, F., STEIGER, R. F. und BUSCHER, G. (1990)

The efficacy of triclabendazol and other anthelmintics against *Fasciola hepatica* in controlled studies in cattle.

Vet. Rec. 126: 213-216

ROBINSON, M. W., TRUDGETT, A., HOEY, E.M. und FAIRWEATHER, I. (2002)

Triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*:  $\beta$ -tubulin and response to *in vitro* treatment with triclabendazole.

Parasitology 124: 325-338

RUNGE, C. (1992)

Leberegelbefall bei Schlachtrindern in Nordfriesland.

in: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Tagung der Fachgruppe

„Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, Husum 1992

Teil 1, 47-48

SALIMI-BEJESTANI, M. R., DANIEL, R. G., FELSTEAD, S. M., CRIPPS, P. J., MAHMOODY, H. und WILLIAMS, D. J. L. (2005 A)

Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds in England and Wales with an ELISA applied to bulk-tank milk.

Vet. Rec. 156: 729-731

SALIMI-BEJESTANI, M. R., MCGARRY, J. W., FELSTEAD, S., ORTIZ, P., AKCA, A. und WILLIAMS, D. J. L. (2005 B)

Development of an antibody-detection ELISA for *Fasciola hepatica* and its evaluation against a commercially available test.

Res. Vet. Sci. 78: 177-181

SALIMI-BEJESTANI, M. R., DANIEL, R., CRIPPS, P., FELSTEAD, S. und WILLIAMS, D. J. L. (2007)

Evaluation of an enzyme-linked immunosorbant assay for detection of antibodies to *Fasciola hepatica* in milk.

Vet. Parasitol. 149: 290-300

SCHMITT, D., WITTKOWSKI, G. und WITZIGMANN, G. (1994)

Untersuchungen zur Diagnostik und Epidemiologie der Fasciolose des Rindes mittels Milch-Antikörper-ELISA.

Proc. 18th World Buiatrics Congress: 26th of the Italian Association of Buiatrics, Bologna, Italy, August 29 - September 2, 1994

SCHNIEDER, T. (2006)

Helminthosen der Wiederkäuer.

In: SCHNIEDER, T. (Hrsg.)

Veterinärmedizinische Parasitologie., 6. Aufl.

Parey Verlag, Berlin, S. 166-175

SCHOLTYSIK, G. und KAUFMANN, J. (1996)

In: FREY, H.H. und W. LÖSCHER (Hrsg.)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für Veterinärmedizin.

Enke Verlag, Stuttgart, S. 524-574

SCHWEIZER, G., PLEBANI, G. F. und BRAUN, U. (2003)

Prävalenz von *Fasciola hepatica* und *Dicrocoelium dentriticum* beim Rind: Untersuchung in einem Ostschweizer Schlachthof, Schweiz.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 145: 177-179

SCHWEIZER, G., BRAUN, U., DEPLAZES, P. und TORGESON, P. R. (2005 A)

Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland.

Vet. Rec. 157: 188-193

SCHWEIZER, G., HÄSSIG, M. und BRAUN, U. (2005 B)

Das Problembewußtsein von Landwirten in Bezug auf die Fasciolose des Rindes.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 147: 253-257

SIEGERT, M. (1984)

Prüfung von Modellen zur witterungsabhängigen Vorhersage des Ansteckungsrisikos mit *Fasciola hepatica* LINNÉ 1758.

Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover

SIMMANK, W. (1987)

Der große Leberegel (*Fasciola hepatica*) aus fleischhygienischer Sicht.

Rundsch. Fleischhyg. Lebensmittelüberw., 39: 5-6

ŞİMŞEK, S., KÖROĞLU, E., ÜTÜK, A. E. und ALTAY, K. (2006)

Use of indirect Excretory/Secretory Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ES-ELISA) for the Diagnosis of Natural *Fasciola hepatica* Infection in Eosinophilic and Non-Eosinophilic Cattle from Eastern Turkey.

Turk. J. Vet. Anim. Sci. 30: 411-415

THOMAS, A. P. (1883)

The life history of the liver fluke (*Fasciola hepatica*).

Quart. J. Microsc. Sci. 23: 99-133

THRUSFIELD, M. (1997)

Veterinary Epidemiology.

Blackwell Science Oxford, 2. Aufl.

TONER, E., BRENNAN, G.P., McCONVERY, F., MEANEY, M. und FAIRWEATHER, I.  
(2010)

A transmission electron microscope study on the route of entry of triclabendazole into the liver fluke, *Fasciola hepatica*.

Parasitology 137: 855-870

UNGEMACH, F. R. (2006)

Antiparasitika.

In: LÖSCHER W., UNGEMACH, F. R. und U. R. KROKER (Hrsg.)

Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren., 7. Aufl.

Parey Verlag, Berlin, S. 280-312

VETIDATA (2007)

Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht.

