

Aus dem Department für
Biomedizinische Wissenschaften der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Sprecher: O.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Mathias Müller

Institut für Pharmakologie und Toxikologie

Leitung: Univ.-Prof. Dr.med.univ. Veronika Sexl

**Untersuchungen zum praxistauglichen Einsatz von Zinkchlorid-
Natriumchlorid-Lösung versus Saccharoselösung zur Eimerien-Diagnostik
bei Kamelidenpatienten**

MAGISTERARBEIT

zur Erlangung der Würde einer

MAGISTRA MEDICINAE VETERINARIAE

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

vorgelegt von:

Carmen Christiana Klug

Wien, im August 2021

Betreuerin und erste Begutachtung:

Ass.Prof. Dr.rer.nat. Agnes Dadak, DVetPharm

Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Department für Biomedizinische Wissenschaften
der Veterinärmedizinischen Universität Wien
Veterinärplatz 1, 1210 Wien

Zweite Begutachtung:

Prof. Dr.med.vet. Patrik Zanolari

Wiederkäuerklinik der Universität Bern

patrik.zanolari@vetsuisse.unibe.ch

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Eimerien bei Neuweltkameliden	3
2.2	Eimerien-Diagnostik bei Neuweltkameliden.....	5
3	Material und Methoden	8
3.1	Koproskopische Untersuchungsmethoden	8
3.1.1	Suspensionsmedien.....	8
3.1.2	Aufarbeitungsmethoden.....	8
3.1.2.1	Methode S.....	8
3.1.2.2	Methode GSL	9
3.1.3	Modifiziertes McMaster-Verfahren.....	9
3.2	Statistische Auswertung	10
4	Ergebnisse	12
4.1	<i>Eimeria</i> spp.	12
4.1.1	Vergleich Saccharoselösung vs. Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung.....	12
4.1.2	Vergleich Methode S versus Methode GSL	14
4.2	<i>Eimeria macusaniensis</i>	15
5	Diskussion.....	16
6	Zusammenfassung	21
7	Summary	22
8	Abkürzungsverzeichnis	23
9	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	24
9.1	Abbildungen	24

9.2 Tabellen	24
10 Literaturverzeichnis	25
11 Danksagung.....	28

1 Einleitung und Fragestellung

Alpakas und Lamas werden längst nicht mehr nur als Hobbytiere gehalten. Vielmehr ist die Zucht und Haltung hochwertiger Neuweltkameliden für viele HalterInnen ein Geschäftsmodell geworden. Die Vermarktung von Alpakaprodukten, wie Vlies als Rohstoff oder in veredelter Form (beispielsweise Wolle, Bekleidung, etc.) steht dem Handel von Zucht- und Hobbytieren in puncto Beliebtheit um nichts nach. International hat sich der Begriff „camelid industry“ etabliert und es werden weltweit Symposien und Kurse für HalterInnen angeboten, bei denen nicht zuletzt auch die neuesten Erkenntnisse der Kamelidenmedizin weitergegeben werden. Parallel dazu steigt die Erwartungshaltung an eine fachgerechte, dem neuesten Stand der Kamelidenmedizin entsprechenden Patienten- und Herdenbetreuung durch TierärztInnen in der Region. Das Hauptaugenmerk liegt, wie bei allen Herdentieren, die wie Neuweltkameliden vorwiegend auf Weiden gehalten werden, auf gutem Management und prophylaktischen Maßnahmen zur Gesunderhaltung der Tiere. Da Alpakas und Lamas einerseits Fluchttiere sind und zum anderen ein sehr dichtes Vlies aufweisen, werden Abmagerung und unspezifische Symptome einer Erkrankung oft erst spät bzw. erst in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium erkannt (FOWLER, 2010).

Zu den häufigsten Erkrankungen der Neuweltkameliden zählen Endoparasitosen, die bei längerem unentdeckten Bestehen durchaus schwerwiegende Verläufe nehmen können. Neben ständigem Body-Condition-Scoring sind auch regelmäßige parasitologische Kotuntersuchungen als Eckpfeiler eines guten Herdenmanagements nicht wegzudenken (GAULY et al., 2011). Eine schwerwiegende parasitäre Infektionskrankheit stellt bei Neuweltkameliden die Eimeriose dar, die bei diesen Tieren, anders als bei anderen Tierarten, in allen Altersklassen auftreten und zu schweren Verläufen mit Todesfolge führen kann (CEBRA et al., 2007). Eine zuverlässige und rasche Diagnostik ist daher für betreuende TierärztInnen wesentlich und sollte bei Bedarf auch von diesen selbst einfach durchführbar sein, um eine rasche Behandlung von Einzeltieren, aber auch das Setzen effizienter metaphylaktischer Maßnahmen im Rahmen der Herdenbetreuung gewährleisten zu können.

Als Standardverfahren zur Diagnose von Eimerieninfektionen gilt bei Neuweltkameliden die mikroskopische Detektion von Eimerienoozysten aus Kotproben. International übliche Medien

im Rahmen dieser koproscopischen Untersuchungen sind v.a. Zuckerlösungen mit unterschiedlichem spezifischen Gewicht (1,27-1,33 g/ml) sowie Zinksulfatlösungen mit unterschiedlichem spezifischen Gewicht (1,18-1,36 g/ml) (ROHBECK, 2006; CHIGERWE, 2007; JOHNSON, 2009; BALLWEBER, 2009; TWOMEY et al., 2010; DIAZ, 2016).

Der vorliegenden Diplomarbeit liegt die Hypothese zugrunde, dass die Wahl des Suspensionsmediums für die Detektion von Eimerienoozysten in Neuweltkamelidenkotproben eine entscheidende Rolle spielt und ein Flotationsmedium mit vergleichsweise höherer Dichte zu einer besseren quantitativen Eimerienoozysten-Detektion führen kann. Weiters wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine längere Lagerung des aufbereiteten Kotprobenansatzes bei 4 °C vor Analyse zu einer verbesserten Treffsicherheit des Parasitennachweises im Vergleich zur sofortigen Aufarbeitung führen kann. Eine entsprechende Beobachtung wurde von Cebra und Stang (2008) publiziert.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher, ein für parasitologische Untersuchungen von Kamelidenkotproben international kaum genutztes und für die vorliegende Studie adaptiertes Zinkchlorid-Natriumchlorid-Medium im Vergleich zu einer Saccharose-Lösung, die in der Routinediagnostik zur Detektion von Eimerienoozysten in Neuweltkamelidenkotproben weltweit Verwendung findet, bei der für TierärztInnen einfach durchzuführenden McMaster-Untersuchungsmethode bei zwei unterschiedlichen Kotalaufarbeitungsmethoden zu evaluieren. Der quantitative Nachweis mittels McMaster-Verfahren ist für betreuende TierärztInnen aufgrund der Möglichkeit posttherapeutisch rasch auf Resistenzbildung kontrollieren und reagieren zu können von besonderer Relevanz.

2 Literaturübersicht

2.1 Eimerien bei Neuweltkameliden

Eimerien sind intrazelluläre Protozoen der Gattung *Eimeria spp.*, die im Dünndarm und Dickdarm der Neuweltkameliden parasitieren. Bei Neuweltkameliden zählen *E. alpaca*, *E. ivitaensis*, *E. lamae*, *E. macusaniensis*, *E. peruviana* sowie *E. punoensis* zu den wirtsspezifischen Arten. Fünf der sechs genannten und in der Literatur beschriebenen Arten gelten als gesichert. Zur Art *E. peruviana*, die von Yakimoff (1934) bei einzelnen Lamas in Russland beschrieben wurde, liegen keine weiteren Erkenntnisse vor. Es wird in der Literatur hinterfragt, ob es sich dabei tatsächlich um eine valide Art handelt (ROHBECK, 2006; BALLWEBER, 2009). Die als gesichert geltenden Eimerienarten der Neuweltkameliden können grob in zwei Gruppen, in die großen und die kleinen Eimerien, eingeteilt werden. Zu den großen Eimerien gehören *E. ivitaensis* (88 x 52 µm) und *E. macusaniensis* (94 x 67 µm), zu den kleinen Eimerien zählen der Größe nach aufsteigend: *E. punoensis* (ca. 20 x 6 µm), *E. alpaca* (24 x 20 µm) und *E. lamae* (36 x 25 µm) (GAULY et al., 2011). Der Entwicklungszyklus der Eimerien umfasst eine endogene, im Wirtstier ablaufende Phase, sowie eine exogene Phase, die in der Außenwelt vollzogen wird.

