

Aus dem Department für Pathobiologie  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie  
(LeiterIn: Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim Dipl. EVPC)

**Zusammenhang von *Fasciola hepatica* AK-Level und  
Milchleistungsparametern bei gealpten Milchrindern**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von  
Stefanie Theissing

Wien, im Juni 22

Betreuerin:

Dr. med. vet. Barbara Hinney Dipl. EVPC

Begutachter:

Dr. Daniela Klein-Jöbstl

## Inhalt

1. Einleitung .....	1
2. Literaturübersicht .....	3
2.1 Systematik und Morphologie.....	3
2.2 Lebenszyklus.....	3
2.3 Vorkommen .....	5
2.4 Pathogenese und Klinik.....	8
2.5 Nachweis.....	9
2.5.1 Koproskopische Untersuchung.....	10
2.5.2 Antikörper-Nachweis .....	10
2.5.3 Antigen-Nachweis .....	12
2.6 Therapie und Prophylaxe.....	12
2.7 Ökonomische Bedeutung .....	16
2.7.1 Milchleistung.....	16
2.7.2 Schlachtkörper.....	17
2.7.3 Reproduktion .....	18
3. Methoden.....	19
3.1 Proben.....	19
3.2 Sedimentation.....	19
3.3 ELISA .....	19
3.4 Berechnungen .....	21
3.5 Statistik .....	22
4. Ergebnisse .....	23
4.1 Milchleistungsdaten .....	23
4.2 <i>Fasciola</i> -ELISA .....	27
4.3 Sedimentation.....	29
4.4 Jahresverlauf .....	31

<b>4.5 Statistische Auswertung</b> .....	<b>31</b>
<b>4.6 Korrelation: Kendall-Tau-b (nicht parametrischer Test)</b> .....	<b>34</b>
<b>5. Diskussion</b> .....	<b>36</b>
<b>6. Zusammenfassung</b> .....	<b>39</b>
<b>7. Summary</b> .....	<b>40</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>41</b>
<b>9. Abbildungs-/Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>49</b>



## **1. Einleitung**

In den letzten Jahren ist die Prävalenz von Helminthen-assoziierten Erkrankungen im europäischen Wiederkäusersektor, vermutlich auch als Folge des Klimawandels mit mildereren Wintertemperaturen und vermehrten Niederschlägen, stark gestiegen (Charlier et al. 2013b, Morgan et al. 2013). Dazu zählt auch *Fasciola hepatica*, allgemein bekannt als großer Leberegel. Er ist ein Parasit zahlreicher Säugetiere und befällt die Gallengänge von unter anderem Rindern, Schafen, Ziegen, Pferden, Hirschen und Menschen (Auer und Aspöck 2014, Halabi et al. 1997, Husch et al. 2020, Mas-Coma et al. 2009b, Munita et al. 2016, Sezgin et al. 2004, Trifina et al. 2011). *F. hepatica* ist weltweit eine bedeutende Krankheit von Nutztieren, die häufigste vektorübertragene, parasitäre Erkrankung, und besonders in gemäßigten Klimazonen verbreitet (Behar et al. 2009, Bennema et al. 2011, Charlier et al. 2007, Halabi et al. 1997, Husch et al. 2020, Köstenberger et al. 2017, Marcos et al. 2008, Mas-Coma et al. 2005, Mas-Coma et al. 2009a, Mas-Coma et al. 2009b, Munita et al. 2016, Trifina et al. 2011). Wetter und Weidebedingungen haben den größten Einfluss auf das Auftreten von Leberegelinfektionen (Köstenberger et al. 2017, Trifina et al. 2011). In Österreich, besonders im Alpenraum, liegt die Herdenprävalenz bei über 70 % (Duscher et al. 2011, Matt et al. 2007). Bisher wurde *F. hepatica* bei Rindern bis 1136 m über dem Meeresspiegel und typischerweise älteren Tieren (>3 Jahre) gefunden (Husch et al. 2020). Deshalb besteht auch weiterhin ein großes Interesse in der Forschung zur *F. hepatica*- Prävalenz bei gealpten Rindern im Alpenraum.

In der Regel ist eine Infektion mit *F. hepatica* beim Rind asymptomatisch. Nur bei einem starken Befall lassen sich Symptome wie Schwäche, Apathie, Abdominalschmerzen und plötzliche Todesfälle feststellen (Eckert et al. 2005, Koch 2005, Schnieder 2000). Die chronische Fasziose ist die häufigste Form beim Rind (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Eckert et al. 2005, Koch 2005, Köstenberger et al. 2017, Schnieder 2000, Schweizer et al. 2005). Sie führt vor allem zu einer verminderten Futteraufnahme, Leistungsminderung und Fruchtbarkeits- und Abortproblemen (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2012, Charlier et al. 2013b, Howell et al. 2015, Khan et al. 2009, Koch 2005, Köstenberger et al. 2017, Lopez-Diaz et al. 1998, Mezo et al. 2011, Sanchez-Vazques und Lewis 2013). Dies kann zu beträchtlichen wirtschaftlichen Auswirkungen führen (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Köstenberger et al. 2017, Schweizer et al. 2005). Eine effektive Diagnostik und Bekämpfung sind deshalb unerlässlich.

Lange Zeit erfolgte die Diagnose von *F. hepatica* bei Rindern koproskopisch (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b). In den letzten Jahren wurden jedoch neue diagnostische Tests entwickelt, die die Koproskopie ergänzen (Charlier et al. 2007). Vor allem Milchantikörpertests

haben sich in vielen Ländern durchgesetzt, da sie wesentlich einfacher, billiger und nicht-invasiv sind (Salimi-Bejestani et al. 2007). Im Allgemeinen hat sich eine gute Korrelation zwischen Milch- und Serum-Antikörpertitern gezeigt (Charlier et al. 2007, Molloy et al. 2005, Salimi-Bejestani et al. 2005a, Salimi-Bejestani et al. 2007).

In dieser Studie wurden mithilfe von einem Antikörper-ELISA Milchproben von Einzeltieren sowie Tankmilch aus Almbetrieben in Tirol auf *Fasciola hepatica* untersucht, um einen Zusammenhang mit Milchleistungsdaten zu ermitteln. Die Hypothese ist, dass eine Infektion mit *Fasciola hepatica* negative Auswirkungen auf die Milchleistung hat und somit Milchkühe mit einem hohen Antikörpertiter gegen *F. hepatica* eine niedrigere Milchleistung haben als Kühe mit weniger Antikörpern.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1 Systematik und Morphologie**

*Fasciola hepatica*, allgemein bekannt als großer Leberegel, ist ein parasitärer Plattwurm (Platyhelminthes) und Saugwurm (Trematoda) der Säugetiere, der von Linnaeus 1758 das erste Mal beschrieben wurde (Husch et al. 2020, Munita et al. 2016, Trifina et al. 2011). Er hat eine lorbeerblattähnliche Form und ist etwa 20-30 mm x 13-15 mm groß. Er lebt in den Gallengängen zahlreicher Säugetiere (v.a. Rinder, Schafe), die die Endwirte darstellen. Der Mensch ist nur selten befallen und ist ein akzidenteller Zwischenwirt (Auer und Aspöck 2014, Halabi et al. 1997, Sezgin et al. 2004, Trifina et al. 2011).

Stamm: Platyhelminthes

Klasse: Trematoda

Ordnung: Echinostomida

Familie: Fasciolidae

Gattung: *Fasciola*

Art: *Fasciola hepatica*

### **2.2 Lebenszyklus**

Der Lebensraum für geschlechtsreife *F. hepatica* bei Säugetierwirten sind die Gallengänge der Leber. Von hier aus geben reife Egel zwischen 5.000 und 20.000 Eier pro Tag in den Magen-Darm-Trakt ab, die anschließend über die Galle mit dem Kot an die Umwelt abgegeben werden (Auer und Aspöck 2014, Brauer 2006, Koch 2005, Munita et al. 2016). Die Eier können auch bis zu 16 Wochen in der Gallenblase persistieren und schubweise abgegeben werden (Koch 2005). Die ovalen Eier sind 130-150 µm lang, 63-90 µm breit, haben ein deutlich sichtbares Operculum und sind gelblich-braun gefärbt (Bogitsh et al. 2013, Koch 2005). Je nach Umweltbedingungen können die Eier zehn Tage bis elf Wochen überleben (Koch 2005).

Die *F. hepatica*-Eier schlüpfen, wenn sie durch Licht stimuliert werden, und entwickeln sich in Gewässern oder temporären Wasseransammlungen bei einer Mindesttemperatur von 10 °C (optimalen 16-20 °C) nach vier bis 15 Tagen zu Mirazidien (Wimpernlarve) (Bogitsh et al. 2013, Brauer 2006, Koch 2005, Munita et al. 2016). Unter 10 °C findet keine Weiterentwicklung statt (Koch 2005). Die Mirazidien haben Augenflecken und sind positiv phototaktisch (Bogitsh et al. 2013). Sind die Wimpernlarven entwickelt, müssen sie innerhalb von acht bis 30 Stunden in einen Zwischenwirt, amphibische Schnecken der Gattungen *Lymnaea*, *Succinea*, *Fossaria* oder *Praticolella*, eindringen (Auer und Aspöck 2014, Bogitsh et al. 2013, Brauer 2006, Koch 2005, Munita et al. 2016). Die Art variiert je nach geografischem Standort. In Europa ist der Hauptzwischenwirt *Galba truncatula*, welcher gemäßigte klimatische Bedingungen und schlammiges, durchweichtes Land benötigt (Auer und Aspöck 2014, Brauer 2006, Husch et al. 2020, Munita et al. 2016). Die für den Zwischenwirt optimale Temperatur liegt bei 15-26 °C, die minimale Temperatur ist 6 °C. Der optimale pH-Wert des Wassers für die Entwicklung des Zwischenwirtes liegt zwischen 4,2 und 9,0 (Brauer 2006).

Die Mirazidien erreichen durch anfangs ungerichtete und schnelle Schwimmbewegungen, die daraufhin durch Lichtreize zur Wasseroberfläche führen, die Habitate des Zwischenwirtes. Bei Temperaturen über 5 °C (optimal 15-26 °C) dringen die Wimperlarven mit Hilfe von proteolytischen Enzymen in die Schnecke, dessen Glykokonjugate sie chemotaktisch anzieht, ein. Hier verlieren sie ihre Zillen. Die jungen Sporozysten wandern daraufhin in die Verdauungsdrüsen des Zwischenwirtes, wo sich Redien der I. Generation (Mutterredien) in den Sporozysten und daraus Redien der II. und III. Generation oder Zerkarien (Schwanzlarven) entwickeln. Bei niedrigen Temperaturen stoppt die Entwicklung in der Schnecke, die jedoch bei Anstieg der Temperatur wieder fortgesetzt wird (Koch 2005).

Sieben Wochen nach der Infektion und auch mehrere Wochen bis Monate darauf verlassen einige hundert ovale Zerkarien (Schwanzlarven) pro Mirazidium aktiv die Schnecke (Auer und Aspöck 2014, Bogitsh et al. 2013, Brauer 2006, Koch 2005, Munita et al. 2016). Die Schwanzlarven schwimmen unter der Wasseroberfläche und setzen sich auf Vegetation oder andere Unterlagen. Die Zerkarien entwickeln sich zu kugeligen, etwa 250 µm großen, weiß-gelblichen Metazerkarien, indem sie ihren Schwanz abwerfen und eine Zystenwand bilden. Bei den Metazerkarien handelt es sich um das infektiöse Stadium (Auer und Aspöck 2014, Bogitsh et al. 2013, Brauer 2006, Koch 2005, Munita et al. 2016). Die Überlebensdauer beträgt je nach Umgebungstemperatur zwischen 24 Stunden (bei unter -19 °C und über +43 °C) und zwölf Tage (bei 20 °C) (Koch 2005).

Diese Metazerkarien werden durch Endwirte, hauptsächlich Wiederkäuer, oral über Grünfütter oder Oberflächenwasser aufgenommen und beginnen nach etwa einer Stunde, durch den Anstieg von Temperatur und CO<sub>2</sub>-Partialdruck und die Gallenflüssigkeit, im Duodenum zu exzystieren (Auer und Aspöck 2014, Bogitsh et al. 2013, Brauer 2006, Koch 2005).

Die unreifen Egel (Praeimago) wandern durch die Darmwand in die Bauchhöhle (24 Stunden), in die Leberkapsel (48 Stunden) und in das Leberparenchym (6 Tage). Dort fressen sie sich fünf bis sechs Wochen durch das Leberparenchym (Auer und Aspöck 2014, Brauer 2006, Koch 2005, Munita et al. 2016) und wachsen innerhalb von acht Wochen von etwa 4 nm auf 23 nm an (Koch 2005). Anschließend wandern sie in die großen Gallengänge und erreichen dort zehn bis zwölf Wochen nach Aufnahme der Metazerkarien die Geschlechtsreife. Sie pflanzen sich dort sexuell fort, legen Eier ab und verbleiben dort bis zum Absterben (Auer und Aspöck 2014, Bogitsh et al. 2013, Brauer 2006, Koch 2005).

Die Dauer des gesamten Lebenszyklus beträgt in etwa 17-23 Wochen (Koch 2005, Munita et al. 2016). Erwachsene *F. hepatica* können bis zu 11 Jahre alt werden (Bogitsh et al. 2013). Die Hauptübertragung von Leberegeln findet in den Monaten Mai und Juni statt (Brauer 2006). Eine Voraussetzung für die Entwicklung von *F. hepatica* und dessen Zwischenwirt sind eine optimale Feuchtigkeit und Temperatur in der Umgebung. Diese Faktoren haben deshalb eine große Auswirkung auf die Prävalenz (Brauer 2006, Mas-Coma et al. 2009b, Munita et al. 2016).

## **2.3 Vorkommen**

*Fasciola hepatica* ist weltweit verbreitet und die Fasziole ist eine bedeutende Krankheit von Nutztieren, insbesondere in gemäßigten Klimazonen (Behar et al. 2009, Bennema et al. 2011, Charlier et al. 2007, Halabi et al. 1997, Husch et al. 2020, Köstenberger et al. 2017, Marcos et al. 2008, Mas-Coma et al. 2005, Mas-Coma et al. 2009a, Mas-Coma et al. 2009b, Munita et al. 2016, Trifina et al. 2011). Er kann eine Vielzahl von Säugetieren einschließlich Rindern, Schafen, Ziegen, Pferden, Hirschen und Menschen befallen, wobei Wiederkäuer den hauptsächlichen Endwirt darstellen (Husch et al. 2020, Mas-Coma et al. 2009b, Munita et al. 2016). Mehrere hundert Millionen Tiere, vor allem Schafe und Rinder, sind betroffen, was zu erheblichen Produktionsausfällen führen kann (Husch et al. 2020, Munita et al. 2016, Robinson und Dalton 2009).

In Europa liegen Schwerpunkte vor allem in England, Irland, Portugal, Spanien, Südfrankreich, Italien, den Niederlanden, Belgien, Deutschland, Polen, der Schweiz, und Österreich (Arias et al. 2011, Auer und Aspöck 2014, Duscher et al. 2011, Knubben-Schweizer et al. 2010, McCann et al. 2010, Trifina et al. 2011). Jedoch schwanken die Befallsraten, auch innerhalb von Ländern, sehr stark (Husch et al. 2020). In verschiedenen Studien lag die Herdenprävalenz bei 7 % in Südmittelschweden (Höglund et al. 2010), 18 % in der Schweiz (Rapsch et al. 2006) und 24 % in Deutschland (Pfister und Koch 2004, Kuerpick et al. 2013a), 65 % im Nordwesten Spaniens (Arias et al. 2010), >70 % in Österreich (speziell Tirol/Kärnten; Duscher et al. 2011, Matt et al. 2007), 78 % in Irland (Selemetas et al. 2015a) und 79,7 % in Großbritannien (Howell et al. 2015, Köstenberger et al. 2017).

In Österreich liegen die Hauptendemiegebiete in den westlichen Bundesländern, insbesondere in Vorarlberg, Tirol, Salzburg, Oberösterreich und der Steiermark, wobei sowohl Haus- als auch Wildtiere betroffen sind (Duscher et al. 2011, Halabi et al. 1997, Husch et al. 2020, Matt et al. 2007, Trifina et al. 2011). Die höchste Vielfalt an *F. hepatica*-Isolaten fanden Husch et al. (2020) in Tirol, wobei hier auch insgesamt die meisten Isolate gefunden wurden. Matt et al. (2007) fanden eine Prävalenz im gesamten Bundesland von 73 %, wobei die höchste Prävalenz im östlichen Teil gefunden wurde. In isolierten Hochalpenbetrieben, wie im Bezirk Kitzbühel, erreicht diese sogar bis zu 97 % Prävalenz. Im Bezirk Imst lag die Prävalenz hingegen nur bei 17 %. Auch voralpine Regionen in Bayern, die in unmittelbarer Nachbarschaft zu Tirol liegen, wie die Landkreise Lindau, Oberallgäu, Bad Tölz, Bad Reichenhall, zeigten eine hohe Prävalenz zwischen 85 % und 97 %, wohingegen das gesamte Bundesland im Durchschnitt eine Herdenprävalenz von nur 32,4 % zeigte (Matt et al. 2007). Die hohe Verbreitung in diesen Regionen könnte auf die vorherrschenden Haltungsbedingungen und geographische Lage zurückzuführen sein, da es sich hier hauptsächlich um kleinbäuerlich geprägte Alpenregionen mit traditioneller Weidehaltung handelt (Husch et al. 2020, Matt et al. 2007). In der Steiermark zeigte eine Studie eine Prävalenz in Tankmilchproben der Milchviehherden von 61,3 % im Jahr 2014 und von 45,5 % im Jahr 2015 (Köstenberger et al. 2017). Duscher et al. (2011) zeigten eine Prävalenz von 60 % über mehr als ein Jahr in Kärnten. Vergleiche all dieser Studien sind jedoch schwer zu ziehen, da sich Cut-off-Werte, Methoden und Zeitpunkt der Probenentnahmen unterschieden. Da der Höhepunkt des Lebenszyklus gegen Ende des Sommers erwartet wird (Salimi-Bejestani et al. 2005a), ist der Antikörperspiegel im Herbst meist höher (Köstenberger et al. 2017).