<http://www.vetidata.de>, letzter download: 31.12.2007

WEICHEL, D. (1987)

Leberegerhebungen im Rahmen der Fleischuntersuchung bei im Kreis Steinfurt geschlachteten Rindern.

In: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Tagung der Fachgruppe

„Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, Bad Zwischenahn 1987

S. 166-168

WOLFENSBERGER, R. (1993)

Vergleichende Untersuchungen auf Fasziole und Dikrozölöse in Galle, Kot und Leber beim Rind.

Vet. Med. Diss., Vetsuisse- Fakultät Universität Zürich

ZAJICEK, D. (1987)

(Control of fasciolosis in heifers in Czechoslovakia 1970-1985.) (in Tschechisch)

Vet. Med. (Praha) 32: 695-704

## 9. Anhang

### Anhang 1: Fragebogen zur Erhebung der Daten zum Betriebsmanagement

Betriebsanschrift:

Besuchsdatum:

Laufende Betriebsprobennummer:

#### 1. Daten zum Betrieb und zur Herde

1.1 Gesamtzahl der Rinder?

\_\_\_\_\_

1.2 Gesamtzahl der Milchkühe?

\_\_\_\_\_

1.3 Durchschnittliche Herdenleistung?

\_\_\_\_\_

1.4 Anzahl der Hektar Weideland?

\_\_\_\_\_

1.5 Vorhandene Rinderrassen?

3 Rotbunte

4 Schwarzbunte

5 Andere

1.6 Wie lange existiert der Betrieb?

3 1-10 Jahre

4 10-50 Jahre

5 > 50 Jahre

1.7 Impfstatus

3 BHV1

4 BVD/MD

5 Sonstige

#### 2. Daten zum Weidemanagement

2.1 Haben die Milchkühe Weidegang?

1 ja

2 nein

3 teils- teils

9 weiß nicht

2.2 Haben die Jungtiere Weidegang?

1 ja

2 nein

3 teils- teils

9 weiß nicht

2.3 Wie lange dauert die Weideperiode?

3 1-3 Monate

4 3-6 Monate

5 länger als 6 Monate

2.4 Beweiden Kühe und Jungtiere die gleichen

Weiden?

1 ja

2 nein

3 teils- teils

9 weiß nicht

## 1.8 Werden Rinder zugekauft?

- 1 ja
- 2 nein
- 3 teilweise

## 1.9 Art der Milchkuhhaltung

- 3 Boxenlaufstall
- 4 Anbindehaltung
- 5 Sonstiges

## 1.10 Art der Kälber-/Jungviehhaltung

- 3 Iglo
- 4 Einzelbox
- 5 Gruppenbox auf Spalten
- 6 Gruppenbox auf Stroh
- 7 Anbindehaltung

## 2.5 Art der Weidehaltung

- 3 Standweide
- 4 Wechselweide
- 5 Beides
- 9 weiß nicht

## 2.5.1 Wenn Weidewechsel, in welchen Abständen?

- 
- 9 weiß nicht

## 2.6 Beweiden andere Tiere die Weiden?

- 2 nein
- 3 Schafe
- 4 Pferde
- 5 Sonstige
- 9 weiß nicht

## 2.7 Beweiden Wildwiederkäuer die Weiden?

( Rehe, Hirsche, Kaninchen)

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 2.8 Wird Gülle/Mist auf die Weiden ausgebracht?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 2.8.1 Wenn ja, wie oft im Jahr?

- 3 0-1x/Jahr
- 4 1-2x/Jahr
- 5 2-3x/Jahr
- 6 öfter als 3x/Jahr
- 9 weiß nicht

## 2.8.2 Wie lange nach Gülleausbringung bleibt die Weide unbeweidet?

- 3 kürzer als 8 Wochen
- 4 länger als 8 Wochen
- 9 weiß nicht

## 3.2 Ist das Heu Ihrer Meinung nach gut getrocknet?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 3.3 Wird das Grassilo von gefährdeten Weideflächen gewonnen?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 3.4 Wie lange nach dem Schnitt öffnen und

## 2.9 Erfolgt Zufütterung auf der Weide?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 2.9.1 Wenn Zufütterung erfolgt, dann

- 3 über gesamte Weideperiode
- 4 nur wenn zu wenig Gras
- 9 weiß nicht

## 2.10 Wie erfolgt die Wasserversorgung auf der Weide?

- 3 Tränkwagen/Tränkebecken
- 4 Tränke mit Frischwasseranschluß
- 5 Tränke mit Bachwasseranschluß
- 6 Bach-/Grabenränke für Rinder zugänglich
- 9 weiß nicht

## 2.11 Befinden sich natürliche Wasserstellen auf der Weide?

- 2 nein
- 3 Bach
- 4 Teich/See
- 5 tiefe Spurrillen bei Nässe
- 6 Gräben
- 9 weiß nicht

## 2.12 Sind die Tränkeplätze befestigt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 2.1.3 Sind natürliche Wasserstellen abgezäunt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 2.14 Welche Bodenart herrscht auf den Weideflächen vor?

