

Aus dem Department für Pathobiologie
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie
(Leiterin: Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim)

Vorkommen von Leberegeln und Lungenwürmern bei gealpten Rindern aus Tirol

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Helena Theresa Hochreiter

Wien, im Juni 2023

Betreuerin: Dipl.EVPC Drⁱⁿ med.vet. Barbara Hinney

Institut für Parasitologie

Department für Pathobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachter: Ao.Univ.-Prof. Dipl.ECVPH Dr.med.vet. Peter Paulsen

Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

Department/Universitätsklinik für Nutztiere und öffentliches

Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin

Veterinärmedizinische Universität Wien

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	6
2.	LITERATURÜBERSICHT	7
2.1.	<i>DICTYOCAULUS VIVIPARUS</i>	7
2.1.1.	Systematik und Morphologie	7
2.1.2.	Lebenszyklus.....	7
2.1.3.	Vorkommen und Verbreitung	9
2.1.4.	Ökonomische Bedeutung	10
2.1.5.	Pathologische Veränderungen und Klinik	11
2.2.	<i>FASCIOLA HEPATICA</i>	13
2.2.1.	Systematik und Morphologie	13
2.2.2.	Lebenszyklus.....	13
2.2.3.	Vorkommen und Verbreitung	16
2.2.4.	Ökonomische Bedeutung	17
2.2.5.	Pathologische Veränderungen und Klinik	17
2.3.	DIAGNOSTIK	20
2.3.1.	Koproskopische Verfahren	20
2.3.2.	Antikörper-ELISA aus der Milch	20
3.	EIGENE ARBEIT	22
3.1.	MATERIAL UND METHODEN	22
3.1.1.	Proben aus Tirol	22
3.1.2.	Auswanderverfahren	22
3.1.3.	Sedimentation	23
4.	ERGEBNISSE.....	24
4.1.	ERGEBNISSE <i>DICTYOCAULUS VIVIPARUS</i>	24
4.2.	ERGEBNISSE <i>FASCIOLA HEPATICA</i>	25
5.	DISKUSSION	30

6.	ZUSAMMENFASSUNG	32
7.	SUMMARY	33
8.	LITERATURVERZEICHNIS	34
9.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	38
10.	ANHANG	39

Danksagung

Zu Beginn möchte ich meiner Betreuerin Dr.med.vet. Dipl. EVPC Barbara Hinney danken, die mich sowohl bei meiner Arbeit im Labor als auch beim Verfassen dieser Diplomarbeit stets unterstützt hat.

Weiters spreche ich meinen zwei Mitstreiterinnen im Labor, Julia Rumpl und Julia Heidenreich, einen großen Dank aus. Besonders meine Freundin Frau Heidenreich hat mich auch beim Schreiben dieser Arbeit immer motiviert und das Zusammenarbeiten hat die vielen Stunden vor dem Schreibtisch erleichtert.

Letztendlich bin ich meinem Freund Manuel und meinen Eltern besonders dankbar, die mich in diesem Studium stets gefördert und unterstützt haben.

1. Einleitung und Fragestellung

Die Haltung von Rindern auf Almweiden geht häufig mit einem Parasitenbefall einher. *Dictyocaulus viviparus*, der Große Lungenwurm, ist ein rinderspezifischer Parasit und parasitiert vor allem in den großen Bronchien und der Trachea der Tiere. *Fasciola hepatica*, der Große Leberegel, befällt die Leber und Gallengänge von Wildwiederkäuern, Wiederkäuern, anderen Tierarten und auch von Menschen. Bei diesem ist wichtig hervorzuheben, dass sein Entwicklungszyklus aufgrund seines Zwischenwirtes, einer Süßwasserschnecke, streng an Wasser gebunden ist (1,2).

Beide Parasiten kommen vor allem in der gemäßigten Klimazone und bei Tieren in Weidehaltung vor. In Österreich spielen sie somit eine große Rolle, da vor allem im alpinen Raum Rinder auf der Weide gehalten werden. Sie verbringen die gesamten Sommermonate auf der Alm, was ein großes Infektionsrisiko für die Tiere darstellt (1,3,4).

F. hepatica ist außerdem aufgrund seines zoonotischen Potentials von Bedeutung und beide Parasiten bringen große ökonomische Verluste mit sich. Sie beeinflussen Leistungsparameter wie Milchleistung und Körpergewicht der Tiere und sollten daher überwacht und kontrolliert werden (5–7).

Im Rahmen dieser Studie wurden mehrere Betriebe mit Tieren auf Tiroler Almen jeweils im Herbst 2020 sowie Frühling, Sommer und Herbst 2021 koproskopisch untersucht, um somit die Prävalenz von Lungenwürmern und Leberegeln auf Tiroler Almen festzustellen. Ziel war es außerdem, die Dynamik dieser Parasiten während der Weidesaison zu untersuchen. Als Hypothese wurde angenommen, dass der Befall bei Jungtieren höher ist als bei älteren Tieren, die schon öfter gealpt wurden. Außerdem wurde vermutet, dass die Prävalenz zu Ende der Weidesaison höher ist als zu Beginn. Eine weitere Hypothese war, dass *D. viviparus* vor allem im Spätsommer und lediglich bei Jungtieren nachzuweisen ist.

2. Literaturübersicht

2.1. *Dictyocaulus viviparus*

2.1.1. Systematik und Morphologie

Dictyocaulus viviparus (*Diktyon* (gr.): Netz; *kaulos* (gr.): Stiel; *viviparus* (lat.): lebendgebärend), Erreger der Dictyocaulose, wird auch Großer Lungenwurm des Rindes genannt. Dieser ist aufgrund der hohen wirtschaftlichen Verluste von besonderer Bedeutung (1).

Stamm: Nematoda

Klasse: Secernentea

Ordnung: Strongylida

Familie: Dictyocaulidae

Gattung: *Dictyocaulus*

Art: *Dictyocaulus viviparus*

Die homoxenen, rinderspezifischen Nematoden stellen sich makroskopisch als dünne, weiße, fadenähnliche Würmer dar. Bei *D. viviparus* werden die Weibchen 35–43 mm lang und die Männchen 50–70 mm. Sie besitzen eine kleine Mundkapsel, die deutlich breiter als lang ist, mit einem Ring, der das Licht stark bricht. Typisch für die Männchen ist eine rundlich bis herzförmige Bursa copulatrix ohne Trennung der Bursalappen, zwei kurze Spicula und ein Gubernaculum. Die Vulva der Weibchen befindet sich im mittleren Drittel des Körpers. Die L1-Larve, die sich in den dünnschaligen Eiern befindet, ist bei Abmessung im Schnitt 316–367 µm lang mit einem zugespitzten Schwanzende (1).

2.1.2. Lebenszyklus

Der Große Lungenwurm zeichnet sich durch einen direkten Entwicklungszyklus aus. Die adulten Würmer befinden sich in den großen Bronchien und der Trachea. Dort findet die Eiablage durch die Weibchen statt. Unter der dünnen Schale der Eier befindet sich bereits die L1-Larve, die mit Reservestoffen in Granula ausgestattet ist. Diese sind essenziell für ihre weitere Entwicklung. Die Eier oder auch bereits geschlüpfte L1-Larven werden über das Flimmerepithel in Larynx und Pharynx transportiert und abgeschluckt. Teilweise gelangen die Larven auch durch Aushusten des Wirtes in die Umwelt. Der Großteil durchwandert allerdings den Magen-Darm-Trakt und wird über den Kot ausgeschieden. Ab Temperaturen von über

16 °C findet die Weiterentwicklung innerhalb von sieben Tagen zur infektiösen und doppelt bescheideten L3-Larve statt (1).

Durch Regen oder andere mechanische Verbreitung der Exkremente, zum Beispiel durch das Wandern der Tiere auf der Weide, werden die Larven auf der Weidefläche verteilt. Auch der passive Transport durch Insekten ist möglich. Eine besondere Rolle spielen die Pilze der Gattung *Pilobolus*, die aus der Kotoberfläche wachsen und die Larven durch ihre Sporen verteilen (10).

L3-Larven findet man knapp über dem Boden an Pflanzen, da sie im Feuchtfilm aktiv hinaufwandern. So werden sie von den Rindern mit der Nahrung aufgenommen. Vorwiegend im Dünndarm schlüpfen die L3-Larven aus ihrer Scheide und durchdringen die Darmwand des Wirtes. Über die Lymphbahnen gelangen sie in die Mesenteriallymphknoten, wo sie sich 3–8 Tage *post infectionem* zur L4-Larve häuten. Zunächst lymphogen, über den Ductus thoracicus, und im Anschluss hämatogen, über die Vena cava caudalis, gelangen die Larven zuerst ins rechte Herz und letztendlich zur Lunge. Die meisten erreichen das Zielorgan zwei Wochen nach Infektion, wenige schon nach einer Woche. Im Kapillarnetz durchdringen sie die Alveolarwände und gelangen so in die Bronchioli, wo sie sich zum Stadium fünf, dem präadulten Stadium, häuten. Die Geschlechtsreife erlangen sie nach Erreichen der großen Bronchien und der Trachea (1).

Die Dictyocaulose ist eine typische Weideinfektion. Die Kontamination der Weide geschieht vor allem durch junge Tiere, die sich im Vorjahr infiziert haben und nicht anthelminthisch behandelt wurden. Die L5-Larve, das hypobiotische Stadium, überlebt so den Winter im Tier. Diese Rinder werden zu inapparenten Parasitenträgern. Im Frühjahr nach dem Weideaustrieb werden die adulten Stadien von *D. viviparus* geschlechtsreif und die Rinder scheiden mit dem Kot Larven aus. So wird die Weide kontaminiert. Dies erklärt die Persistenz der Erkrankung über den Winter (11).

Wildwiederkäuer spielen bei der Weidekontamination aufgrund der Wirtsspezifität der Lungenwurmart keine Rolle. In der Umwelt außerhalb des Wirtes können die Larven nur bei mildem und feuchtem Klima den Winter auf der Weide überleben. Bei Trockenheit sterben sie hingegen nach kurzer Zeit ab. Daher spielt dieser Weg der Kontamination bei Lungenwürmern eine untergeordnete Rolle (1,12).

Bis zum Auftreten von klinischen Symptomen kommt es zur Vermehrung der Larvenpopulation auf der Weide durch mehrere Parasitengenerationen (13).

Im Frühjahr kontaminieren die inapparenten Träger erstmals die Weide und durch die ausgeschiedenen Larven werden vor allem hochempfindliche Jungtiere in ihrer ersten Weideperiode infiziert. Diese können sich bereits mit 220–380 Larven infizieren und nach 30 Tagen Patenzphase bereits 1,5 Millionen Larven ausscheiden. Hier kommt es dann auch zur sogenannten Superinfektion von bereits infizierten Rindern. Ab der 3. und 4. Parasitengeneration ist die Kontamination der Weide bereits so massiv, dass klinische Symptome auftreten. Dies erklärt das plötzliche Auftreten von schweren Lungenerkrankungen von Juli bis September und auch bis in den Spätherbst hinein, da leichte Symptome meist übersehen werden. Besondere Bedeutung hat die Bewirtschaftung der Weiden, denn bei extensiver Weidehaltung erkranken die Tiere seltener, da weniger Infektionsdruck auf den Weiden herrscht. Schlimme Erkrankungen gibt es wiederum, wenn Kälber und Jungtiere auf stark infizierten Weiden gehalten werden (1).

D. viviparus zeichnet sich durch eine Präpatenz von 7–25 Tagen aus, welche durch eine Phase der Hypobiose im Winter unterbrochen sein kann. Die kurze Patenz von ein bis zwei Monaten erklärt sich durch die schnell einsetzende Immunität bei den Wirtstieren (14).

Rinder bilden nach einer Erstinfektion bereits bei geringer Anzahl an L3-Larven eine gute Immunität aus, die bereits nach 1–2 Monaten erreicht ist und zu einer partiellen oder totalen Elimination des Parasitenbefalls führt. Bereits geringe Dosen von 30 infektiösen Larven führen zu einer geringen Immunität, die nach einer zweiten Infektion zu geringeren Wurmbürden, Wurmlängen, einer verminderten Fertilität und Eiausscheidung der Würmer, sowie einer geringeren Eiausscheidung im Kot führt. In Endemiegebieten zeigen somit vor allem Jungtiere, die zum ersten Mal auf die Weide ausgetrieben werden, klinische Symptome (15).