Heute ist *F. hepatica* die häufigste vektorübertragene, parasitäre Erkrankung (Mas-Coma et al. 2009a). *Fasciola hepatica* wurde bisher von Rindern bis 1136 m über dem Meeresspiegel und typischerweise von älteren Tieren (>3 Jahre) isoliert (Husch et al. 2020). Den größten Einfluss auf Leberegelinfektionen haben Wetter- und Weidebedingungen (Köstenberger et al. 2017, Trifina et al. 2011). Durch viel Niederschlag und schlecht entwässerte Böden entstehen optimale Lebensbedingungen für den Zwischenwirt, was zu einer erhöhten Verbreitung und damit einem erhöhten Risiko einer *F. hepatica*-Infektion führt (Bennema et al. 2011, Charlier et al. 2011, Howell et al. 2015, Köstenberger et al. 2017, Selemetas et al. 2015b). Köstenberger et al. (2017) beschrieben als weitere Risikofaktoren außerdem Trinkwassersysteme (Selemetas et al. 2015a, Charlier et al. 2011), Herdengrößen (Charlier et al. 2011, Selemetas et al. 2015a, Howell et al. 2015) und Dauer der Weidesaison (Bennema et al. 2011, Selemetas et al. 2015a), da sie zu einer Zunahme von stehenden Gewässern führen können. In diesen können sich Schnecken fortpflanzen, die zu einer schnellen Vermehrung von *F. hepatica* führen (Köstenberger et al. 2017).

In den letzten Jahren hat die Häufigkeit und Intensität von Helminthen-assoziierten Erkrankungen im europäischen Wiederkäusersektor zugenommen (Charlier et al. 2013b, Morgan et al. 2013). Im Vereinigten Königreich hat die Zahl der diagnostizierten Fälle von Fasziole bei Rindern, insbesondere bei Milchvieh, erheblich zugenommen, obwohl die Mehrheit der chronischen Infektionen durch die fäkale Eizählmethode nicht diagnostiziert wird (Charlier et al. 2013b, Salimi-Bejestani et al. 2005a, Salimi-Bejestani et al. 2007). So betrug die Infektionsprävalenz in Milchviehherden in England 2003 noch 48 % gegenüber 72 % im Jahr 2006 (Charlier et al. 2013b, McCann et al. 2010). Außerdem wurde in zuvor nicht betroffenen Teilen von Schottland und East Anglia Fasziole gemeldet (Charlier et al. 2013b, Kenyon et al. 2009). Diese Veränderungen sind vermutlich Auswirkungen des Klimawandels mit mildereren Wintertemperaturen und vermehrten Niederschlägen (Charlier et al. 2013b). Auch in der Schweiz berichteten Rapsch et al. (2006) über eine höhere Prävalenz (18 %) als die zuvor berichteten (8-15 %) bei geschlachteten Rindern, was jedoch auch mit einer höheren Sensitivität der Nachweistechiken erklärt werden könnte (Charlier et al. 2013b). Im Nordwesten Spaniens fanden Arias et al. (2010) eine Seroprävalenz von 65 % und kamen zu dem Schluss, dass sich die Kontrolle der Fasziole in diesem Bereich trotz regelmäßiger Fasziole-Behandlung im Vergleich zu einer 10 Jahre zuvor durchgeführten Umfrage (Sánchez-Andrade 2000) nicht verbessert hatte (Charlier et al. 2013b). Auch in Belgien wurde zwischen 2006-2008 (Bennema et al. 2011) und 2009-2011 (Charlier et al. 2013a) kein Rückgang der

Prävalenz beobachtet, obwohl eine aktive Monitoring-Kampagne das Bewusstsein für die Krankheit in dieser Region geschärft hatte (Charlier et al. 2013b).

## **2.4 Pathogenese und Klinik**

Juvenile Leberegel wandern vom Dünndarm in die Bauchhöhle, was zu lokalisierten Fibrinablagerungen in der Darmwand führen kann. Diese machen für gewöhnlich keine Probleme. Eine massive Infektion hingegen kann eine Peritonitis mit seröser Exsudation zur Folge haben. Auch die Migration durch die Leberkapsel kann zu Problemen führen, da sie eine Ruptur der Kapsel und daraus schließende Blutungen verursachen kann. In diesem Fall können die Tiere perakut versterben (Koch 2005).

Meist ist die Leber vergrößert und zeigt Fibrinauflagerungen auf. Makroskopisch sind durch die Wanderung der Egel im Parenchym oft geschlängelte, dunkelbraun-rote frische und vernarbte Gänge sichtbar, was zu einer Marmorierung des Gewebes führt. Die Wandergänge sind meist mit Zelltrümmern und Blut gefüllt. Die Lymphknoten der Leber sind meistens größer als bei einem gesunden Tier und schwarz-braun verfärbt (Eckert et al. 2005, Koch 2005).

Die fingerdicken, weißen Gallengänge sind meist deutlich gefüllt mit Parasiten, schwarz-braunem Konkrement und Schleim (Koch 2005). In den Gallengängen kommt es als Folge der Ansiedlung der Egel zu einer chronischen Entzündung der Gallengangswände und Bindegewebszubildungen durch das von adulten Leberegeln in hohen Konzentrationen sezernierte Prolin (Eckert et al. 2005, Koch 2005).

Durch die Zerstörung des Leberparenchyms während der Wanderung werden die Leberenzyme Glutamatdehydrogenase (GLDH), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) und Aspartataminotransferase (AST) freigesetzt und die eosinophilen Granulozyten stimuliert (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000, Koch 2005). Durch die Zerstörung des Leberparenchyms kommt es außerdem häufig zu einer hämorrhagischen Anämie und einem dadurch erniedrigten Hämoglobinwert. Durch Serumaustritt in die Gallengänge infolge gelockerter Zellverbände kann es außerdem zu einer Hypalbuminämie kommen (Eckert et al. 2005, Koch 2005, Schnieder 2000).

In der Regel ist eine Infektion mit *F. hepatica* beim Rind asymptomatisch. Bei einem stärkeren Befall lassen sich jedoch drei Formen unterscheiden: subakut, akut und chronisch (Koch 2005).

Unter natürlichen Bedingungen kommt eine akute Fasziolose beim Rind nur in sog. „Leberegeljahren“ vor und ist damit äußerst selten (Koch 2005, Schnieder 2000). Durch eine Masseninvasion in Spätsommer- und Herbstmonaten und die Wanderung der Jungegel durch die Darmwand in die Bauchhöhle kommt es zu Symptomen wie Schwäche, Inappetenz, Apathie, Abdominalschmerzen, Anämie und plötzlichen Todesfällen (Eckert et al. 2005, Koch 2005, Schnieder 2000). In einem Versuch konnte festgestellt werden, dass ein Befall mit 10.000 Metazerkarien je Rind eine akute Fasziolose auslöst (Koch 2005).

Durch wandernde Jungegel und adulte Egel in der Leber kann es zu einer subakuten Form kommen. Die Symptome sind hier unter anderem Inappetenz, Peritonitis, Hepatitis, Leberdystrophie und Anämie mit plötzlichem Tod (Eckert et al. 2005, Koch 2005, Schnieder 2000).

Die häufigste Form beim Rind ist die chronische Fasziolose und entsteht durch das Besiedeln der adulten Egel in den Gallengängen (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Eckert et al. 2005, Koch 2005, Köstenberger et al. 2017, Schnieder 2000, Schweizer et al. 2005). Sie betrifft meist Tiere, während sie im Winter im Stall gehalten werden, die im Vorsommer Weidehaltung hatten. Bei Milchkühen ist die chronische Fasziolose seltener als bei Jungrindern, da der Zustand ihrer Weiden meist besser ist (Koch 2005, Schnieder 2000). Symptome sind vor allem verminderte Futteraufnahme, Abmagerung, Anämie, Apathie, Leistungsminde- rung, Lebersymptome, Fruchtbarkeits- und Abortprobleme (Koch 2005).

## **2.5 Nachweis**

Traditionell erfolgt die Diagnose von *F. hepatica* bei Rindern koproskopisch (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b). In den letzten Jahren wurden allerdings immer mehr hochsensible und spezifische diagnostische Tests entwickelt (Charlier et al. 2007). Mit diesen ist der Nachweis von *Fasciola*-Antigenen in Serum und Fäzes (Charlier et al. 2013b, Leclipteux et al. 1998) oder der Nachweis von *Fasciola*-spezifischen Antikörpern im Serum (Charlier et al. 2013b, Salimi-Bejestani et al. 2005b) und Milch möglich (Charlier et al. 2013b, Reichel et al. 2005, Salimi-Bejestani et al. 2005a).

### **2.5.1 Koproskopische Untersuchung**

Die klassische Diagnose der Fasziole bei Rindern ist der mikroskopische Nachweis von *F. hepatica*-Eiern im Kot. Der Nachweis von Eiern basiert hauptsächlich auf der Sedimentation. Ein geübtes Auge kann *F. hepatica*-Eier mit konventioneller Mikroskopie bei geringer Vergrößerung leicht erkennen und zwischen ihnen und anderen Eiern, wie denen der *Pharaphistomidae*, unterscheiden. Die Spezifität dieser Methoden ist sehr hoch. Der Nachweis von Eiern weist auf eine aktuelle Infektion hin. Allerdings ist die Sensitivität gering (30-70 %, je nach Methode und Untersuchungsgebiet) (Charlier et al. 2013b). Studien haben gezeigt, dass die Sensitivität von Eizellnachweismethoden weitgehend von der Kotmenge abhängt (Charlier et al. 2008, Charlier et al. 2013b, Conceição et al. 2002, Rapsch et al. 2006). Wiederholtes Testen oder Analysieren von 530 g Kot kann die Sensitivität jedoch um bis zu 90 % erhöhen (Charlier et al. 2013b, Rapsch et al. 2006).

### **2.5.2 Antikörper-Nachweis**

Die Verwendung von Milch zur Diagnose und Überwachung verschiedener Krankheiten bei Rindern ist in den letzten Jahren zur Routine geworden. Vor allem Milchantikörpertests spielen in vielen Ländern eine bedeutende Rolle bei Programmen zur Bekämpfung von Rinderkrankheiten (Salimi-Bejestani et al. 2007). Bei vielen Infektionen gibt es im Allgemeinen eine gute Korrelation zwischen Milch- und Serum-Antikörpertitern (Molloy et al. 2005, Salimi-Bejestani et al. 2007). Die Milchentnahme ist im Vergleich zur Blutentnahme jedoch wesentlich einfacher, billiger und nicht-invasiv (Salimi-Bejestani et al. 2007).

Auch Antikörper-Nachweistests für *F. hepatica* sind mittlerweile weit verbreitet und es gibt mehrere Tests, die kommerziell erhältlich sind. Diese Tests sind meist nur ein qualitativer Nachweis (Charlier et al. 2007). Jedoch ist ein großer Vorteil, dass sie für Hochdurchsatzformate geeignet sind und sie mit anderen Probenmaterialien außer Serum verwendet werden können (Charlier et al. 2013b). Die Bestimmung parasitenspezifischer Antikörperkonzentrationen in Tank- und Einzelmilchproben bietet einen großen Vorteil in der Milchviehhaltung (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Duscher et al. 2011, Reichel et al. 2005, Salimi-Bejestani et al. 2007). Dies hat sich bereits als vielversprechendes diagnostisches Instrument bei Magen-Darm-Nematoden erwiesen (Charlier et al. 2005a, Charlier et al. 2007, Sanchez und Dohoo 2002). Eine positive Korrelation zwischen dem *Fasciola*-spezifischen Tankmilch-Antikörperspiegel und der Herden-Seroprävalenz wurde bereits nachgewiesen (Charlier et al.

2007, Salimi-Bejestani et al. 2005a). Ein ähnlicher Ansatz besteht für Fleischrinder unter Verwendung von im Schlachthof gesammeltem Muskeltranssudat („Fleischsaft“) als Matrix für den Nachweis von *F. hepatica*-Antikörpern (Charlier et al. 2009, Charlier et al. 2013b). Antikörper gegen *F. hepatica*-Antigene bilden sich im Allgemeinen etwa zwei bis vier Wochen nach Primärinfektion (Salimi-Bejestani et al. 2005a) und sind bis zu acht Monate nach wirksamer Behandlung noch nachweisbar (Boulard et al. 1995, Charlier et al. 2007). Als besonders sensitiver Nachweis von *F. hepatica*-spezifischen Antikörpern werden meist ELISAs empfohlen (Charlier et al. 2013b). Diese sind besonders artspezifisch (Charlier et al. 2007). In der Literatur werden verschiedene ELISAs beschrieben (Charlier et al. 2013b).

ES-ELISAs verwenden die kompletten exkretorischen sekretorischen (ES) Produkte von *F. hepatica*. ES-Produkte sind relativ einfach herzustellen und als Konsequenz verwenden viele Labore ihre eigene Inhouse-Version des ELISAs (Charlier et al. 2013b). Auch standardisierte ELISA-Kits sind mittlerweile kommerziell verfügbar (Svanovir®*F. hepatica*-Ab, Svanova, Schweden) (Charlier et al. 2013b). Kreuzreaktionen der *F. hepatica* ES-Produkte mit Antikörpern gegen andere Helminthen wie *Dictyocaulus viviparus* (Cornelissen et al. 1999) und *Dicrocoelium dendriticum* (Mezo et al. 2007) werden jedoch beschrieben (Charlier et al. 2013b). Dennoch besitzen ES-ELISAs eine angemessene Sensitivität (86-100 %) und Spezifität (83-96 %) unter verschiedenen epidemiologischen Bedingungen (Anderson et al. 1999, Charlier et al. 2008, Charlier et al. 2013b, Cornelissen et al. 1999, Kuerpick et al. 2013b, Salimi-Bejestani et al. 2005b).

Ein zweiter ELISA verwendet eine Unterfraktion von ES-Produkten als diagnostisches Antigen (Charlier et al. 2013b). Er benötigt Reinigungsschritte, um das „f2“-Antigen zu erhalten. Auch diese ELISAs sind kommerziell erhältlich (Fasciolyse Verification Test, IDEXX, Niederlande) und besitzen eine hohe Sensitivität (88-98 %) und Spezifität (84-98 %) (Charlier et al. 2008, Charlier et al. 2013b, Kuerpick et al. 2013b, Molloy et al. 2005, Rapsch et al. 2006, Reichel 2002).

Der dritte ELISA, der MM3-ELISA, verwenden monoklonale Antikörper, um Proteine aus einer 7-40 kDa-Fraktion (hauptsächlich Cathepsine L1 und L2) aus den ES-Produkten einzufangen (Charlier et al. 2013b, Mezo et al. 2010, Muiño et al. 2011). Seine Sensitivität liegt bei 99 % und seine Spezifität bei 100 % (Charlier et al. 2013b). Auch hier ist ein kommerzielles Format verfügbar (BIO K 211, Bio-X Diagnostics, Belgien) (Charlier et al. 2013b).

ELISAs basierend auf rekombinantem Cathepsin L1, haben den großen Vorteil, dass sie nicht von der Verfügbarkeit lebender Egel abhängig sind (Charlier et al. 2013b). Ihre Sensitivität und Spezifität ist jedoch niedriger als bei f2- und ES-ELISA (Charlier et al. 2013b, Kuerpick et al. 2013b). Kommerziell wurden dieser *F. hepatica* ELISA von Ildana Biotech, Irland entwickelt (Charlier et al. 2013b).

### **2.5.3 Antigen-Nachweis**

Der Nachweis von *F. hepatica*-Antigenen im Stuhl ist auch durch einen ELISA möglich (Charlier et al. 2013b, Espino und Finlay 1994, Mezo et al. 2004). Hier wird ein gegen *F. hepatica* Cathepsine gerichteter MM3-Antikörper verwendet. Dieser ist im Handel erhältlich (BIO K 201, Bio-X Diagnostics, Belgien) (Charlier et al. 2013b, Mezo et al. 2004). Der Copro-Antigen-Test ultrasensitiv und spezifisch. Er ist in der Lage, präpatente Infektionen ab vier Wochen nach der Infektion und auch Tiere mit nur wenigen Würmern zu erkennen (Charlier et al. 2013b, Mezo et al. 2004). Feldauswertungen des kommerziellen Tests zeigen allerdings eine geringe Sensitivität (Charlier et al. 2013b, Duscher et al. 2011). Um eine Triclabendazol-Resistenz bei Schafen zu erkennen, schien er dennoch nützlich (Charlier et al. 2013b, Flanagan et al. 2011, Gordon et al. 2012).