- 3 Marsch
- 4 Geest
- 5 Moor
- 6 Sonstiges

## verfüttern Sie das Grassilo?

- 3 kürzer als 4 Wochen
- 4 frühestens nach 4 Wochen
- 9 weiß nicht

**4. Informationsstand**

## 4.1 Ist Ihnen der Leberegel bekannt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 4.2 Ist Ihnen das Krankheitsbild, welches der Egel verursacht, bekannt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 4.2.1 Wenn ja, welche Anzeichen sind Ihnen bekannt?

\_\_\_\_\_

## 4.3 Ist Ihnen bekannt, wie sich die Kuh mit einem Leberegel ansteckt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 4.3.1 Wenn ja, wie?

\_\_\_\_\_

## 4.4 Sind Ihnen Ursachen für die Ansteckung mit einem Leberegel bekannt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

## 4.4.1 Wenn ja, welche kennen Sie?

\_\_\_\_\_

## 4.5 Ist Ihnen eine Vorbeuge bekannt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

9 weiß nicht

2.15 Gibt es auf den Weiden Lehm, Ton oder Schlamm?

1 ja

2 nein

9 weiß nicht

### 3. Daten zum Futtermanagement

3.1 Wird in der Stallperiode Heu verfüttert?

1 ja

2 nein

9 weiß nicht

### 5. Daten zum Parasitenmanagement

5.1 Führen Sie regelmäßig Parasitenbekämpfungen durch?

1 ja

2 nein

9 weiß nicht

5.2 Wer hat Sie in diesen Fragen beraten?

3 Tierarzt

4 Rinderberatung

5 Nachbar/Bekannte

6 eigene Familie

5.3 Führen Sie Behandlungen gegen Leberegel durch?

1 ja

2 nein

9 weiß nicht

5.3.1 Wenn nein, warum nicht?

3 nicht notwendig

4 zu teuer

5 zu arbeitsintensiv

6 keine Zulassung für Milch

9 weiß nicht

5.3.2 Wenn ja, wie oft im Jahr behandeln Sie

4.5.1 Wenn ja, welche?

---

4.6 Ist Ihnen eine Therapie bekannt?

1 ja

2 nein

9 weiß nicht

4.6.1 Wenn ja, welche?

---

5.3.9.1 Wenn ja, welche?

---

5.3.10 Wann erfolgte die letzte Leberegelbehandlung?

3 Herbst 2005

4 Frühjahr 2005

5 Herbst 2004

6 Frühjahr 2004

7 vor 2004

9 weiß nicht, 8 Frühjahr 2006

5.4 Führen Sie Behandlungen gegen Magen-Darm- und Lungenwürmer durch?

1 ja

2 nein

9 weiß nicht

5.4.1 Wenn ja, mit welchem Präparat?

3 Bolus

4 pour-on Präparat

5 Injektionspräparat

6 orales Präparat

9 weiß nicht

5.4.2 Welche Tiergruppe werden behandelt?

3 Erstsömmrige

4 Färsen

- gegen Leberegel?  
 4 1x/Jahr  
 5 2x/Jahr  
 5 mal so, mal so  
 9 weiß nicht
- 5.3.3 Seit wie vielen Jahren behandeln Sie?  
 3 nur dieses Jahr  
 4 seit 5 Jahren  
 5 seit 10 Jahren oder länger  
 9 weiß nicht
- 5.3.4 Zu welchem Zeitpunkt behandeln Sie?  
 3 Herbst/Aufstallung  
 4 Januar/Februar  
 5 Sonstiges
- 5.3.5 Welche Tiere werden behandelt?  
 3 Trockensteher/Kühe  
 4 Erstsömmrige weiblich  
 5 Erstsömmrige männlich  
 6 tragende Färsen  
 7 alle
- 5.3.6 Welches Präparat benutzen Sie?  
 3 Fasinex©, Endofluke©  
 4 Flukiver©  
 5 Valbazen 10%©, Vermitan©, Albendazol 10%©  
 9 weiß nicht
- 5.3.7 Wie verabreichen Sie das Präparat?  
 3 bei jedem Tier einzeln ins Maul mit Dosierspritze  
 4 Gemeinschaftsbehandlung über das Futter  
 9 weiß nicht
- 5.3.8 Kennen Sie andere Präparate als das von Ihnen verwendete?  
 1 ja  
 2 nein
- 5.3.9 Treffen Sie vorbeugende Maßnahmen?  
 1 ja  
 2 nein
- 5 Kühe  
 6 alle  
 9 weiß nicht
- 5.4.3 Wie oft werden die Tiere gegen Magen-Darm-Würmer behandelt?  
 3 prophylaktisch 1-2x/Jahr  
 4 prophylaktisch 2-3x/Jahr  
 5 prophylaktisch 3-4x/Jahr  
 6 häufiger als 4x/Jahr  
 9 weiß nicht
- 5.5 Tritt in ihrem Betrieb Ektoparasitenbefall auf?  
 2 nein  
 3 Räude  
 4 Läuse/ Haarlinge  
 5 Fliegen  
 9 weiß nicht
- 5.5.1 Führen Sie Behandlungen gegen Ektoparasiten durch?  
 1 ja  
 2 nein  
 9 weiß nicht
- 5.5.2 Wenn ja, mit welchem Präparat?  
 3 pour-on Präparat  
 4 Injektionspräparat  
 5 Fliegenohrmarken  
 6 Stallbehandlung
- 5.5.3 Welche Tiergruppen werden behandelt?  
 3 nur befallene Tiere  
 4 alle Tiere einer Gruppe  
 5 alle Tiere  
 9 weiß nicht
- 5.5.4 Wie oft werden die Tiere gegen Ektoparasiten behandelt?  
 3 nur bei Befall  
 4 prophylaktisch 1-2x/Jahr  
 5 prophylaktisch 2-4x/Jahr  
 9 weiß nicht