Die Infektion eines Tieres erfolgt mit der oralen Aufnahme von infektiösen sporulierten Oozysten über das Wasser oder bei der Futteraufnahme. Oozysten behaftete Futter-, Tränkevorrichtungen, verunreinigte Einstreu sowie ein mit Oozysten behaftetes Gesäuge von laktierenden Stuten stellen weitere Infektionsquellen dar. Die Oozysten befallen Zellen des Darmepithels, wo es in Folge zur ungeschlechtlichen (Schizogonie) und geschlechtlichen (Gamogonie) Vermehrung der verschiedenen Entwicklungsstadien kommt (endogene Phase des Entwicklungszyklus). Dies führt schließlich zur Bildung von Oozysten, die mit dem Kot in die Außenwelt gelangen. In der Außenwelt kommt es zur temperaturabhängigen Sporulation der Oozysten, die vor allem durch eine feuchte Umgebung und warme Umgebungstemperaturen begünstigt wird (exogene Phase des Entwicklungszyklus). In einem feuchten Milieu können Eimerienoozysten auch über mehrere Monate hinweg infektiös bleiben und somit eine ständige Infektionsquelle darstellen (MEHLHORN und PIEKARSKI, 2002; GOTTSTEIN, 2006; FOWLER, 2010).

Meist gelangen Eimerien über den Zukauf von symptomlosen Ausscheidern in einen Tierbestand. Dabei handelt es sich oft um adulte Tiere, die keine klinischen Symptome entwickeln, aber Eimerienoozysten über den Kot ausscheiden und auf diesem Wege andere Tiere anstecken können. Eine hohe Bestandsdichte, gemeinsame Haltung unterschiedlicher Altersgruppen, unsaubere Haltungsbedingungen (Einstreu, Futter-, Tränkgefäße), Futterumstellung, Ernährungsmängel, Stresssituationen wie Transport und Teilnahme an Shows sind weitere Faktoren, die eine Infektion mit Eimerien begünstigen und akute Erkrankungen mit klinischen Symptomen auslösen können. Anders als bei anderen Tierspezies wird bei Neuweltkameliden der Ausbruch einer klinisch relevanten Eimeriose bei Tieren aller Altersstufen beobachtet (GUERRERO et al., 1967; ROSADIO und AMEGHINO, 1994; LENGHAUS et al., 2004; PALACIOS et al., 2006; CEBRA et al., 2007; JOHNSON, 2009; SCHOCK et al., 2007; ROSADIO et al., 2010; CAFRUNE et al., 2014; DUBEY, 2018). Das klinische Erscheinungsbild umfasst (blutigen) Durchfall, Dehydratation, Fressunlust, Kolik, Gewichtsverlust, Schwäche und kann zum Tod der befallenen Tiere führen.

Häufig kommt es zu Mischinfektionen mit mehreren Eimerienarten. *E. macusaniensis* wird dabei als pathogenster Vertreter unter den Eimerien der Neuweltkameliden gewertet (CEBRA et al., 2012; DUBEY, 2018), unter anderem auch dann, wenn *E. macusaniensis* in Kombination mit anderen Eimerienarten (z.B.: *E. ivitaensis*, *E. punoensis*) zu einer Infektion führen. Die Gefährlichkeit einer klinischen Erkrankung infolge einer Infektion mit Eimerien liegt aber auch darin begründet, dass schwerwiegende klinische Symptome bereits in der Präpatenzperiode auftreten können, also dann, wenn noch keine Oozysten über den Kot ausgeschieden werden. Dies soll Literaturberichten zufolge zumeist wenige Tage vor der Oozystenausscheidung erfolgen (CEBRA et al., 2007). Die Problematik bei diesen Fällen liegt darin, dass die Erkrankung ätiologisch nicht abgeklärt werden kann. Fälle über Verenden der Tiere innerhalb der Präpatenzzeit sind in der Fachliteratur beschrieben (CEBRA et al., 2007; CHIGERWE et al., 2007). Die Präpatenzzeit der verschiedenen Eimerienarten ist unterschiedlich und wird für *E. macusaniensis* mit 32 bis 58 Tagen angegeben, für *E. lamae* mit 15 bis 16 Tagen, für *E. alpaca* mit 16 bis 18 Tagen und mit 10 Tagen für *E. punoensis* (CEBRA et al., 2012). Die Abklärung der Krankheitsursache ist, wie bereits erwähnt, in diesen Fällen oftmals sehr schwierig bzw. nur am toten Tier im Rahmen einer pathohistologischen Untersuchung der Darmschleimhaut möglich. Darüber hinaus wurde für Kameliden mehrfach die Koexistenz von

Eimerien und Clostridien als prädisponierender Faktor für Enteritis mit Todesfolge beschrieben (LEGUIA, 1991; SCHOCK et al., 2007; ROSADIO et al., 2010).

2.2 Eimerien-Diagnostik bei Neuweltkameliden

Der Nachweis eines Endoparasitenbefalls bei Neuweltkameliden erfolgt bis dato mittels verschiedener koproskopischer Verfahren. Routinemäßig durchgeführte parasitologische Kotprobenuntersuchungen sind für eine Befund-basierte Erstellung bzw. Adaptierung eines adäquaten Bekämpfungs- und Managementplans für Neuweltkamelidenherden wesentlich.

Derzeit gibt es bei Neuweltkameliden zum Nachweis einer Eimerieninfektion keine etablierten Alternativen zur koproskopischen Diagnostik. Bisher wurde nur eine einzige Publikation veröffentlicht, welche die Anwendung der PCR-Technik beschreibt, um Eimerien DNA im Kot nachzuweisen (CEBRA et al., 2012). Hintergrund dieser Studie war, das diagnostische Potential der PCR-Technik im Zusammenhang mit einer Eimerieninfektion (*E. macusaniensis*) während der Präpatenzperiode bei Neuweltkameliden zu überprüfen. Die Ergebnisse zeigten, dass die PCR-Technik der bis dato routinemäßig durchgeführten Flotationstechnik überlegen war. Literaturrecherchen zufolge hat sich diese Technik bis jetzt aber nicht in der Routinediagnostik durchgesetzt.

Der Nachweis einer Eimerieninfektion erfolgt daher durch den mikroskopischen Nachweis von Eimerienoozysten. Dafür kommen in der Regel Flotationsverfahren zum Einsatz. Das Prinzip der Flotation beruht auf der Tatsache, dass Parasitenstadien in einer Kotsuspension nach Zugabe eines Flotationsmediums mit hoher spezifischer Dichte an die Oberfläche steigen. Durch Abpipettieren dieses Überstandes und anschließender mikroskopischer Untersuchung können dann Eimerienoozysten nachgewiesen werden. Als Flotationsmedien stehen verschiedene Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Dichte zur Verfügung (SCHNIEDER et al., 2006).