DNA-basierte Techniken zur Leberegel-Diagnostik bekommen derzeit relativ wenig Aufmerksamkeit, da *F. hepatica*-Eier im Kot als DNA-Quelle keinen großen Vorteil gegenüber der traditionellen Koproskopie bieten würden (Charlier et al. 2013b). Eine Studie an Schafen zeigt jedoch, dass die PCR-Technologie nützlich sein könnte, um Infektionen bereits zwei Wochen nach der Infektion zu erkennen, noch bevor sich Serumantikörper und Eier im Kot bilden und das mit großer Sensitivität und Spezifität (Charlier et al. 2013b, Martinez-Perez et al. 2012).

Die Analyse von Kotproben mithilfe eines LAMP-Tests (Loop Mediated Isothermal Amplification) ist noch sensitiver als ein konventioneller PCR-Test (Charlier et al. 2013b, Ai et al. 2010).

## **2.6 Therapie und Prophylaxe**

Es gibt einige Strategien zur Vorbeugung und Behandlung, um die Verluste durch Fasziole zu minimieren. Vor dem Einsatz von Fasziole sollte in jedem Fall eine diagnostische

Untersuchung, mindestens auf Herdenebene, erfolgen. Zudem sind begleitende Prophylaxemaßnahmen wichtig (Koch 2005). Die anthelminthische Behandlung führt zu einer Verminderung der Eiausscheidung und Weidekontamination und kann so auch dazu beitragen die Herdeninfektionsrate einzudämmen (Köstenberger et al. 2017, Roberts und Suhardono 1996). Allerdings bringt dies meist eine lange Wartezeit mit sich (Charlier et al. 2012, Khan et al. 2009, Köstenberger et al. 2017).

Es gibt mehrere Wirkstoffe, die gegen *F. hepatica* wirksam sind. In Österreich zugelassen sind einige Präparate mit den Wirkstoffen Albendazol, Netobimin, Triclabendazol und Closantel (Siehe Tabelle 1).

Es kommen überwiegend Wirkstoffe aus der Gruppe der Benzimidazole und Salicylsäureanilide zur Behandlung von *F. hepatica* zum Einsatz. Diese Wirkstoffgruppen werden hauptsächlich biliär ausgeschieden, was zu einer hohen Konzentration in den Gallengängen führt (Messner 2020).

Albendazol gehört zur Gruppe der Benzimidazole. Es bindet an das parasitäre beta-Tubulin und hemmt damit Polymerisation von Mikrotubuli. Die Bindungsaffinität für das parasitäre beta-Tubulin ist stärker als das tierische beta-Tubulin und Albendazol wirkt daher selektiv toxisch. Der Wirkstoff hat eine Teilwirkung gegen adulte Leberegel, jedoch nur eine geringe Wirkung gegen Juvenile (Koch 2005). Es wird jedoch schon von weitreichenden Resistenzen gegen Albendazol berichtet. Durch Bakterien der Pansen- und Darmflora wird Netobimin zu Albendazol metabolisiert und hat somit ein ähnliches Wirkspektrum (Messner 2020).

Auch Triclabendazol gehört zu den Benzimidazol-Anthelminthika. Es bewirkt die Hemmung der Kolchizinbindung und die Freisetzung proteolytischer Enzyme in den Leberegeln. Triclabendazol zeigt im Gegensatz zu Albendazol eine hohe Wirkung gegen juvenile und adulte Egel. Auch gegen Triclabendazol konnten in Holland, England, Irland und Australien bereits Resistenzen nachgewiesen werden (Koch 2005).

Closantel gehört zur Wirkstoffgruppe der Salizylsäureanilide. Die Wirkung entsteht durch Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung des Parasiten. Dies ist vor allem bei der Behandlung der chronischen Fasziolose wirksam. Auch adulte und späte immature Leberegel (>8 Wochen) werden bekämpft (Koch 2005, Messner 2020).

Tabelle 1: In Österreich zugelassene Tremadozide (Arzneispezialitätenregister 2022)

Präparat	Tierart	Wirkstoff	Dosierung	Wartezeit
Albendazol- aniMedica 100 mg/ml Suspension zum Eingeben für Rinder	Rinder	Albendazol	10mg/kg entspr. 1ml/10kg KG	Essbare Gewebe: 7 Tage Milch: 84 Stunden
Valbazen 100 mg/ml Suspension zum Eingeben für Rinder	Rinder	Albendazol	10mg/kg KG entspr. 1ml/10kg KG	Essbare Gewebe: 7 Tage Milch: 84 Stunden
Albex 200 mg/ml Suspension zum Eingeben für Rinder	Rinder	Albendazol	10mg/kg KG entspr. 5ml/100kg KG	Essbare Gewebe: 7 Tage Milch: 84 Stunden
Alphalben 100 mg/ml Suspension zum Eingeben für Rinder und Schafe	Rinder und Schafe	Albendazol	Rind: 10mg/kg KG entspr. 1ml/10kg KG  Schaf: 7,5mg/kg KG entspr. 0,75ml/10kg KG	Essbare Gewebe: 14 Tage Milch: Rind: 5 Tage Schaf: Nicht bei Tieren anwenden, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist.
Cydectin TriclaMox 1 mg/ml + 50 mg/ml Lösung zum Eingeben für Schafe	Schafe	Triclabendazol + Moxidectin	0,2 mg Moxidectin/kg KG und 10 mg Triclabendazol/kg KG entspr. 1ml/5kg KG	Essbare Gewebe: 31 Tage Milch: Nicht anwenden bei Mutterschafen, deren Milch für vorgesehen ist, einschließlich den menschlichen Verzehr Trockenstehzeit. Nicht anwenden innerhalb von einem Jahr vor dem ersten Lammen bei Mutterschafen, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist.

Präparat	Tierart	Wirkstoff	Dosierung	Wartezeit
Cydectin TriclaMox 5 mg/ml + 200 mg/ml Lö- sung zum Aufgießen für Rinder	Rinder	Triclabendazol + Moxidectin	0,5 mg Moxidec- tin/kg KG und 20mg Tric- labendazol/k g KG entspr. 1ml/10kg KG	Essbare Gewebe: 143 Tage  Milch: Bei Rindern, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist, in keinem Alter anwenden.
Hapadex 50 mg/ml - Sus- pension zum Eingeben für Schafe	Schafe	Netobimin	20 mg/kg KG entspr. 40ml/100 kg KG	Essbare Gewebe: 6 Tage  Milch: 5 Tage
Closamectin 5 mg/ml + 200 mg/ml Pour-On Lö- sung zum Übergießen für Rinder	Rinder	Ivermectin + Closantel	500 µg Ivermectin/kg KG und 20mg Closantel/kg KG entspr. 1ml/10kg KG	Essbare Gewebe: 28 Tage  Milch: Nicht bei Kühen anwen- den, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgese- hen ist, einschließlich der Trockenstehperiode. Nicht in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit bei Färsen anwenden, deren Milch für den menschlichen Ver- zehr vorgesehen ist
Flukiver Combi 50 mg/ml + 75 mg/ml Sus- pension zum Eingeben für Schafe und Lämmer	Schafe und Lämmer	Closantel + Mebendazol	10 mg Closantel/kg KG und 15 mg Me- bendazol/kg KG entspr. 1ml/5 kg KG	Essbare Gewebe: 65 Tage  Milch: Nicht zugelassen für die Anwendung bei Mutterschafen, deren Milch für den menschl- ichen Verzehr bestimmt ist, einschließlich während der Tro- ckenstehzeit. Nicht innerhalb 1 Jahres vor der ersten Ablam- mung bei Mutterschafen anwenden, deren Milch für den menschlichen Verzehr bestimmt ist

Zur Bekämpfung von *F. hepatica* muss vor allem die Schneckenkontrolle gewährleistet sein. Durch Auszäunung und Entwässerung nasser Böden oder ein Weiderotationssystem kommt es zu einer geringeren Aufnahme von Metazerkarien und daher einer Verringerung des Infektionsrisikos (Koch 2005, Köstenberger et al. 2017). Außerdem sollte eine Wasserentnahme

aus natürlichen Gewässern und Fütterung mit Gras von kontaminierten Flächen vermieden werden. Die Tränken auf den Weideflächen sollten erhöht stehen (Eckert et al. 2005, Koch 2005)

## **2.7 Ökonomische Bedeutung**

Bei Rindern verläuft eine Infektion mit *F. hepatica* im Allgemeinen subklinisch, jedoch werden beträchtliche wirtschaftliche Auswirkungen vermutet (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Köstenberger et al. 2017, Schweizer et al. 2005). Es hat sich gezeigt, dass *F. hepatica* unter anderem zu einer Verminderung der Milchleistung, Gewichtsentwicklung und Fruchtbarkeit von Rindern führt (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2012, Charlier et al. 2013b, Howell et al. 2015, Khan et al. 2009, Köstenberger et al. 2017, Lopez-Diaz et al. 1998, Mezo et al. 2011, Sanchez-Vazques und Lewis 2013). Allerdings sind Zusammenhänge zwischen Parasitismus und Produktionsparametern in diesen Studien nicht immer repräsentativ. Assoziationen könnten teilweise auch auf Wirkung anderer Faktoren, die die Produktivität beeinträchtigen, zurückzuführen sein (Charlier et al. 2007). Eine negative Korrelation zwischen *F. hepatica* und Produktionsparametern legt jedoch nahe, dass eine „ökonomische Schwelle“ festgelegt werden kann, bei der die Produktivität beeinträchtigt wird (Charlier et al. 2007). Eine Herdenprävalenz von mindestens 25 % führt laut Vercruyse und Claerebout (2001) zu signifikanten Produktionsverlusten (Köstenberger et al. 2017).

### **2.7.1 Milchleistung**

Bei einer Reduzierung der Milchleistung um ca. 3-6 % (214-610 kg/Kuh/Jahr), die in verschiedenen Studien festgestellt werden konnte (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Köstenberger et al. 2017, Mezo et al. 2011), und einem durchschnittlichen Milchpreis österreichischer Milchlieferanten von 42,03 ct im November 2021 (AgrarMarkt Austria 2021), würde das einen finanziellen Verlust von 89,95-256,38 € pro Kuh und Jahr bedeuten. Hierbei sind eventuelle zusätzliche Verluste noch nicht berücksichtigt. In der Schweiz werden die landesweiten Kosten, durch verminderte Milchleistung, auf 52 Mio. € bzw. 299 € pro infiziertem Tier und Jahr geschätzt (Köstenberger et al. 2017, Schweizer et al. 2005).

Im Gegensatz zu gastrointestinalen Nematodeninfektionen, die minimale oder keine Auswirkungen auf Milchfett und Milchprotein haben (Charlier et al. 2005a, Charlier et al. 2007, Nødvedt et al. 2002), wird bei einer Infektion mit *F. hepatica* vermutet, dass sie den Feststoffgehalt der Milch reduziert (Charlier et al. 2007, Khan et al. 2009, Köstenberger et al. 2017). Dies konnte allerdings nicht in allen Studien bestätigt werden (Charlier et al. 2012, Howell et al. 2015, Köstenberger et al. 2017, Mezo et al. 2011). Wohingegen der Proteingehalt der Milch nicht beeinflusst wird (Charlier et al. 2007).

Es sind Kosten oder Nutzen verschiedener Bekämpfungsmaßnahmen gegen *F. hepatica* zu bewerten (Charlier et al. 2007). Köstenberger et al. (2017) zeigten, dass eine Behandlung zwar Wirkung auf Antikörperspiegel und auf Milchprotein bei stark positiven Herden, jedoch keine Einflüsse auf Milchleistung und Butterfett hatte. In anderen Studien allerdings zeigte sich die Milchleistungsverluste weitgehend kompensierbar, da die Behandlung mit Closantel beim Trockenstellen zu einer Steigerung der Spitzenleistung um 1,1 kg/Kuh/Tag und einer längeren Laktationsdauer (9 %) führte, was zu einer Steigerung der Milchproduktion um 303 kg führte. Wohingegen keine Wirkung auf die Fett- oder Proteinkonzentration gefunden wurde (Charlier et al. 2012, Charlier et al. 2013b). Khan et al. (2009) berichteten ebenfalls von einer Erhöhung der Milchleistung und auch des Butterfetts nach Behandlung auf Einzelkuhebene.

### **2.7.2 Schlachtkörper**

Der *F. hepatica*-Infektionsstatus hat eine negative Korrelation mit der Schlachtkörperqualität gezeigt (Charlier et al. 2009, Charlier et al. 2013b, Köstenberger et al. 2017, Sanchez-Vazquez und Lewis 2013). Unter anderem wurden von einer Verringerung des warmen Schlachtkörpergewichts von 0,7 % (3,4 kg), jedoch keinen signifikanten Auswirkungen auf den Exterieur-Score berichtet (Charlier et al. 2009, Charlier et al. 2013b, Köstenberger et al. 2017, Sanchez-Vazquez und Lewis 2013). In einigen Studien wurde ein niedrigerer Fettgehalt gemessen (Köstenberger et al. 2017, Sanchez-Vazquez und Lewis 2013). Außerdem konnte eine 0,5%ige Reduzierung des kalten Schlachtkörpergewichts und eine Reduzierung des Schlachtkörperpreises um 0,3 % festgestellt werden (Charlier et al. 2013b). Andere Studien wiederum schätzten Verluste durch Reduktion der Gewichtszunahme bei wachsenden Rindern bei bis zu 9 % (Charlier et al. 2013b, Schweizer et al. 2005). Rinderfärsen, die unter wiederholter antiparasitärer Behandlung aufgezogen wurden, zeigten eine Zunahme des Körpergewichts von 6 % (Charlier et al. 2013b, Loyacano et al. 2002).

### **2.7.3 Reproduktion**

Es wird angenommen, dass eine Leberegelinfektion Empfängnis- und Trächtigkeitsraten verringert, wie z.B. Verlängerung der Zwischentragezeit um 4,7 bis 13 Tage (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Schweizer et al. 2005) oder verringerte Empfängnisrate bei einer Steigerung von 0,75 Besamungen pro Konzeption (Charlier et al. 2013b, Schweizer et al. 2005) und eine Verzögerung des Einsetzens der Pubertät (Lopez-Diaz et al. 1998). Andere Studie stellten jedoch keine Auswirkungen auf die Reproduktionsparameter fest (Howell et al. 2015, Mezo et al. 2011, Köstenberger et al. 2017). Lopez-Diaz et al. (1998) fanden bei einer hohen experimentellen Infektionsdosis von 600 Metazerkarien heraus, dass der erste Östrus um 39 Tage verzögert wurde. Damit verbunden waren deutlich höhere Östradiol- und niedrigere Progesteronkonzentrationen. In der Vergangenheit konnten nicht signifikante, aber höhere Trächtigkeitsraten (67 % vs. 54 %) bei Rinderfärsen unter wiederholter Flukizidkontrolle festgestellt werden (Charlier et al. 2013b, Loyacano et al. 2002).

### **3. Methoden**

#### **3.1 Proben**

Die Proben wurden in der Weidesaison 2021 von 14 Betrieben in Tirol vor Auftrieb (Mai), im Sommer auf der Alm (Juli) und nach Abtrieb (Oktober/November) gesammelt. Kotproben wurden von etwa 380 verschiedenen Einzeltieren bei Spontanabsatz oder rektal entnommen. 287 Kotproben wurden im Frühjahr, 329 im Sommer und 178 im Herbst gesammelt. Insgesamt 69 Milchproben wurden sowohl von Einzeltieren (8 im Sommer, 39 im Herbst) als auch aus der Tankmilch (6 im Frühjahr, 9 im Sommer, 7 im Herbst) gezogen.

#### **3.2 Sedimentation**

Die Kotproben wurden mit dem Verfahren der Sedimentation untersucht. Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen:

1. Eine Poolprobe mehrerer Proben wurde in einer Schüssel mit Wasser vermengt.
2. Die Kot-Wasser-Suspension wurde durch ein Sieb in ein Becherglas gegossen und mit einem harten Wasserstrahl nachgespült, bis das Becherglas gefüllt war.
3. Die Flüssigkeit wurde daraufhin maximal 3 Minuten stehen gelassen, um zu sedimentieren.
4. Der Überstand wurde in einem Schwung, ohne abzusetzen abgegossen.
5. Das Becherglas wurde erneut mit frischem Wasser aufgefüllt und Schritt 3 bis 5 wiederholt, bis der Überstand klar war.
6. Das Sediment wurde in eine Petrischale gegeben und unter einem Stereomikroskop auf *Fasciola*-Eier untersucht.