## 6. Krankheiten und Schlachtinformationen

6.1 Hatten Sie in den letzten 3 Jahren Rinder, die Ihrer Meinung nach an Leberegelbefall litten?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

6.2 Hat Ihr Tierarzt in den letzten 3 Jahren ein Rind mit Leberegelbefall diagnostiziert?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

6.2.1 Wenn ja, welche Maßnahme wurde daraufhin ergriffen?

---

6.3 Haben Sie in den letzten 3 Jahren vom Schlachthof Rückmeldung wegen verworfener Lebern erhalten?

- 2 nein
- 3 0-1x
- 4 2-10x
- 5 >10x
- 9 weiß nicht

6.4 Haben Sie sich selbst danach erkundigt?

- 1 ja
- 2 nein
- 9 weiß nicht

**Vielen Dank!**

**Anhang 2:** Fragebogen zur Einzeltierleistung**Betrieb****Anamnestiche Daten der einzeln beprobten Kühe**

	Kuh 1	Kuh 2	Kuh 3	Kuh 4	Kuh 5	Kuh 6	Kuh 7
Ohrmarkennummer							
Alter							
Datum letzte Kalbung							
Anzahl Laktationen							
Durchschnittl. Leistung							
Monat d. Trächtigkeit							
Letzte Leberegelbhlg.							
Ergebnis Kotprobe							
Ergebnis Milchprobe							
Ergebnis Tankmilchprobe							
Anzahl enthaltener Gemelke							

**Anhang 3:** Gebrauchsanleitung und Reagenzien des verwendeten ELISA-Testkits

**ELISA TEST ZUM NACHWEIS VON ANTIKÖRPERN  
GEGEN *FASCIOLA HEPATICA* IN SERUM- UND  
MILCHPROBEN**

**(BESTÄTIGUNG)**

**(240 Testreaktionen)**

DIE DEUTSCHE FASSUNG DER GEBRAUCHSINFORMATION IST  
ENTSPRECHEND § 17C TIERSG ZUGELASSEN

**IN-VITRO DIAGNOSTIKUM**

**FÜR TIERE**

**ZUL-NR.: BGVV-B 196**

**STAND : 06.2005**

### TESTPRINZIP

Der Test basiert auf folgendem Prinzip :

1. Das Antigen "f2" ist am Boden der Vertiefungen in den Mikrotiterplatten aus Polystyrol fixiert. Die Vertiefungen sind alternierend mit inaktiviertem Antigen und Kontrollantigen beschichtet.
2. Die zu untersuchenden Serum- und Milchproben werden verdünnt und in den Vertiefungen der Mikrotiterplatten inkubiert. Liegen spezifische Antigen "f2"-Antikörper in der Probe vor, bilden sich "f2-Antigen"-Antikörperkomplexe, durch die die spezifischen Antikörper aus der Probe am Boden der Mikrotiterplatten gebunden werden.
3. Nach dem Waschen wird ein enzymgekoppelter Anti-Wiederkäuerimmunoglobulin-Antikörper (Konjugat) hinzugefügt und inkubiert. Dieses Konjugat wird am Immunkomplex gebunden.
4. Nach dem Waschen wird das Enzymsubstrat (TMB) zugesetzt, das sich in Gegenwart des in den Vertiefungen zurückgebliebenen Konjugats blau färbt. Nach dem Stoppen der Reaktion tritt eine Gelbfärbung ein. Die Intensität der Farbreaktion ist proportional zu der Antikörperkonzentration in der zu untersuchenden Probe.

Die verschiedenen Klassen der Positivität werden anhand der Ergebnisse bestimmt, die mit der im Kit gelieferten positiven Kontrolle erhalten werden. Die Kontrolle ist auf jeder Mikrotiterplatte aufzutragen.