In der einschlägigen Neuweltkameliden-Literatur werden verschiedene Herangehensweisen bezüglich Detektion von Eimerienoozysten beschrieben. Es werden vor allem kombinierte Sedimentations- u. Flotationsverfahren sowie modifizierte McMaster-Techniken angewandt (JARVINEN, 1999; McKENNA, 2006; ROHBECK, 2006; CEBRA und STANG, 2008;

TROUT et al., 2008; CHIGERWE, 2007; JOHNSON, 2009; BALLWEBER, 2009; CAFRUNE et al., 2009; TWOMEY et al., 2010; DIAZ, 2016; DUBEY, 2018). Als Begründung, warum kombinierte Sedimentations- u. Flotationsverfahren zum Nachweis der Eimerienoozysten angewandt werden, wird oft die Größe der Oozysten von *E. macusaniensis* und *E. ivitaensis*, die ja zu den größten Eimerienarten zählen, angegeben.

Während Flotations- und Sedimentationsverfahren qualitative Untersuchungsmethoden darstellen, ist die McMaster Technik als quantitatives Verfahren zu bewerten, da dabei die Eizahl bzw. Oozystenzahl/g Kot ermittelt wird. Die Anwendung dieser Methode ist für die Abschätzung der Wirksamkeit eines Antiparasitikums oder auch für die Abklärung epidemiologischer Fragestellungen von großer Bedeutung. Auch in der Routinediagnostik ist die Bestimmung der Eizahl bzw. Oozystenzahl/g Kot wichtig für die Überwachung von einzelnen Tierherden in Bezug auf den Infektionsdruck durch unterschiedliche Parasiten, die Einleitung therapeutischer Maßnahmen und die Kontrolle eines Therapieerfolges bei Einsatz eines Antiparasitikums.

Die Heterogenität und meist knappe Beschreibung der angewandten Methoden erschweren den Vergleich der Studien. Es wird im Folgenden dennoch versucht, einen Überblick über die Eimerien-Diagnostik bei Neuweltkameliden zu geben.

Als Flotationsmedien kommen zur Detektion von Eimerienoozysten unterschiedliche Medien zum Einsatz. Die Dichte des Mediums spielt eine bedeutende Rolle in der Eimeriendiagnostik. Einzelne Studien beschreiben die Anwendung wenig gebräuchlicher Medien wie z.B. Magnesiumchloridlösung (Dichte: 1,30 g/ml), gemischte Salzlösung aus Natriumchlorid und Zinkchlorid (Dichte: 1,59 g/ml) oder Cäsiumchlorid (Dichte: 1,40 g/ml) (BALLWEBER, 2009; CAFRUNE et al., 2009; TROUT et al., 2008) zum Nachweis von Eimerienoozysten.

Vorrangig werden allerdings Zuckerlösungen mit unterschiedlichem spezifischen Gewicht (1,27-1,33 g/ml), sowie Zinksulfatlösungen mit unterschiedlichem spezifischen Gewicht (1,18-1,36 g/ml) eingesetzt (McKENNA, 2006; ROHBECK, 2006; CHIGERWE, 2007; JOHNSON, 2009; BALLWEBER, 2009; DIAZ, 2016). Cebra et al. (2007) und Twomey et al. (2010) berichten in ihren Studien auch von der Verwendung einer gesättigter Natriumchloridlösung (Dichte: 1,20 g/ml) als Medium im McMaster Verfahren. Auch Rohbeck (2006) beschreibt,

dass in ihren Studien die meisten Eimerienarten, mit Ausnahme von *E. macusaniensis*, aufgrund ihres geringen spezifischen Gewichts im Flotationsverfahren mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung nachgewiesen werden konnten. Zur Detektion von *E. macusaniensis* wird eine gesättigte Zucker- oder Salzlösung mit einer Dichte ab 1,28 g/ml (JARVINEN, 1999; McKENNA, 2006; DUBEY, 2018) empfohlen, da Flotationslösungen mit einer Dichte < 1,20 g/ml Oozysten von *E. macusaniensis* unter Umständen nicht detektieren können (JARVINEN, 1999; WHITEHEAD, 2009).

3 Material und Methoden

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurden 50 Neuweltkameliden-Kotproben quantitativ auf Eimerienoozysten untersucht. Einschlusskriterium für diese Studie war eine Mindestoozystenzahl/g Kot von 50. Die Kotproben waren direkt nach dem Kotabsatz aufgesammelt worden und wurden bis zur diagnostischen Aufarbeitung bei 4 °C gelagert. Die Lagerung erfolgte unter möglichst quantitativem Luftausschluss in Plastikbeuteln für maximal 4 Tage. Die größeren Eimerienarten *E. macusaniensis* und *E. ivitaensis* wurden einzeln erfasst. Die anderen wirtsspezifischen Eimerienarten *E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae* wurden nicht einzeln quantifiziert, sondern die Gesamtheit der Eimerienoozysten unter den Begriffen „kleine Eimerien“ bzw. „*Eimeria spp.*“ zusammengefasst.

3.1 Koproscopische Untersuchungsmethoden

3.1.1 Suspensionsmedien

Zur Aufarbeitung der homogenisierten Kamelidenkotproben mit anschließender Analyse mittels eines modifizierten McMaster Verfahrens wurden zwei unterschiedliche Suspensionsmedien verwendet. Bei dem einen handelte es sich um eine Saccharose-Lösung, wie sie auch in der Routinediagnostik Verwendung findet, mit einer Dichte bei Raumtemperatur (RT) von 1,30 g/ml (Anstaltsapotheke der Veterinärmedizinischen Universität Wien). Bei dem anderen Medium handelte es sich um eine Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung, die eigens für diese Arbeit adaptiert und auf Anweisung in der Anstaltsapotheke der Veterinärmedizinischen Universität Wien hergestellt wurde (Dichte bei RT von 1,55 g/ml).

3.1.2 Aufarbeitungsmethoden

3.1.2.1 Methode S

Für die Untersuchungen nach Methode S („sofort“) wurden die Kotproben wie unter 3.1.3. beschrieben aufbereitet und sofort auf das Vorhandensein von Eimerienoozysten untersucht.

3.1.2.2 Methode GSL

Für die Untersuchungen nach Methode GSL („gekühlt stehen lassen“) wurden die Kotproben wie unter 3.1.3. beschrieben am Vortag aufbereitet und 18 Stunden bei 4°C bis zur Weiterverarbeitung und Analyse, die analog zu Methode S erfolgte, gekühlt gelagert.

3.1.3 Modifiziertes McMaster-Verfahren

Die beiden Medien Saccharoselösung (Dichte bei RT 1,30 g/ml) und Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung (Dichte bei RT 1,55 g/ml) wurden bei dem angewandten McMaster-Verfahren parallel verwendet. Die Proben wurden mit jedem Medium nach beiden Methoden (S bzw. GSL) verarbeitet.

Der erste Schritt war für alle durchgeführten Methoden gleich: Mithilfe einer Sartorius-Waage BP 4100 wurden 16 g Kot aus dem jeweiligen Probenbeutel entnommen und anschließend in einer Reibeschale mit dem Pistill bis zur Homogenisierung vermischt.

Danach wurden jeweils 8 g der homogenisierten Kotprobe mit 60 ml Saccharoselösung und 8 g der homogenisierten Kotprobe mit 60 ml Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung in Reibeschalen mit dem Pistill bis zur Homogenisierung gemischt. Jeweils die Hälfte davon (Methode GSL) wurde in einen Messbecher überführt und bei 4 °C für 18 Stunden gekühlt aufbewahrt (Abb. 1).

Die andere Hälfte der jeweiligen Suspensionen (Methode S) wurde über ein Teesieb in einen Messbecher gegossen und sofort auf jeweils 60 ml mit dem entsprechenden Medium aufgefüllt und geschwenkt.

Im nächsten Schritt wurden mit einer Pipette jeweils 7 ml in ein Zentrifugenröhrchen gegeben und bei 690 x g für 8 Minuten mit der Heraeus Megafuge 1.0/1.0 R zentrifugiert.