Die Dauer der natürlichen, erworbenen Immunität beträgt 4–6 Monate und verschwindet nach einem Jahr, wenn es nicht zu einer erneuten Infektion kommt. Bedeutsam für die Immunität sind vor allem IgE-Antikörper und eosinophile Granulozyten, die maßgeblich an der Abtötung der Parasiten beteiligt sind. Antikörper können bereits 3–4 Wochen *post infectionem* im Serum, in der Milch oder der Bronchialflüssigkeit nachgewiesen werden. Typisch ist auch ein Anstieg des Antikörpertiters der betroffenen Tiere von Juni bis in den Spätherbst (13,16).

2.1.3. Vorkommen und Verbreitung

Der Rinderlungenwurm tritt vor allem in der gemäßigten Klimazone weltweit auf und betrifft in erster Linie Rinder in Weidehaltung. Vorrangig in feuchten, niedrigen Regionen gibt es deutliche Probleme mit der Erkrankung. Tiere in Stallhaltung infizieren sich seltener, zum

Beispiel durch die Fütterung mit frisch geschnittenem Gras und meist ist die Erkrankung hier klinisch irrelevant (1,3).

Die Impfung aus den 1950er-Jahren und auch neue Medikamente für die anthelminthische Behandlung, die in den 1970er- und 1980er-Jahren auf den Markt gekommen sind, führten zu einer deutlichen Reduktion der Ausbrüche von Dictyocaulose. Jedoch spielt der Parasit in den letzten 30 Jahren erneut eine große Rolle in Rinderherden, da es einen deutlichen Anstieg an schweren Erkrankungen gibt und damit einhergehend auch erhebliche wirtschaftliche Verluste (3).

2.1.4. Ökonomische Bedeutung

Die ökonomischen Verluste durch Dictyocaulose werden meist deutlich unterschätzt und sind teils aufgrund der multiplen beeinflussenden Faktoren schwierig einzuschätzen. Eine Studie aus den Niederlanden aus den 2000er-Jahren zeigte einen durchschnittlichen Verlust zwischen 160 und 170 \$ pro Tier bei schweren Krankheitsverläufen. Die Milchleistung der Tiere sank im Schnitt um 15–20 % während des Ausbruches. Viele andere Faktoren spielten ebenfalls eine große Rolle. Verminderte Fertilität, Gewichtsverlust, eine höhere Anzahl an Todesfällen und tierärztliche Kosten für Diagnostik und Therapie führten zu ökonomischen Verlusten. Auch chronische Schäden an der Lunge bewirkten eine verminderte respiratorische Funktion und somit Leistungseinbußen der Tiere. Im Vergleich zu anderen Parasiteninfektionen der Rinder, ist die Dictyocaulose eine der ökonomisch bedeutsamsten (7).

Ebenfalls wichtig zu vermerken ist, dass der größte ökonomische Verlust durch die verminderte Milchleistung der Tiere entsteht und dieser Effekt auch ohne klinische Symptome wie Husten auftreten kann. Man sieht dabei keine Veränderungen an Milchprotein oder Milchfettgehalt, nur an der totalen täglichen Milchleistung (17).

Eine weitere Studie aus den Niederlanden aus dem Jahr 1989 beschäftigte sich vor allem mit dem Einfluss der Parasiten auf den Metabolismus der betroffenen Kälber. Die Kontrollgruppe nahm durchschnittlich um 80 g per Tag mehr an Körpergewicht zu als infizierte Kälber. Dies führte zu einem vermehrten Futterbedarf von ca. 14 kg Konzentrat pro Kalb über den Sommer. Weiters müssen Todesfälle und dauerhafte Schäden an den Tieren bedacht werden, die im weiteren Verlauf ihres Lebens auftreten können und zu Leistungseinbußen führen (18).

2.1.5. Pathologische Veränderungen und Klinik

Die Präpatenz bei der Dictyocaulose dauert in der Regel bis zu 25 Tage, wobei schon ab dem 14. Tag Husten und eine erhöhte Atemfrequenz der betroffenen Tiere auftreten können. Dies wird verursacht durch eine Obstruktion der Bronchien mit Mucus und zellulären Infiltraten mit neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie Makrophagen und führt im weiteren Verlauf auch zum Kollaps von Alveolen. Typischerweise sind hier die ventrokaudalen Lungenlappen betroffen. Weiters kann es zu pulmonalen Ödemen und interstitiellen und subkutanen Emphysemen kommen. Todesfälle treten in dieser Phase vor allem durch die sekundären Veränderungen der Lunge auf (14,19).

In der Phase der Patenz, die bis zum Tag 55 *post infectionem* verläuft, kommt es zu einer fortschreitenden Bronchopneumonie und der Körper der Tiere beginnt mit dem Ausbilden einer Immunität. Betroffene Rinder sind zum Teil abgemagert, haben eine verminderte Futter- und Wasseraufnahme, Fieber, Nasenausfluss und deutliche Symptome einer Dyspnoe, die sich in schlimmen Fällen in einer sägebockartigen Stellung der Tiere zeigt. Todesfälle in dieser Phase der Infektion sind deutlich häufiger. Im Kot der Tiere sind nun die Eier nachzuweisen und in der Lunge findet man massiv adulte Würmer sowie Larven. Zusätzlich zur vermehrten Schleimbildung werden Zellen des Flimmerepithels zerstört. Somit ist der Reinigungsprozess der Atemwege beeinträchtigt. Es kommt zur Hyperplasie und Zerstörung der Epithelzellen in den Alveolen. Diese werden durch kubische Typ-2-Pneumozyten ersetzt. Dadurch ist der Sauerstofftransport ins Blut gestört. Ein weiteres Problem stellen Sekundärinfektionen durch die Aktivierung von Bakterien wie Pasteurellen und Mykoplasmen dar, die die klinische Symptomatik weiter verschlechtern und zu einer katarrhalisch eitrigen Bronchopneumonie führen. Zu diesem Zeitpunkt stellt sich die Lunge makroskopisch marmoriert dar, da nicht betroffene, atelektatische und entzündlich veränderte Areale dicht nebeneinander liegen. Eine typisch rote Konsolidierung sieht man meist symmetrisch in den kaudoventralen Lungenlappen. Bei weiteren Untersuchungen zeigt sich außerdem eine verminderte Milchleistung und eine Eosinophilie im Blutbild (14,20).

Die Postpatenz dauert bis zum 90. Tag *post infectionem*. In dieser Phase haben die Rinder eine Immunität ausgebildet und es kommt zur Elimination der Lungenwürmer. Die Lunge kann sich nun regenerieren und fibrosieren. Klinische Symptome können vor allem bei starkem Befall länger anhalten, da die Regeneration hier einige Wochen dauern kann und vor allem stark infizierte Tiere auch chronische Atemwegsprobleme entwickeln können. Dies erklärt sich

vor allem durch den hohen Ersatz der Epithelzellen durch Typ-2-Pneumozyten. Besonders diese Rinder haben eine hohe Prädisposition für andere Lungenerkrankungen (14).

Das sogenannte Reinfektionssyndrom ist ein akutes respiratorisches Problem. Bei einem hohen Infektionsdruck durch große Mengen an Lungenwurmlarven auf der Weide gelangen auch bei immunen Tieren Larven in die Lunge. Diese werden dort vom Immunsystem bekämpft und die Tiere weisen klinische Symptome auf. Das klinische Bild entsteht vor allem durch die Immunreaktion der Rinder. Es kommt zu einer lymphoretikulären Proliferation um die toten Larven, bei der ca. 5 mm große Knötchen im Parenchym der Lunge gebildet werden. Außerdem kommt es zu einer massiven Einwanderung von eosinophilen Granulozyten. Die Tiere zeigen vermehrt Husten und eine erhöhte Atemfrequenz, was häufig nach wenigen Tagen wieder verschwindet. In seltenen Fällen wird auch ihre Milchleistung reduziert (1,14).

2.2. *Fasciola hepatica*

2.2.1. Systematik und Morphologie

Fasciola hepatica („*Fasciola*“ (lat.): Band, kleine Binde; „*hepar*“ (gr.): Leber), auch Großer Leberegel genannt, ist neben *Fasciola gigantica*, dem Riesenleberegel, der wichtigste Vertreter der Familie der Fasciolidae und außerdem der wichtigste Leberparasit bei Wiederkäuern in Mitteleuropa. Des Weiteren gehört er zu einem der bedeutsamsten Parasiten, da er vor allem bei starkem Befall zu hohen wirtschaftlichen Verlusten führen kann. Sein Name wird mit dem typischen blattförmigen Körper der Klasse der Digenea, sowie mit dem Zielorgan des Parasiten assoziiert (1).

Stamm: Platyhelmintha

Klasse: Digenea

Ordnung: Echinostomida

Familie: Fasciolidae

Gattung: *Fasciola*

Art: *Fasciola hepatica*

Im adulten Stadium werden die Leberegel 18–50 mm lang und 7–14 mm breit. Das konische Vorderende wird auch als Apikalkonus oder Kopfzapfen bezeichnet. Danach haben sie eine schulterähnliche Verbreiterung und der Körper verjüngt sich bis zum kaudalen Ende. Sie besitzen einen Mundsaugnapf apikal und einen Bauchsaugnapf an der Basis des Apikalkonus. Typisch ist außerdem eine starke Verzweigung der inneren Organe des zwitterigen Parasiten. Der Uterus mit den ovalen, dünnschaligen und goldgelben ca. 140 x 80 µm großen Eiern mit Operculum befindet sich im ersten Drittel des Parasiten (1).

2.2.2. Lebenszyklus

Die Entwicklung von *F. hepatica* ist heteroxen und der gesamte Lebenszyklus wurde bereits 1883 von Thomas beschrieben. Wichtig hervorzuheben ist, dass die Entwicklung aufgrund des Zwischenwirtes streng an Wasser gebunden ist. Das Vorkommen von Gewässern oder Feuchtbiotopen korreliert auch mit der Häufigkeit des Auftretens und der Anzahl an Parasiten (2).

Die adulten, geschlechtsreifen Leberegel parasitieren in den Gallengängen ihrer Endwirte. Zu diesen zählen alle Wildwiederkäuer und Wiederkäuer wie Rind, Schaf und Ziege, aber auch andere Tierarten wie Pferd, Schwein, Büffel, Nager und andere Herbivore sowie der Mensch. Bis zu 50.000 Eier und mehr können je Egel in die Galle abgegeben werden und gelangen so über den Darm und Kot in die Außenwelt (1).

Das feuchte Milieu bildet die ideale Umgebung zur Weiterentwicklung zur ersten freien, schwimmenden Larve, dem Miracidium. Je höher die Temperatur, desto schneller läuft dieser Zyklus ab. In der Außenwelt liegt die Mindesttemperatur für das Schlüpfen der Larve bei 10 °C, die Optimaltemperatur bei 25 °C. Im Sommer dauert es daher nur 2–4 Wochen und somit erklärt sich auch die vermehrte Belastung durch den Parasiten während der warmen Sommermonate und im Herbst. Bei kühleren Temperaturen kann die Entwicklung bis zu 2–3 Monate dauern und kommt bei unter 10 °C zum Stillstand. Die Eier bleiben allerdings mehr als zwei Jahre entwicklungsfähig. Auch in feuchtem Kot der Rinder können sich die Eier partiell entwickeln und schlüpfen, nachdem sie komplett von Wasser umgeben sind. Im Gegensatz dazu ist Austrocknung oder sind Temperaturen unter - 5 °C letal (2,21).

Im Wasser findet die Larve den Zwischenwirt, indem sie sich am Licht orientiert. Bei *F. hepatica* ist dieser die Süßwasserschnecke der Spezies *Galba (Syn.Lymnaea) truncatula*. Die in Europa stark verbreitete, zu den Lungenschnecken (*lat. Pulmonata*) gehörende Süßwasserschnecke besitzt ein 7–12 mm hohes, kegelförmiges und rechtsgewundenes Gehäuse mit Nabel. Sie kommt sowohl in tiefliegenden Regionen als auch in Berggebieten bis zu 4100 m vor. Die Verbreitung der Schnecke in neue Regionen erfolgt in erster Linie in Fließgewässern, durch Regen und Überschwemmung, aber auch zum Beispiel durch das Umsiedeln von Fischen. So können neue endemische Gebiete des Parasiten entstehen. Die Schnecken befinden sich meist am Ufer knapp unter dem Wasserspiegel. Der Zwischenwirt wird durch Anheftung und Penetration der Epidermis unter Einwirkung von proteolytischen Enzymen infiziert. In der Süßwasserschnecke verliert der Parasit seine Zilien und wird so zu einer jungen Sporocyste mit vielen Keimzellen mit bis zu 500 µm. Nach Einwanderung in die Verdauungsdrüsen des Zwischenwirtes entwickeln sich daraus zahlreiche Redien. Diese Mutterredien, auch Generation I genannt, besitzen 16–28 Keimballen, aus welchen wiederum weitere Redien (Generation II und III) entstehen können. Außerdem können durch eine Geburtsöffnung dann Cercarien freigesetzt werden. Aus dem Zwischenwirt werden nun diese frühestens sieben Wochen *post infectionem* über mehrere Wochen in die Umwelt abgegeben. Hier zeigt sich erneut das erhebliche Reproduktionsvermögen dieses Parasiten, da aus einem Miracidium

mehrere 100 Cercarien entstehen können. Zu diesem Zeitpunkt sind die Parasiten freischwimmend und heften sich nach wenigen Minuten mit Hilfe ihres Bauchsaugnapfes an Pflanzen. Sie verlieren ihren Schwanz und formen eine mehrschichtige Zystenwand. Mit einer Größe von 250 µm findet die Encystierung zur Metacercarie statt. Die Metacercarie ist das infektiöse Stadium für den Endwirt. Bei einem sehr kleinen Anteil der Metacercarien findet dieser Vorgang freischwimmend statt (1,22).

