

Aus dem Department für Pathobiologie
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

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

Differenzierung von Schaf-Trichostrongyliden vor und nach anthelminthischer Behandlung

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Laura-Marie Göller

Wien, im August, 2021

Betreuerin: Dr.med.vet. Barbara Hinney, Dipl. EVPC

Institut für Parasitologie
Department für Pathobiologie
Veterinärmedizinische Universität Wien

BegutachterIn:

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1.	TAXONOMIE UND BIOLOGIE	3
2.1.1.	Taxonomische Einordnung	3
2.1.2.	Entwicklungszyklus der Trichostrongyliden	3
2.2.	PARASITÄRE GASTROENTERITIS (PGE)	4
2.2.1.	<i>Haemonchus</i>	4
2.2.2.	<i>Teladorsagia</i>	5
2.2.3.	<i>Trichostrongylus</i>	5
2.2.4.	<i>Cooperia</i>	6
2.3.	ANTHELMINTHIKARESISTENZEN (AR)	6
2.4.	METHODEN DER LARVENBESTIMMUNG	7
2.4.1.	Nachweis von <i>Haemonchus contortus</i> mittels Lektinbindungsassay	7
2.4.2.	Molekulare Methoden zur Larvenbestimmung	7
2.4.3.	Differenzierung der Larven mittels Larvenkultur	8
2.5.	MORPHOLOGISCHE UNTERSCHIEDUNGSMERKMALE DER EINZELNEN TRICHOSTRONGYLIDEN-LARVEN AUS LARVENKULTUREN	8
2.5.1.	<i>Trichostrongylus spp.</i>	10
2.5.2.	<i>Haemonchus spp.</i>	10
2.5.3.	<i>Teladorsagia spp.</i>	10
2.5.4.	<i>Cooperia spp.</i>	10
2.5.5.	Knötchenwürmer	11
3.	TIERE, MATERIAL UND METHODIK	12
3.1.	BETRIEBE UND TIERE	12
3.2.	PROBENGEWINNUNG UND AUSWERTUNG	12
3.3.	STATISTIK	14
4.	ERGEBNISSE	15

4.1.1.	<i>Trichostrongylus</i>	17
4.1.2.	<i>Haemonchus</i>	18
4.1.3.	<i>Cooperia</i>	20
4.1.4.	<i>Teladorsagia</i>	21
4.1.5.	Knötchenwürmer.....	22
4.2.	VERTEILUNG DER LARVEN VOR UND NACH ANTHELMINTHISCHER BEHANDLUNG.....	23
4.2.1.	Ergebnisse der Statistik	26
5.	DISKUSSION	28
5.1.	LIMITATIONEN	30
6.	ZUSAMMENFASSUNG.....	31
7.	SUMMARY	32
8.	LITERATURVERZEICHNIS	33
9.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	40
10.	TABELLENVERZEICHNIS	41

Abkürzungen

AR = Anthelminthikaresistenz

EPG = Anzahl der Trichostrongylideneier pro Gramm im Kot

FECRT = Eizahlreduktionstest

MDS = Magen-Darm-Strongyliden

MT-PCR = Multiplexed-tandem PCR

MZP = Messzeitpunkt

PGE = Parasitäre Gastroenteritis

rDNA = Ribosomale Desoxyribonukleinsäure

RT-PCR = Echtzeit PCR

STE = Mantelschwanzverlängerung

1. Einleitung und Fragestellung

Trichostrongyliden sind die am häufigsten vorkommenden Nematoden bei kleinen Wiederkäuern und können die Tiergesundheit und Produktivität stark beeinträchtigen (Hinney et al. 2020, Charlier et al. 2021). Eine Infektion mit diesen Parasiten kann zu vielfältigen Problemen führen, angefangen von Diarrhoe, einer mangelnden Gewichtszunahme, verringerter Woll- und Milchproduktion über Hypoalbuminämie und Anämie bis hin zum Tod (Roeber et al. 2013, Feichtenschlager et al. 2014, Besier et al. 2016, Kotze und Prichard 2016). Seit der Einführung von Breitspektrum-Anthelminthika mit guter Verträglichkeit, stützten sich die Bekämpfungsmaßnahmen stark auf deren häufige Anwendung in der gesamten Herde (van Wyk 2001). Dieser kontinuierliche Einsatz hat zur Selektion von Populationen anthelminthikaresistenter Nematoden weltweit geführt. Die hohe Prävalenz von Multiresistenzen bei Schafen definiert den Einsatz von Anthelminthika in Parasitenkontrollprogrammen neu (Geurden et al. 2015). Mittlerweile sind in Österreich Anthelminthikaresistenzen (AR) gegen die meisten Wirkstoffklassen weit verbreitet (Hinney et al. 2020, Untersweg et al. 2021).