Nach der Zentrifugation wurde mittels Pipette und Einwegpipettenspitzen Flüssigkeit vom oberen Rand aus dem Zentrifugenröhrchen entnommen, die beiden McMaster-Zählkammern befüllt und für 10 Minuten stehen gelassen.

Danach wurden beide Zählkammern unter dem Mikroskop (Novex Holland B-Series) bei 100facher Vergrößerung durchgemustert.

Die für Methode GSL bei 4 °C gelagerten Probenansätze wurden nach 18 Stunden nach dem oben beschriebenen Verfahren weiterverarbeitet und danach auf Eimerienoozysten untersucht.

Zur Ermittlung der Oozystenzahl pro Gramm Kot wurde die ausgezählte Anzahl Eimerien-Oozysten mit dem Faktor 50 multipliziert. Dieser ergibt sich durch den Verdünnungsfaktor der Kotprobe geteilt durch das Volumen der beiden McMaster Zählkammern.

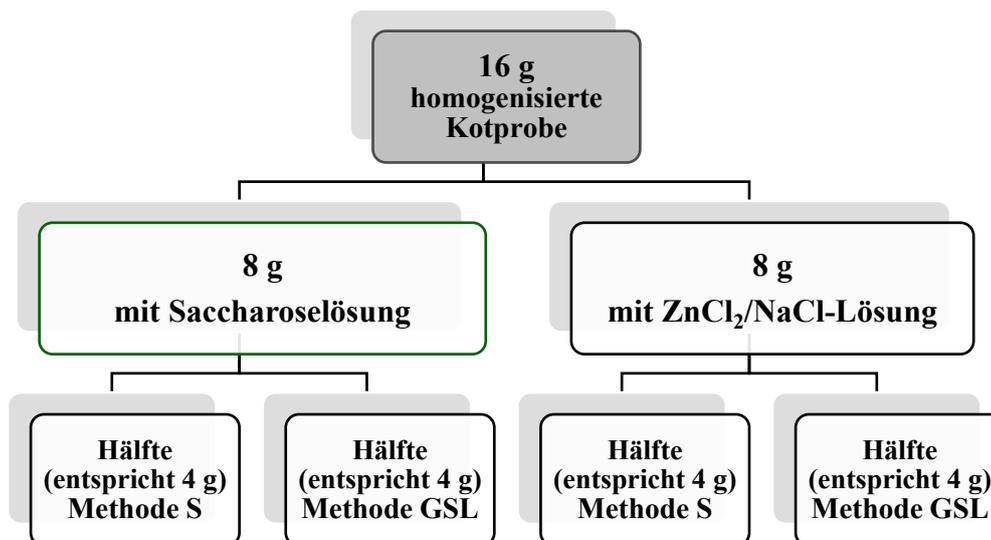


Abbildung 1: Übersichtsdarstellung der Aufteilung der homogenisierten Kotprobe hinsichtlich Verarbeitung mit unterschiedlichen Medien und Methoden (eigene Darstellung)

3.2 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software IBM SPSS (Version 24.0). Die beiden Suspensionsmedien wurden bei unterschiedlichen Aufarbeitungs- und Untersuchungsmethoden evaluiert und die erhaltenen Ergebnisse statistisch mittels Chi-Quadrat-Test für Häufigkeiten sowie Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben ausgewertet (wegen der Ordinalskalierung der Merkmale). Die entsprechenden Übereinstimmungen wurden mit Cohen's Kappa analysiert. Für alle statistischen Tests wurde der Wert für die Signifikanz auf $p < 0,05$ festgelegt.

Zur Interpretation von κ (Wert von κ - Stärke der Übereinstimmung) wurden die Richtwerte nach Altman (1991) herangezogen (siehe Tab. 1).

Tabelle 1: κ - Stärke der Übereinstimmung: Richtwerte nach Altman (1991)

κ - Wert	Übereinstimmung
< 0,20	schwach
0,21 – 0,40	leicht
0,41 – 0,60	mittelmäßig
0,61 – 0,80	gut
0,81 – 1,00	sehr gut

4 Ergebnisse

In den im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit untersuchten Neuweltkamelidenkotproben wurden sowohl „kleine“ Eimerien (*E. lamae*, *E. punoensis*, *E. alpaca*), die nicht weiter differenziert wurden und in der Ergebnisdarstellung als *Eimeria spp.* bzw. kleine Eimerien zusammengefasst wurden, als auch „große“ Eimerien - dazu zählen *E. ivitaensis* und *E. macusaniensis* – nachgewiesen.

Im Folgenden werden die Daten getrennt nach *Eimeria spp.* und *Eimeria macusaniensis* dargestellt. *Eimeria ivitaensis* wurde nicht detektiert.

4.1 *Eimeria spp.*

4.1.1 Vergleich Saccharoselösung vs. Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung

Die statistische Analyse der Daten der Methode S ergab, dass bei Vergleich der Medien Saccharoselösung (Dichte bei RT 1,30 g/ml) versus Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung (Dichte bei RT 1,55 g/ml) in Bezug auf die Anzahl an positiv auf Oozysten kleiner Eimerien getesteter Kotproben keine exakte, jedoch eine gute Übereinstimmung ($\kappa = 0,737$) gegeben war. Die weiterführende statistische Auswertung mittels Wilcoxon-Test zeigte auf, dass die Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung der Saccharoselösung bezogen auf Oozysten-Detektion kleiner Eimerien signifikant ($p < 0,001$) überlegen war (siehe Abb. 2).

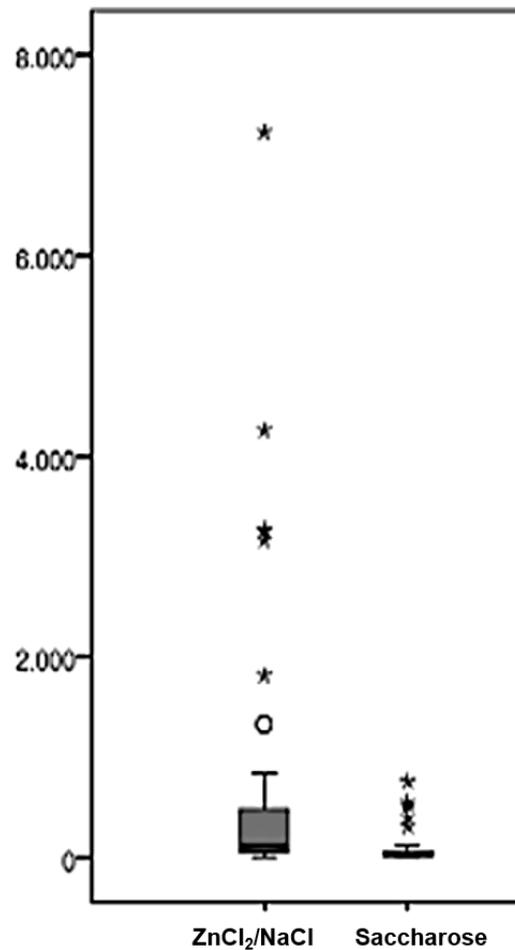


Abbildung 2: Boxplot zum Vergleich der Oozystendetektion mittels Zinkchlorid-Natriumchlorid versus Saccharose bei sofortiger Analyse der Kotproben (Methode S); box = unteres/oberes Quartil; Linie = median; o/* = Ergebnisse, die über das 1,5- bzw. 3fache des Interquartilsabstandes liegen.