In Mitteleuropa kommen vor allem zwei Zyklen bei der Entwicklung im Zwischenwirt vor. Im 1-Jahres-Zyklus werden die Schnecken im Frühsommer mit Miracidien infiziert und können somit nach 5–8 Wochen vom Endwirt aufgenommen werden. Dementsprechend stellt die Infektion im Spätsommer und Herbst das größte Risiko für die Tiere dar. Weiters gibt es den 2-Jahres-Zyklus, bei dem die Schnecke am Ende der Weideperiode im Herbst infiziert wird und dann die Entwicklung in der Schnecke über den Winter pausiert. Somit werden die Tiere dann zu Beginn der Weideperiode im Frühsommer infiziert (1).

Die Infektion der Endwirte mit Metacercarien erfolgt durch die orale Aufnahme von Pflanzenteilen und seltener auch durch Trinkwasser. Durch die veränderten Bedingungen im Magen-Darm-Trakt, wie Temperatur, CO₂-Gehalt und Gallenflüssigkeit werden die Metacercarien aktiviert und schlüpfen aus der inneren Zystenwand. Knapp distal der Einmündung des Ductus choledochus heften sich die Egel an die Dünndarmwand und durchdringen diese bis zur Peritonealhöhle. Die Wanderung bis zur Leber dauert in der Regel 4–6 Tage. Die juvenilen Leberegel wandern nun für bis zu sechs Wochen durch das Leberparenchym bis sie schließlich die Gallengänge erreichen, wo sie geschlechtsreif werden. Die Ausscheidung von Eiern mit dem Kot geschieht frühestens 2–3 Monate nach der Infektion und erklärt somit auch die lange Präpatenz bei Rindern von 56–77 Tagen. Durch das Einbrechen in Blutgefäße können die Parasiten auch andere Organe wie die Lunge befallen und auch die seltene pränatale Infektion kann dadurch erklärt werden. Rinder schaffen meist nach neun Monaten eine Elimination der Parasiten und scheiden somit keine Eier mehr aus. Im Gegensatz dazu ist das Schaf zu nennen, welches sich durch eine hohe Eiausscheidung und eine bis zu mehrere Jahren andauernde Infektion auszeichnet (1).

Die natürliche Resistenz gegen *F. hepatica* ist je nach Tierart unterschiedlich. Schaf und Ziege weisen nur eine geringe Resistenz auf. Daher ist hier mit schweren Erkrankungen und Todesfällen zu rechnen. Die Tiere können bis zu elf Jahre infiziert bleiben und bilden auch bei einer Neuinfektion keine deutliche Immunität aus. Im Vergleich dazu ist die Resistenz bei Rindern und auch dem Menschen mittelgradig. Hoch ist sie bei Schwein, Hund und Katze.

Außerdem steigt die natürliche Resistenz mit dem Alter. Das heißt, Jungtiere sind deutlich anfälliger für die klinische Symptomatik. Rinder erreichen nach einer Erstinfektion eine erhöhte Widerstandsfähigkeit von 60–84 % gegen eine Reinfektion. Die Lebenspanne des Parasiten sinkt dabei signifikant bei hohen Mengen an infektiösen Metacercarien und adulten Egel. Außerdem steigt die Eliminationsgeschwindigkeit mit der Anzahl an Reinfektionen. Somit kann es bei einer geringen Leberegelzahl auch zu jahrelangen Infektionen kommen. Die Tiere eliminieren innerhalb von 26 Monaten die Infektion, aber bereits bis zum 21. Monat sinkt die Anzahl der Leberegel um 75 %. Allerdings ist diese Immunbildung in Endemiegebieten weniger stark ausgeprägt und führt somit trotzdem zu Neuinfektionen. Auch chronische Krankheitsbilder sind durch eine deutliche Aktivität von TH2-Zellen und Hemmung der TH1-Zellen möglich. Immunevasion durch Anpassung der Antigene der Parasiten und Sekretion von immunmodulatorischen Molekülen durch die Leberegel ist ebenfalls häufig (1,23,24).

2.2.3. Vorkommen und Verbreitung

F. hepatica tritt weltweit vor allem in der gemäßigten Klimazone auf. Typisch für das Vorkommen der Erkrankung sind besonders deutliche regionale Unterschiede, da die Entwicklung des Parasiten streng an Wasser gebunden ist. Zu den wichtigsten Parametern zählen hier Regenfall und Temperatur (4).

Ergebnisse von Schlachtkörperuntersuchungen sind ebenfalls besonders wichtig, um prognostische Aussagen treffen zu können. Anhand dieser Daten und Daten von Wetterstationen können auch mittels computergestützter Systeme im August bereits Vorhersagen über die Prävalenz der Erkrankung im kommenden Jahr getroffen werden, um so strategisch im September mit Anthelminthika behandeln zu können (25).

Im Zuge des EU-Projekts GLOWORM wurden Tankmilchproben von 3359 zufällig ausgewählte Rinderbetrieben aus Belgien, Deutschland, Irland, Polen und Schweden mittels ELISA auf Leberegel untersucht. Hierbei stellten sich 571 von insgesamt 849 Gemeinden als positiv dar. Unter der Berücksichtigung von Wetterdaten konnten Vorhersagen über die räumliche Verbreitung und das Risiko einer Exposition in Europa getroffen werden (26).

Untersuchungen in Österreich zeigen deutlich hohe Herdenprävalenzen. In einer Studie aus Kärnten wurden 595 laktierende Kühe von 31 Betrieben mittels Tankmilchuntersuchung auf Leberegel untersucht und eine Herdenprävalenz von 96 % festgestellt. Weitere Untersuchungen in Tirol ergaben eine Prävalenz von 73 % (27,28).

2.2.4. Ökonomische Bedeutung

Der große Leberegel ist nicht nur aufgrund seiner verursachten ökonomischen Verluste weltweit von besonderer Bedeutung, sondern auch wegen seines zoonotischen Potentials, welches auch durch die WHO als eine wichtige und bisher vernachlässigte Zoonose eingestuft wurde. Schätzungen zufolge sind zwischen 2,6 und 17 Millionen Menschen an Fasciolose erkrankt. Während in Europa nur sporadisch Fälle auftreten, sind vor allem Menschen aus ärmeren Ländern betroffen. Bei den meisten handelt es sich hierbei um Infektionen mit *F. hepatica*, bei einem kleineren Anteil in tropischen Gebieten um Infektionen mit *F. gigantica* (5).

Die ökonomischen Verluste in der Rinderhaltung entstehen vor allem durch eine Verschlechterung der Leistungsdaten, wie einer verminderten Milchleistung um 0,7 kg/Tag/Kuh, eines niedrigeren Milchfettgehalts von 0,06 % und einer längeren Zwischenkalbezeit um 4,7 Tagen (6).

Außerdem benötigen die Tiere eine längere Zeit, um das Schlacht-Endgewicht zu erreichen und die Leber betroffener Rinder ist nicht für den menschlichen Verzehr geeignet. Eine Studie aus der Schweiz schätzt die jährlichen Verluste in der Schweiz auf 52 Millionen Euro, was einen Verlust von 299 Euro pro infiziertem Tier bedeuten würde (29).

2.2.5. Pathologische Veränderungen und Klinik

Das Krankheitsbild der Fasciolose entsteht vor allem durch die Wanderung der Leberegel durch den Dünndarm in die Leber, sowie die Wanderung in der Leber. Vor allem die Stärke des Befalls, aber auch tierspezifische Faktoren, wie die Reaktionsweise der Leber, Ernährungszustand und weitere Faktoren sind maßgebend für den Schweregrad der Erkrankung (21).

Prinzipiell kann die Fasciolose bei geringem Befall asymptomatisch verlaufen, aber bei stärkerem Befall von akut, subakut bis chronisch. Beim Rind kommt hauptsächlich die chronische Form vor. Durch die Pathogenese erklären sich mehrere klinische Anzeichen, die bei den befallenen Tieren auftreten (1,21).

Durch die inneren Blutungen aber auch den Blutverlust direkt durch die Leberegel zeigen die betroffenen Rinder eine Blutungsanämie. Diese kennzeichnet sich durch eine normozytäre und normochrome Anämie, kann aber im weiteren Verlauf durch den Eisenmangel auch hypochrom und makrozytär werden. Die Tiere entwickeln außerdem eine Dysproteinämie. Der Albumingehalt am Totalprotein sinkt einerseits durch den direkten Verlust in den Darm, aber auch die Synthese in der Leber ist durch die Schädigung des Organs gestört. Andererseits

steigt der Gammaglobulingehalt infolge der Stimulation der Entzündungszellen durch die parasitären Antigene. Auch die Erhöhung der Leberenzyme im Blut kann nachgewiesen werden, da intrazelluläre Enzyme wie AST (Aspartat-Aminotransferase) und GLDH (Glutamatdehydrogenase) durch die Zerstörung der Leberzellen freigesetzt werden. Im späteren Verlauf steigt auch das Enzym GGT (Gamma-Glutamyl-Transferase) durch die Schädigung der Gallengänge. Weiters kann es zum Gewichtsverlust kommen, da die Tiere den Proteinverlust durch Muskelabbau kompensieren und dazu klinisch oft eine Inappetenz zeigen. Bei Schafen, die meist eine geringere natürliche Resistenz als Rinder aufweisen, kann es außerdem zu einer Hypoglykämie und erhöhten Ketonkörperwerten durch Fettmobilisation kommen (1,30,31).

Die Fasziole kann in mehrere Phasen eingeteilt werden. Die erste Phase der Erkrankung ist meist subklinisch und entsteht durch die Wanderung der zirka 0,25 mm großen juvenilen Stadien der Leberegel vom Dünndarm in die Leber. In diesen sechs Tagen *post infectionem* entstehen vor allem Defekte an der Darmwand, die im späteren Verlauf durch Fibrinablagerungen und Verklebungen organisiert werden. Hier treten meist keine klinischen Symptome auf. In schlimmen Fällen jedoch kann es zu einer Peritonitis und starkem serösen Exsudat kommen. Dabei werden oft auch andere Organe als die Leber durch den Parasiten befallen (1,32).

In der zweiten Phase wandern die juvenilen Stadien sechs bis sieben Wochen lang durch die Leber. Im Parenchym saugen sie das Lebergewebe des Wirtes an und scheiden eine Vielzahl an Cathepsinen aus. Durch diese proteolytischen Enzyme kommt es zum Abbau von Proteinen, zur Lyse von Wirtszellen, aber auch zur Spaltung von Immunglobulinen, die bei der Immunevasion helfen. Die juvenilen Stadien wachsen dabei auf eine Größe von 3–14 mm heran und bilden bei ihrer Wanderung gewundene und mit Blut gefüllte Gänge. Daraufhin reagiert der Wirtskörper mit der Einwanderung von Entzündungszellen, wie eosinophilen Granulozyten und Makrophagen und der Bildung von Granulationsgewebe. Letztendlich kommt es zu einer bindegewebigen Organisation. Histologisch erkennt man eine interstitielle Hepatitis und Portalvenenentzündung. Durch den Gefäßverschluss kommt es zur Leberzellnekrose und anschließend kann der bindegewebige Umbau zu einer Leberzirrhose führen. Die grauweiß und rötlichen Wandergänge sind auch makroskopisch im Anschnitt der Leber deutlich erkennbar. Außerdem zeichnen sich die Blutungen als punktförmige Herde ab und die gesamte Leber scheint durch die unterschiedlichen Entzündungsstadien im gesamten Organ marmoriert. Weiters kann die Leber vergrößert und mit Fibrinauflagerungen versehen

sein. Letztere kann man im Falle einer Peritonitis auch in der gesamten Bauchhöhle erkennen. Durch die Entzündung sind oft Leberlymphknoten vergrößert oder auch andere Organe verändert (1,33,34).