In den letzten Jahren konnte beobachtet werden, dass es Veränderungen in der Zusammensetzung der Nematodenpopulationen bei Schafen gibt, was unter anderem auch eine Folge der Klimaerwärmung sein könnte (van Dijk et al. 2008). Die derzeit pathogenste Trichostrongyliden-Gattung, *Haemonchus contortus*, wurde 1977 bei Schafen in Österreich kaum nachgewiesen (El-Moukdad 1977). Es wurde angenommen, dass das Klima in den Bergregionen diesen Parasit nicht überleben lässt (Eckert und Hertzberg 1994). Über sein Vorkommen bei kleinen Wiederkäuern aus alpinen Regionen wird heute jedoch häufig berichtet (Hinney et al. 2020). Mittlerweile weiß man, dass *Haemonchus* besonders schnell AR entwickelt (Kotze und Prichard 2016). Weltweit stellt die AR gegen diese Parasiten eine große Bedrohung für die Schafhaltung dar (Rose et al. 2015, Besier et al. 2016, Charlier et al. 2021). Daher ist es notwendig, ein Monitoring über die Wirksamkeit der Anthelminthika durchzuführen und nachhaltige Konzepte für die Bekämpfung der Parasiten zu entwickeln (Taylor 2012, Kaplan 2020, Deplazes et al. 2021, Untersweg et al. 2021).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Trichostrongylidenlarven auf Schafbetrieben in der Region Salzburg vor und nach anthelminthischer Behandlung zu differenzieren. Die diesbezüglichen Fragestellungen lauteten:

1. Wie ist die Zusammensetzung der Trichostrongylidenspezies auf Schafbetrieben in Salzburg?

2. Welche Art ist vorwiegend am Resistenzgeschehen beteiligt (vorherrschende Art nach anthelminthischer Behandlung)?

Die Hypothesen der vorliegenden Arbeit lauteten:

1. *Trichostrongylus* und *Haemonchus* sind die in Salzburger Schafbetrieben vorherrschenden Trichostrongyliden.
2. Bei Betrieben mit Anthelminthikaresistenz ist *Haemonchus* der vorherrschende Trichostrongylid.

2. Literaturübersicht

2.1. Taxonomie und Biologie

2.1.1. Taxonomische Einordnung

Die aktuelle Taxonomie der Trichostrongyliden der kleinen Wiederkäuer setzt sich wie folgt zusammen (Deplazes et al. 2021):

Stamm:	<i>Nematoda</i>
Klasse:	<i>Secernentea</i>
Ordnung:	<i>Strongylida</i>
Überfamilie:	<i>Trichostrongyloidea</i>
Familie:	<i>Trichostrongylidae</i>
Gattungen:	<i>Haemonchus contortus</i> , <i>Teladorsagia circumcincta</i> , verschiedene <i>Trichostrongylus</i> -Arten, <i>Cooperia curticei</i> , <i>Nematodirus</i> -Arten

Zusätzlich zu den oben erwähnten Trichostrongyliden-Gattungen kommen bei kleinen Wiederkäuern noch *Oesophagostomum columbianum* und *Chabertia ovina* vor, welche im Folgenden als Knötchenwürmer zusammengefasst und zusammen mit den Trichostrongyliden als Magen-Darm-Strongyliden (MDS) bezeichnet werden.

2.1.2. Entwicklungszyklus der Trichostrongyliden

Die adulten Trichostrongyliden leben im Magen-Darm-Trakt der Schafe. Die Weibchen legen Eier, die mit dem Kot ausgeschieden werden. Die Entwicklung der Eier erfolgt (außer bei *Nematodirus*) auf der Weide über die Larvenstadien L1, L2 bis zur infektiösen L3-Larve, welche dann vom Wirt über das Gras aufgenommen wird. Nach der oralen Aufnahme entwickeln sich die Larven nach zwei Häutungen zu adulten Nematoden (Hiepe und Ganter 2001). Über die Wintermonate findet keine Entwicklung statt, jedoch können die L3-Larven auf der Weide überleben. Im Gegensatz zu den anderen Trichostrongyliden können die L4-Larven von *Haemonchus* im Wirt überwintern (Hypobiose) (Eckert et al. 2008, Deplazes et al. 2021).