Die statistische Analyse der Daten bei Aufarbeitung der Kotproben nach der GSL Methode zeigte bezogen auf Oozysten-Nachweis kleiner Eimerien, dass eine als gut zu kategorisierende Übereinstimmung der Anzahl positiver Testungen auf kleine Eimerien zwischen den Medien Saccharoselösung versus Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung gegeben war ($\kappa = 0,778$). Die weiterführende Auswertung mittels Wilcoxon-Test zeigte auf, dass auch bei der Anwendung dieser Methode, die Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung in Bezug auf Oozysten-Detektion

kleiner Eimerien der Saccharoselösung statistisch signifikant ($p < 0,001$) überlegen war (Abb. 3).

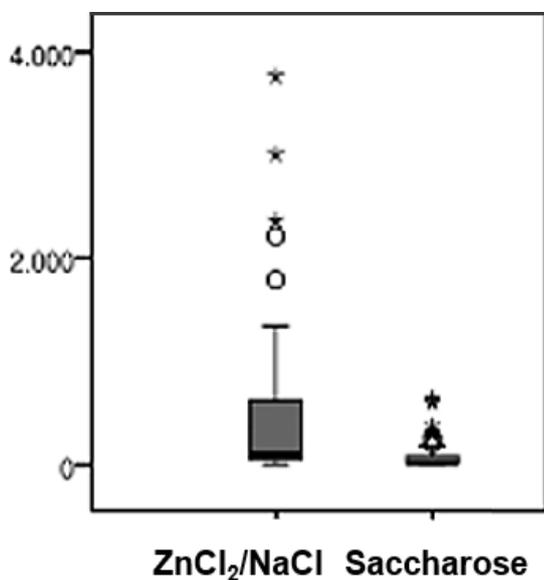


Abbildung 3: Boxplot zum Vergleich der Oozystendetektion mittels Zinkchlorid-Natriumchlorid versus Saccharose bei Anwendung der GSL Methode; box = unteres/oberes quartil; Linie = median; o/* = Ergebnisse, die über das 1,5- bzw. 3fache des Interquartilsabstandes liegen.

4.1.2 Vergleich Methode S versus Methode GSL

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde auch überprüft, ob die Aufarbeitung der Kotproben nach der GSL Methode zu einer verbesserten Oozystendetektion im Vergleich zur Aufarbeitung nach Methode S führen könnte.

Die beiden Medien Saccharoselösung (Dichte bei RT 1,30 g/ml) bzw. Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung (Dichte bei RT 1,55 g/ml) wurden hierfür einzeln analysiert.

Wie in Tab. 2 ersichtlich, zeigte sich bei Verwendung der Saccharoselösung kein signifikanter Vorteil ($p > 0,05$) der GSL Methode gegenüber der Methode S. Bei Verwendung des Zinkchlorid-Natriumchlorid Mediums konnte gleichfalls kein Vorteil der GSL Methode bezogen auf den Oozysten-Nachweis kleiner Eimerien in den Neuweltkamelidenkotproben nachgewiesen werden (Tab. 2).

Tabelle 2: Mittelwerte (\pm SD) der in 50 analysierten Kotproben detektierten Oozysten von *Eimeria* spp. bei Verwendung von Saccharoselösung (Dichte bei RT 1,30 g/ml) bzw. Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung (Dichte bei RT 1,55 g/ml) getrennt nach Methode S und Methode GSL

Medium	Methode S	Methode GSL	p-Wert
Saccharose	81 \pm 160	91 \pm 149	0,460
ZnCl ₂ /NaCl	685 \pm 1384	538 \pm 842	0,348

4.2 *Eimeria macusaniensis*

Oozysten der Eimerienart *E. macusaniensis* waren nur vereinzelt in den sonst Eimerien-positiven Proben (n = 50) nachweisbar. Die Darstellung der Ergebnisse für *E. macusaniensis* erfolgt daher deskriptiv.

40 der 50 Proben wurden negativ auf *E. macusaniensis* getestet. In zehn Proben konnten mittels Methode S unter Verwendung des Zinkchlorid-Natriumchlorid-Mediums Oozysten von *E. macusaniensis* detektiert werden, bei Verwendung der Saccharoselösung nur in zwei Proben.

Bei Anwendung der Methode GSL wurden bei Verwendung der Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung sieben Kotproben positiv auf *E. macusaniensis* getestet, bei Verwendung der Saccharoselösung nur drei Proben.

5 Diskussion

Die Haltung von Neuweltkameliden wie Alpakas und Lamas wird immer beliebter und beschränkt sich schon längst nicht mehr auf reine Hobbyhaltung. Parallel dazu steigt die Erwartungshaltung an eine fachgerechte, dem neuesten Stand der Kamelidenmedizin entsprechende Patienten- und Herdenbetreuung durch TierärztInnen in der Region.

Ziel dieser Arbeit war die Evaluierung eines bei koproscopischen Untersuchungen von Kamelidenkot international kaum genutzten und für die vorliegende Studie adaptierte Zinkchlorid/Natriumchlorid-Mediums, mit einer Dichte bei RT von 1,55 g/ml, im Vergleich zu einer Saccharose-Lösung, mit einer Dichte bei RT von 1,30 g/ml, die in der Routinediagnostik zur Detektion von Eimerienoozysten in Neuweltkamelidenkotproben weltweit Verwendung findet (ROHBECK, 2006; CHIGERWE, 2007; JOHNSON, 2009; BALLWEBER, 2009; DIAZ, 2016).

Die untersuchten Proben waren direkt nach dem Kotabsatz aufgesammelt worden. Im Rahmen dieser Studie wurde nicht darauf eingegangen, dass Eimerien nicht immer regelmäßig ausgeschieden werden, da es Ziel war, die Untersuchungsmethoden und –medien direkt miteinander zu vergleichen und nicht die tatsächliche Einzeltierausscheidung zu bestimmen. Im Praxisalltag ist jedoch bei Verdacht auf Eimerienbefall zu empfehlen, Kotproben von Einzeltieren über drei Tage zu sammeln und für die Untersuchung zu poolen.

Als Untersuchungsmethode wurde ein modifiziertes McMaster Verfahren gewählt. Diese Methode ist als quantitatives Verfahren für TierärztInnen, die Neuweltkameliden oder auch andere Herdentiere betreuen unter anderem deshalb besonders wertvoll, weil es auch bezüglich Arzneimittel-Resistenzbewertung nach erfolgter Therapie von enormem Nutzen sein kann. Prinzipiell sind quantitative Methoden hervorragend geeignet, den Erfolg von Managementmaßnahmen zu monitoren und in dieser Hinsicht qualitativen Methoden überlegen. Darüber hinaus kann die McMaster Methode für parasitologische Kotuntersuchungen ohne großen Aufwand von jeder/jedem kurativ tätigen Tierärztin/Tierarzt, bei Bedarf selbst durchgeführt werden (CEBRA und STANG, 2008).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwei Hypothesen überprüft. Erstens, dass die Wahl des Suspensionsmediums für die Detektion der Eimerienoozysten aus Neuweltkamelidenkot

eine entscheidende Rolle spielt und ein Flotationsmedium mit vergleichsweise höherer Dichte zu einer besseren quantitativen Eimerienoozysten-Detektion führen kann und zweitens, dass eine längere Verweildauer der Kotprobe in der Suspension zu einem besseren Ergebnis im Hinblick auf den Parasitennachweis führt. Der letztgenannten Hypothese liegt eine Beobachtung von Cebra und Stang (2008) zugrunde, dass es vorteilhaft sein kann, Neuweltkamelidenkot in Suspension zu bringen und vor Analyse über Nacht gekühlt zu lagern, damit Parasitenstadien besser freigesetzt werden. Es erscheint nachvollziehbar, dass es gegebenenfalls notwendig sein kann, sehr trockenen Neuweltkamelidenkot über Nacht einzuweichen, denn auch im Rahmen dieser Diplomarbeit waren starke Variationen bezüglich der Konsistenz der Kotproben feststellbar. Bei sehr trockenen Fäzes war die Homogenisierung und Aufarbeitung mit dem jeweiligen Suspensionsmedium durchaus schwieriger.