#### **3.3 ELISA**

Vor dem Einfrieren der gewonnenen Proben wurde die Fettschicht durch Zentrifugieren (4 Minuten, 4 °C, 16.000 G) entfernt. Zur Untersuchung wurden die Proben mit dem kommerziell

erhältlichen Bio-X Diagnostics Monoscreen AbELISA *F. hepatica* aufgearbeitet. Hierbei wurde folgendes Schema benutzt:

1. Die gefrorenen Milchproben wurden aufgetaut und alle Komponenten des Kits auf 21 °C +/-3 °C gebracht.
2. Dann wurden 100 µl von Positiv- und Negativ-Kontrolle sowie 180 µl Puffer mit 60 µl Milchproben (1:4 Verdünnung) in Duplikaten in die Wells pipettiert (Siehe Ladeschema Tabelle 2 und 3). In den ungeraden Wells ist ein *F. hepatica* spezifisches Protein. In den geraden Wells ist nur der monoklonale Antikörper.
3. Die Platten wurden für eine Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert.
4. Nach der Inkubationszeit wurden die Wells mit der Waschlösung (1:20 verdünnt) dreimal gewaschen und ausgeklopft.
5. Anschließend wurden die Wells mit 100 µl Konjugat (1:50 verdünnt) gefüllt und eine weitere Stunde inkubiert.
6. Nach der Inkubationszeit wurde die Platte erneut dreimal gewaschen.
7. Daraufhin wurden 100 µl der chromogenen Lösung in jedes Well pipettiert und 10 Minuten im Dunkeln inkubiert. Es entwickelt sich eine blaue Indikatorfarbe.
8. Anschließend wurden pro Well 50 µl Stop-Lösung hinzugegeben. Die blaue Farbe wird hiermit gelb.
9. Die optische Dichte der Wells wurde dann sofort mit Hilfe eines Platten-Reader bei 450 nm gemessen.

Tabelle 2: Ladeschema Platte 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	pos. Kon.	K_pos. Kon	5	K_5	13	K_13	21	K_21	29	K_29	37	K_37
B	pos. Kon.	K_pos. Kon	6	K_6	14	K_14	22	K_22	30	K_30	38	K_38
C	neg. Kon.	K_neg. Kon	7	K_7	15	K_15	23	K_23	31	K_31	39	K_39
D	neg. Kon.	K_neg. Kon	8	K_8	16	K_16	24	K_24	32	K_32	40	K_40
E	1	K_1	9	K_9	17	K_17	25	K_25	33	K_33	41	K_41
F	2	K_2	10	K_10	18	K_18	26	K_26	34	K_34	42	K_42
G	3	K_3	11	K_11	19	K_19	27	K_27	35	K_35	43	K_43
H	4	K_4	12	K_12	20	K_20	28	K_28	36	K_36	44	K_44

Tabelle 3: Ladeschema Platte 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	45	K_45	53	K_53	61	K_61	69	K_69				
<b>B</b>	46	K_46	54	K_54	62	K_62	pos. Kon.	K_pos. Kon				
<b>C</b>	47	K_47	55	K_55	63	K_63	pos. Kon.	K_pos. Kon				
<b>D</b>	48	K_48	56	K_56	64	K_64	neg. Kon.	K_neg. Kon				
<b>E</b>	49	K_49	57	K_57	65	K_65	neg. Kon.	K_neg. Kon				
<b>F</b>	50	K_50	58	K_58	66	K_66	dil. Buffer	K_dil. Buffer				
<b>G</b>	51	K_51	59	K_59	67	K_67	dil. Buffer	K_dil. Buffer				
<b>H</b>	52	K_52	60	K_60	68	K_68						

### **3.4 Berechnungen**

Von jedem für die ungeraden Spalten aufgezeichneten Wert wurde der Wert der entsprechenden negativen Kontrollvertiefung subtrahiert.

Die Hersteller geben an, dass der Test nur validiert werden kann, wenn das positive Serum einen Unterschied in der optischen Dichte von mehr als 0,800 und das negative Serum einen Unterschied in der optischen Dichte von weniger als 0,300 aufweist. Hier lag die Positivkontrolle 1,552 auf Platte 1 und 1,259 auf Platte 2. Die Negativkontrolle lag bei -0,002 auf Platte 1 und -0.003 auf Platte 2.

Anschließend wurden die Probenwerte durch die Positivkontrolle dividiert und mit 100 multipliziert, um es in Prozent auszudrücken.

$$Val(ue) = \frac{\Delta OD Probe \times 100}{\Delta OD Positiv}$$

Die Hersteller macht folgende Angaben zur Einteilung der Ergebnisse in Grade:

	0	+/-	+	++	+++
Einzelproben	<10 %	<15 %	<45 %	<75 %	>75 %
Tankmilchprobe	<5 %	<15 %	<45 %	<75 %	>75 %

Die Grade werden wie folgt interpretiert:

- 0      Kein *F. hepatica*-Befall
- +/-    Fragwürdiges Ergebnis. Wiederholen Sie den Test in einem Monat.
- +      Niedriggradiger Befall
- ++     Mäßiger Befall
- +++    Starker Befall

### **3.5 Statistik**

Korrelation zwischen den ordinal oder metrisch skalierten, nicht normalverteilten Daten wurde in SPSS Statistics 24 (IBM GmbH, Ehningen, Deutschland) mit dem Kendall-Tau-B-Test untersucht. Dabei ergeben sich die folgenden Effektstärken:

0,1-0,3 (schwach)

0,3-0,5 (mittel) und

> 0,5 (stark).

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Milchleistungsdaten**

Milchleistungsdaten konnten nicht von allen Betrieben bzw. Einzeltieren erfasst werden. Die Milchleistung der Betriebe war sehr unterschiedlich. Betrieb 1 erbrachte mit durchschnittlich 11.271 kg/Jahr/Tier die höchste Milchleistung. Dahingegen war die Milchleistung im Betrieb 14 mit 5.305 kg/Jahr/Tier am niedrigsten (Abbildung 1). Der Fettgehalt variierte von 3,68 % in Betrieb 9 bis 4,53 % in Betrieb 1 (Abbildung 2). Der Eiweißgehalt zeigte weniger Abweichung von 3,19 % in Betrieb 4 bis 3,50 % in Betrieb 8 (Abbildung 3).

Die Milchleistungsdaten der Einzeltiere in dieser Studie zeigten eine noch größere Variation. Die Milchleistung reichte von 4.881 kg/Jahr in Tier 23 bis 12.158 kg/Jahr in Tier 21 (Abbildung 4). Der Fettgehalt variierte von 2,97 % in Tier 26 bis zu 5,27 % in Tier 23 (Abbildung 5). Der Eiweißgehalt lag zwischen 2,97 % in Tier 12 und 3,78 % in Tier 10 (Abbildung 6).

Von Betrieb 4 gab es nur eine Einzeltierprobe (Tier 1), die eine Milchleistung von 5.111 kg/Jahr, einen Fettgehalt von 4,03 % und einen Eiweißgehalt 3,18 % hatte. Fünf Tiere in Betrieb 7 hatten im Durchschnitt eine Milchleistung von 8.787 kg/Jahr ( $\pm 438$  kg/Jahr), einen Fettgehalt von 3,92 % ( $\pm 0,39$  %) und einen Eiweißgehalt von 3,51 % ( $\pm 0,11$  %). Neun Tiere in Betrieb 8 hatten im Durchschnitt eine Milchleistung von 7.655 kg/Jahr ( $\pm 791$  kg/Jahr), einen Fettgehalt von 3,73 % ( $\pm 0,45$  %) und einen Eiweißgehalt von 3,35 % ( $\pm 0,28$  %). In Betrieb 9 zeigten drei Tiere eine durchschnittliche Milchleistung von 7.270 kg/Jahr ( $\pm 1.245$  kg/Jahr), einen durchschnittlichen Fettgehalt von 3,56 % ( $\pm 0,17$  %) und einen durchschnittlichen Eiweißgehalt von 3,12 % ( $\pm 0,11$  %). Im Durchschnitt hatten die vier Tiere in Betrieb 11 eine Milchleistung von 11.309 kg/Jahr ( $\pm 1.078$  kg/Jahr), einen Fettgehalt von 4,64 % ( $\pm 0,22$  %) und einen Eiweißgehalt von 3,51 % ( $\pm 0,11$  %). In Betrieb 14 hatten fünf Tiere durchschnittlich eine Milchleistung von 6.556 kg/Jahr ( $\pm 1.698$  kg/Jahr), einen Fettgehalt von 4,13 % ( $\pm 0,92$  %) und einen Eiweißgehalt von 3,24 % ( $\pm 0,28$  %).

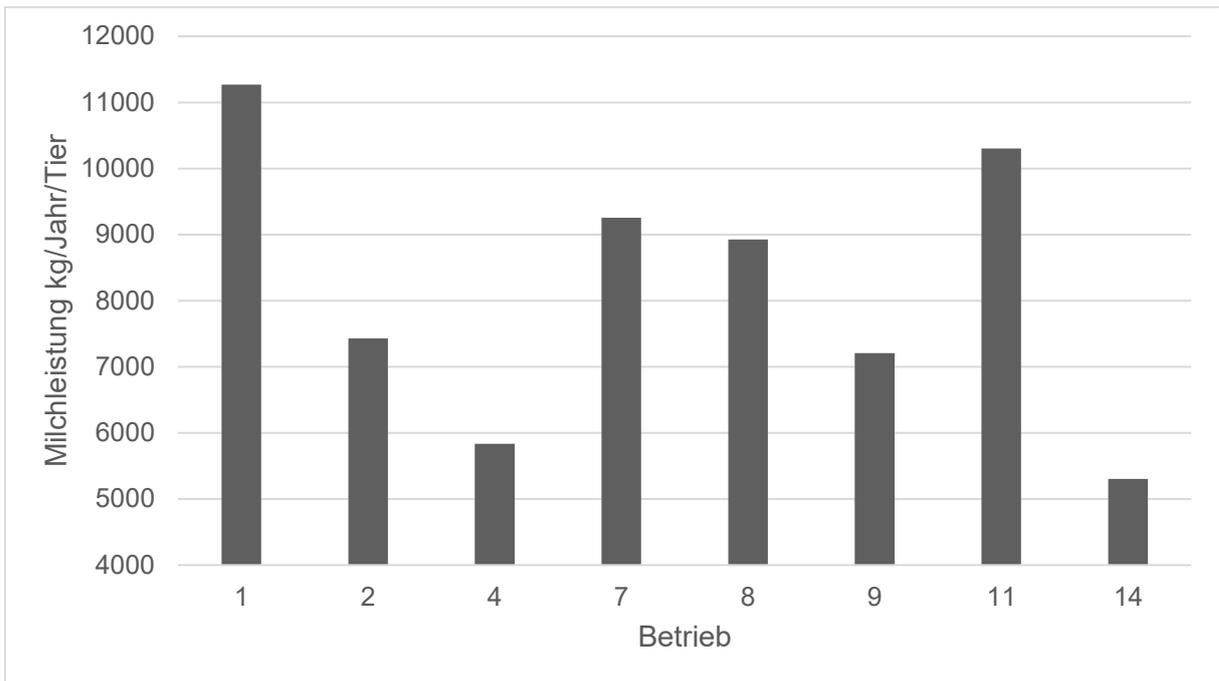


Abbildung 1: Milchleistung in kg/Jahr/Tier der Betriebe im Vergleich

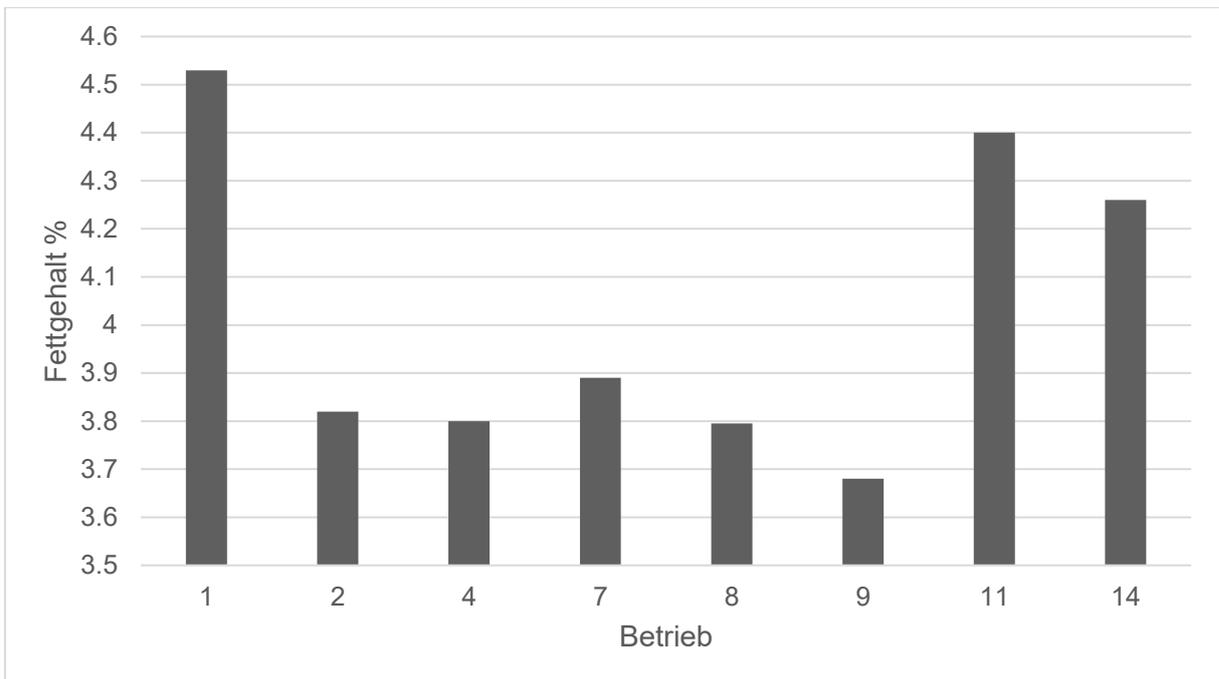


Abbildung 2: Fettgehalt in % der Betriebe im Vergleich

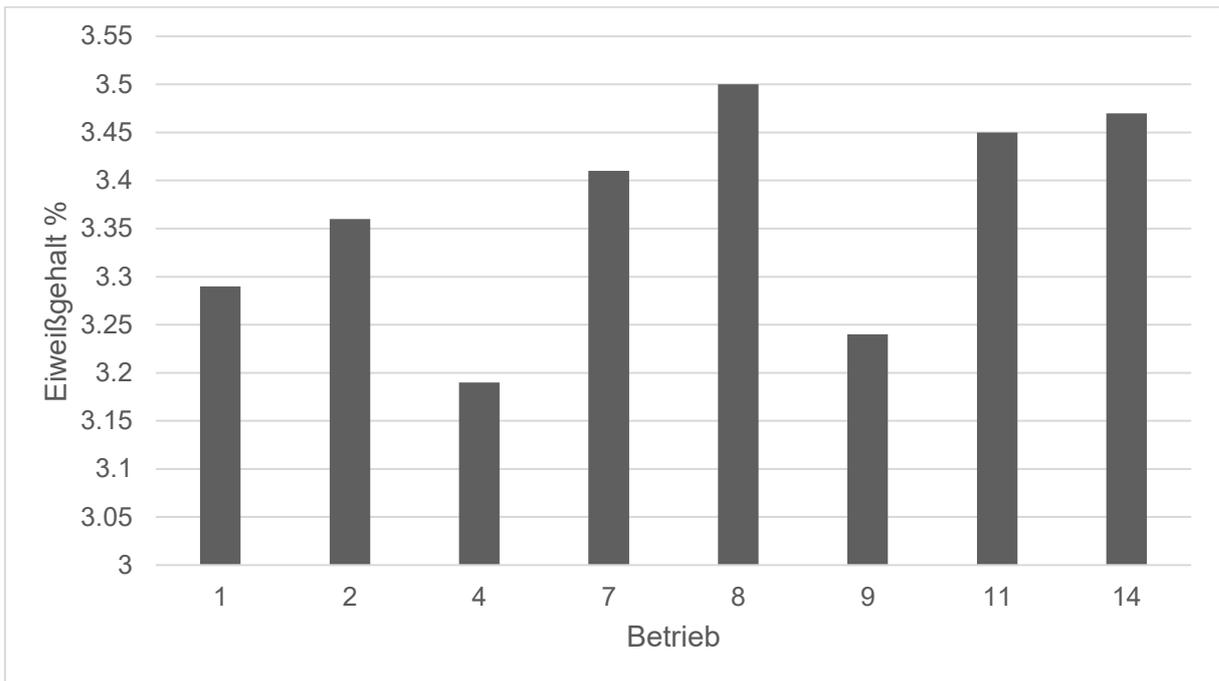


Abbildung 3: Eiweißgehalt in % der Betriebe im Vergleich

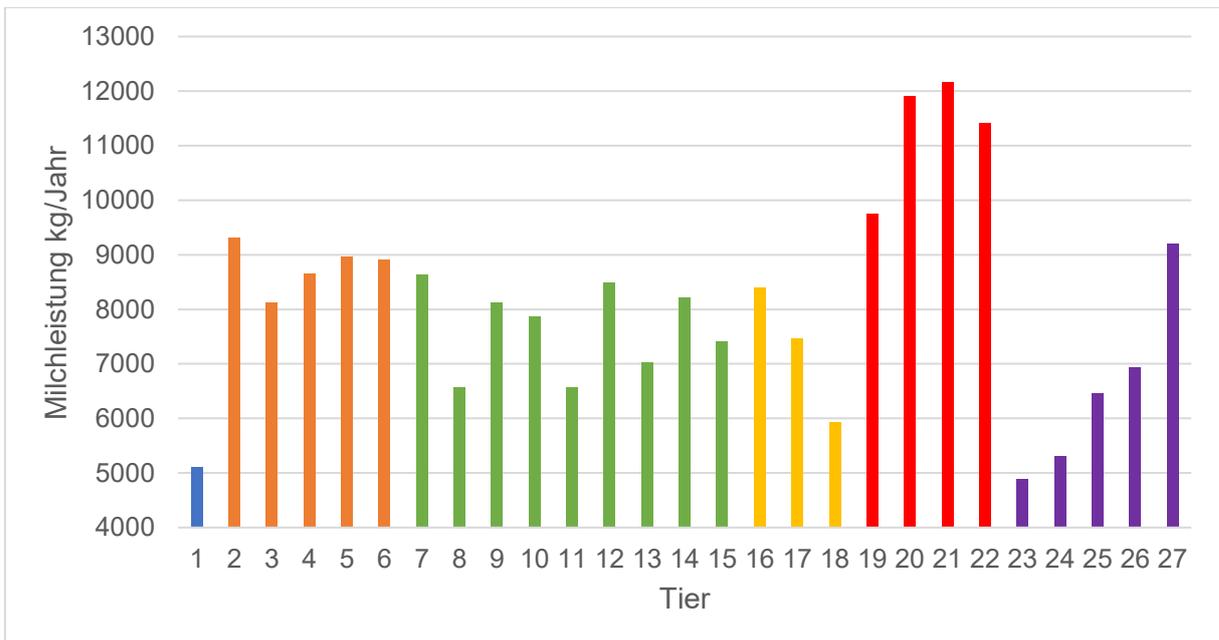


Abbildung 4: Milchleistung in kg/Jahr der Einzeltiere gruppiert nach Betrieben im Vergleich; Blau = Betrieb 4, Orange = Betrieb 7, Grün = Betrieb 8, Gelb = Betrieb 9, Rot = Betrieb 11, Violett = Betrieb 14