2.2. Parasitäre Gastroenteritis (PGE)

Infektionen mit Trichostrongyliden kommen bei kleinen Wiederkäuern weltweit vor und sind ökonomisch gesehen die folgenschwerste aller parasitären Infektionen. Sie treten meist als Mischinfektionen insbesondere bei Jungtieren auf und können sowohl subklinische, leistungsmindernde als auch klinisch bedeutsame Erkrankungen hervorrufen (Bostedt et al. 2019). Abhängig von der Parasiten-Gattung, bestimmten Wirtsattributen (Immunkompetenz, Alter, Rasse), der Infektionsdosis und der Schwere des Befalls führt eine Infektion zu einer Gastroenteritis mit einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Diarrhoe, Anämie, Abmagerung, Inappetenz, Hypoalbuminämie, Exsikkose und Leistungsminderung. Besonders gefährdet sind junge, noch nicht immunkompetente, geschwächte und ältere Tiere (Feichtenschlager et al. 2014, Besier et al. 2016). Die Tiere infizieren sich über die orale Aufnahme der infektiösen L3-Larve. Die Trichostrongyloidose kommt typischerweise bei der Weidehaltung vor (Bostedt et al. 2019). Wichtig ist, dass die Anzahl der Trichostrongylideneier pro Gramm (EPG) im Kot nicht unbedingt mit der Anzahl der Nematoden im Gastrointestinaltrakt des Wirtes korreliert (Roeber et al. 2013). Dies gilt insbesondere für Nematoden mit relativ geringem Fortpflanzungspotenzial, wie z. B. *Trichostrongylus* (Sangster et al. 1979). Bei Arten, die viele Eier ausscheiden, wie *Haemonchus contortus*, gibt es jedoch einen Zusammenhang zwischen dem EPG und der Anzahl der erwachsenen Nematoden im Wirt (Lejambre et al. 1971, Roberts und Swan 1981).

Im Folgenden werden die Krankheitsbilder, die durch Trichostrongyliden ausgelöst werden können, für die jeweiligen Spezies einzeln beschrieben.

2.2.1. *Haemonchus*

Der auch als gedrehter Magenwurm bezeichnete, blutsaugende, *Haemonchus contortus* parasitiert im Labmagen (Bostedt et al. 2019). Er ist der fruchtbarste aller Trichostrongyliden. Einzelne Weibchen sind in der Lage, tausende Eier pro Tag zu produzieren, was zu einer schnellen Kontamination der Weide mit Larven und damit zu Ausbrüchen von Hämonchose führen kann (Levine 1968). Bei Schafen beträgt die Präpatenzzeit von *Haemonchus* 18–21 Tage. Adulte Nematoden überleben in ihren Wirten nur wenige Monate. Die bedeutendsten pathogenen Auswirkungen werden von den L4-Larven und den adulten Nematoden verursacht, die sich beide von Blut ernähren und eine schwere Anämie verursachen können, welche in der Regel zwei Wochen nach der Infektion sichtbar wird (Baker et al. 1959, Roeber

et al. 2013). Durch Zerstörung der Belegzellen gerät zusätzlich die Salzsäureproduktion im Labmagen aus dem Gleichgewicht. Daraus folgt ein Anstieg des pH-Wertes mit einer Veränderung des mikrobiellen Milieus. Zusätzlich kommt es zu einer fehlenden Pepsinaktivierung, wodurch die Eiweiße in der Nahrung nicht mehr aufgeschlossen werden können. Durch die Lockerung der Zellverbindungen in der Schleimhaut des Labmagens kommt es zusätzlich zum Plasmaproteinverlust (Bostedt et al. 2019). Die akute Erkrankung ist in der Regel von der Intensität der Infektion abhängig und geht mit Anzeichen einer hämorrhagischen Anämie, mit dunkel gefärbtem Kot, Ödemen, Schwäche, verminderter Produktion von Wolle und Muskelmasse, vereinzelt auch mit plötzlichem Tod, einher. Bei einer chronischen Erkrankung kommt es zu einer reduzierten Nahrungsaufnahme, Gewichtsverlust und Anämie (Kassai 1999, Taylor et al. 2007).