In der vorliegenden Arbeit wurde der von Cebra und Stang (2008) beschriebene Aspekt des Einweichens der Kotproben, wie bereits erwähnt, aufgenommen und die Proben unter Verwendung zweier unterschiedlicher Medien bei zwei unterschiedlichen Aufbereitungsmethoden (Methode S und Methode GSL) analysiert. Die beiden Methoden unterschieden sich nur dadurch, dass bei Methode S eine sofortige Weiterverarbeitung und Analyse, der mit dem Medium aufbereiteten Kotprobe, erfolgte und bei Methode GSL der Kotprobenansatz im Medium vor Weiterverarbeitung zur Analyse 18 Stunden gekühlt gelagert wurde.

Bei Auswertung der Daten stellte sich heraus, dass eine längere Verweildauer des Kamelidenkots in der Suspension keinen statistisch signifikanten Vorteil hinsichtlich der Verbesserung der Parasitendetektion erbrachte, ganz im Gegenteil, das Untersuchen war am nächsten Tag sogar schwieriger, da die *Eimeria spp.* teilweise ihre typische Form verloren, was die Beurteilung somit erschwerte. Dieses Problem wurde in der Publikation von Cebra und Stang (2008) für *Eimeria spp.* in ähnlicher Weise angesprochen, da sie eine schlechte Flotation in den in ihrer Studie verwendeten gesättigten Saccharoselösungen bemerkten. Sie führten dies auf die höhere Viskosität der Zuckerlösung und die dünnen Wände der kleinen Eimerien zurück. Eine weitere Anmerkung der beiden AutorInnen war, dass mehr Fremdmaterial flotierte und somit die Sicht auf die Eimerien erschwert wurde. Dies hat sich auch bei der Aufarbeitung im Zuge der vorliegenden Studie gezeigt. An dieser Stelle ist daher erwähnenswert, dass die

Suspension aus Kot und Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung aufgrund der helleren Farbe im Mikroskop leichter zu untersuchen war als die deutlich dunklere Saccharose-Kot-Suspension. Dennoch wurden bei der Analyse der mit Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung aufbereiteten Probenansätze mittels GSL Methode weniger Eimerienoozysten detektiert als bei sofortiger Analyse (Methode S). Es zeigte sich in Bezug auf die Aufarbeitungsmethode - wie im Falle der Aufbereitung mit Saccharoselösung – keine statistische Signifikanz hinsichtlich eines Vorteils einer der beiden Methoden.

Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist daher die sofortige Aufarbeitung als praxistaugliche Methode zu empfehlen, da sie zeitsparend ist und sich in der Studie eindeutig herausstellte, dass nicht der Zeitpunkt der Analyse nach Ansetzen der Kotprobensuspension ($p > 0,05$), sondern vielmehr die Wahl des Suspensionsmediums ($p < 0,001$) ausschlaggebend für eine zuverlässige Diagnose ist, sowohl was die Ausscheidung von Parasitenstadien kleiner Eimerien (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae*) als auch von *E. macusaniensis* betrifft.

Bei der Analyse der Daten nach Aufarbeitung mit Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung im Vergleich zur Aufarbeitung mit Saccharoselösung wurde die Hypothese erhärtet, dass die Dichte des Mediums beim Detektieren von Eimerienoozysten eine zentrale Rolle spielt.

An dieser Stelle ist erwähnenswert, dass bei der Verwendung von zinkhaltigen Flotationsmedien zu beachten ist, dass diese als gesonderte Abfälle gelten (SCHNIEDER et al., 2006).

Cebra und Stang (2008) berichteten, dass sie im McMaster Verfahren mit Saccharoselösung (Dichte: 1,27 g/ml) doppelt so viele Proben positiv auf *E. macusaniensis* testen konnten als mit Natriumchloridlösung (Dichte: 1,20 g/ml).

In der vorliegenden Diplomarbeit konnten bei Verwendung der speziell adaptierten Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung (Dichte: 1,55 mg/ml) fünf Mal so viele Proben positiv auf *E. macusaniensis* getestet werden als mit einer Saccharoselösung (Dichte: 1,30 g/ml).

Dieses Ergebnis zeigt die hervorragende Eignung des im Zuge dieser Arbeit speziell für die Aufarbeitung von Kamelidenkotproben adaptierten Zinkchlorid-Natriumchlorid-Mediums für den Nachweis von *E. macusaniensis*-Oozysten.

Im Rahmen der tierärztlichen Betreuung von Neuweltkamelidenherden hat sich in der Praxis herausgestellt, dass der Nachweis bereits kleiner Mengen ausgeschiedener Parasitenstadien (Eier, Oozysten) nicht für alle Parasitenarten, die Kameliden infizieren können, gleich wesentlich ist (FRANZ und DADAK, 2020). Im Falle der Eimerienart *E. macusaniensis* kann eine frühe Detektion einzelner Oozysten in Kotproben allerdings ausschlaggebend für die Aufrechterhaltung der Herdengesundheit sein, da früh therapeutisch interveniert werden kann. Dies ist besonders wichtig, da *E. macusaniensis* von allen bekannten Eimerien der Neuweltkameliden als die pathogenste Art gilt (DUBEY, 2018).

Es ist darüber hinaus besonders hervorzuheben, dass auch bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf kleine Eimerien bei Verwendung des Zinkchlorid-Natriumchlorid-Mediums eine signifikant höhere Eimeriendetektion ($p < 0,001$) im Vergleich zur Saccharoselösung erhoben werden konnte.

Dieses Ergebnis ist insbesondere interessant, weil Cebra und Stang (2008) zwar ebenfalls ein anderes Medium als die in deren Studie verwendete Saccharoselösung mit einer Dichte von 1,27 g/ml für den Nachweis kleiner Eimerien als geeigneter erachteten, es sich dabei allerdings um ein Medium mit noch weit niedrigerer Dichte, nämlich gesättigte Natriumchloridlösung (Dichte: 1,2 g/ml) handelte. Im Gegensatz dazu empfahlen Cebra und Stang (2008) eine Saccharoselösung für den Nachweis von *E. macusaniensis*,

Laut den Ergebnissen dieser Studie waren in Kotproben von Neuweltkameliden sowohl Oozysten der großen als auch der kleinen Eimerien mit einem Zinkchlorid-Natriumchlorid-Medium signifikant besser zu detektieren als mit einer Saccharoselösung ($p < 0,001$).

Als Untersuchungsmethode wurde aus den bereits weiter oben dargelegten Gründen ein modifiziertes McMaster Verfahren gewählt, das einen kurzen Zentrifugationsschritt vor Befüllung der Zählkammer beinhaltet. Dieses Verfahren war bei Verwendung jedes Mediums und jeder Methode gleich. Die McMaster Methode wird im Zuge der parasitologischen Untersuchung von Neuweltkamelidenkotproben oftmals auch ohne Zentrifugation durchgeführt (ROHBECK, 2006; CEBRA et al., 2007; TWOMEY et al., 2010), jedoch wurde bereits von Cebra und Stang (2008) beobachtet, dass Zentrifugation der Kotsuspension zu einer höheren Detektionsrate unterschiedlicher Parasitenstadien führen kann. Auch das von Cringoli

entwickelte Mini-FLOTAC-Verfahren, das ebenfalls als modifizierte McMaster-Methode anzusehen ist, beinhaltet einen Zentrifugationsschritt (CRINGOLI, 2010). Die Sensitivität und Genauigkeit dieses Verfahrens ist bei Verwendung der dafür erprobten Medien und unter exakter Einhaltung des Durchführungsprotokolls höher als bei anderen Verfahren (CRINGOLI, 2010). Es sei hier auf die derzeit bestehende Limitierung des Zuganges zu dieser Methode hingewiesen, die daher bis dato nicht als Routinemethode etabliert ist, sondern derzeit noch auf die Anwendung in verschiedenen wissenschaftlichen Studien limitiert bleibt. Die Mini-FLOTAC-Technik wird von verschiedenen Forschungsgruppen mit Schwerpunkt auf Human- und Veterinärparasitologie weiter validiert.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die Verwendung der Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung im McMaster Verfahren, welches ohne großen Aufwand auch von TierärztInnen durchgeführt werden kann, als zuverlässiges und dem Saccharosemedium überlegenes Verfahren zum Oozystennachweis von *E. macusaniensis* sowie von kleinen Eimerien (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae*) erwies.