*Anmerkung:*

*Die positive Kontrolle entspricht einem Serum, das  $\approx 150$  HA Einheiten nach dem Leveux-System enthält (siehe Literaturhinweise).*

### ZUSAMMENSETZUNG UND AUFBEWAHRUNG DES KITS

*Es empfiehlt sich, mit sämtlichen Reagenzien bei einer Temperatur von  $+21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) zu arbeiten (mit Ausnahme des Konjugats und der Kontrollen). Zu diesem Zweck sollten die Reagenzien mindestens eine Stunde vor Testbeginn aus dem Kühlraum genommen werden.*

REAGENZIEN	MENGE	AUFBEWAHRUNG UND ANMERKUNGEN
Mikrotiterplatten <i>(alternierend mit inaktiviertem „F2-Antigen“ und Kontrollantigen beschichtet)</i>	5	$+5^{\circ}\text{C}$ ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Wird eine Mikrotiterplatte nicht vollständig benutzt, kann sie zu einem späteren Zeitpunkt wiederverwendet werden, vorausgesetzt, sie wird sofort dicht verschlossen und bei <math>+5^{\circ}\text{C}</math> (<math>\pm 3^{\circ}\text{C}</math>) aufbewahrt</i></li> </ul>

Waschlösung, 20-fach konzentriert	1 Flasche zu 100 ml	+5°C (± 3°C) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei +5°C (± 3°C) lassen sich Ausfällungen beobachten, die bei +21°C (± 5°C) wieder verschwinden; gelegentliches leichtes Schütteln beschleunigt die Auflösung der Kristalle.</li> <li>• Bei +21°C (± 5°C) bis zu 1 Monat haltbar, vorausgesetzt, die Flasche wird wieder dicht verschlossen; das Reagenz ist dann unmittelbar gebrauchsfertig.</li> <li>• Nach der Verdünnung 3 Tage bei +5°C (± 3°C) haltbar.</li> <li>• Für sämtliche Kits des Institut POURQUIER identisch und kann daher mit jedem beliebigen Kit verwendet werden.</li> </ul>
Verdünnungspuffer Nr. 2 Hellgrün (für Proben)	1 Flasche zu 120 ml	+5°C (± 3°C)
Verdünnungspuffer Nr. 1 Hellblau (für Konjugat)	1 Flasche zu 120 ml	+5°C (± 3°C)
Positive Kontrolle (flüssig)	1 Flasche zu 0.5 ml	+5°C (± 3°C)
Negative Kontrolle (flüssig)	1 Flasche zu 0.5 ml	
Anti-Wiederkäuer IgG- Peroxidase-Konjugat	1 Flasche zu 0,75 ml	+5°C (± 3°C) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Die verdünnte Konjugatlösung kann nicht aufbewahrt werden.</li> </ul>
TMB-Substrat Nr. 3 gebrauchsfertig	1 Flasche zu 60 ml	+5°C (± 3°C) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei +5°C (± 3°C) kann eine leichte Blaufärbung beobachtet werden. Bei +21°C (± 5°C) wird das Reagenz farblos.</li> <li>• Das Reagenz kann bei +21°C (± 5°C) zwischen zwei Untersuchungen bis zu 1 Woche auf dem Labortisch aufbewahrt werden, vorausgesetzt, die Flasche wird wieder dicht verschlossen.</li> </ul>
Stopplösung H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M)	1 Flasche zu 60 ml	+5°C (± 3°C) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei +21°C (± 5°C) bis zu 1 Monat haltbar, vorausgesetzt, die Flaschen werden wieder dicht verschlossen; das Reagenz ist dann unmittelbar gebrauchsfertig.</li> <li>• Für sämtliche Kits des Institut POURQUIER identisch und kann daher mit jedem beliebigen Kit verwendet werden.</li> </ul>
Gebrauchsinformation		

### VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Die Reagenzien nicht durch Saugen mit dem Mund pipettieren.
2. Den Kontakt des Substrats (TMB\*) mit der Haut, den Schleimhäuten und den Augen vermeiden. Nach Gebrauch können die Mikrotiterplatten und das Substrat durch Verbrennung entsorgt werden.
3. **Die Stopplösung enthält  $H_2SO_4$ \* 0,5 M und kann daher bei Kontakt mit der Haut, den Schleimhäuten und den Augen zu schweren Verbrennungen führen.**
4. Obwohl das mit dem Kit gelieferte Material keine kontaminierenden Elemente enthält und die Serum- und Milchproben theoretisch nicht infektiös sind, empfiehlt es sich, sämtliche für die Durchführung der Tests verwendeten Einmalmaterialien vor ihrer Entsorgung durch Eintauchen in frisch zubereitetem Natriumhypochlorit 5% oder durch Behandlung im Autoklaven bei 120°C von jeweils mindestens 1 h oder mittels jeder anderen den gültigen Bestimmungen entsprechenden Methode zu dekontaminieren.