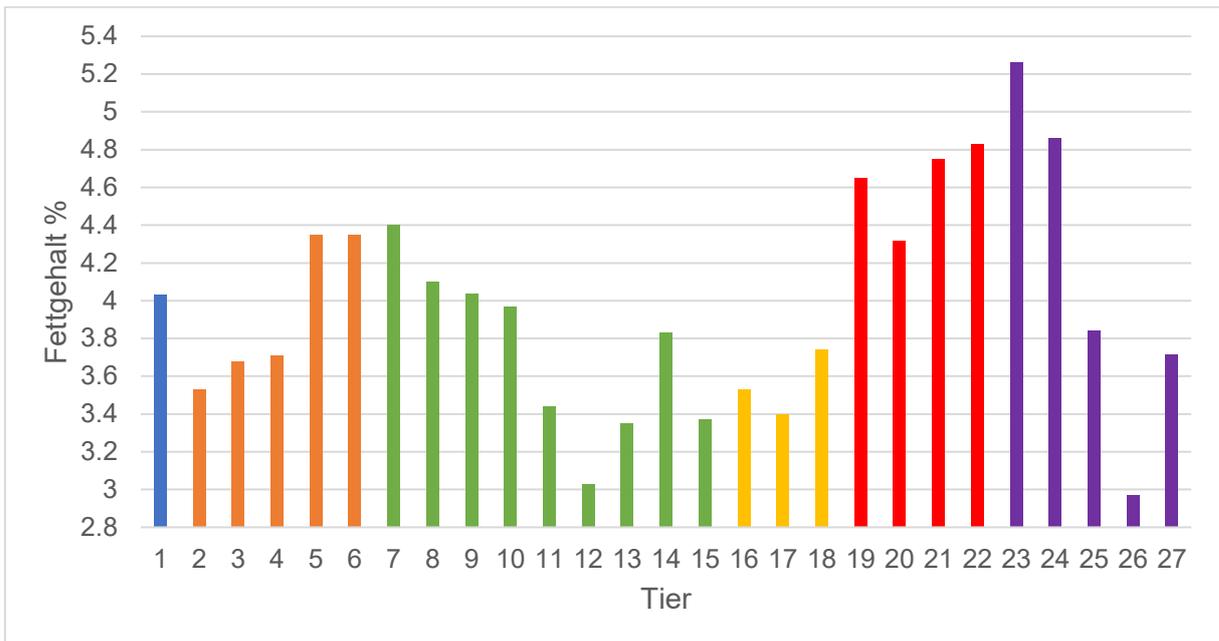


Abbildung 5: Fettgehalt in % der Einzeltiere gruppiert nach Betrieben im Vergleich; Blau = Betrieb 4, Orange = Betrieb 7, Grün = Betrieb 8, Gelb = Betrieb 9, Rot = Betrieb 11, Violett = Betrieb 14

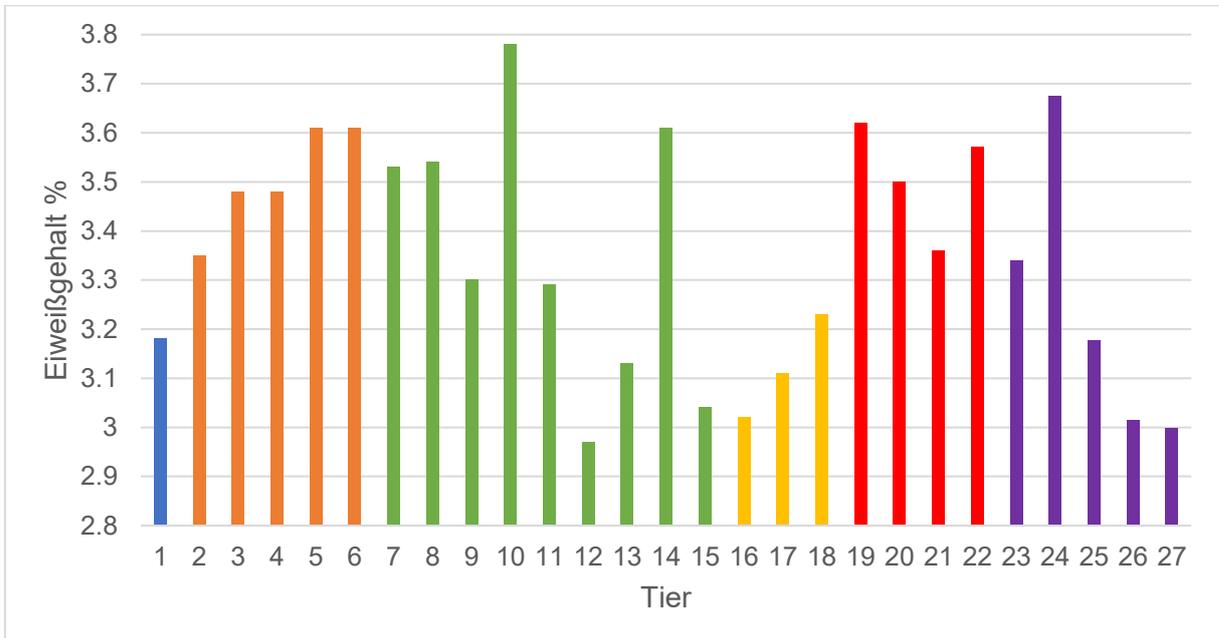


Abbildung 6: Eiweißgehalt in % der Einzeltiere gruppiert nach Betrieben im Vergleich; Blau = Betrieb 4, Orange = Betrieb 7, Grün = Betrieb 8, Gelb = Betrieb 9, Rot = Betrieb 11, Violett = Betrieb 14

## 4.2 Fasciola-ELISA

Von den 69 untersuchten Milchproben stammten 22 Proben aus Tankmilch und 47 Proben von Einzeltieren. Insgesamt 32 Proben waren negativ, davon 6 Tankmilch- und 26 Einzelmilchproben. Bei 12 Proben (6 Tankmilch- und 6 Einzelmilchproben) konnte ein niedriggradiger, bei 10 Proben (7 Tankmilch- und 3 Einzelmilchproben) ein mäßiger und bei 15 Proben (3 Tankmilch- und 12 Einzelmilchproben) ein starker Befall festgestellt werden (Tabelle 4 und 5). Die ODR-Werte reichten von -0,40 % bis 94,33 % bei den Tankmilchproben (Tabelle 4) und von -1,35 % bis 119,30 % bei den Einzelmilchproben (Tabelle 5). Im Durchschnitt lag der ODR-Wert der Tankmilch mit 38,69 % ( $\pm 30,25$  %) sowie der Einzelmilch mit 32,20 % ( $\pm 40,93$  %) im deutlich positiven Bereich.

Tabelle 4: Übersicht der *Fasciola*-ELISA-Ergebnisse und Milchleistungsdaten der Tankmilch; ELISA-Grad: 0 = Kein *F. hepatica*-Befall, + = Niedriggradiger Befall, ++ = Mäßiger Befall, +++ = Starker Befall

Probe	Betrieb	Jahreszeit	ODR %	ELISA-Grad	Milchleistung kg/Jahr/Tier	Fettgehalt %	Eiweißgehalt %
1	14	Frühjahr	2,13	0	5305	4,26	3,47
2	6	Frühjahr	1,10	0	Keine Daten		
3	4	Frühjahr	52,38	++	5837	3,80	3,19
4	7	Frühjahr	38,47	+	9253	3,89	3,41
5	11	Frühjahr	94,33	+++	10302	4,40	3,45
6	9	Frühjahr	47,87	++	7206	3,68	3,24
7	2	Sommer	54,96	++	7430	3,82	3,36
8	1	Sommer	62,05	++	11271	4,53	3,29
9	8	Sommer	0,77	0	8925,5	3,80	3,50
10	14	Sommer	3,80	0	5305	4,26	3,47
11	6	Sommer	3,80	0	Keine Daten		
12	4+9	Sommer	29,06	+	Keine Daten		
13	7	Sommer	19,20	+	9253	3,89	3,41
14	11	Sommer	68,30	++	10302	4,40	3,45
15	12	Sommer	21,71	+	Keine Daten		
34	8	Herbst	20,04	+	8925,5	3,80	3,50
35	2	Herbst	79,57	+++	7430	3,82	3,36
41	11	Herbst	82,67	+++	10302	4,40	3,45
47	7	Herbst	69,50	++	9253	3,89	3,41
51	4	Herbst	56,71	++	5837	3,80	3,19
57	9	Herbst	43,21	+	7206	3,68	3,24
63	14	Herbst	-0,40	0	5305	4,26	3,47

Tabelle 5: Übersicht der *Fasciola*-ELISA-Ergebnisse und Milchleistungsdaten der Einzelmilchproben, ELISA-Grad: 0 = Kein *F. hepatica*-Befall, + = Niedriggradiger Befall, ++ = Mäßiger Befall, +++ = Starker Befall

Probe	Betrieb	Jahreszeit	ODR %	ELISA-Grad	Milchleistung kg/Jahr/Tier	Fettgehalt%	Eiweißgehalt %
16	10	Sommer	-0,19	0	Keine Daten		
17	10	Sommer	0,26	0	Keine Daten		
18	10	Sommer	-0,13	0	Keine Daten		
19	10	Sommer	0,39	0	Keine Daten		
20	5	Sommer	0,64	0	Keine Daten		
21	5	Sommer	0,39	0	Keine Daten		
22	3	Sommer	-0,06	0	Keine Daten		
23	3	Sommer	-0,13	0	Keine Daten		
24	8	Herbst	1,03	0	Keine Daten		
25	8	Herbst	-0,19	0	8629	4,40	3,53
26	8	Herbst	1,10	0	6574	4,10	3,54
27	8	Herbst	25,52	+	8124	4,04	3,30
28	8	Herbst	36,08	+	7858	3,97	3,78
29	8	Herbst	0,13	0	6574	3,44	3,29
30	8	Herbst	0,45	0	8482	3,03	2,97
31	8	Herbst	0,58	0	7030	3,35	3,13
32	8	Herbst	16,69	+	8219	3,83	3,61
33	8	Herbst	0,77	0	7406	3,37	3,04
36	1	Herbst	52,77	++	Keine Daten		
37	11	Herbst	90,59	+++	9758	4,65	3,62
38	11	Herbst	93,75	+++	11898	4,32	3,5
39	11	Herbst	92,33	+++	12158	4,75	3,36
40	11	Herbst	106,96	+++	11421	4,83	3,57
42	7	Herbst	44,91	+	9306	3,53	3,35
43	7	Herbst	45,55	++	8127	3,68	3,48
44	7	Herbst	43,56	+	8646	3,71	3,48
45	7	Herbst	92,53	+++	8956	4,35	3,61
46	7	Herbst	92,37	+++	8902	4,35	3,61
48	4	Herbst	91,42	+++	Keine Daten		
49	4	Herbst	94,52	+++	Keine Daten		
50	4	Herbst	119,30	+++	5111	4,03	3,18
52	9	Herbst	77,36	+++	8404	3,53	3,02
53	9	Herbst	65,37	++	Keine Daten		
54	9	Herbst	81,97	+++	7469	3,40	3,11
55	9	Herbst	101,51	+++	5937	3,74	3,23
56	9	Herbst	0,24	0	Keine Daten		
58	14	Herbst	-0,95	0	4881	5,27	3,34
59	14	Herbst	43,92	+	5308	4,86	3,67

Probe	Betrieb	Jahreszeit	ODR %	ELISA-Grad	Milchleistung kg/Jahr/Tier	Fettgehalt%	Eiweißgehalt %
60	14	Herbst	0,16	0	6455	3,84	3,18
61	14	Herbst	0,08	0	6933	2,97	3,01
62	14	Herbst	0,00	0	9205	3,72	3,00
64	6	Herbst	2,14	0	Keine Daten		
65	6	Herbst	-0,24	0	Keine Daten		
66	6	Herbst	0,00	0	Keine Daten		
67	6	Herbst	0,24	0	Keine Daten		
68	13	Herbst	-0,71	0	Keine Daten		
69	5	Herbst	-1,35	0	Keine Daten		

### 4.3 Sedimentation

Von den ELISA-positiven Proben wurden nur 40,54 % durch die Sedimentationsproben erkannt. Von den stark befallenen Milchproben wurden 66,67 % in der Sedimentation erkannt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht *Fasciola*-ELISA-Ergebnisse und Sedimentation; T = Tankmilch, E = Einzeltier; ELISA-Grad: 0 = Kein *F. hepatica*-Befall, + = Niedriggradiger Befall, ++ = Mäßiger Befall, +++ = Starker Befall; Sedimentation: - = negativ, + = geringgradig, ++ = mittelgradig, +++ = hochgradig

Probe	Typ	Betrieb	ODR %	ELISA-Grad	Sedimentation
1	T	14	2,13	0	Keine Daten
2	T	6	1,10	0	Keine Daten
3	T	4	52,38	++	Keine Daten
4	T	7	38,47	+	Keine Daten
5	T	11	94,33	+++	Keine Daten
6	T	9	47,87	++	Keine Daten
7	T	2	54,96	++	Keine Daten
8	T	1	62,05	++	Keine Daten
9	T	8	0,77	0	Keine Daten
10	T	14	3,80	0	Keine Daten
11	T	6	3,80	0	Keine Daten
12	T	4+9	29,06	+	Keine Daten
13	T	7	19,20	+	Keine Daten
14	T	11	68,30	++	Keine Daten
15	T	12	21,71	+	Keine Daten

<b>Probe</b>	<b>Typ</b>	<b>Betrieb</b>	<b>ODR %</b>	<b>ELISA-Grad</b>	<b>Sedimentation</b>
34	T	8	20,04	+	-
35	T	2	79,57	+++	Keine Daten
36	E	1	52,77	++	Keine Daten
37	E	11	90,59	+++	+++
38	E	11	93,75	+++	+++
39	E	11	92,33	+++	-
40	E	11	106,96	+++	-
41	T	11	82,67	+++	-
42	E	7	44,91	+	+++
43	E	7	45,55	++	+++
44	E	7	43,56	+	+++
45	E	7	92,53	+++	++
46	E	7	92,37	+++	++
47	T	7	69,50	++	Keine Daten
48	E	4	91,42	+++	+
49	E	4	94,52	+++	+
50	E	4	119,30	+++	+
51	T	4	56,71	++	Keine Daten
52	E	9	77,36	+++	+
53	E	9	65,37	++	+
54	E	9	81,97	+++	+
55	E	9	101,51	+++	+
56	E	9	0,24	0	+
57	T	9	43,21	+	+
58	E	14	-0,95	0	-
59	E	14	43,92	+	-
60	E	14	0,16	0	-
61	E	14	0,08	0	-
62	E	14	0,00	0	-
63	T	14	-0,40	0	-
64	E	6	2,14	0	-
65	E	6	-0,24	0	-
66	E	6	0,00	0	-
67	E	6	0,24	0	-
68	E	13	-0,71	0	Keine Daten
69	E	5	-1,35	0	Keine Daten

#### **4.4 Jahresverlauf**

Der Jahresverlauf der Tankmilchproben (Abbildung 8) zeigte im Frühjahr (Mai) einem durchschnittlichen ODR von 39,38 % ( $\pm 34,97$  %). Hier waren 4 von 6 Betrieben positiv (67 %). Im Sommer (Juni) lag der ODR im Durchschnitt bei 29,27 % ( $\pm 24,78$  %) mit 7 von 10 Betrieben positiv (70 %). Im Herbst (Oktober/November) war der ODR durchschnittlich 50,19 % ( $\pm 31,23$  %) mit 6 von 7 Betrieben positiv (85 %).