Die Verwendung dieses speziell für die Aufarbeitung von Neuweltkamelidenkot adaptierten Zinkchlorid-Natriumchlorid-Mediums (Dichte bei RT 1,55 g/ml) kann für den Einsatz im Praxisalltag zur zuverlässigen Eimerien-Diagnostik bei Kamelidenpatienten empfohlen werden.

6 Zusammenfassung

Alpakas und Lamas werden längst nicht mehr nur als Hobbytiere gehalten. Endoparasitosen zählen bei diesen Tieren zu den häufigsten Erkrankungen, die nicht selten schwerwiegende Verläufe nehmen können. Neben gutem Herdenmanagement ist eine zuverlässige und rasche Diagnostik für TierärztInnen wesentlich und sollte bei Bedarf auch von dieser/diesem selbst und einfach durchführbar sein. Dies ermöglicht eine rasche Behandlung von Einzeltieren, aber auch das Setzen effizienter metaphylaktischer Maßnahmen im Rahmen der Herdenbetreuung. Als Standardverfahren zur Diagnose von Eimerieninfektionen gilt bei Neuweltkameliden die mikroskopische Detektion von Eimerienoozysten aus Kotproben.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein für parasitologische Untersuchungen von Kamelidenkotproben international kaum genutztes und für die vorliegende Studie adaptiertes Zinkchlorid-Natriumchlorid-Medium (Dichte bei RT von 1,55 g/ml) im Vergleich zu einer Saccharose-Lösung (Dichte bei RT von 1,30 g/ml), die in der Routinediagnostik zur Detektion von Eimerienoozysten in Neuweltkamelidenkotproben weltweit Verwendung findet, bei der für TierärztInnen einfach durchzuführenden McMaster-Untersuchungsmethode bei zwei unterschiedlichen Kotalaufarbeitungsmethoden evaluiert.

Bei Auswertung der Daten stellte sich heraus, dass eine längere Verweildauer des Kamelidenkots in der Suspension keinen statistisch signifikanten Vorteil hinsichtlich der Verbesserung der Parasitendetektion erbrachte. Anhand der Ergebnisse ist daher die sofortige Aufarbeitung als praxistaugliche Methode zu empfehlen, da sie zeitsparend ist und sich in der Studie eindeutig herausstellte, dass nicht der Zeitpunkt der Analyse nach Ansetzen der Kotprobensuspension, sondern vielmehr die Wahl des Suspensionsmediums ausschlaggebend für eine zuverlässige Diagnose ist, sowohl was die Ausscheidung von Parasitenstadien kleiner Eimerien (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae*) als auch von *E. macusaniensis* betrifft.

Die Verwendung der Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung im McMaster Verfahren zeigte sich für den Oozystennachweis von *E. macusaniensis* sowie von kleinen Eimerien als dem Saccharosemedium signifikant überlegen ($p < 0,001$). Demzufolge kann das Zinkchlorid-Natriumchlorid-Medium (Dichte bei RT 1,55 g/ml) für den Einsatz im Praxisalltag zur zuverlässigen Eimerien-Diagnostik bei Neuweltkamelidenpatienten empfohlen werden.

7 Summary

Alpacas and llamas are no longer just kept as hobby animals. Endoparasitoses are among the most common diseases, which often take a serious course. In addition to good herd management, reliable and quick diagnostics are essential for veterinarians to ensure fast treatment of individual animals but also to be able to take efficient metaphylactic measures as part of herd management. The standard method for diagnosing eimeria infections in New World camelids is the detection of eimeria oocysts from fecal samples. This should be simple to perform by the veterinarians themselves.

In the present work, a zinc chloride-sodium chloride medium (density at RT of 1.55 g/ml), rarely used internationally for parasitological studies of camelid fecal samples and adapted for the present study, was used in comparison with a sucrose solution (density at RT of 1,30 g/ml), which is used in routine diagnostics for the detection of *Eimeria* oocysts in New World camelid fecal samples worldwide, was evaluated in the McMaster examination method, which is easy to perform by veterinarians, using two different fecal processing methods.

Evaluating the data, it was found that longer retention time of camelid feces in suspension did not provide a statistically significant advantage regarding improvement of parasite detection. Based on the results, immediate and therefore timesaving processing was recommended as a practical method. The study clearly showed that the choice of suspension medium was imperative for reliable diagnosis. Both in terms of excretion of parasite stages of small eimeria (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae*) and *E. macusaniensis*.

The use of the zinc chloride-sodium chloride solution in the McMaster procedure has been shown to be superior to sucrose medium for oocyst detection of *E. macusaniensis* as well as small eimeria ($p < 0,001$). Accordingly, the zinc chloride-sodium chloride medium (density at RT 1.55 g/ml) can be recommended for use in everyday practice for reliable eimeria diagnosis in camelid patients.

8 Abkürzungsverzeichnis

E.....*Eimeria*

GSL-Methode„gekühlt stehen lassen“

NWK.....Neuweltkameliden

PCR.....Polymerase Kettenreaktion

RTRaumtemperatur

spp.....*species pluralis*

S-MethodeSofort-Methode

vs.....versus

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

9.1 Abbildungen

Abbildung 1: Übersichtsdarstellung der Aufteilung der homogenisierten Kotprobe hinsichtlich Verarbeitung mit unterschiedlichen Medien und Methoden (eigene Darstellung)	10
Abbildung 2: Boxplot zum Vergleich der Oozystendetektion mittels Zinkchlorid-Natriumchlorid versus Saccharose bei sofortiger Analyse der Kotproben (Methode S); box = unteres/oberes Quartil; Linie = median; o/* = Ergebnisse, die über das 1,5- bzw. 3fache des Interquartilsabstandes liegen.	13
Abbildung 3: Boxplot zum Vergleich der Oozystendetektion mittels Zinkchlorid-Natriumchlorid versus Saccharose bei Anwendung der GSL Methode; box = unteres/oberes quartil; Linie = median; o/* = Ergebnisse, die über das 1,5- bzw. 3fache des Interquartilsabstandes liegen.	14

9.2 Tabellen

Tabelle 1: κ - Stärke der Übereinstimmung: Richtwerte nach Altman (1991).....	11
Tabelle 2: Mittelwerte (\pm SD) der in 50 analysierten Kotproben detektierten Oozysten von <i>Eimeria spp.</i> bei Verwendung von Saccharoselösung (Dichte bei RT 1,30 g/ml) bzw. Zinkchlorid-Natriumchlorid-Lösung (Dichte bei RT 1,55 g/ml) getrennt nach Methode S und Methode GSL	15

10 Literaturverzeichnis

Altman DG. 1991. *Practical Statistics for Medical Research*. Boca Raton, Florida, USA: Chapman & Hall/CRC.

Ballweber LR. 2009. Ecto- and Endoparasites of New World Camelids. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25(2):295–310.

Cafrune MM, Marín RE, Rigalt FA, Romero SR, Aguirre DH. 2009. Prevalence of *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* in South American Camelids of Northwest Argentina. *Veterinary Parasitology*, 162(3–4):338–341.