*\*Institut POURQUIER stellt Ihnen auf Wunsch das Datenblatt über die Toxizitätsprüfung dieser Produkte zur Verfügung.*

### ZUR DURCHFÜHRUNG DER TESTE ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHES UND NICHT IM KIT MITGELIEFERTES MATERIAL

1. Photometer für Mikrotiterplatten
2. Zentrifuge
3. Zentrifugenröhrchen
4. Vortex-Mischer
5. Waschsystem für die Mikrotiterplatten zur Verteilung von jeweils 300 µl pro Vertiefung.
6. Präzisionspipetten und Multikanalmikropipetten (die erforderliche Meßgenauigkeit muß für sämtliche angegebenen Mengen weniger oder gleich 5% betragen)
7. Einmal-Ansatzstücke für Pipetten
8. Destilliertes Wasser : das für die Lösung der Waschlösung verwendete Wasser kann mittels eines konventionellen Destillationssystems oder mittels jedes anderen leistungsstarken Wasserreinigungssystems (Umkehrosmose, Harz- und Aktivkohlereinigung, ...) hergestellt werden.
9. Abdeckungen für Mikrotiterplatten
10. Inkubator zu +37°C (± 3°C)

## GEBRAUCHSANWEISUNG

### 1. EINFÜLLEN DER PROBEN

#### a) Behandlung der Proben

##### ↳ Behandlung der Kontrollen:

Die Kontrollen werden im Verhältnis 1:20 verdünnt, wobei folgendermaßen vorzugehen ist (siehe Anmerkung 2 und 3):

- Jeweils 190 µl Verdünnungspuffer **Nr. 2** in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettieren.
- 10 µl unverdünnte negative Kontrolle in A1 und A2 pipettieren.
- 10 µl unverdünnte positive Kontrolle in B1 / B2 und C1 / C2 pipettieren

##### ↳ Behandlung der zu testenden Seren:

Die Seren (Einzel- oder Sammlseren) werden im Verhältnis 1:20 verdünnt, wobei folgendermaßen vorzugehen ist (siehe Anmerkung 2 und 3):

- Jeweils 190 µl Verdünnungspuffer **Nr. 2** in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettieren.
- Jeweils 10 µl von jeder unverdünnten Serumprobe in
  - 1 beschichtete Vertiefung (geradzahlige Reihen)
  - 1 unbeschichtete Vertiefung (ungeradzahlige Reihen) pipettieren (s. Abb. 1).



- a) Eine Flasche 20-fach konzentrierter Waschlösung in 1900 ml destilliertem Wasser verdünnen. Diese Lösung wird in der Folge "Waschlösung" genannt. Unter der Voraussetzung, daß der ganze Inhalt der 100 ml - Flasche verbraucht wird, kann die Verdünnung vor dem Auflösen der bei +5°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ) aufgetretenen Kristalle erfolgen.
- b) Die Mikrotiterplatte durch Umdrehen oder vorzugsweise mit Hilfe eines automatisch bedienten Geräts leeren.
- c) Sämtliche Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit der Waschlösung füllen und erneut leeren.
- d) Den Vorgang unter c) zweimal wiederholen (d.h. insgesamt 3 Waschzyklen).

**Anmerkung**

1. *Wird eine große Anzahl von Mikrotiterplatten gleichzeitig behandelt, können (zur zeitlichen Abstimmung der Arbeitsvorgänge) die Platten bis zu 1 h mit Waschlösung gefüllt liegenbleiben, ohne das dies die Gültigkeit des Tests beeinträchtigen würde.*
2. *Wenn die Milchproben entfettet sind oder unterhalb des Rahms abgenommen wurden, genügt diese Art von Waschen. Bei Verwendung von Vollmilchproben kann es nötig sein, den Waschgang zu abzuändern: Wenn eine optischen Prüfung weisse Rückstände in den Vertiefungen zeigt, sollte der Waschgang verlängert werden. Die Waschlösung sollte drei mal jeweils 3 min. einwirken gelassen werden.. Diese Kontaktzeiten erlauben das Lösen der Fettpartikel ist, die sich beim nächsten Schritt unspezifisch an das Konjugat binden könnten.*

### **3. HERSTELLEN UND PIPETTIEREN DER KONJUGATLÖSUNG**

- a) Das Konjugat mit « Verdünnungspuffer Nr. 1 » 1:100 verdünnen.
- b) Jeweils 100 µl der verdünnten Konjugatlösung in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettieren.
- c) Die Mikrotiterplatte abdecken (mit Deckel, Alu-Folie oder Heft-Folie) und **30 Minuten (± 3 Min.) bei 37°C (±3°C)** inkubieren.