2.2.2. *Teladorsagia*

Die Weibchen dieser Gattung sind mit einer durchschnittlichen Eiproduktion von 100–200 Eiern pro Tag weniger fruchtbar als *Haemonchus* (Cole 1986). Die Larvenentwicklung findet in den Labmagendrüssen statt, was zu einer Knötchenbildung in der Labmagenmucosa und zu einer umfassenden Schädigung der Parietalzellen führt. Dies hat wiederum einen Rückgang der Salzsäureproduktion zur Folge (Anderson et al. 1985, McKellar 1993). Infolgedessen führt der Anstieg des Labmagen-pH-Wertes zu einer verminderten Umwandlung von Pepsinogen in die aktive Form von Pepsin. Dies bedingt einen erhöhten Pepsinogenspiegel im Plasma und eine verminderte Proteinverdauung (Stear et al. 2003). Die wesentlichen Symptome nach einer Infektion äußern sich in einer wässrigen Diarrhoe und einer dementsprechenden Verschlechterung des Allgemeinbefindens. Zusätzlich können Appetitlosigkeit und mangelnde Gewichtszunahme bis hin zur Kachexie auftreten. Unbehandelt droht den Tieren akutes Versterben (Boch 2006).

2.2.3. *Trichostrongylus*

Je nach Gattung tritt *Trichostrongylus* im Labmagen oder im Dünndarm auf. Die wichtigsten pathogenen Effekte werden durch die L3-Larven von *Trichostrongylus vitrinus*, die sich zwischen den Enterozyten der Darmzotten anheften und zur Bildung von intraepithelialen Tunneln führen, verursacht (Beveridge et al. 1989). Sie entwickeln sich in diesen Tunneln innerhalb von 10–12 Tagen nach der Infektion zu adulten Nematoden, welche dann in den

Labmagen oder den Dünndarm auswandern und zu Symptomen bei den Wirten führen. Dazu zählen eine generalisierte Enteritis mit wässriger Diarrhoe, einschließlich Blutungen, Ödeme und Plasmaproteinverlust ins Darmlumen. Eine sich anschließende Hypoalbuminämie und Hypoproteinämie kann die Folge einer Infektion mit dieser Trichostrongyliden-Gattung sein (Barker 1975, Barker und Titchen 1982). Besonders betroffen sind Lämmer und Absetzer, aber auch die Wollqualität bei älteren Schafen kann infolge einer Infektion stark beeinträchtigt sein (Donald et al. 1978).

2.2.4. *Cooperia*

Cooperia parasitiert im Duodenum. Die Symptome bei einem Befall sind mäßige bis hochgradige Diarrhoe, verminderte Futteraufnahme und folglich eine reduzierte Gewichtszunahme. Todesfälle sind eher selten (Hiepe et al. 2006).

2.3. Anthelminthikaresistenzen (AR)

Laut Definition besitzen anthelminthikaresistente Parasitenpopulationen die Eigenschaft, eine Anthelminthikadosis zu tolerieren, die für die meisten Individuen einer empfindlichen Population letal wäre (Deplazes et al. 2021). Somit besteht die Möglichkeit, dass initial empfindliche Parasitenpopulationen eine AR entwickeln. Eine Mehrfachresistenz richtet sich gegen verschiedene Wirkstoffgruppen (Deplazes et al. 2021).

Bei kleinen Wiederkäuern sind die AR gegen Trichostrongyliden zu einer weltweiten Bedrohung für die Tierhaltung geworden (Deplazes et al. 2021). Der Mechanismus in der Entstehung einer AR ist in erster Linie ein Selektionsvorgang und besteht darin, dass für einige Individuen von Parasitenpopulationen die Behandlung mit Anthelminthika deshalb nicht letal ist, weil sie durch Genmutation eine stärkere Toleranz gegen den Wirkstoff aufweisen. In der Folge kann es zur Selektion resistenter Stämme kommen (Bostedt et al. 2019, Deplazes et al. 2021). Zu den begünstigenden Faktoren in der Entwicklung einer AR gehören subtherapeutisch dosierte Anthelminthikapräparate, eine hochfrequente und langfristige Behandlung mit denselben Wirkstoffklassen, Parasiten mit kurzen Generationszeiten, ein kleines Refugium und eine intrinsisch niedrige Empfindlichkeit (Bostedt et al. 2019, Deplazes et al. 2021). Die am meisten untersuchten AR richten sich gegen Benzimidazole. Sie basieren auf der Selektion von Allelen bestimmter β -Tubulin-Isotypen und deren verringerter Bindungsaffinität für Benzimidazole (Deplazes et al. 2021).