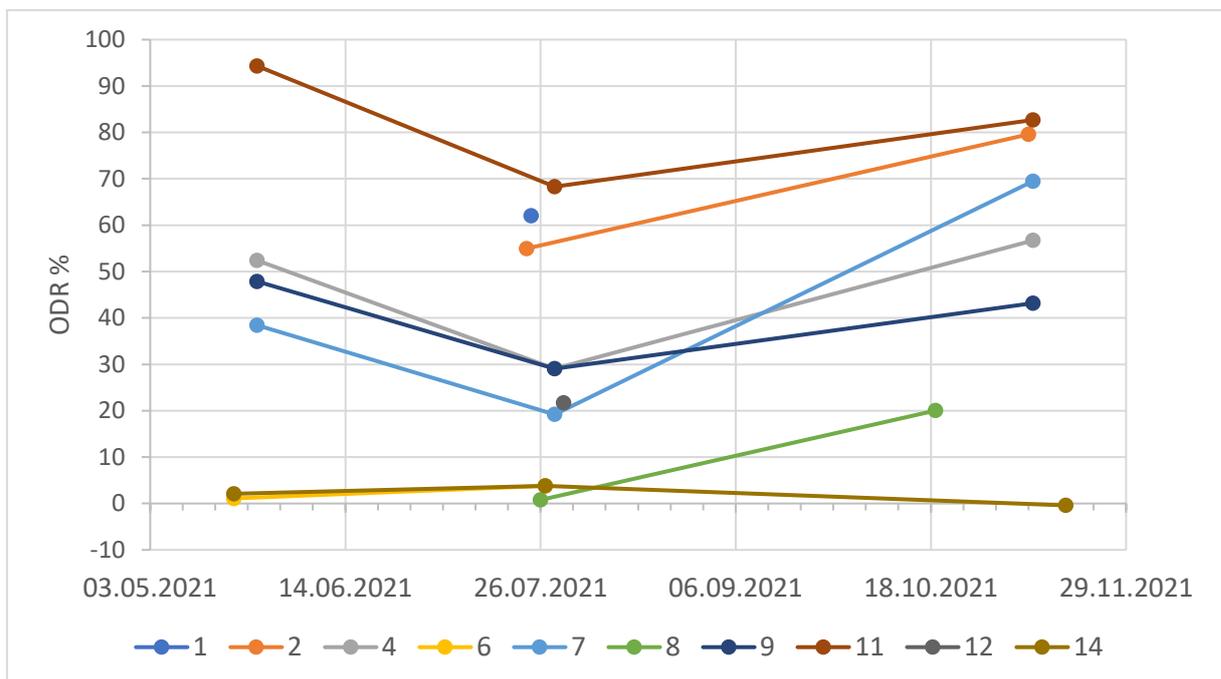


Abbildung 7: ODR in % der Tankmilchproben in den Betrieben (siehe Legende) im Jahresverlauf

#### **4.5 Statistische Auswertung**

Im Durchschnitt hatten im Herbst *Fasciola*-Antikörper-negative Einzeltiere eine Milchleistung von 7.217 kg/Tier/Jahr ( $\pm 1.272$  kg/Tier/Jahr) während sie bei Antikörper-positiven Tieren bei 8.565 kg/Tier/Jahr ( $\pm 2.033$  kg/Tier/Jahr) lag. Bei den stark positiven war der Durchschnitt 9.001 kg/Tier/Jahr ( $\pm 2.404$  kg/Tier/Jahr). Die negativen, positiven und stark positiven Proben hatten im Durchschnitt einen Fettgehalt von 3,75 % ( $\pm 0,70$  %), 4,09 % ( $\pm 0,48$  %) und 4,20 %

( $\pm 0,50$  %). Der Eiweißgehalt war durchschnittlich 3,20 % ( $\pm 0,21$  %) bei negativen Proben, 3,44 % ( $\pm 0,22$  %) bei positiven und 3,38 % ( $\pm 0,23$  %) bei stark positiven Proben.

Die Milchleistung für den einzigen *Fasciola*-Antikörper-negativen Betriebe im Herbst lag bei 5.305 kg/Tier/Jahr, während sie bei Antikörper-positiven Betrieben im Durchschnitt bei 8.159 kg/Tier/Jahr ( $\pm 1.625$  kg/Tier/Jahr) lag. Bei den stark positiven Betrieben war der Durchschnitt 8.866 kg/Tier/Jahr ( $\pm 2.031$  kg/Tier/Jahr). Der negative Betrieb hatte einen Fettgehalt von 4,26 %. Für die positiven und stark positiven Betriebe lag der Fettgehalt im Durchschnitt bei 3,90 % ( $\pm 0,26$  %) und 4,11 % ( $\pm 0,41$  %). Der Eiweißgehalt war 3,47 % in dem negativen Betrieb, durchschnittlich 3,36 % ( $\pm 0,12$  %) in den positiven und 3,41 % ( $\pm 0,06$  %) in den stark positiven Betrieben.

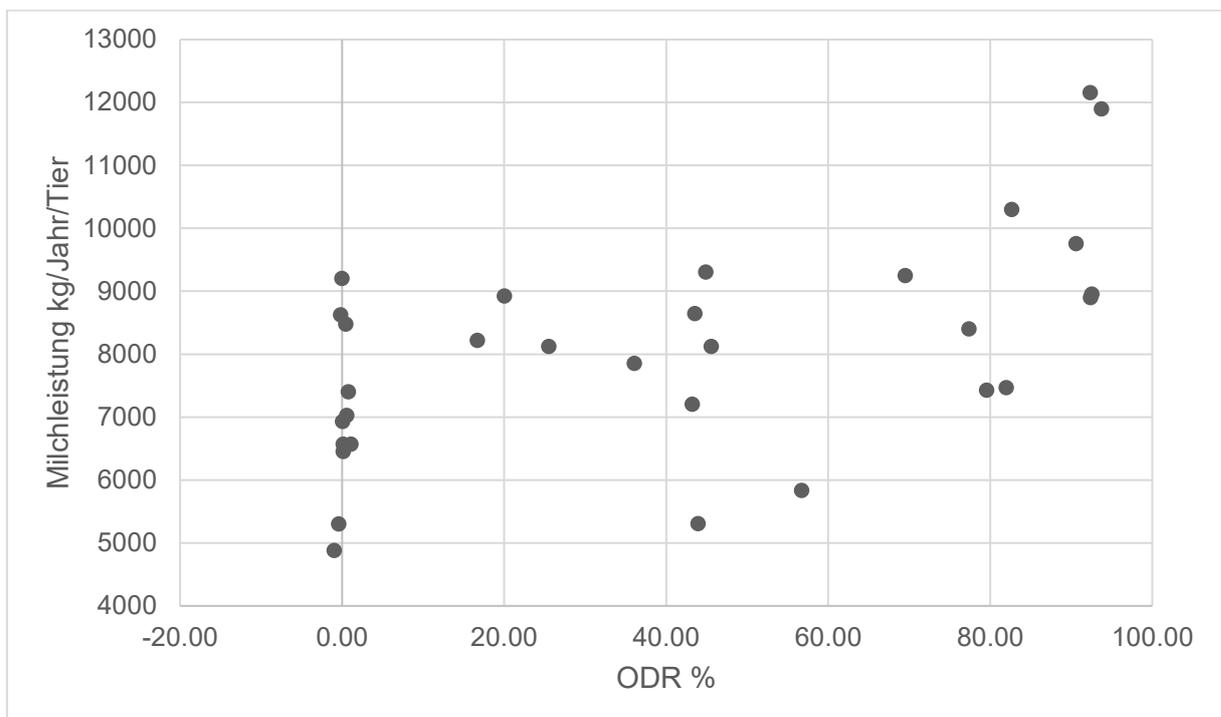


Abbildung 8: Zusammenhang von Milchleistung und *Fasciola*-ODR der Herbstproben in einem Scatterplot

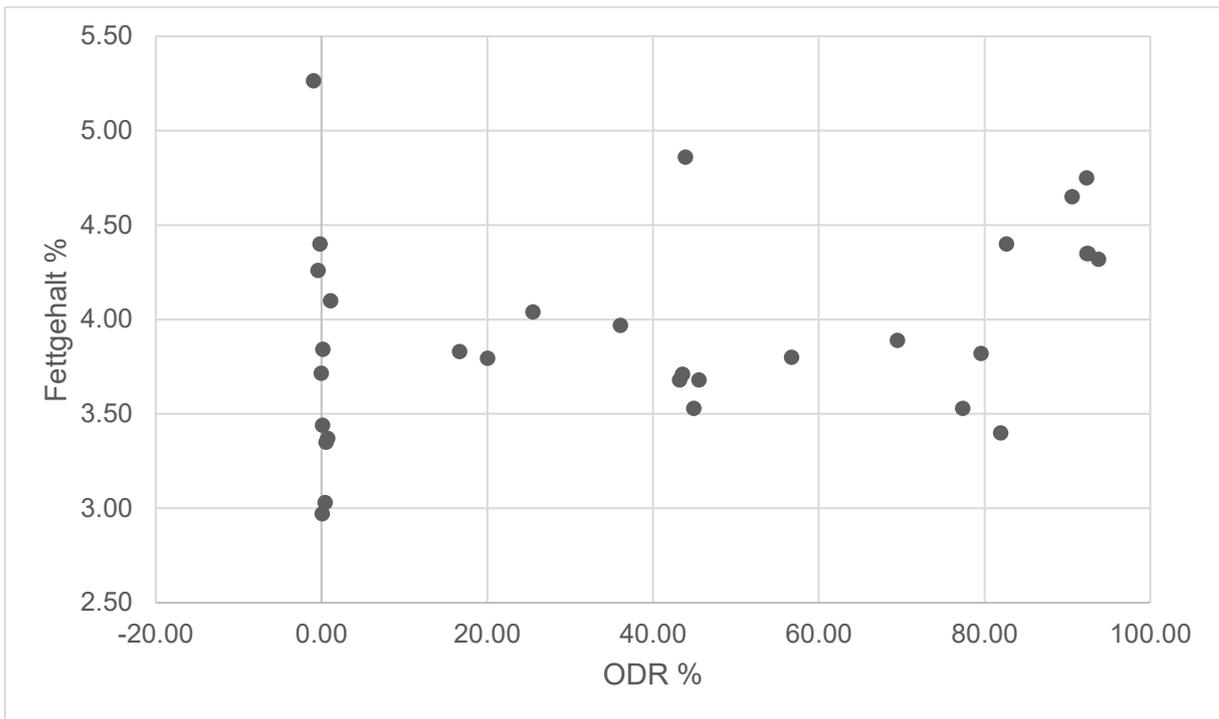


Abbildung 9: Zusammenhang von Fettgehalt und *Fasciola*-ODR der Herbstproben in einem Scatterplot

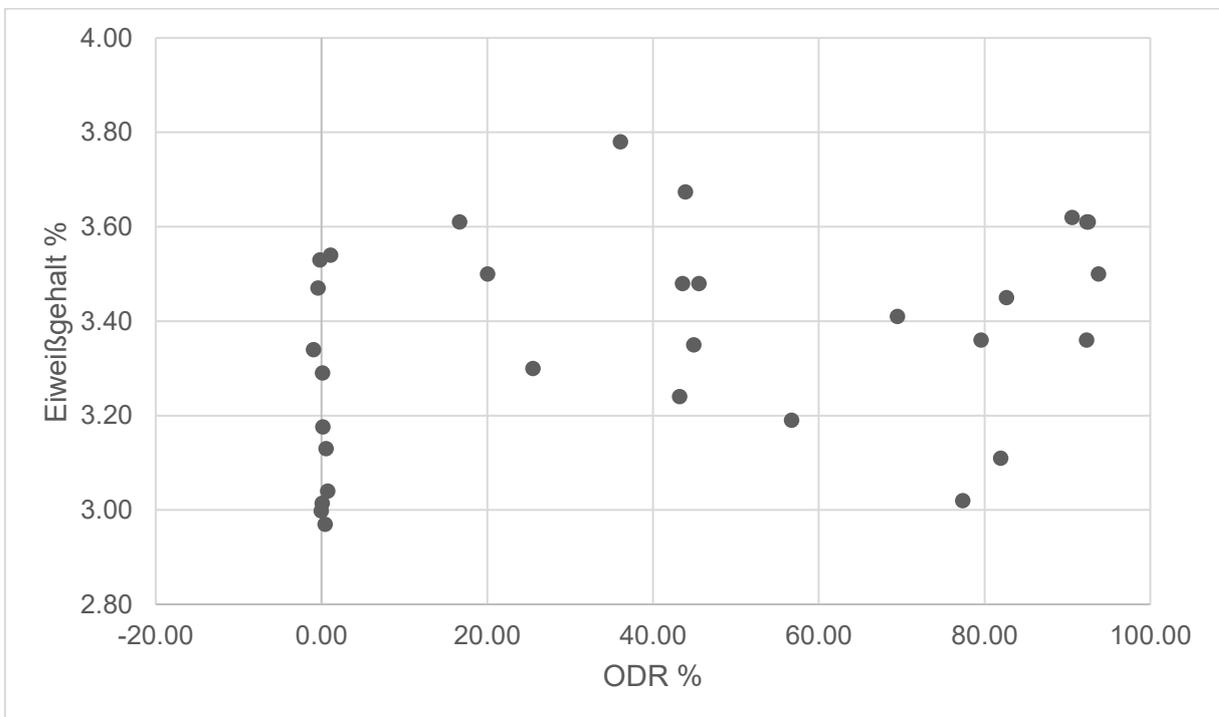


Abbildung 10: Zusammenhang von Eiweißgehalt und *Fasciola*-ODR der Herbstproben in einem Scatterplot

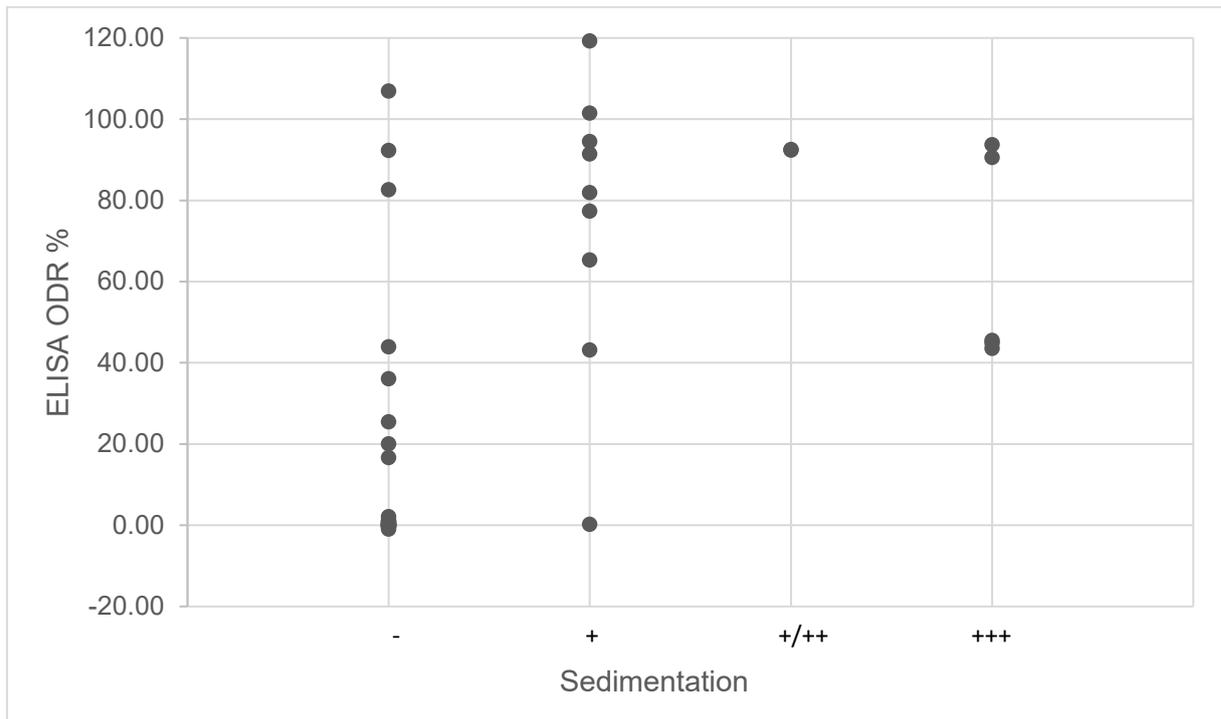


Abbildung 11: Zusammenhang von Sedimentation und *Fasciola*-ODR in einem Scatterplot

#### **4.6 Korrelation: Kendall-Tau-b (nicht parametrischer Test)**

Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten und p-Werte für den Vergleich der Milchleistungsparameter der Betriebe mit den *Fasciola*-ODR-Werten der Tankmilchproben

Milch (kg)	Kendall-Tau-b Korrelationskoeffizient	p-Wert (*= signifikant)
Frühjahr	0,400	0,327
Sommer	0,467	0,188
Herbst	0,524	0,099
<b>Fett (%)</b>		
Frühjahr	0,000	1,000
Sommer	0,467	0,188
Herbst	0,333	0,293

<b>Eiweiß (%)</b>		
Frühjahr	-0,400	0,327
Sommer	-0,600	0,091
Herbst	-0,143	0,652

Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten und p-Werte für den Vergleich der Milchleistungsparameter der Einzeltiere mit den *Fasciola*-ODR-Werten der Einzeltierproben der Herbstuntersuchung