### **4. WASCHEN**

- a) Die Mikrotiterplatte durch Umdrehen oder mit Hilfe eines manuell oder automatisch bedienten Geräts leeren.
- b) Sämtliche Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit der Waschlösung füllen und erneut leeren.
- c) Den Vorgang unter b) zweimal wiederholen (d.h. insgesamt 3 Waschzyklen).

#### Anmerkungen :

- 1) Die sorgfältige Ausführung des letzten Waschvorgangs ist von größter Wichtigkeit für die korrekte Durchführung des Tests.
- 2) Bei manuell ausgeführten Waschzyklen kann die Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschzyklus mit den Öffnungen nach unten auf einem sauberen Tuch ausgeklopft werden, um die Vertiefungen vollständig zu leeren.

### **5. SUBSTRAT-INKUBATION**

- a) Jeweils 100 µl des TMB-Substrats Nr. 3 in jede Vertiefung pipettieren.
- b) 20 min bei +21°C (±5°C) unter Lichtausschluss inkubieren.
- c) Jeweils 100 µl der Stopp-Lösung in jede Vertiefung pipettieren.
- d) Leicht schütteln, bis die gefärbte Lösung gut vermischt ist. In den Vertiefungen dürfen keine Bläschen entstanden sein. Die Unterseite der Mikrotiterplatte sorgfältig abwischen.

#### Anmerkung

1. Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen 20 min für die Substratinkubation ergeben in unseren Laboratorien eine dem Kapitel "Auswertung" entsprechende optische Dichte. Diese Intensität kann allerdings von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden :
  - die Qualität der Waschzyklen (manuelles oder automatisches Gerät, Qualität des verwendeten Wassers)
  - die Genauigkeit des Pipettierens
  - die Temperaturbedingungen bei der Reaktion.

Je nach Arbeitsbedingungen kann die Substrat-Inkubation zu einer höheren oder niedrigeren optischen Dichte führen als erwartet. Es empfiehlt sich daher, die Reaktion ggf. etwas früher oder später als angegeben zu stoppen.

2. Die Messung kann einige Stunden nach dem Stoppen erfolgen, wenn die Mikrotiterplatte bis dahin im Dunkeln aufbewahrt wird.

### **6. MESSUNG**

- a) Die optische Dichte bei 450 nm (OD. 450) messen. Der Nullwert des Photometers wird bei 450 nm an einer Luftsäule ermittelt.
- b) Für jede Probe den Nettowert der OD. 450 berechnen, d.h. die Differenz zwischen der OD. 450 der beschichteten und der OD. 450 der unbeschichteten Vertiefungen.

c) Die Nettowerte der beiden Positivkontrollen werden gemittelt.

### 7. VALIDIERUNG

Bei einer korrekten Durchführung des Test erhält man einen OD. 450-Mindestwert von **0,350** für den Mittelwert der positiven Kontrolle.

Die Reaktion ist gültig, wenn ein Verhältnis von mindestens **3.5:1** zwischen dem gemittelten OD.450-Nettowert der positiven Kontrollen und dem OD.450-Nettowert der negativen Kontrolle besteht.

*Der OD. 450-Nettowert der negativen Kontrolle kann bei Null liegen oder negativ sein. In diesem Falle kann der absolute Wert zur Validation benutzt werden.*

**AUSWERTUNG**

Für jede Probe wird der Prozentsatz zwischen der OD der Probe und der OD der positiven Kontrolle berechnet :

$$S/P \% = (\text{Netto OD.450 der Probe} / \text{Mittelwert der Netto OD.450 der positiven Kontrolle}) \cdot 100$$

**Bei der Auswertung wird nach Probenart unterschieden:**

S/P % der Probe	Interpretation der Ergebnisse		
	Befallsintensität	Befallsextensität	
	Einzelseren	Sammelseren	Tankmilch
> 120 %	Starker Befall +++	> 70 %	> 80 %
60-120 %	Mittelstarker Befall ++	40 - 70 %	60 - 80 %
30-60 %	Schwacher Befall +	10 - 40 %	30 - 60 %
< 30 %	Kein oder sehr schwacher Befall 0	< 10 %	< 30 %

**Anhang 4:** Ergebnisse des verallgemeinerten/exakten Fisher-Test für 2x k-Kontingenztafeln nach dem Freeman- Halton- Prinzip zur Darstellung der Wechselbeziehung Ei-/ ELISA-positiv und verschiedenen Betriebsparametern