Nach sechs Wochen beginnt die dritte Phase, die Besiedlung der Gallengänge durch die juvenilen und adulten Stadien. Man sieht nun immer deutlicher Anzeichen einer Cholangitis und eine Verdickung der Gallengänge. Die Leberegel wachsen auf 20–30 mm an und erlangen 8–9 Wochen *post infectionem* ihre Geschlechtsreife. Bei Rindern kommt es häufig auch zur Abkapselung von Parasiten im Leberparenchym. Aufgrund der mechanischen Reizung der Gallengangswand durch Schädigung der Mukosa, das Blutsaugen, aber auch die chemische Reizung durch die Cathepsine kommt es schließlich zu Blutverlusten und Fibrose der Gallengangswand. Besonders das Rind zeichnet sich durch eine hyaline Entartung des Bindegewebes und mineralischen Ablagerungen in den Gallengängen aus, die nach Anschneiden die typischen knirschenden Geräusche machen. Die Gallengänge sind hier vor allem derb und bis zu fingerstark verdickt. Die Bildung von Abszessen ist ebenfalls möglich, wenn es sekundär zur Infektion mit Bakterien kommt (1,34,35).

2.3. Diagnostik

2.3.1. Koproscopische Verfahren

Auswanderverfahren

Das Auswander- oder auch Trichterverfahren nach Baermann-Wetzel dient zum Nachweis von lebenden Nematodenlarven, wie denen der Lungenwürmer der Art *D. viviparus*. Hierbei wird ein mit Kot gefüllter Gazebeutel in einen Trichter mit Wasser gestellt. Die Larven wandern aus dem Kot aus und sinken im Wasser zu Boden. Anschließend kann man dieses vorsichtig ablassen, um die Larven nach Anfärben unter dem Mikroskop nachzuweisen (1).

Sedimentationsverfahren (Semiquantitativer Nachweis)

Das Sedimentationsverfahren dient zum Nachweis von schweren Parasiteneiern, wie die der Trematoden *F. hepatica*. Der Kot wird dabei mit Leitungswasser vermischt, bis eine homogene Suspension entsteht und anschließend gefiltert und für die Sedimentation stehen gelassen. Danach wird immer wieder dekantiert, bis der Überstand klar ist. Das Sediment wird in eine Petrischale gegossen, mit Methylenblau-Lösung angefärbt und unter dem Mikroskop auf Eier untersucht (1).

2.3.2. Antikörper-ELISA aus der Milch

In den letzten Jahrzehnten gewinnen ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) aus der Milch immer mehr an Bedeutung. Im Vergleich zu herkömmlichen Untersuchungen aus dem Blut der zu untersuchenden Tiere hat es den Vorteil, dass das Verfahren einfacher und zudem nicht invasiv ist. Außerdem ist es möglich, auch Tankmilchuntersuchungen durchzuführen, was Kosten und Aufwand senkt. Die Probennahme kann teils vom Landwirt selbst durchgeführt werden. Des Weiteren ermöglichen diese einen Aufschluss über das möglicherweise endemische Auftreten eines Parasiten und somit Möglichkeiten einer strategischen Bekämpfung und Herden Monitoring Programmen (8).

Für die Routinediagnostik von *D. viviparus* eignet sich ein ELISA aus der Milch, der mithilfe des MSP (major sperm protein) als Antigen Antikörper gegen den Parasiten detektiert. Mit einer Spezifität von nahezu 100 %, einer Sensitivität von 97,5 % und positiven Ergebnissen bereits 30–32 Tage *post infectionem* gibt er einen guten Einblick in den Infektionsstatus, das endemische Vorkommen und gibt Auskunft über die Immunität der Tiere, wenn die Testung zu Beginn der Weidesaison stattfindet. Es handelt sich dabei um ein indirektes

Nachweisverfahren. Antikörper können daher auch nach überstandener Infektion noch nachgewiesen werden (36,37).

Eine Studie aus dem März 2004 untersuchte den ELISA aus der Milch für *F. hepatica*, der mit exkretorischen und sekretorischen Produkten (ES) als Antigenen arbeitet, um Antikörper zu detektieren. Bei diesem Test, der auch als Tankmilchuntersuchung durchgeführt werden kann, konnte außerdem der Zusammenhang zwischen einem bestimmten ODR-Wert (optical density ratio) von $> 0,8$ und Produktionsverlusten in der Hinsicht auf die Milchleistung hergestellt werden, wodurch er einen wichtigen diagnostischen Wert erlangt (6).

3. Eigene Arbeit

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Proben aus Tirol

Insgesamt waren zehn Betriebe in Tirol an der Untersuchung beteiligt. Diese lagen in den Bezirken Pustertal, Lienz, Kufstein und Innsbruck-Land. Ein Betrieb wurde bereits im Herbst 2020 untersucht. Im darauffolgenden Jahr wurden die Proben jeweils im Frühjahr, Sommer und Herbst, also vor dem Weideauftrieb, während der Alpung und nach Weideabtrieb von Tieren auf der Tiroler Alm in der Saison 2021 genommen. Weiters wurden die Tiere in die Gruppen Erstsömmrige, Zweitsömmrige und Kühe eingeteilt, um Poolproben zu bilden. Die Entnahme der Proben war entweder rektal oder nach spontanem Kotabsatz. Im Herbst 2020 waren es 21 Tiere, im Jahr 2021 waren es im Frühjahr insgesamt 282 Tiere, im Sommer 247 und im Herbst 224.

3.1.2. Auswanderverfahren

Das Auswanderverfahren wurde für den Nachweis von *Dictyocaulus viviparus* Larven angewandt. Hier wurden Poolproben von fünf Tieren untersucht. Es wurde folgendermaßen vorgegangen:

Ein Glas- oder Kunststofftrichter wurde hierbei in einer geeigneten Halterung befestigt und das Rohr mit einem Silikon oder PVC-Schlauch versehen. Das Ende wurde unten im spitzen Winkel abgeschnitten und eine Klemme schräg angebracht, damit keine Flüssigkeit mehr abfließen kann. Nun wurden 10–30 g Kot pro Tier abgewogen und mit einem Gazenetz (circa 15 x 15 cm) umhüllt und anschließend plattgedrückt. Der geformte Beutel wurde danach in den Trichter gelegt und mit Leitungswasser befüllt, sodass der Kot zur Hälfte mit Wasser bedeckt war. Die Larven wanderten so aus dem Kot in die Flüssigkeit aus und sanken zum Boden des Trichters. Nach einer Lagerung bei Raumtemperatur konnten nach 12–24 Stunden durch leichtes Öffnen der Klemme ein paar Tropfen in eine Kunststoff-Petrischale mit Zählgitter abgelassen werden. Bei Rinderkot werden niedrigere Temperaturen von + 5–9 °C empfohlen, da der Nachweis von *D. viviparus* bei Temperaturen ab 25 °C deutlich schwieriger ist. Anschließend wurden die Larven mit einem Tropfen verdünnter Lugol-Lösung fixiert und angefärbt und konnten unter dem Mikroskop beurteilt werden. Anzumerken ist, dass die Sensitivität dieses Verfahrens sehr unterschiedlich ist und stark von der Dichte und Aktivität der Larven im Kot abhängt (1).

3.1.3. Sedimentation

Um *Fasciola hepatica* Eier nachzuweisen, wurde das sogenannte Sedimentationsverfahren angewandt. Dabei wurden ebenfalls jeweils Gruppen von fünf Tieren zusammengefasst und wie folgt vorgegangen:

5–10 g Rinderkot wurden abgewogen und mit Leitungswasser zu einer homogenen Suspension vermischt. Anschließend wurde diese durch ein feinmaschiges Sieb mit einer Maschenweite von 250–300 µm in ein 250 ml Becherglas gesiebt. Der Rückstand im Sieb wurde mit einem harten Wasserstrahl weiter gespült, bis das Glas knapp unter den Rand gefüllt war. Nach einer dreiminütigen Sedimentation wurde der Überstand dekantiert und das Glas erneut befüllt. Dieser Ablauf wurde zwei- bis dreimal durchgeführt. Am Ende versah man das Sediment mit einem Tropfen 1%iger Methylenblau-Lösung und füllte es in eine Petrischale mit Zählgitter, welche unter dem Mikroskop betrachtet werden konnte. Die Sensitivität dieser Methode ist besonders hoch bei 10–1000 Eier/g Kot und liegt hier bei nahezu 100 %. Da die Eiausscheidung mit dem Kot stark schwankt, liegt die Sensitivität beim Rind im Schnitt bei 60–70 % und lässt sich deutlich erhöhen durch wiederholte Testungen derselben Kotprobe. Durch die enorme Größe der Eier kann eine hohe Spezifität erzielt werden (1).

4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse *Dictyocaulus viviparus*

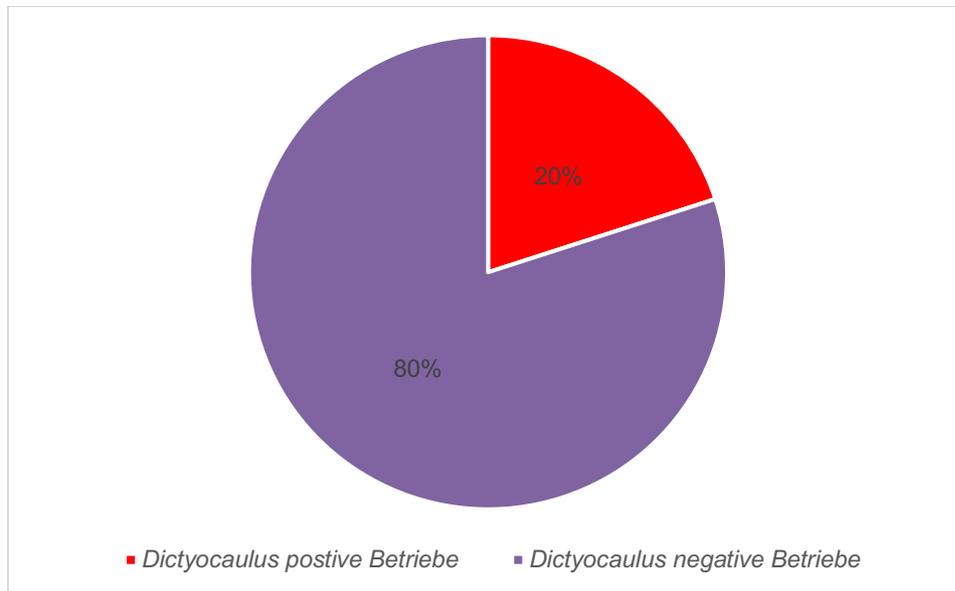


Abbildung 1: Betriebsebene von *Dictyocaulus viviparus* auf Tiroler Almen (n=10)

Im Auswanderverfahren wurde bei Betrieb 2 im Sommer 2021 eine tote Lungenwurmlarve in einer Poolprobe von Zweitsömmrigen nachgewiesen. Bei Betrieb 8 war ebenfalls eine Gruppe von Zweitsömmrigen im Sommer 2021 positiv. Dies ergibt somit eine Prävalenz von 20 % für *D. viviparus* für Betriebe mit Kühen auf Tiroler Almen (Abb. 1).

4.2. Ergebnisse *Fasciola hepatica*

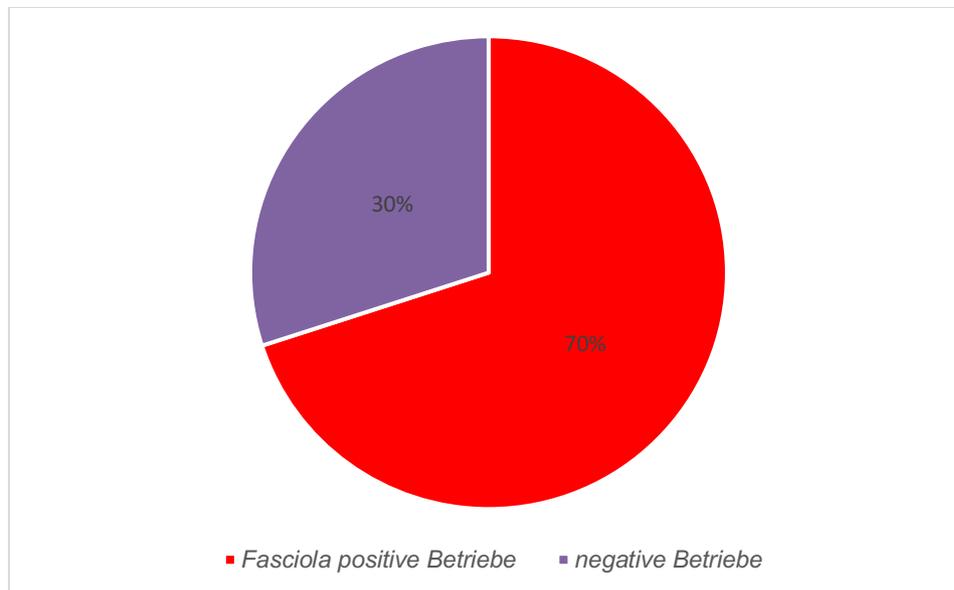


Abbildung 2: Betriebsebene von *Fasciola hepatica* auf Tiroler Almen (n=10)

Die koproskopischen Ergebnisse für *F. hepatica* ergaben drei negative Betriebe (Betrieb 1, 4 und 5) und somit eine Prävalenz von 70 % für Kühe auf der Tiroler Alm (Abb. 2).