2.4. Methoden der Larvenbestimmung

Wegen der unterschiedlichen Pathogenität der Nematoden sowie der je nach Spezies verschieden starken Eiausscheidung, aber auch für die Bestimmung der an der AR beteiligten Gattungen, ist es wichtig, eine Bestimmung der verschiedenen Trichostrongyloiden vorzunehmen, da sich nur *Nematodirus* anhand der Eier (Größe und Morphologie) zuverlässig unterscheiden lässt (Lejambre et al. 1971, Roberts und Swan 1981, Roeber et al. 2013, Bostedt et al. 2019). Im Folgenden werden verschiedene Möglichkeiten der Larvenbestimmung aufgezeigt. In dieser Studie erfolgte die mikroskopische Bestimmung der Larven nach Anlegen einer Larvenkultur, wie es in Kapitel 2.5. ausführlich beschrieben wird.

2.4.1. Nachweis von *Haemonchus contortus* mittels Lektinbindungsassay

Haemonchus contortus kann auch durch den Lektinbindungsassay bestimmt werden. Bei diesem Verfahren werden die Nematodeneier aus dem Kot isoliert und kurz mit einem fluoreszierenden Farbstoff bebrütet, der mit einem Lektin (Erdnussagglutinin) konjugiert ist, welches eine spezifische Affinität zu *Haemonchus contortus*-Eiern aufweist (Palmer und McCombe 1996). Die Eier mit einem fluoreszierenden Rand werden gezählt und der Anteil der *Haemonchus contortus*-Eier geschätzt (Besier et al. 2016). Im Vergleich zur Larvenkultur weist der Lektin-basierte Assay einen hohen Grad an Spezifität für *Haemonchus*-Arten auf (Palmer und McCombe 1996, Jurasek et al. 2010), erfordert keine besonderen Fähigkeiten zur Identifizierung und kann innerhalb von 2–3 Stunden durchgeführt werden (Besier et al. 2016). Im Moment ist dieser Test nur für *Haemonchus contortus* möglich, obwohl Lektine gefunden wurden, die auch für andere Schafnematoden spezifisch sind (Colditz et al., 2002), wodurch die Technik möglicherweise auf andere parasitäre Nematoden ausgeweitet werden kann. In den meisten Fällen besteht die Hauptanforderung an die Artbestimmung jedoch darin, das Vorhandensein und den Anteil von *Haemonchus contortus*-Eiern nach der Quantifizierung von Trichostrongyloiden-Eiern in einer Kotprobe anzugeben (Besier et al. 2016).

2.4.2. Molekulare Methoden zur Larvenbestimmung

PCR-basierte Methoden, die spezifische genetische Marker in den internen transkribierten Spacern der nuklearen rDNA einsetzen, haben das epidemiologische Instrumentarium

verbessert (Gasser et al. 2008). Einige Studien um Roeber zeigen auf, dass Echtzeit-PCR (RT-PCR) und multiplexed-tandem PCR (MT-PCR) Assays die zeitaufwändige Methode der Larvenkultur ersetzen können (Roeber et al. 2011, 2012a, 2012b). Diese Methode basiert auf dem Nachweis und der enzymatischen Amplifikation von artspezifischen Markern der ribosomalen Desoxyribonukleinsäure (rDNA) (Roeber et al. 2017). Die MT-PCR kann innerhalb eines Tages durchgeführt werden, wodurch die Zeit bis zu einer Diagnose wesentlich verkürzt werden kann. Außerdem besitzt sie eine hohe Sensitivität und Spezifität und erfordert kein parasitologisches Hintergrundwissen um die Larven bestimmen zu können (Roeber et al. 2013). Ein Nachteil dieser Methoden ist der hohe Kostenfaktor und die Voraussetzung, auf die entsprechenden Geräte zugreifen zu können. Somit muss für die normale Routinediagnostik weiterhin auf das aufwändigere Differenzieren der L3-Larven aus Larvenkulturen zurückgegriffen werden.