Cafrune MM, Romero SR, Aguirre DH. 2014. Prevalence and abundance of *Eimeria* spp. infection in captive vicuñas (*Vicugna vicugna*) from the Argentinean Andean Altiplano. *Small Ruminant Research*, 120:150–154.

Cebra CK, Stang BV, Smith CC. 2012. Development of a nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Eimeria macusaniensis* in camelid feces. *American Journal of Veterinary Research*, 73(1):13–18.

Cebra CK, Stang BV. 2008. Comparison of methods to detect gastrointestinal parasites in llamas and alpacas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(5):733–741.

Cebra CK, Valentine BA, Schlipf JW, Bildfell RJ, McKenzie E, Waitt LH, Heidel JR, Cooper BJ, Löhr CV, Bird KE, Saulez MN, Firshman AM. 2007. *Eimeria macusaniensis* infection in 15 llamas and 34 alpacas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(1):94–100.

Chigerwe M, Middleton JR, Williams F 3rd, Tyler JW, Kreeger JM. 2007. Atypical coccidiosis in South American camelids. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(1):122–125.

Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J. 2010. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols*, 5(3):503–15.

- Díaz P, Panadero R, López R, Cordero A, Pérez-Creo A, López CM, Fernández G, Díez-Baños P, Morrondo P. 2016. Prevalence and risk factors associated to *Eimeria* spp. infection in unweaned alpacas (*Vicugna pacos*) from Southern Peru. *Acta Parasitologica*, 61(1):74–8.
- Dubey JP. 2018. A review of coccidiosis in South American camelids. *Parasitology Research*, 117(7):1999–2013.
- Fowler ME. 2010. *Medicine and Surgery of Camelids*. Iowa, USA: Wiley-Blackwell. S.231–269.
- Franz S, Dadak, A. 2020. Gastrointestinal Nematode and Small Liver Fluke Infections In: Evans, CN Hrsg.: *Alpaca Veterinary Field Manual*. 4th. Ed. USA.
- Gauly M, Vaughan J, Cebra C. 2011. *Neuweltkameliden. Haltung, Zucht, Erkrankungen*. 3. Aufl. Stuttgart: Enke. S.118–122.
- Gottstein B. 2006. Grundzüge der Biologie von Parasiten. In: Hiepe T, Lucius R, Gottstein B, Hrsg. *Allgemeine Parasitologie mit den Grundzügen der Immunologie, Diagnostik und Bekämpfung*. 1. Aufl. Stuttgart: Payer in MVS Medizinverlag, S.99–100.
- Guerrero, CA. 1967. *Coccidia (Protozoa: Eimeridae) of the alpaca Lamapacos*. *The Journal of Protozoology*, 14:613–616.
- Jarvinen, JA. 1999. Prevalence of *Eimeria macusaniensis* (Apicomplexa: Eimeriidae) in Midwestern Lama spp. *The Journal of Parasitology*, 85:373–376.
- Johnson AL, Stewart JE, Perkins GA. 2009. Diagnosis and treatment of *Eimeria macusaniensis* in an adult alpaca with signs of colic. *The Veterinary Journal*, 179(3):465–467.
- Leguía G. 1991. The epidemiology and economic impact of llama parasites. *Parasitology Today*, 7(2):54–56.
- Lenghaus C, O’Callaghan MG, Rogers C. 2004. Coccidiosis and sudden death in an adult alpaca (*Lama pacos*). *Australian Veterinary Journal*, 82:711–712.
- McKenna PB. 2006. *Eimeria macusaniensis* in camelids – a brief review. *Surveillance*, 33(4):8–10.

Mehlhorn H, Piekarski G, Hrsg. 2002. Grundriss der Parasitenkunde Parasiten des Menschen und der Nutztiere. 6. überarbeitete und erweiterte Aufl. Heidelberg: Spektrum, S.74–85, S.90, S.98–99.

Palacios CA, Perales RA, Chavera AE, López MT, Braga WU, Moro M. 2006. *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* co-infection infatal cases of diarrhoea in young alpacas (*Lama pacos*) in Peru. *Veterinary Record*, 158(10):344–345.

Rohbeck S. 2006. Parasitosen des Verdauungstraktes und der Atemwege bei Neuweltkameliden: Untersuchung zu ihrer Epidemiologie und Bekämpfung in einer südhessischen Herde sowie zur Biologie von *Eimeria macusaniensis*. Gießen: Justus-Liebig-Universität.

Rosadio RH, Ameghino EF. 1994. Coccidial infections in neonatal Peruvian alpacas. *Veterinary Record*, 135:459–460.

Rosadio R, Londone P, Pérez D, Castillo H, Véliz A, Llanco L, Yaya K, Maturano L. 2010. *Eimeria macusaniensis* associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. *Veterinary Parasitology*, 168:116–120.

Schnieder T, Hrsg. 2006. Veterinärmedizinische Parasitologie, 6. vollständig überarbeitete und erweiterte Aufl. Stuttgart, Thieme Verlagsgruppe, S. 87.

Schock A, Bidewell CA, Duff JP, Scholes SF, Higgins RJ. 2007. Coccidiosis in British alpacas (*Vicugna pacos*). *Veterinary Record*, 160:805–806.

Trout JM, Santín M, Fayer R. 2008. Detection of Assemblage A, *Giardia duodenalis* and *Eimeria* spp. in alpacas on two Maryland farms. *Veterinary Parasitology*, 153(3–4):203–208.

Twomey DF, Allen K, Bell S, Evans C, Thomas S. 2010. *Eimeria ivitaensis* in British alpacas. *Veterinary Record*, 167(20):797–798.

Whitehead C. 2009. Neonatal diseases in Lamas and Alpacas. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25:367–384.

Yakimoff WL. 1934. Two New Species of Coccidia: *Eimeria triffitt* n.sp. of The Eland (*Orias Canna*), and *Eimeria peruviana* n.sp. of the Llama (*Lama Glama*). *Parasitology*, 26:510–511.

11 Danksagung

Abschließend möchte ich mich herzlich bei meiner Betreuerin Frau Ass.-Profⁱⁿ DVetPharm Mag^a pharm. Drⁱⁿ rer.nat. Agnes Dadak für ihre unermüdliche Geduld, die stets bemühte Art und immer wieder aufmunternden Worte bedanken. Ebenso möchte ich mich bei Frau Ao.Univ.-Profⁱⁿ Drⁱⁿ med.vet. Sonja Franz für die Unterstützung und Bereitstellung der Räumlichkeit bedanken.

Ein Dankeschön auch an die Mitarbeiter der Wiederkäuferklinik für das Auf- und Zusperrn des „Kotkammerls“, das Nachfüllen der Materialien und die aufheiternden Worte zwischendurch.

Besonderer Dank geht an Herrn Dr. rer.nat. Alexander Tichy für die statistische Auswertung, Hilfe und ausführlichen Erklärungen.

Danke an meine Kollegin und Freundin Theresa Hösl für die lustigen Stunden im Labor, beim Sammeln der Kotproben und für's gegenseitige Aufmuntern, wenn es mal nicht so gut gelaufen ist. Wie heißt es doch so schön, „Geteiltes Leid ist halbes Leid“.

Ebenso möchte ich meiner Mutter für die Unterstützung beim Formatieren, meiner Freundin Laura Wehner für die vielseitige Hilfe, meiner Freundin Mag^a Ursula Strommer-Thier für's Korrigieren und der weltbesten Chefin Drⁱⁿ med.vet. Petra Fox-Mayr und ihrem Mann Kier Fox-Mayr fürs Korrekturlesen der englischen Zusammenfassung danken.

Ein großes Danke auch an meine Familie, meinen Freund und all jene, die mich in den letzten Jahren während meines Studiums unterstützt und mir das Studium ermöglicht haben.

Die Arbeit widme ich meinem Opa, der so gerne meinen Abschluss miterlebt hätte.