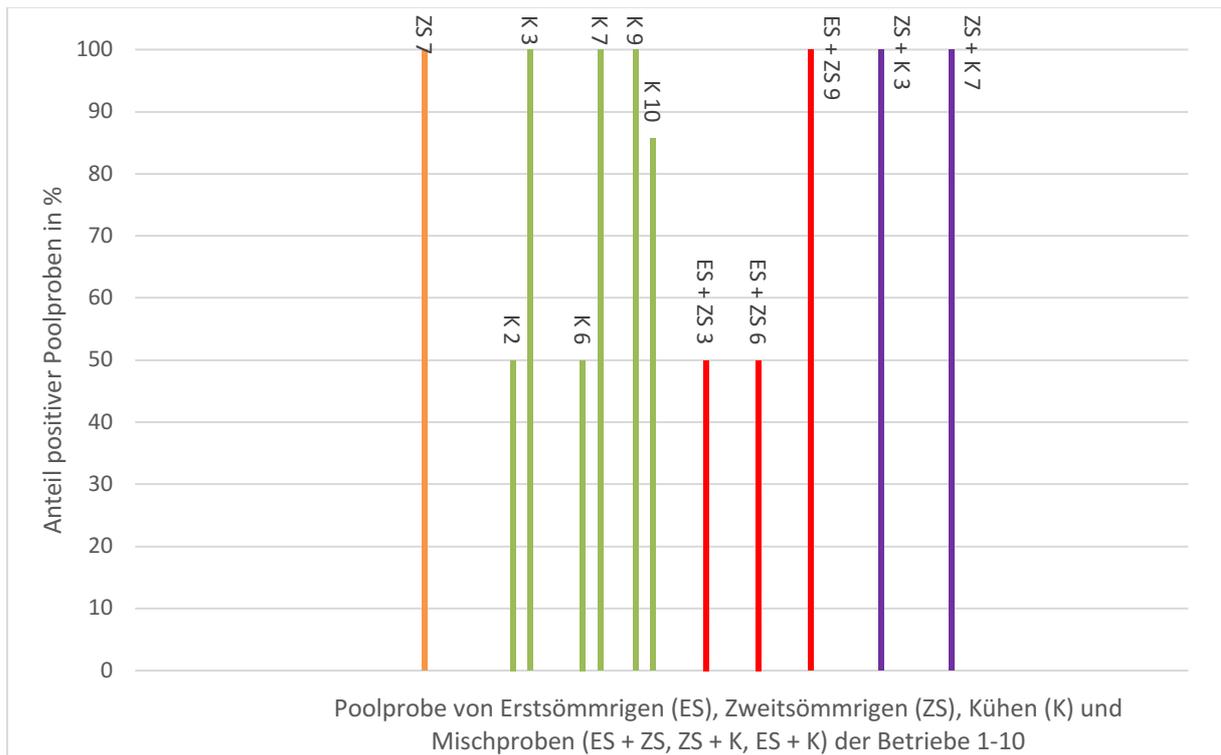


Abbildung 3: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % der Betriebe 1-10 im Frühling 2021 (n=59)

Im Herbst 2020 wurde nur Betrieb 3 untersucht. Hier war lediglich eine der zwei Poolproben mit Kühen positiv. Fünf Poolproben wurden insgesamt gebildet (Abb. 6 und 7).

Im darauffolgenden Jahr im Frühling 2021 vor Almauftrieb wurden alle Betriebe koproskopisch untersucht. Aus den gewonnenen Kotproben wurden 59 Poolproben gebildet. Alle Erstsömmrigen-Poolproben erwiesen sich als negativ. Nur in einer Poolprobe von zweitsömmrigen Tieren von Betrieb 7 konnten Eier nachgewiesen werden. Kühe zeigten bereits eine hohe Prävalenz. In Betrieb 2, 3, 6, 7, 9 und 10 gab es positive Poolproben. In Betrieb 10 wurden die meisten Kuh-Poolproben genommen. Hier waren sechs von sieben der Proben positiv. Der Betrieb hatte somit eine Prävalenz von 85,7 % für Kühe im Frühling 2021. Weiters wurden einige Mischproben, also Proben von Tieren mit unterschiedlichen Beurteilungskriterien wie zum Beispiel Erstsömmrige und Kühe, untersucht. In Betrieb 3, 6 und 9 gab es jeweils zwei Poolproben von Erstsömmrigen und Zweitsömmrigen. Bei Betrieb 9 waren beide und bei Betrieb 3 und 6 war eine der beiden positiv. In Betrieb 3 und 7 konnte außerdem in je einer Mischprobe von Zweitsömmrigen mit Kühen Eier nachgewiesen werden (Abb. 3).

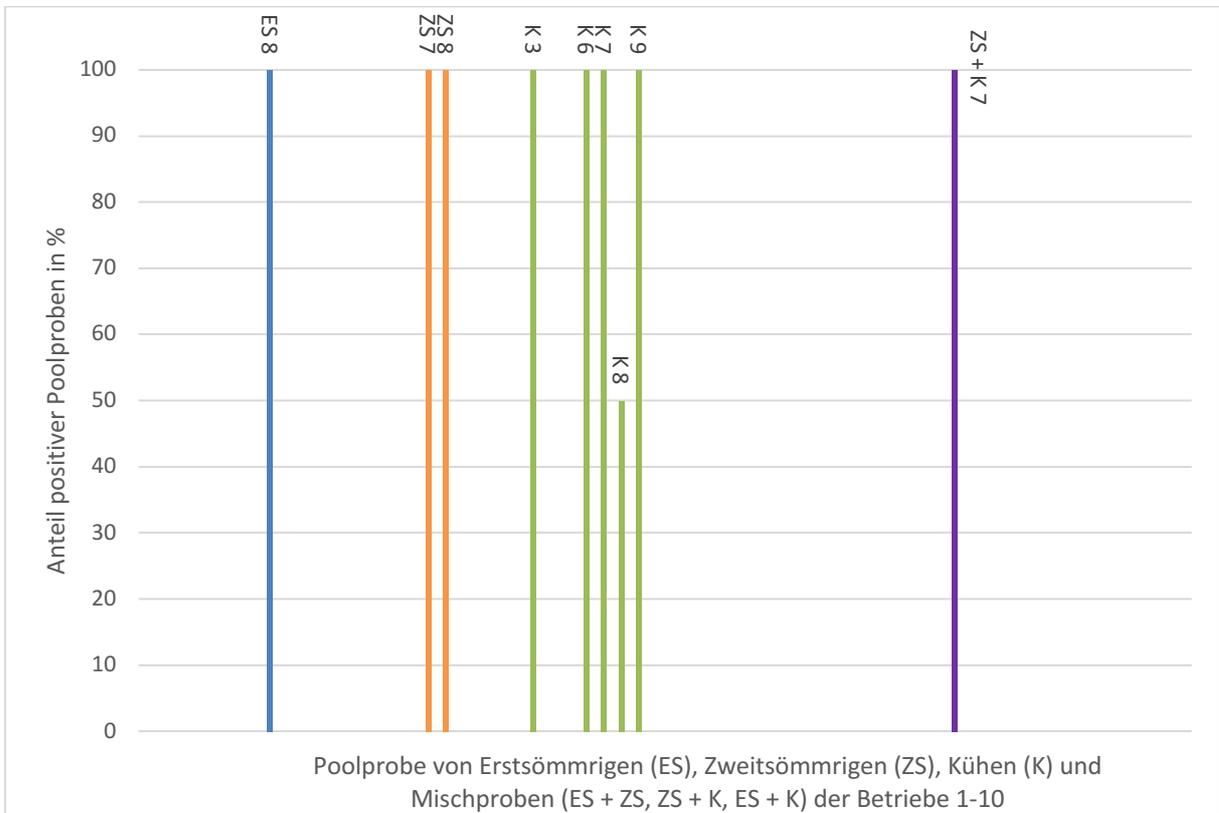


Abbildung 4: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % der Betriebe 1-10 im Sommer 2021 (n=56)

Im Sommer 2021 während der Weidehaltung wurden ebenfalls alle Betriebe untersucht und 56 Poolproben gebildet. Im Betrieb 8 gab es eine Probe von Erstsömmrigen, die positiv war. Eine Poolprobe mit Zweitsömmrigen im Betrieb 7 war ebenfalls wie schon im Frühling positiv. Außerdem gab es eine weitere positive Probe im Betrieb 8. Kuh-Poolproben zeigten erneut eine hohe Prävalenz in den Betrieben 3, 6, 7, 8 und 9. Betrieb 10 war im Gegensatz zu der Untersuchung im Frühling hier negativ. Eine positive Mischprobe von Zweitsömmrigen und Kühen gab es erneut im Betrieb 7 (Abb. 4).

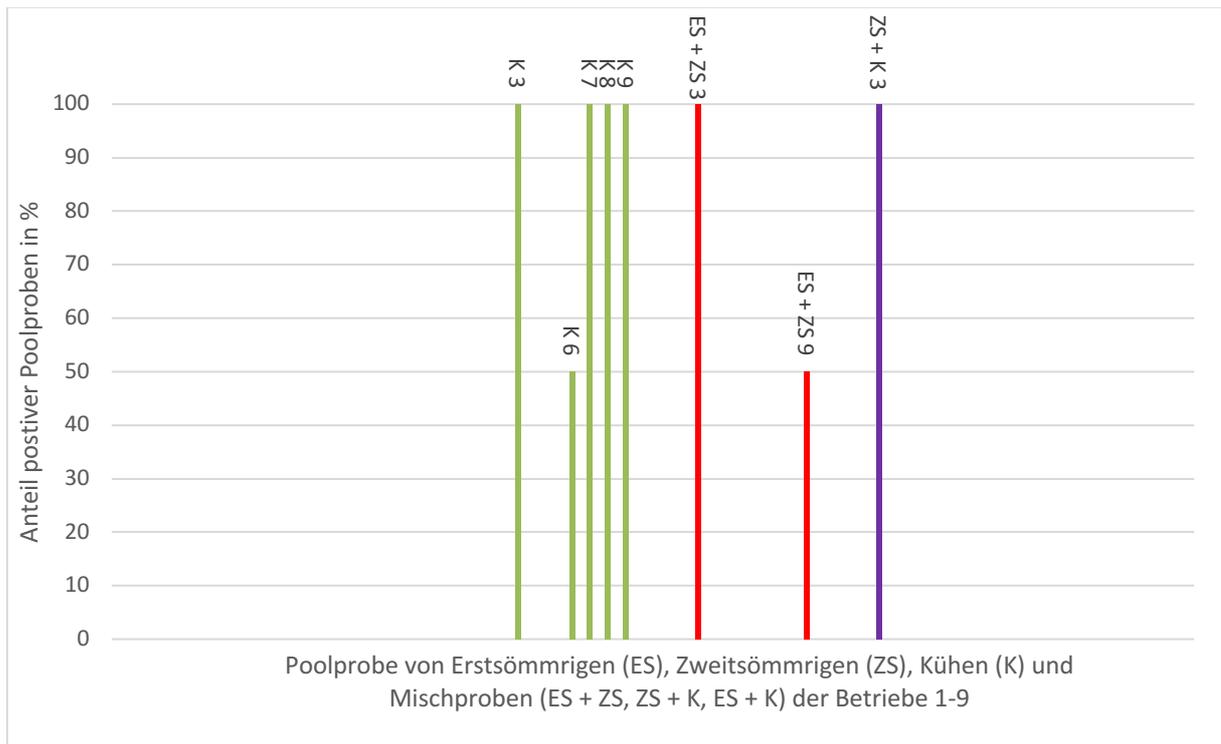


Abbildung 5: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % der Betriebe 1-9 im Herbst 2021 (n=51)

Im Herbst 2021 wurden die Tiere erneut nach Weideabtrieb beprobt. Betrieb 10 war als einziger Betrieb bei dieser Untersuchung nicht dabei. Somit gab es insgesamt 51 Poolproben. Die Proben von Erstsömmrigen und Zweitsömmrigen erwiesen sich als negativ. Allerdings gab es zwei Mischproben von erstsömmrigen mit zweitsömmrigen Tieren in Betrieb 3 und eine in Betrieb 9, in denen Eier nachgewiesen wurden. Diese Proben waren bereits im Frühling mit 50 % in Betrieb 3 und 100 % in Betrieb 9 positiv. Diese Proben waren bereits im Frühling mit 50 % in Betrieb 3 und 100 % in Betrieb 9 positiv. Des Weiteren gab es noch eine Mischprobe von Zweitsömmrigen mit Kühen in Betrieb 3, die positiv war (Abb. 5).