	<b>Kendall-Tau-b Korrelationskoeffizient (* = signifikant)</b>	<b>p-Wert (* = signifikant)</b>
<b>Milch (kg)</b>	0,268*	0,050*
<b>Fett (%)</b>	0,197	0,150
<b>Eiweiß (%)</b>	0,221	0,108

Tabelle 9: Korrelation Sedimentationsergebnisse

	<b>Kendall-Tau-b Korrelationskoeffizient (* = signifikant)</b>	<b>p-Wert (* = signifikant)</b>
<b>Sedimentation (Poolprobe)/ Einzeltier-ODR</b>	0,466**	0,000*
<b>Sedimentation (Betrieb)/Einzeltier-ODR</b>	0,589**	0,000*
<b>Sedimentation (Betrieb)/ Tankmilch-ODR</b>	0,563**	0,001*

## **5. Diskussion**

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es zu untersuchen, ob der in der Literatur häufig beschriebene Zusammenhang zwischen einem Leberegelbefall und einer verringerten Milchleistung auch in den Milchviehbetrieben mit Almwirtschaft wiedergefunden werden kann. Dieser Zusammenhang konnte nicht bestätigt werden. Entgegen den Erwartungen bestand bei Einzeltieren sogar ein schwacher, leicht signifikanter Zusammenhang zwischen einer hohen Milchleistung und einem hohen *Fasciola*-Antikörpertiter. Antikörper-positive Tiere hatten eine um 19% höhere Milchleistung als *Fasciola*-negative Tiere. Stark positive Tiere hatten sogar eine im Vergleich 25% höhere Milchleistung. Diese Beobachtungen entsprechen nicht den Erwartungen. So konnte in vorangehenden Studien ein Zusammenhang zwischen einer Leberegelinfektion und Milchleistungsverlusten mit einer reduzierten Milchleistung von bis zu 15 % beobachtet werden (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2012, Charlier et al. 2013b, Howell et al. 2015, Khan et al. 2009, Köstenberger et al. 2017, Mezo et al. 2011, Schweizer et al. 2005). Die paradoxe Assoziation, die in dieser Studie gefunden wurde, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Auswahl der untersuchten Betriebe zurückzuführen. So wurden 14 willkürlich ausgesuchte Betriebe beprobt, eine repräsentative Auswahl ist somit nicht gegeben. Mit hoher Wahrscheinlichkeit wurden so Betriebe mit einer sehr inhomogenen Verteilung anderer Faktoren, die die Milchleistung beeinflussen, ausgewählt. Zu diesen Faktoren zählen unter anderem Rasse, Abstammung, Genetik, Alter, Laktation, Fütterung und der sonstige Gesundheitsstatus der Tiere. Diese Faktoren wurden während der Studie nicht dokumentiert. Demnach ist es möglich, dass die *F. hepatica*-positiven Tieren in dieser Studie natürlich leistungsstärkere Tiere waren. Außerdem waren die Milchleistungsdaten ein Jahresdurchschnitt und somit könnten temporäre Schwankungen, die durch *F. hepatica* ausgelöst wurden, verschleiert werden. Da zudem nicht für alle Tiere in unserer Studie ELISA-Ergebnisse und Produktionsdaten verfügbar waren, sind die Zusammenhänge jedoch nicht repräsentativ für die gesamte Studienpopulation.

In der Vergangenheit berichteten mehrere Studien auch über den Einfluss von einer *F. hepatica*-Infektion auf die Qualität von Milch mit unterschiedlichen Ergebnissen. Einige Studien fanden signifikant negative Zusammenhänge zwischen Fettgehalt und/oder Eiweißgehalt und einer *F. hepatica*-Infektion (Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2012, Khan et al. 2009, Köstenberger et al. 2017). Andere Studien hingegen berichteten von keinen Zusammenhängen zwischen *F. hepatica*-Infektionen und Butterfett- und Proteingehalt (Howell et al. 2015, Mezo et al. 2011). In dieser Studie war der Fettgehalt bei positiven Einzeltierproben im Herbst

durchschnittlich 9,2 % (0,34 %) und bei stark positiven Proben 11,9 % (0,45 %) höher. Auch der Eiweißgehalt war um 7,4 % (0,24 %) bei positiven, bei stark positiven Proben jedoch nur um 5,6 % (0,18 %) höher. In dieser Studie handelt es sich jedoch im Gegensatz zu vorherigen Studien um Jahresdurchschnittswerte. Da das Laktationsstadium zu Schwankungen führen kann, die die Daten der gesamten Herde verfälschen (Howell et al. 2015), ist ein Vergleich nicht möglich. Außerdem können Änderungen des Butterfett- und Proteingehalts bei einer Rasse mit natürlich höherem Butterfettanteil ausgeprägter sein (Howell et al. 2015, Köstenberger et al. 2017).

Bei den Tankmilchproben im Herbst gab es im Durchschnitt eine etwa 54 % (2.854 kg/Tier/Jahr) höhere Milchleistung bei Antikörper-positiven Tieren. Bei den stark positiven war die Milchleistung sogar 67 % (3.561 kg/Tier/Jahr) höher. Der Fettgehalt lag bei positiven Proben 8,5 % (0,36 %) und bei stark positiven Proben 20,1 % (0,86 %) niedriger. Auch der Eiweißgehalt war bei positiven um 3,2 % (0,11 %) und bei stark positiven Proben um 1,9 % (0,06 %) geringer als bei negativen Proben. Jedoch war dieser Zusammenhang nicht signifikant und durch die geringe Zahl von 7 Proben ist diese Stichprobe für die gesamte Population nicht repräsentativ.

Die koproskopische Analyse auf Herdenebene ist aufgrund geringer Sensitivität nur eingeschränkt aussagekräftig (Duscher et al. 2011). Die Anwendung von ELISA-Tests auf Tankmilch hat sich daher als schnelle und empfindliche Methode zum Nachweis von mit *F. hepatica* infizierten Herden erwiesen (Salimi-Bejestani et al. 2005a, Charlier et al. 2007, Charlier et al. 2013b, Mezo et al. 2010, Mezo et al. 2011). Die Korrelation zwischen Sedimentations- und ELISA-Ergebnissen ist in dieser Studie dennoch signifikant. Etwa 41 % der ELISA-positiven Milchproben wurden auch in den Poolkotproben mittels Sedimentation als positiv erkannt. Auch Duscher et al. (2011) beobachteten, dass 39-41 % der seropositiven Tiere Leberegel-Eier ausschieden. Seropositive Tiere, die nicht mittels Koproskopie erkannt werden, lassen sich neben der allgemein geringeren Sensitivität der Koproskopie durch präpatente Leberegel oder bereits ausgeheilte Infektionen mit persistierenden Antikörpern erklären (Duscher et al. 2011). Dennoch ist die Interpretation dieser diagnostischen Techniken schwierig, da sie nur eine Exposition gegenüber einer *F. hepatica*-Infektion anzeigen, die nicht immer nachteilige Auswirkungen auf die Produktivität hat (Mezo et al. 2011).

In dieser Studie lag die Herdenprävalenz von *F. hepatica* in den Tankmilchproben über das gesamte Jahr im Durchschnitt bei etwa 73 %. Auch Matt et al. (2007) fanden eine Prävalenz im gesamten Bundesland Tirol von 73 %. Die höchste Prävalenz fanden sie im Bezirk Kitzbühel mit 97 %, die niedrigste mit 17 % im Bezirk Imst. In voralpine Regionen in Bayern, in unmittelbarer Nachbarschaft zu Tirol, fanden sie Prävalenzen zwischen 85 % und 97 % (Matt et al. 2007). Andere Studien fanden in der Steiermark eine Prävalenz von 61,3 % im Jahr 2014 und von 45,5 % im Jahr 2015 (Köstenberger et al. 2017) und in Kärnten eine Prävalenz von 60 % (Duscher et al. 2011). Der Vergleiche mit diesen ist jedoch schwierig, da sich die Cut-off-Werte zwischen den ELISA-Ergebnissen oft unterscheiden (Köstenberger et al. 2017). Ursache für unterschiedliche Prävalenzen können unter anderem die unterschiedlichen Umwelt- und Klimabedingungen, Betriebsmanagementfaktoren oder Probenentnahme-Zeitpunkte sein (Köstenberger et al. 2017). Jährliche Wetterschwankungen haben nur einen geringen Einfluss auf die Exposition gegenüber *F. hepatica*, wobei sich saisonale Wettermuster als einflussreicher erwiesen haben (Munita et al. 2016). In dieser Studie lag die Prävalenz im Mai bei etwa 67 %, im Juli bei 70 % und im Oktober/November bei 85 %. Da aufgrund der Weidekontamination der Höhepunkt des jährlichen Lebenszyklus von *F. hepatica* im späten Sommer liegt, war der Antikörperspiegel wie erwartet (Köstenberger et al. 2017, Munita et al. 2016, Salimi-Bejestani et al. 2005a) im Herbst am höchsten.

Der Zusammenhang zwischen *F. hepatica*-Antikörpern und der Milchleistung, der in dieser Arbeit gefunden wurde, stimmte nicht mit den Ergebnissen anderer Studien überein. Vermutlich waren hier andere Faktoren, wie Rasse und Abstammung, und nicht die Infektion mit *F. hepatica* bei den gealpten Milchrindern in Tirol bedeutsamer für die Milchleistung.

## **6. Zusammenfassung**

*Fasciola hepatica* ist der weltweit häufigste vektorübertragene Parasit, der die Gallengänge von Säugetieren befällt. Die chronische Fasziole ist weltweit eine bedeutende Krankheit von Nutztieren, die in der Regel asymptomatisch verläuft, jedoch zu einer Leistungsminderung, wie einer verminderten Milchleistung, und somit wirtschaftliche Auswirkungen führen kann. Das Ziel dieser Studie war es, einen Zusammenhang zwischen Milchleistungsdaten und *F. hepatica*-Antikörpern von Einzeltieren sowie Tankmilch aus Almbetrieben in Tirol zu ermitteln.

Kot- und Milchproben wurden in der Weidesaison 2021 in 14 Betriebe in Tirol vor Auftrieb (Mai), im Sommer auf der Alm (Juli) und nach Abtrieb (Oktober/November) gesammelt und mittels Sedimentation und Bio-X Diagnostics Monoscreen AbELISA *F. hepatica* untersucht.

Im Durchschnitt hatten *Fasciola*-Antikörper-negative Einzeltiere eine Milchleistung von 7.217 kg/Tier/Jahr ( $\pm 1.272$  kg/Tier/Jahr) während sie bei Antikörper-positiven Tieren bei 8.565 kg/Tier/Jahr ( $\pm 2.033$  kg/Tier/Jahr) lag. Bei den stark positiven war der Durchschnitt 9.001 kg/Tier/Jahr ( $\pm 2.404$  kg/Tier/Jahr).

In dieser Studie konnte der zuvor in anderen Studien beschriebene negative Zusammenhang zwischen Milchleistung und hohen *Fasciola*-Antikörpertitern nicht bestätigt werden. Es konnte entgegen Erwartungen ein schwacher, leicht signifikanter positiver Zusammenhang bei Einzeltieren beobachtet werden. Antikörper-positive Tiere hatten eine um 19% höhere Milchleistung als *Fasciola*-negative Tiere. Stark positive Tiere hatten sogar eine im Vergleich 25% höhere Milchleistung. Vermutlich wurden Betriebe mit einer inhomogenen Verteilung anderer Faktoren, die die Milchleistung beeinflussen, in dieser Studie untersucht und die *F. hepatica*-positiven Tieren waren natürlich leistungsstärkere Tiere.

## **7. Summary**

*Fasciola hepatica* is the most common vector-borne parasite affecting the bile ducts of mammals worldwide. Chronic fasciolosis is a major disease of livestock worldwide, which is usually asymptomatic but can lead to reduced performance, such as reduced milk yield, and thus economic consequences. The aim of this study was to determine a connection between milk yield data and *F. hepatica* antibodies from individual animals and tank milk from alpine farms in Tyrol.

In the 2021 grazing season, faecal and milk samples were collected on 14 farms in Tyrol before driving the cattle up (May), in summer on the alpine pastures (July) and after driving the cattle down from the pasture (October/November) and analysed using sedimentation and Bio-X Diagnostics Monoscreen AbELISA *F. hepatica*.

On average, *Fasciola* antibody-negative animals had a milk yield of 7,217 kg/animal/year ( $\pm 1,272$  kg/animal/year) while in antibody-positive animals it was 8,565 kg/animal/year ( $\pm 2,033$  kg/animal/year). For the highly positive animals, it was 9,001 kg/animal/year ( $\pm 2,404$  kg/animal/year) on average.

In this study, the negative correlation between milk yield and high *Fasciola* antibody titres previously described in other studies could not be confirmed. Contrary to expectations, a weak, slightly significant positive connection in individual animals was found. Antibody-positive animals had a 19% higher milk yield than *Fasciola*-negative animals and highly positive animals had a 25% higher milk yield in comparison. Presumably, farms with an inhomogeneous distribution of other factors influencing milk yield were chosen for this study and the *F. hepatica*-positive animals were naturally higher-performing animals.

## **8. Literaturverzeichnis**

AgrarMarkt Austria. 2021. Marktbericht Milch und Milchprodukte 11. Ausgabe 2021. Wien: AgrarMarkt Austria.

Ai L, Li C, Elsheikha HM, Hong SJ, Chen JX, Chen SH, Li X, Cai XQ, Chen MX, Zhu XQ. 2010. Rapid identification and differentiation of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* by a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Veterinary Parasitology*, 174(3-4):228-233.

Anderson N, Luong TT, Vo NG, Bui KL, Smooker PM, Spithill TW. 1999. The sensitivity and specificity of two methods for detecting *Fasciola* infections in cattle. *Veterinary Parasitology*, 83(1):15-24.

Arias M, Piñeiro P, Hillyer GV, Suárez JL, Francisco I, Cortiñas FJ, Díez-Baños P, Morrondo P, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. 2010. An approach of the laboratory to the field: assessment of the influence of cattle management on the seroprevalence of fascioliasis by using polyclonal-and recombinant-based ELISAs. *Journal of Parasitology*, 96(3):626-631.

Arias M, Lomba C, Dacal V, Vázquez L, Pedreira J, Francisco I, Piñeiro P, Cazapal-Monteiro C, Suárez JL, Díez-Baños P, Morrondo P, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. 2011. Prevalence of mixed trematode infections in an abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. *Veterinary Record*, 168(15):408.

Arzneispezialitätenregister. 2022. <https://aspregister.basg.gv.at/> (Zugriff: 20.01.2022)

Auer H, Aspöck H. 2014. Helminths and helminthoses in Central Europe: general overview and diseases caused by trematodes (flukes). *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 164(19-20):405-413.

Behar JM, Winston JS, Borgstein R. 2009. Hepatic fascioliasis at a London hospital--the importance of recognising typical radiological features to avoid a delay in diagnosis. *British Journal of Radiology*, 82(981):189-193.

Bennema SC, Ducheyne E, Vercruyssen J, Claerebout E, Hendrickx G, 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. *International Journal for Parasitology*, 41(2):225-233.

Bogitsh BJ, Carter CE, Oeltmann TN. 2013. Human parasitology. Vierte Aufl. Oxford: Academic Press, 181-182.

- Boulard C, Carreras F, Van Gool F. 1995. Evaluation of nitroxynil and closantel activity using ELISA and egg counts against *Fasciola hepatica* in experimentally and naturally infected cattle. *Veterinary Research*, 26(4):249-255.
- Brauer B. 2006. Ultrastrukturelle Untersuchungen an *Fasciola hepatica* nach der Therapie mit Albendazolsulfoxid bei *Rattus norvegicus* und bei Schafen [Dissertation]. Berlin: Freie Universität.
- Charlier J, Claerebout E, Duchateau L, Vercruyssen J. 2005a. A survey to determine relationships between bulk tank milk antibodies against *Ostertagia ostertagi* and milk production parameters. *Veterinary Parasitology*, 129(1-2):67-75.
- Charlier J, Duchateau L, Claerebout E, Williams D, Vercruyssen J. 2007. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 78 (1):57-66.
- Charlier J, De Meulemeester L, Claerebout E, Williams D, Vercruyssen J. 2008. Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. *Veterinary Parasitology*, 153(1-2):44-51.
- Charlier J, De Cat A, Forbes A, Vercruyssen J. 2009. Measurement of antibodies to gastrointestinal nematodes and liver fluke in meat juice of beef cattle and associations with carcass parameters. *Veterinary Parasitology*, 166(3-4):235-240.
- Charlier J, Bennema SC, Caron Y, Counotte M, Ducheyne E, Hendrickx G, Vercruyssen J. 2011. Towards assessing fine-scale indicators for the spatial transmission risk of *Fasciola hepatica* in cattle. *Geospatial Health*, 5(2):239-45.
- Charlier J, Hostens M, Jacobs J, Van Ranst B, Duchateau L, Vercruyssen J. 2012. Integrating Fasciolosis Control in the Dry Cow Management: The Effect of Closantel Treatment on Milk Production. *PLOS ONE* 7(8):e43216.
- Charlier J, Meyns T, Soenen K, Vercruyssen J. 2013a. Monitoring gastrointestinal nematode and liver fluke infections in Belgium by bulk tank milk ELISA: Are we making progress in parasite control?. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 82(1):17-22.
- Charlier J, Vercruyssen J, Morgan E, Van Dijk J, Williams DJL. 2013b. Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle. *Parasitology* 141(3):326-335.