2.4.3. Differenzierung der Larven mittels Larvenkultur

Zur mikroskopischen Differenzierung der einzelnen Trichostrongyliden-Gattungen muss eine Anzucht der infektiösen L3-Larven mittels Larvenkultur mit einer anschließenden Larvendifferenzierung erfolgen. Eine Larvenkultur ist zwar leicht anzulegen, jedoch braucht es Zeit, um die Kotproben zu kultivieren und ebenso Erfahrung, um die verschiedenen Gattungen zu unterscheiden (Besier et al. 2016). Aufgrund von Überarbeitungen der Bestimmungskriterien konnte die Genauigkeit und Geschwindigkeit zum Bestimmen der Larven durch einen detaillierten Leitfaden erhöht werden (van Wyk und Mayhew 2013). Eine zu beachtende potenzielle Fehlerquelle besteht darin, dass verschiedene Trichostrongyliden-Gattungen unterschiedlich auf die Bedingungen der Kulturen reagieren, was sich auf die Größe der infektiösen Larven (Rossanigo und Gruner 1996) und den Anteil der verschiedenen Arten in den Kulturen auswirken kann (Dobson et al. 1992, McKenna 1998). In Kapitel 2.5. werden die morphologischen Unterscheidungsmerkmale der Larven ausführlich beschrieben.

2.5. Morphologische Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Trichostrongyliden-Larven aus Larvenkulturen

In der vorliegenden Arbeit wurden *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Cooperia*, *Teladorsagia* und Knötchenwürmer der kleinen Wiederkäuer differenziert. Nachfolgend werden die wichtigsten Unterscheidungskriterien näher beschrieben. Die morphologische Identifizierung

von L3-Larven basiert hauptsächlich auf der Untersuchung der kaudalen (Kopf) und kranialen (Schwanz) Extremitäten. Ebenso sind einige andere Merkmale wie Länge oder Form des Ösophagus oder kraniale dunkle Flecken wichtige Unterscheidungsmerkmale (van Wyk und Mayhew 2013).

Im Jahr 2004 wurde ein neues Konzept zur vereinfachten Identifizierung von Larven der häufigsten Nematoden von Rindern, Schafen und Ziegen eingeführt (van Wyk und Mayhew 2013). Es besteht aus der Messung der Länge der Mantelschwanzverlängerung (STE) (Abbildung 1 „c“) der L3-Larve jeder Gattung und dem Vergleich dieser mit der von *Trichostrongylus*, anstatt nur auf Messungen in Mikrometern angewiesen zu sein. Dazu wird die STE jeder zu identifizierenden Larve mit denen von *Trichostrongylus colubriformis* und *Trichostrongylus axei* (ca. 33 µm) durch 'X' dargestellt und verglichen (Länge der STE der zu identifizierenden L3-Larve (Abb. 1 „c“) = STE / 'X') (van Wyk und Mayhew 2013). Für die Messung wird die Verlängerung des Mantels über die kaudale Spitze der Larve (Abbildung 1 „b“) hinaus bis zum Ende der Larve ermittelt. Bei manchen Arten endet die STE in einem Filament (Abbildung 1 „d“). Es wird also die Länge der STE von *Trichostrongylus colubriformis* und *Trichostrongylus axei* als 'X' angenommen ('X' = ± 33 µm) und die Länge der anderen Larven-Arten werden damit verglichen (van Wyk und Mayhew 2013).