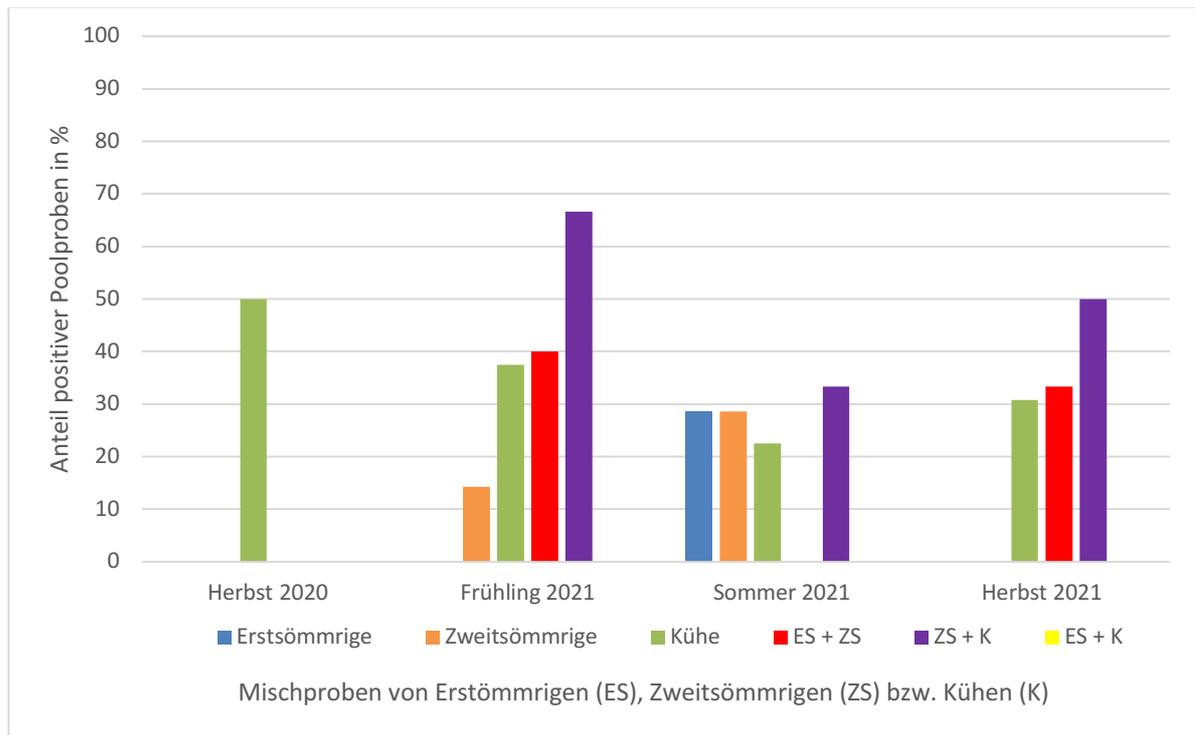


Abbildung 6: Anteil aller *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % (n=171)

Insgesamt wurden bei dieser Pilotstudie 171 Poolproben untersucht. Die Proben von Erstösommrigen zeigten sich das einzige Mal im Sommer 2021 positiv mit 28,6 %. Im darauffolgenden Herbst waren alle negativ. Allerdings erwiesen sich die Mischproben mit zweitsösommrigen Tieren hier zu 33,3 % positiv. Diese Proben waren außerdem auch im Frühling zu 40 % positiv. Zweitsösommrigen-Poolproben hatten im Frühling eine Prävalenz von 14,3 % und im Sommer zu 28,6 %. Die Mischproben von Zweitsösommrigen mit Kühen zeigten die höchsten Ei-Nachweise mit 66,7 % im Frühling, 33,3 % im Sommer und 50 % im Herbst. Jedoch waren das insgesamt nur neun Poolproben. Bei den meisten untersuchten Proben handelte es sich um jene mit Kühen. Insgesamt wurden 91 Poolproben von diesen gebildet. Im Frühling zeigten diese eine Prävalenz von 37,5 %, im Sommer von 22,6 % und im Herbst von 30,8 %. Die Mischproben von Erstösommrigen mit Kühen waren in keiner Untersuchung positiv. Von diesen wurden sechs untersucht (Abb. 6).

Im Anhang befinden sich die Einzelbetriebsauswertungen für *F. hepatica*, außer jene, die in der Untersuchung negativ waren und die von Betrieb 2, der lediglich im Frühling eine positive Poolprobe mit drei Kühe hatte.

5. Diskussion

Das Ziel dieser Pilotstudie war es, festzustellen, mit welcher Prävalenz Leberegel und Lungenwürmer auf Tiroler Almen endemisch vorkommen. Des Weiteren sollte die gewonnene Information dazu dienen, ein weiteres größeres Projekt zu planen und aufgrund der Erfahrungen dieser Vorstudie das Studiendesign zu optimieren. In dieser Arbeit wurden nur die Ergebnisse der koproskopischen Untersuchung beschrieben.

Durch die Ergebnisse der Kotuntersuchung hat sich bestätigt, dass beide Parasiten auf Tiroler Almen endemisch vorkommen. Leberegel zeigten eine Prävalenz von 70 %. Dieses Ergebnis stimmt gut mit jenem von einer früheren Untersuchung von Matt, welche eine Prävalenz von 73 % für Tiroler Almen feststellte, überein. Lungenwürmer hatten in dieser Studie eine Prävalenz von 20 %. Für weitere Studien wäre es allerdings von Vorteil, wenn mehr Betriebe und Tiere untersucht würden, um eine repräsentative Stichprobe zu erreichen (27).

Die Hypothese, dass vor allem Erstsömmrige im Spätsommer einen Befall durch *Dictyocaulus viviparus* aufweisen, konnte nicht bestätigt werden. Bei beiden der positiven Poolproben handelte es sich um zweitsömmrige Tiere. Für Lungenwürmer sollte man sich ein geeignetes Entwurmungsregime überlegen, da die Herden offensichtlich davon betroffen sind und der Parasit endemisch auftritt. Davor wäre es allerdings gut, genauere Untersuchungen zu machen, wie stark und zu welchem Zeitpunkt die klinischen Symptome tatsächlich auftreten. Außerdem sollten ökonomische Auswirkungen abgeschätzt werden (7).

Mit einer Häufigkeit von 70 % konnte bestätigt werden, dass *Fasciola hepatica* sehr prävalent in Tirol ist. Die Hypothese, dass der Befall bei Jungtieren stärker und zu Ende der Weidesaison höher ist, bestätigte sich nicht. Die Proben von Erstsömmrigen waren zwar im Sommer bei 28,6 %, aber im Herbst negativ. Da teilweise erstsömmrige mit zweitsömmrigen Tieren vermischt wurden, kann leider nicht beurteilt werden, durch welche Tiere das positive Ergebnis ausgelöst wird. Bei weiteren Studien sollte daher darauf geachtet werden, dass nur Tiere mit den gleichen Beurteilungskriterien gemeinsam gepoolt werden.

Die Prävalenz von 14,3 % im Frühling bei Zweitsömmrigen und 40 % bei den Mischproben mit Erstsömmrigen erklärt sich durch eine Infektion dieser Tiere im Jahr davor. Die Zweitsömmrigen waren zu diesem Zeitpunkt einmalig im Sommer 2020 auf der Alm und haben sich somit vermutlich im Spätsommer oder Herbst infiziert. Dieser 1-Jahres-Zyklus ist, wie oben bereits beschrieben, typisch für Mitteleuropa und die hier zu findenden klimatischen Bedingungen. Aufgrund dieser Ergebnisse würde sich eine Entwurmung bei Weideabtrieb im

Herbst für die Tiere empfehlen. Bei den Erstsömmrigen, die im Jahr 2021 zum ersten Mal auf die Alm gekommen sind, ist es sehr unwahrscheinlich, dass diese etwas zum positiven Ergebnis der Mischprobe beitragen, da die Infektion nur in Ausnahmefällen während der Stallhaltung stattfindet (1,38).

Die Ergebnisse der 91 Kuhpoolproben sind die aussagekräftigsten, da hier die meisten Tiere untersucht wurden. Es ist davon auszugehen, dass keine ausreichende Immunität bei Kühen, die schon mehrmals gealpt wurden, gebildet wird. Die Tiere zeigten über die gesamte Weidesaison und auch zu Ende im Herbst eine sehr hohe Prävalenz. Im Frühling lag sie bei 37,5 %. Im Sommer waren die Werte einmalig niedriger mit 22,6 %. Jedoch stieg die Prävalenz im Herbst wieder auf 30,8 %. Auch die positiven Mischproben von Kühen mit Zweitsömmrigen waren mit 50 % im Herbst sehr hoch.

Es sollte daher auch für Leberegel ein Entwurmungsregime eingeführt werden, um den Befall und die wirtschaftlichen Verluste einzudämmen. Für beide Parasiten ist es außerdem wichtig, ein geeignetes Weidemanagement zu betreiben, um die Kontamination der Weiden möglichst gering zu halten und die Reinfektionen und Wurmbelastung zu minimieren. Außerdem sollte in der heutigen Zeit der richtige Einsatz von Anthelminthika unbedingt beachtet werden, um das Fortschreiten von Anthelminthika-Resistenzen einzudämmen (39,40,41).

6. Zusammenfassung

Dictyocaulus viviparus, der Große Lungenwurm und *Fasciola hepatica*, der Große Leberegel, sind Parasiten des Rindes, die weltweit vor allem in der gemäßigten Klimazone auftreten. Sie sind aufgrund ihrer ökonomischen Auswirkung durch eine Verminderung der Leistung der Tiere von großer Bedeutung. Rinder infizieren sich hauptsächlich durch die Weidehaltung.

In dieser Pilotstudie wurde die Prävalenz der beiden Parasiten auf der Tiroler Alm und die Dynamik über die Weidesaison untersucht. Dafür wurden Einzelkotproben von zehn unterschiedlichen Betrieben jeweils im Frühling, Sommer und Herbst 2021 koproskopisch auf Parasiteneier untersucht. Ein Betrieb wurde bereits im Herbst 2020 untersucht.

Der Große Lungenwurm zeigte eine Prävalenz von 20 %, während der Große Leberegel 70 % aufwies. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass Kühe keine ausreichende Immunität gegen *F. hepatica* ausbilden und somit ein Entwurmungsregime für alle Tiere auf der Alm notwendig ist, um wirtschaftliche Einbußen gering zu halten.

Für weitere Studien wäre es interessant, die wirtschaftlichen Auswirkungen dieser beiden Parasiten zu untersuchen und größere Stichproben in die Untersuchungen einzubeziehen.

7. Summary

Dictyocaulus viviparus, the bovine lungworm, and *Fasciola hepatica*, the large liver fluke, are parasites of cattle that occur primarily in the temperate climate zone worldwide. They are of great importance due to their economic impact by reducing the performance of the animals. Cattle become infected mainly through grazing on pasture.

In this pilot study the prevalence of the two parasites on the Tiroler Alm and the dynamic during pasture season were examined. For this purpose, individual faecal samples from ten different farms were coproscopically examined for parasite eggs in spring, summer and autumn 2021. One farm was already examined in autumn 2020.

The bovine lungworm showed a prevalence of 20 %, while large liver fluke showed 70 %. In addition, it was found that cows do not develop sufficient immunity to *F. hepatica* and therefore a deworming regime for all animals on the pasture is necessary to keep economic losses low.

For further studies, it would be interesting to examine the economic impact of these two parasites and to include a larger number of samples in the investigations.