- Conceição MAP, Durão RM, Costa IH, da Costa JMC. 2002. Evaluation of a simple sedimentation method (modified McMaster) for diagnosis of bovine fasciolosis. *Veterinary Parasitology*, 105(4):337-343.
- Cornelissen JB, Gaasenbeek CP, Boersma W, Borgsteede FH, van Milligen FJ. 1999. Use of a pre-selected epitope of cathepsin-L1 in a highly specific peptide-based immunoassay for the diagnosis of *Fasciola hepatica* infections in cattle. *International Journal for Parasitology*, 29(5):685-696.
- Ducheyne E, Charlier J, Vercruyse J, Rinaldi L, Biggeri A, Demeler J, Brandt C, de Waal T, Selemetas N, Höglund J, Kaba J, Kowalczyk SJ, Hendrickx G. 2015. Modelling the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in Europe. *Geospatial Health*, 9(2):261-270.
- Duscher R, Duscher G, Hofer J, Tichy A, Prosl H, Joachim A. 2011. *Fasciola hepatica* - monitoring the milky way? The use of tank milk for liver fluke monitoring in dairy herds as base for treatment strategies. *Veterinary Parasitology*, 178(3-4):273-278.
- Eckert J, Friedhoff KT, Zahner H, Deplazes P. 2005. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. Erste Aufl. Stuttgart: Enke Verlag, 134-45.
- Espino AM, Finlay C. 1994. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detection of excretory secretory antigens in humans with fascioliasis. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(1):190-193.
- Flanagan A, Edgar HWJ, Gordon A, Hanna REB, Brennan GP, Fairweather I. 2011. Comparison of two assays, a faecal egg count reduction test (FECRT) and a coproantigen reduction test (CRT), for the diagnosis of resistance to triclabendazole in *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary parasitology*, 176(2-3):170-176.
- Gordon DK, Zadoks RN, Stevenson H, Sargison ND, Skuce PJ. 2012. On farm evaluation of the coproantigen ELISA and coproantigen reduction test in Scottish sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology*, 187(3-4):436-444.
- Haiabi M, Pernegger C, Brinninger G, Auer H. 1997. *Fasciola hepatica* in Österreich - Ein Fallbericht. *Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie*, 19:137-142.
- Höglund J, Dahlström F, Engström A, Hessel A, Jakubeka EB, Schnieder T, Strubec C, Solenberg S. 2010. Antibodies to major pasture borne helminth infections in bulk-tank milk

- samples from organic and nearby conventional dairy herds in south-central Sweden. *Veterinary Parasitology*, 171(3-4):293-299.
- Howell A, Baylis M, Smith R, Pinchbeck G, Williams D. 2015. Epidemiology and impact of *Fasciola hepatica* exposure in high-yielding dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 121(1-2):41-48.
- Husch C, Sattmann H, Haefeli I, Prosl H, Walochnik J. 2020. Genetic diversity of *Fasciola hepatica* in Austria. *Parasitology Research*, 119:1697-1701.
- Kenyon F, Sargison ND, Skuce PJ, Jackson F. 2009. Sheep helminth parasitic disease in south eastern Scotland arising as a possible consequence of climate change. *Veterinary Parasitology*, 163(4):293-297.
- Khan MK, Sajid MS, Khan MN, Iqbal Z, Iqbal MU. 2009. Bovine fasciolosis: prevalence, effects of treatment on productivity and cost benefit analysis in five districts of Punjab, Pakistan. *Research in Veterinary Science*, 87(1):70-75.
- Knubben-Schweizer G, Deplazes P, Torgerson P, Rapsch C, Meli M, Braun U. 2010. Bovine Fasciolose in der Schweiz: Bedeutung und Bekämpfung. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 152(5):223-229.
- Koch S. 2005. Untersuchungen zur Verbreitung von *Fasciola hepatica* im bayerischen Milchviehbestand. [Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität.
- Köstenberger K, Tichy A, Bauer K, Pless P, Wittek T. 2017. Associations between fasciolosis and milk production, and the impact of anthelmintic treatment in dairy herds. *Parasitology Research*, 116:1981-1987.
- Kuerpick B, Conraths FJ, Staubach C, Fröhlich A, Schnieder T, Strube C. 2013a. Seroprevalence and GIS-supported risk factor analysis of *Fasciola hepatica* infections in dairy herds in Germany. *Parasitology*, 140(8):1051-1060.
- Kuerpick B, Schnieder T, Strube C. 2013b. Evaluation of a recombinant cathepsin L1 ELISA and comparison with the Pourquier and ES ELISA for the detection of antibodies against *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology*, 193(1-3):206-213.
- Leclipteux T, Torgerson PR, Doherty ML, McCole D, Protza M, Farnir F, Losson B. 1998. Use of excretory/secretory antigens in a competition test to follow the kinetics of infection by *Fasciola hepatica* in cattle. *Veterinary Parasitology*, 77(2-3):103-114.

- López-Díaz MC, Carro MC, Cadórniga C, Díez-Baños P, Mezo M. 1998. Puberty and serum concentrations of ovarian steroids during prepuberal period in Friesian heifers artificially infected with *Fasciola hepatica*. *Theriogenology*, 50(4):587-593.
- Loyacano AF, Williams JC, Gurie J, DeRosa AA. 2002. Effect of gastrointestinal nematode and liver fluke infections on weight gain and reproductive performance of beef heifers. *Veterinary Parasitology*, 107(3):227-234.
- Marcos LA, Tagle M, Terashima A, Bussalleu A, Ramirez C, Carrasco C, Valdez L, Huerta-Mercado J, Freedman DO, Vinetz JM, Gotuzzo E. 2008. Natural history, clinicoradiological correlates, and response to triclabendazole in acute massive fascioliasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78:222-227.
- Martínez-Pérez JM, Robles-Pérez D, Rojo-Vázquez FA, Martínez-Valladares M. 2012. Comparison of three different techniques to diagnose *Fasciola hepatica* infection in experimentally and naturally infected sheep. *Veterinary Parasitology*, 190(1-2):80-86.
- Mas-Coma S. 2005. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. *Journal of Helminthology*, 79(3):207-216.
- Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. 2009a. Chapter 2 *Fasciola*, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. *Advances in Parasitology*, 69:41-146.
- Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. 2009b. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. *Veterinary Parasitology*, 163(4):264-280.
- Matt M, Schöpf K, Mader C. 2007. Leberregelmonitoring: flächendeckende serologische Untersuchungen zum *Fasciola hepatica*-Befall in Tirol. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 94:210-213.
- McCann CM, Baylis M, Williams DJ. 2010. Seroprevalence and spatial distribution of *Fasciola hepatica*-infected dairy herds in England and Wales. *Veterinary Record*, 166(20):612-617.
- Messner P. 2020. In Österreich zugelassene Arzneimittel zur Bekämpfung von Endoparasiten bei Haussäugetieren (Hund, Katze, Pferd, Rind, Schaf, Ziege, Schwein) und Nutzgeflügel (Huhn). [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.

- Mezo M, González-Warleta M, Carro C, Ubeira FM. 2004. An ultrasensitive capture ELISA for detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in sheep and cattle using a new monoclonal antibody (MM3). *Journal of Parasitology*, 90(4):845-852.
- Mezo M, González-Warleta M, Ubeira FM. 2007. The use of MM3 monoclonal antibodies for the early immunodiagnosis of ovine fascioliasis. *Journal of Parasitology*, 93(1):65-72.
- Mezo M, González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Muiño L, Ubeira FM. 2010. Field evaluation of the MM3-SERO ELISA for detection of anti-*Fasciola* IgG antibodies in milk samples from individual cows and bulk milk tanks. *Parasitology International*, 59(4):610-615.
- Mezo M, González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Muiño L, Ubeira FM. 2011. Association between anti-*F. hepatica* antibody levels in milk and production losses in dairy cows. *Veterinary Parasitology*, 180(3-4):237-242.
- Molloy JB, Anderson GR, Fletcher TI, Landmann J, Knight BC. 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. *Veterinary Parasitology*, 130(3-4):207-212.
- Morgan ER, Charlier J, Hendrickx G, Biggeri A, Catalan D, Von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J, Müller E, Van Dijk J, Kenyon F, Skuce P, Höglund J, O'Kiely P, Van Ranst B, De Waal T, Rinaldi L, Cringoli G, Hertzberg H, Torgerson P, Wolstenholme A, Vercruyse J. 2013. Global Change and Helminth Infections in Grazing Ruminants in Europe: Impacts, Trends and Sustainable Solutions. *Agriculture*, 3(3):484-502.
- Muiño L, Perteguer MJ, Gárate T, Martínez-Sernández V, Beltrán A, Romarís F, Mezo M, González-Warleta M, Ubeira FM. 2011. Molecular and immunological characterization of *Fasciola* antigens recognized by the MM3 monoclonal antibody. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 179(2):80-90.
- Munita MP, Rea R, Bloemhoff Y, Byrne N, Martinez-Ibeas AM, Sayersa RG. 2016. Six-year longitudinal study of *Fasciola hepatica* bulk milk antibody ELISA in the dairy dense region of the Republic Ireland. *Preventive Veterinary Medicine*, 134:16-25.
- Nødtvedt A, Dohoo I, Sanchez J, Conboy G, DesCôteaux L, Keefe G. 2002. Increase in milk yield following eprinomectin treatment at calving in pastured dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, 105(3):191-206.

- Pfister K, Koch S. 2004. Vorläufige Ergebnisse von Tankmilch-Untersuchungen zum *Fasciola hepatica*-Befall in bayerischen Milchviehherden. Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere Nutztiere, 32(06):316-319.
- Rapsch C, Schweizer G, Grimm F, Kohler L, Bauer C, Deplazes P, Braun U, Torgerson PR. 2006. Estimating the true prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle slaughtered in Switzerland in the absence of an absolute diagnostic test. International Journal for Parasitology, 36(10-11):1153-1158.
- Reichel MP. 2002. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in sheep and cattle. Veterinary Parasitology, 107(1-2):65-72.
- Reichel MP, Vanhoff K, 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. Veterinary Parasitology, 129(1-2):61-66.
- Roberts JA, Suhardono. 1996. Approaches to the control of fasciolosis in ruminants. International Journal for Parasitology, 26(8-9):971-81.
- Robinson MW, Dalton JP. 2009. Zoonotic helminth infections with particular emphasis on fasciolosis and other trematodiasis. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 364(1530):2763-2776.
- Salimi-Bejestani MR, Daniel RG, Felstead SM, Cripps PJ, Mahmood H, Williams DJL. 2005a. Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds in England and Wales measured with an ELISA applied to bulk-tank milk. Veterinary Record, 156:729-731.
- Salimi-Bejestani MR, McGarry JW, Felstead S, Ortiz P, Akca A, Williams DJL. 2005b. Development of an antibody-detection ELISA for *Fasciola hepatica* and its evaluation against a commercially available test. Research in Veterinary Science, 78(2):177-181.
- Salimi-Bejestani MR, Daniel R, Cripps P, Felstead S, Williams DJ. 2007. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Fasciola hepatica* in milk. Veterinary Parasitology, 149(3-4):290-293.
- Sanchez J, Dohoo I. 2002. A bulk tank milk survey of *Ostertagia ostertagi* antibodies in dairy herds in Prince Edward Island and their relationship with herd management factors and milk yield. The Canadian Veterinary Journal, 43(6):454-459.

- Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A, Suárez J, Panadero R, Díez-Baños P, Morrondo P. 2000. Use of a sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay (SEA) for the diagnosis of natural *Fasciola hepatica* infection in cattle from Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*, 93(1):39-46.
- Sanchez-Vazquez MJ, Lewis FI. 2013. Investigating the impact of fasciolosis on cattle carcass performance. *Veterinary Parasitology*, 193(1-3):307-11.
- Schnieder T. 2000. Helminthosen der Wiederkäuer. In: Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T, Hrsg. *Veterinärmedizinische Parasitologie*, Fünfte Aufl. Berlin: Paul Parey Verlag, 192-295.
- Schweizer G, Braun U, Deplazes P, Torgerson PR. 2005. Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. *Veterinary Record*, 157(7):188-193.
- Selemetas N, Phelan P, O'Kiely P, de Waal T. 2015a. The effects of farm management practices on liver fluke prevalence and the current internal parasite control measures employed on Irish dairy farms. *Veterinary Parasitology*, 207(3-4):228-240.
- Selemetas N, Phelan P, O'Kiely P, de Waal T. 2015b. Cluster analysis of fasciolosis in dairy cow herds in Munster province of Ireland and detection of major climatic and environmental predictors of the exposure risk. *Geospatial Health*, 9(2):271-279.
- Sezgin O, Altıntaş E, Dişibeyaz S, Saritaş U, Sahin B. 2004. Hepatobiliary fascioliasis: clinical and radiologic features and endoscopic management. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 38(3):285-291.
- Simsek S, Risvanli A, Utuk AE, Yuksel M, Saat N, Koroglu E. 2007. Evaluation of relationship between repeat breeding and *Fasciola hepatica* and hydatid cyst infections in cows in Elazig district of eastern Turkey. *Research in Veterinary Science*, 83(1):102-104.
- Trifina E, Spenger J, Zandieh S, Haller J, Auer H, Österreicher C, Klaushofer K, Mikosch P. 2011. Multiple Leberherde und Eosinophilie – ein Fallbericht einer *Fasciola hepatica*-Infektion. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 161:448-454.
- Vercruysse J, Claerebout E. 2001. Treatment vs non-treatment of helminth infections in cattle: defining the threshold. *Veterinary Parasitology*, 98(1-3):195-214.

## **9. Abbildungs-/Tabellenverzeichnis**

### Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Milchleistung in kg/Jahr/Tier der Betriebe im Vergleich .....	24
Abbildung 2: Fettgehalt in % der Betriebe im Vergleich.....	24
Abbildung 3: Eiweißgehalt in % der Betriebe im Vergleich .....	25
Abbildung 4: Milchleistung in kg/Jahr der Einzeltiere gruppiert nach Betrieben im Vergleich; Blau = Betrieb 4, Orange = Betrieb 7, Grün = Betrieb 8, Gelb = Betrieb 9, Rot = Betrieb 11, Violett = Betrieb 14 .....	25
Abbildung 5: Fettgehalt in % der Einzeltiere gruppiert nach Betrieben im Vergleich; Blau = Betrieb 4, Orange = Betrieb 7, Grün = Betrieb 8, Gelb = Betrieb 9, Rot = Betrieb 11, Violett = Betrieb 14 .....	26
Abbildung 6: Eiweißgehalt in % der Einzeltiere gruppiert nach Betrieben im Vergleich; Blau = Betrieb 4, Orange = Betrieb 7, Grün = Betrieb 8, Gelb = Betrieb 9, Rot = Betrieb 11, Violett = Betrieb 14 .....	26
Abbildung 7: ODR in % der Tankmilchproben in den Betrieben (siehe Legende) im Jahresverlauf.....	31
Abbildung 8: Zusammenhang von Milchleistung und <i>Fasciola</i> -ODR der Herbstproben in einem Scatterplot.....	32
Abbildung 9: Zusammenhang von Fettgehalt und <i>Fasciola</i> -ODR der Herbstproben in einem Scatterplot .....	33
Abbildung 10: Zusammenhang von Eiweißgehalt und <i>Fasciola</i> -ODR der Herbstproben in einem Scatterplot.....	33
Abbildung 11: Zusammenhang von Sedimentation und <i>Fasciola</i> -ODR in einem Scatterplot	34

### Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: In Österreich zugelassene Trematozide (Arzneispezialitätenregister 2022).....	14
Tabelle 2: Ladeschema Platte 1.....	20
Tabelle 3: Ladeschema Platte 2.....	21
Tabelle 4: Übersicht der <i>Fasciola</i> -ELISA-Ergebnisse und Milchleistungsdaten der Tankmilch; ELISA-Grad: 0 = Kein <i>F. hepatica</i> -Befall, + = Niedriggradiger Befall, ++ = Mäßiger Befall, +++ = Starker Befall.....	27

Tabelle 5: Übersicht der <i>Fasciola</i> -ELISA-Ergebnisse und Milchleistungsdaten der Einzelmilchproben, ELISA-Grad: 0 = Kein <i>F. hepatica</i> -Befall, + = Niedriggradiger Befall, ++ = Mäßiger Befall, +++ = Starker Befall .....	28
Tabelle 6: Übersicht <i>Fasciola</i> -ELISA-Ergebnisse und Sedimentation; T = Tankmilch, E = Einzeltier; ELISA-Grad: 0 = Kein <i>F. hepatica</i> -Befall, + = Niedriggradiger Befall, ++ = Mäßiger Befall, +++ = Starker Befall; Sedimentation: - = negativ, + = geringgradig, ++ = mittelgradig, +++ = hochgradig .....	29
Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten und p-Werte für den Vergleich der Milchleistungsparameter der Betriebe mit den <i>Fasciola</i> -ODR-Werten der Tankmilchproben	34
Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten und p-Werte für den Vergleich der Milchleistungsparameter der Einzeltiere mit den <i>Fasciola</i> -ODR-Werten der Einzeltierproben der Herbstuntersuchung .....	35
Tabelle 9: Korrelation Sedimentationsergebnisse .....	35