	ja (N)	nein (N)	total (N)	p- Wert
<b>A: unbefestigte Tränke</b>				
Ei-negativ	20	45	65	0,2634
Ei-positiv	25	35	60	
Individualmilch-ELISA-negativ	13	19	32	0,5301
Individualmilch-ELISA-positiv	32	61	93	
Tankmilch ELISA-negativ	14	19	33	0,4025
Tankmilch ELISA-positiv	31	61	92	
total	45	80	125	
<b>B: Weidegang Kühe</b>				
Ei-negativ	50	7	57	0,7618
Ei-positiv	53	5	58	
Individualmilch-ELISA-negativ	25	2	27	0,729
Individualmilch-ELISA-positiv	78	10	88	
Tankmilch ELISA-negativ	26	2	28	0,2118
Tankmilch ELISA-positiv	77	10	87	
total	103	12	115	
<b>C: natürliche Wasserstellen eingezäunt</b>				
Ei-negativ	48	11	59	0,1991
Ei-positiv	41	17	58	
Individualmilch-ELISA-negativ	26	3	29	0,0767
Individualmilch-ELISA-positiv	63	25	88	
Tankmilch ELISA-negativ	25	4	29	0,2091
Tankmilch ELISA-positiv	64	24	88	
total	89	28	117	

**D: weiden andere Tiere auf Kuhweide**

	Schaf;Pferd		Schaf;Pferd	
Ei-negativ	29	33	62	0,133
Ei-positiv	18	39	57	
Individualmilch-ELISA-negativ	9;2	19	30	0,2448
Individualmilch-ELISA-positiv	38;2	53	93	
Tankmilch ELISA-negativ	13;3	15	31	0,0551
Tankmilch ELISA-positiv	34;1	57	92	
total	47;4	72	119;123	

**E: Behandlung gegen Leberegel**

Ei-negativ	38	32	70	0,1613
Ei-positiv	25	36	61	
Individualmilch-ELISA-negativ	14	20	34	0,4262
Individualmilch-ELISA-positiv	49	48	97	
Tankmilch ELISA-negativ	13	22	35	0,1671
Tankmilch ELISA-positiv	50	46	96	
total	63	68	131	

## **Erklärung**

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Michaela Rabeler

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, ganz herzlich bedanken:

Herrn Prof. Dr. H. Zahner danke ich für die Überlassung des Themas -an eine in Norddeutschland praktizierende "institutsferne" Tierärztin- und Korrektur dieser Arbeit.

Herrn Dr. C. Bauer gilt mein besonderer Dank für seine unermüdliche fachliche und persönliche Unterstützung in allen Lebenslagen, für sein Durchhaltevermögen trotz Leni-Pause, für seine Geduld und Korrekturanregungen bei den unzähligen Anfragen per mail und für die gemütlichen Tee-Gespräche in Giessen.

Christine Henrich und Agnes Mohr danke ich für die Einarbeitung, Unterstützung und Kühlschrankplatzbeschaffung im Labor.

Herrn Dr. K. Failing aus der AG Biomathematik und Datenverarbeitung danke ich für die statistische Datenauswertung.

Herrn Dr. H. Wilking aus dem Robert-Koch-Institut in Berlin (Infektionsepidemiologie) danke ich für die Durchführung der Regressionsanalyse.

Herrn Dipl. Ing. H. Rowehl vom Landeskontrollverband Schleswig-Holstein e.V. in Kiel danke ich für die zur Verfügung gestellten Milchproben und besonders Frau Hanke für die Unterstützung beim Sortieren tausender Milchproben.

Ein großes Dankeschön gilt “meiner” Praxis Dres. Gouverneur und Winter in Nordhastedt, die mir wie selbstverständlich das Praxislabor zur Verfügung gestellt hat und darüber hinweg sah, wenn ich morgens etwas müder zur Arbeit kam als sonst, insbesondere danke ich Maike, für die Motivation und das stets offene Ohr in dieser Zeit und den richtig guten Kaffee und natürlich danke ich Julia, der besten Kotprobenrührerin der Welt!

Den besuchten Landwirten in Dithmarschen danke ich für den freundlichen Empfang auch um 5 Uhr morgens und die leckere Verpflegung anschließend.

Der Vereinigung der Rinderspezialberatung e.V. in Heide danke ich für die Unterstützung bei der Information und Motivation der dithmarscher Landwirte für diese Arbeit.

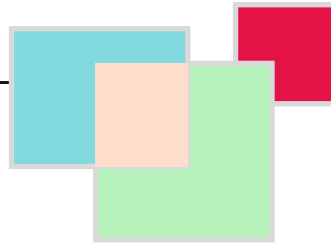
Den Schlachthöfen in Erfde, Nordfleisch in Bad Bramstedt und Danish Crown in Husum danke ich für die Zusammenarbeit.

Danke Daphné für abendlichen Zentrifugierschichten!

Christiane, Pavel, Claas V., Katrin R. und Claas M. danke ich herzlich für die Lösung diverser Computerprobleme und -fragen.

Nadja und Denis danke ich ganz herzlich für die Entwirrung rund um pp und die tatkräftige Unterstützung vor Ort.

Und mein allerliebster Dank gilt meiner kleinen Familie, die an mich geglaubt hat und mich motiviert hat, diese Arbeit zum Ende zu bringen und immer für mich da ist!



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFBENGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5863-0



9 783835 195863 0