8. Literaturverzeichnis

1. Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, von Samson-Himmelstjerna G, et al. Parasitologie für die Tiermedizin. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2021.
2. Roberts EW. Studies on the Life-Cycle of *Fasciola Hepatica* (Linnaeus) and of Its Snail Host, *Limnaea* (Galba) *Truncatula* (Müller), in the Field and Under Controlled Conditions in the Laboratory. *Ann Trop Med Parasitol*. 1950 Jul 22;44(2):187–206.
3. Ploeger HW. *Dictyocaulus viviparus*: re-emerging or never been away? *Trends Parasitol*. 2002 Aug;18(8):329–32.
4. Luzón-Peña M, Rojo-Vázquez FA, Gómez-Bautista M. Seasonal availability of *Fasciola hepatica* metacercariae in a temperate Mediterranean area (Madrid, Spain). *Zentralbl Veterinarmed B*. 1995 Dec;42(10):577–85.
5. Lalor R, Cwiklinski K, Calvani NED, Dorey A, Hamon S, Corrales JL, et al. Pathogenicity and virulence of the liver flukes *Fasciola hepatica* and *Fasciola Gigantica* that cause the zoonosis Fasciolosis. *Virulence*. 2021 Dec 31;12(1):2839–67.
6. Charlier J, Duchateau L, Claerebout E, Williams D, Vercruyse J. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds. *Prev Vet Med*. 2007 Jan 16;78(1):57–66.
7. Holzhauser M, van Schaik G, Saatkamp HW, Ploeger HW. Lungworm outbreaks in adult dairy cows: estimating economic losses and lessons to be learned. *Vet Rec*. 2011 Nov 5;169(19):494.
8. Fiedor C, Strube C, Forbes A, Buschbaum S, Klewer AM, von Samson-Himmelstjerna G, et al. Evaluation of a milk ELISA for the serodiagnosis of *Dictyocaulus viviparus* in dairy cows. *Vet Parasitol*. 2009 Dec 23;166(3–4):255–61.
9. Jarrett WF, Jennings FW, McIntyre WI, Mulligan W, Urquhart GM. Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection; active immunization with whole worm vaccine. *Immunology*. 1960 Apr;3:135–44.
10. Jørgensen RJ, Rønne H, Helsted C, Iskander AR. Spread of infective *Dictyocaulus viviparus* larvae in pasture and to grazing cattle: Experimental evidence of the role of *Pilobolus* fungi. *Vet Parasitol*. 1982 Jul;10(4):331–9.

11. Gupta RP, Gibbs HC. Epidemiological investigations on *Dictyocaulus viviparus* (Bloch, 1782) infection in cattle. *Can Vet J.* 1970 Aug;11(8):149–56.
12. Divina BP, Wilhelmsson E, Mattsson JG, Waller P, Höglund J. Identification of *Dictyocaulus spp.* in ruminants by morphological and molecular analyses. *Parasitology.* 2000 Aug;121(2):S0031182099006162.
13. Eysker M, Saatkamp HW, Kloosterman A. Infection build-up and development of immunity in calves following primary *Dictyocaulus viviparus* infections of different levels at the beginning or in the middle of the grazing season. *Vet Parasitol.* 1993 Sep;49(2–4):243–54.
14. Breeze R. Parasitic bronchitis and pneumonia. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1985 Jul;1(2):277–87.
15. Eysker M, Kooyman FN, Ploeger HW. Immunity in calves against *Dictyocaulus viviparus* following a low primary infection. *Parasitology.* 2001 Dec;123(Pt 6):591–7.
16. Kooyman FNJ, Yatsuda AP, Ploeger HW, Eysker M. Serum immunoglobulin E response in calves infected with the lungworm *Dictyocaulus viviparus* and its correlation with protection. *Parasite Immunol.* 2002 Jan;24(1):47–56.
17. May K, Brügemann K, König S, Strube C. The effect of patent *Dictyocaulus viviparus* (re)infections on individual milk yield and milk quality in pastured dairy cows and correlation with clinical signs. *Parasit Vectors.* 2018;11(1):24.
18. Verstegen MW, Boon JH, van der Hel W, Kessels MH, Meulenbroeks J. The effects of *Dictyocaulus viviparus* infection on energy metabolism of calves. *J Anim Sci.* 1989 Jan;67(1):241–51.
19. Schnieder T, Dauschies A. Dose-dependent pathophysiological changes in cattle experimentally infected *Dictyocaulus viviparus*. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1993 May;40(3):170–80.
20. Schnieder T, Kaup FJ, Drommer W. Morphological investigations on the pathology of *Dictyocaulus viviparus* infections in cattle. *Parasitol Res.* 1991;77(3):260–5.
21. Boray JC. Experimental fascioliasis in Australia. *Adv Parasitol.* 1969;7:95–210.

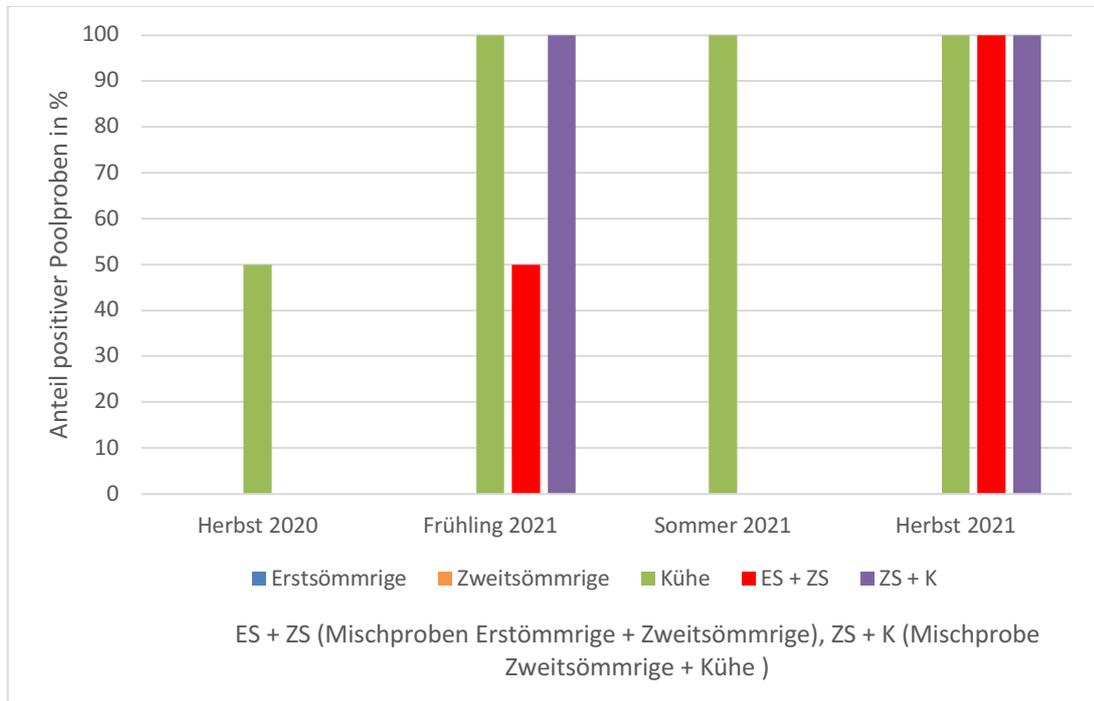
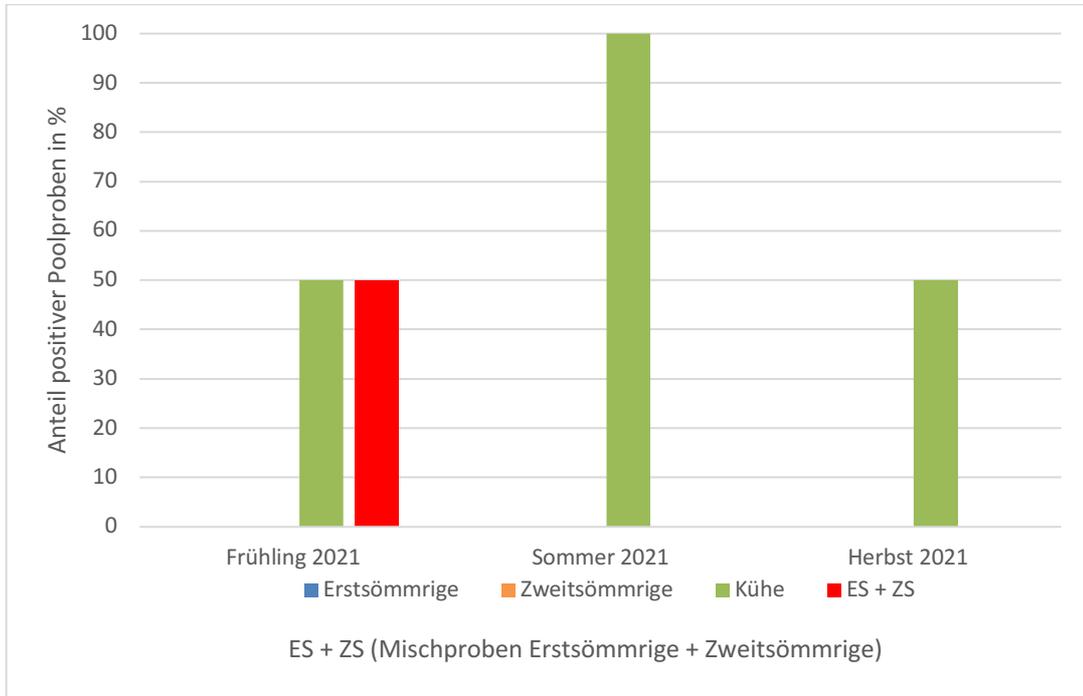
22. Beesley NJ, Caminade C, Charlier J, Flynn RJ, Hodgkinson JE, Martinez-Moreno A, et al. *Fasciola* and fasciolosis in ruminants in Europe: Identifying research needs. *Transbound Emerg Dis*. 2018 May;65 Suppl 1:199–216.
23. Dalton JP, Robinson MW, Mulcahy G, O'Neill SM, Donnelly S. Immunomodulatory molecules of *Fasciola hepatica*: Candidates for both vaccine and immunotherapeutic development. *Vet Parasitol*. 2013 Aug;195(3–4):272–85.
24. Ross JG. The Life Span of *Fasciola hepatica* in Cattle. *The Veterinary Record*. 1968 May 25;587–8.
25. McIlroy SG, Goodall EA, Stewart DA, Taylor SM, McCracken RM. A computerised system for the accurate forecasting of the annual prevalence of fasciolosis. *Prev Vet Med*. 1990 Jun;9(1):27–35.
26. Ducheyne E, Charlier J, Vercruyse J, Rinaldi L, Biggeri A, Demeler J, et al. Modelling the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in Europe. *Geospat Health*. 2015 Mar 26;9(2):261–70.
27. Matt M, Schopf K, Mader C. Serologische Untersuchungen zum *Fasciola hepatica*-Befall in Tirol. *Wiener tierärztliche Monatsschrift*. 2007;210–3.
28. Duscher R, Duscher G, Hofer J, Tichy A, Prosl H, Joachim A. *Fasciola hepatica* - monitoring the milky way? The use of tank milk for liver fluke monitoring in dairy herds as base for treatment strategies. *Vet Parasitol*. 2011 Jun 10;178(3–4):273–8.
29. Schweizer G, Braun U, Deplazes P, Torgerson PR. Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. *Vet Rec*. 2005 Aug 13;157(7):188–93.
30. Taibi A, Aissi M, Harhoura K, Zenia S, Zait H, Hamrioui B. Evaluation of *Fasciola hepatica* Infections in Cattle in Northeastern Algeria and the Effects on Both Enzyme and Hepatic Damage, Confirmed by Scanning Electron Microscopy. *Acta Parasitol*. 2019 Mar;64(1):112–28.
31. Sinclair KB. Some aspects of the pathogenesis and treatment of fascioliasis. *Vet Rec*. 1969 May 31;84(22):544–7.
32. Martínez-Moreno A, Jiménez-Luque V, Moreno T, Redondo ES, de las Mulas JM, Pérez J. Liver pathology and immune response in experimental *Fasciola hepatica* infections of goats. *Vet Parasitol*. 1999 Mar 22;82(1):19–33.

33. Cwiklinski K, Robinson MW, Donnelly S, Dalton JP. Complementary transcriptomic and proteomic analyses reveal the cellular and molecular processes that drive growth and development of *Fasciola hepatica* in the host liver. *BMC Genomics*. 2021 Jan 11;22(1):46.
34. Marcos LA, Yi P, Machicado A, Andrade R, Samalvides F, Sánchez J, et al. Hepatic fibrosis and *Fasciola hepatica* infection in cattle. *J Helminthol*. 2007 Dec;81(4):381–6.
35. Trivilin LO, Sousa DR de, Nunes LDC, Rocha NDS, Martins IVF. Histopathology aspects and fibrosis evaluation of bovine naturally infected livers by *Fasciola hepatica*. *Archives of Veterinary Science*. 2014 Feb 11;19(1).
36. Anne-Marie Schunn. Seroepidemiologische Untersuchung zur Verbreitung von *Dictyocaulus viviparus* in Milchviehherden in Deutschland. [Hannover]: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2012.
37. von Holtum C, Strube C, Schnieder T, von Samson-Himmelstjerna G. Development and evaluation of a recombinant antigen-based ELISA for serodiagnosis of cattle lungworm. *Vet Parasitol*. 2008 Feb 14;151(2–4):218–26.
38. Brennan GP, Fairweather I, Trudgett A, Hoey E, McCoy, McConville M, et al. Understanding triclabendazole resistance. *Exp Mol Pathol*. 2007 Apr;82(2):104–9.
39. Knubben-Schweizer G, Rüegg S, Torgerson PR, Rapsch C, Grimm F, Hässig M, et al. Control of bovine fasciolosis in dairy cattle in Switzerland with emphasis on pasture management. *Vet J*. 2010 Nov;186(2):188–91.
40. Boray JC. Bekämpfung der Fasziose und der Dicrocoeliose des Rindes. 1972;
41. Kenyon F, Jackson F. Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches. *Vet Parasitol*. 2012 May 4;186(1–2):10–7.

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Betriebsebene von <i>Dictyocaulus viviparus</i> auf Tiroler Almen (n=10).....	24
Abbildung 2: Betriebsebene von <i>Fasciola hepatica</i> auf Tiroler Almen (n=10)	25
Abbildung 3: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % der Betriebe 1-10 im Frühling 2021 (n=59).....	26
Abbildung 4: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % der Betriebe 1-10 im Sommer 2021 (n=56).....	27
Abbildung 5: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % der Betriebe 1-9 im Herbst 2021 (n=51)	28
Abbildung 6: Anteil aller <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % (n=171)	29
Abbildung 7: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % von Betrieb 3 (n=17).....	39
Abbildung 8: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % von Betrieb 6 (n=11).....	39
Abbildung 9: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % von Betrieb 7 (n=12).....	40
Abbildung 10 Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % von Betrieb 8 (n=12).....	40
Abbildung 11: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % von Betrieb 9 (n=11).....	41
Abbildung 12: Anteil <i>Fasciola hepatica</i> positiver Poolproben in % von Betrieb 10 (n=14).....	41

10. Anhang

Abbildung 7: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % von Betrieb 3 (n=17)Abbildung 8: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % von Betrieb 6 (n=11)

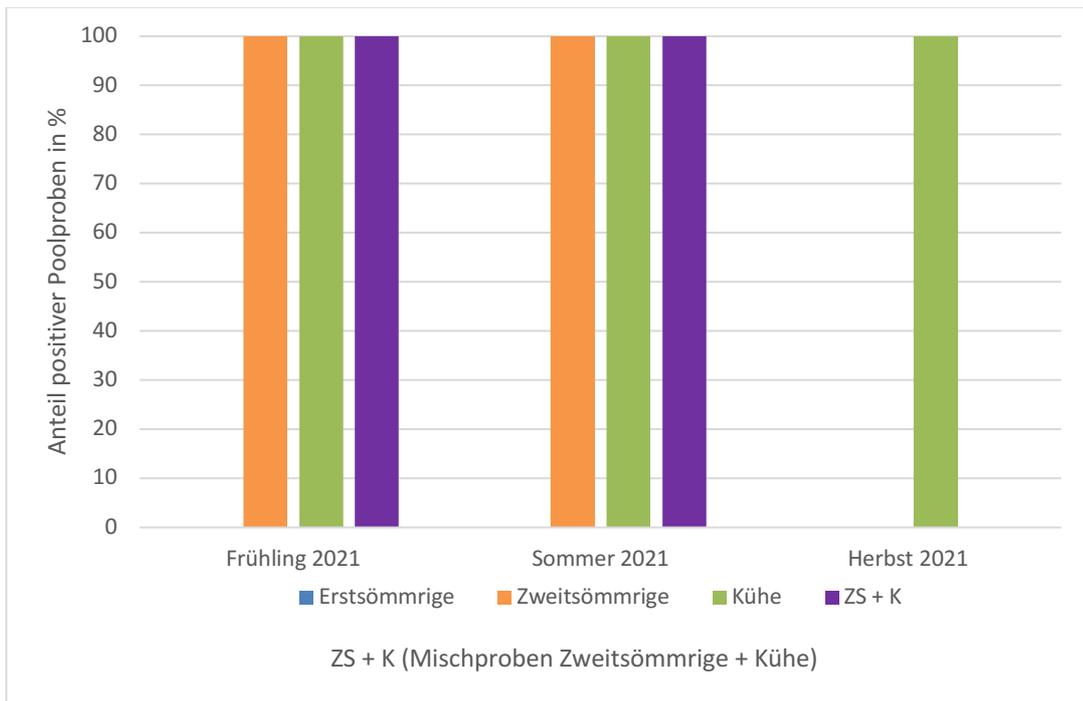


Abbildung 9: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % von Betrieb 7 (n=12)

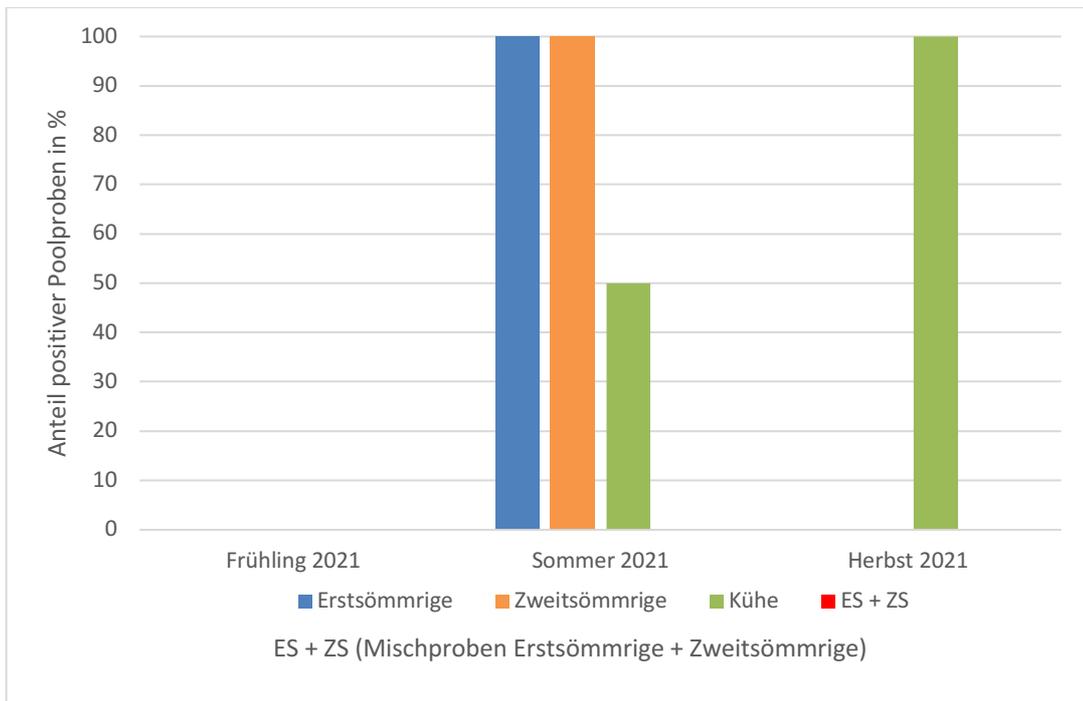


Abbildung 10 Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % von Betrieb 8 (n=12)

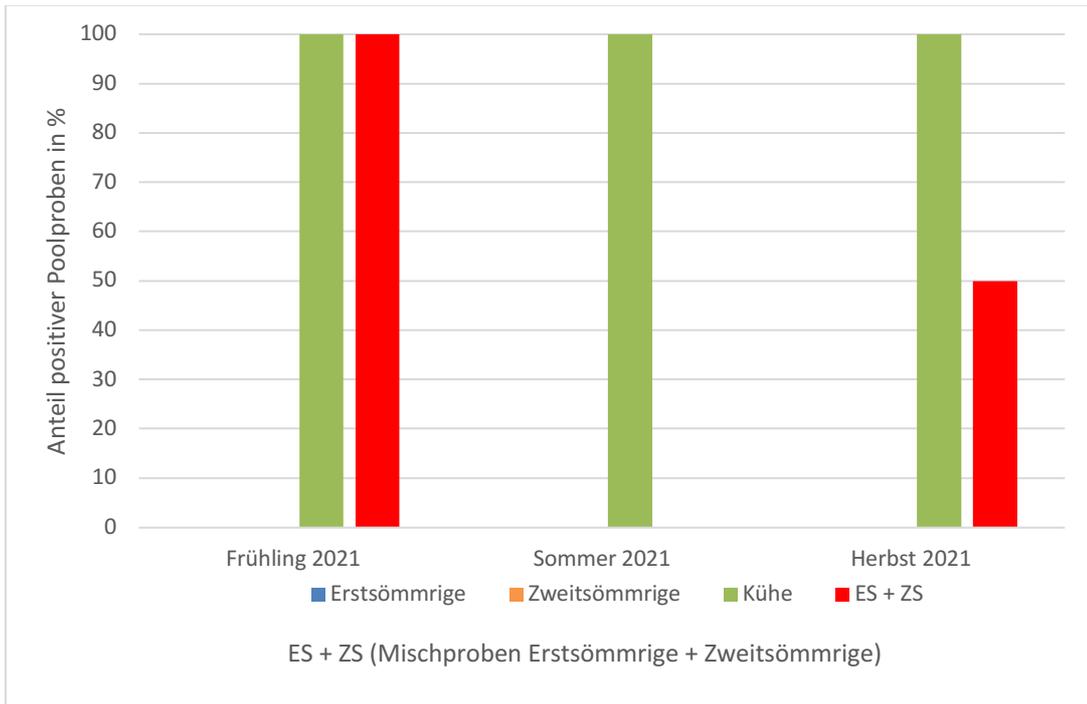


Abbildung 11: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % von Betrieb 9 (n=11)

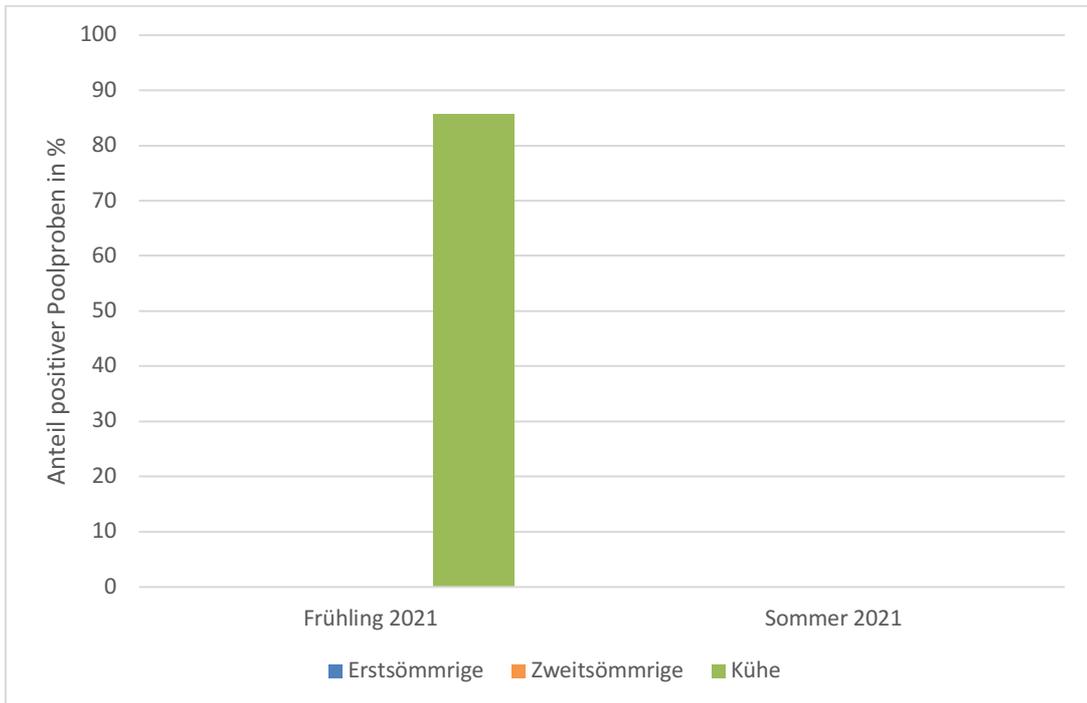


Abbildung 12: Anteil *Fasciola hepatica* positiver Poolproben in % von Betrieb 10 (n=14)