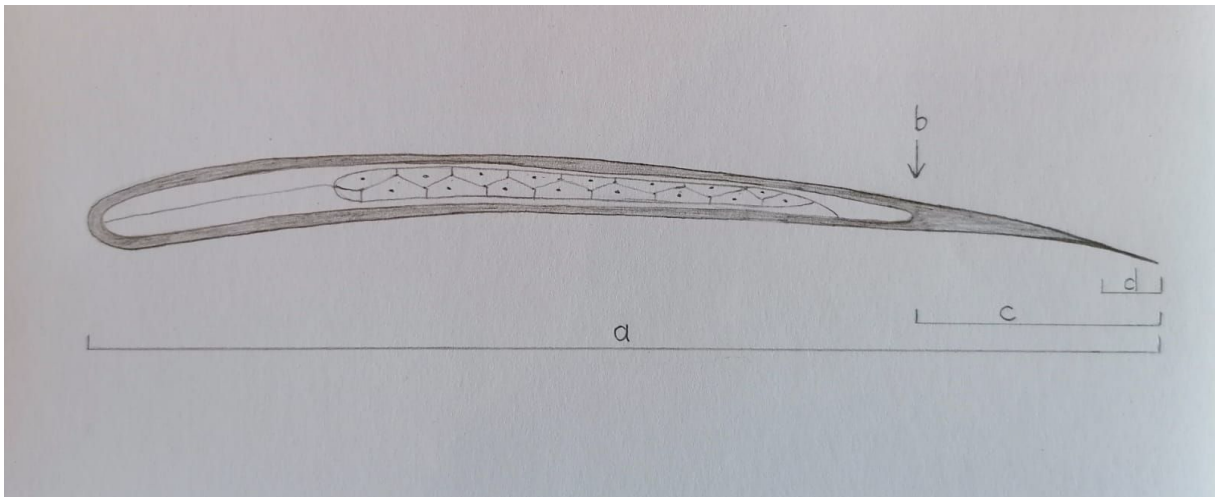


Abbildung 1: Schematische Darstellung einer infektiösen L3-Larve nach Wyk (van Wyk und Mayhew 2013)

(a), Gesamtlänge, (b) Schwanzanfang, (c) Mantelschwanzverlängerung (STE), (d) Filament.

2.5.1. *Trichostrongylus* spp.

Trichostrongylus-Larven haben eine Gesamtlänge zwischen 710 µm (*Trichostrongylus colubriformis*) und 730 µm (*Trichostrongylus falculatus*) und eine STE von ungefähr 33 µm (STE = 'X') (*Trichostrongylus Colubriformis* und *Trichostrongylus axei*). Der STE ist ohne Filament und verjüngt sich zum Ende hin. Der Kopf erscheint eher rund und ohne Pigment. Die Identifizierung der verschiedenen *Trichostrongylus*-Arten (*Trichostrongylus colubriformis*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus*) erfolgt basierend auf Unterschieden in der Morphologie der Schwanzspitzen der Larven. In dieser Arbeit wurden die unterschiedlichen *Trichostrongylus*-Arten zwar registriert, jedoch im Weiteren nicht mehr unterschieden. Der sehr kurze STE von *Trichostrongylus colubriformis* und *Trichostrongylus axei* wird als Grundlage des Klassifikationssystems nach Wyk verwendet. (van Wyk und Mayhew 2013).

2.5.2. *Haemonchus* spp.

Die infektiöse Larve von *Haemonchus* der kleinen Wiederkäuer hat eine Gesamtlänge von ungefähr 730 µm mit einer Schwanzlänge von etwa 75 µm, einer STE Länge von 2,2–2,7 'X' und einem Filament von 10–15 % (van Wyk und Mayhew 2013).

2.5.3. *Teladorsagia* spp.

Die *Teladorsagia*-Larve zählt mit einer Gesamtlänge von etwa 830 µm, wie auch *Cooperia*, zu den langen Larven. Die Schwanzlänge misst ca. 35 µm und die Schwanzspitze ist glatt, ähnlich der von *Trichostrongylus axei*. Die Kopfform ist ganz kranial abgeplattet und im Vergleich mit *Trichostrongylus* nicht rund. Der STE von *Teladorsagia* ist hinsichtlich Länge und Aussehen ähnlich dem des *Trichostrongylus*, hat eine Länge von 1,2 'X' und besitzt ebenso kein Filament (van Wyk und Mayhew 2013).

2.5.4. *Cooperia* spp.

Die Gesamtlänge der *Cooperia*-Larven beträgt zwischen 780 µm (*Cooperia curticei*) und 865 µm (*Cooperia oncophora*). *Cooperia* zählt zusammen mit *Teladorsagia* zu den größten Larven. Die Schwanzlänge beträgt zwischen 45 µm (*Cooperia curticei*) und 75 µm (*Cooperia*

oncophora). *Cooperia*-Larven besitzen ein Filament von ca. 20 % und ein STE von 1,5 'X' (*Cooperia curticei*) und 2.4 'X' (*Cooperia oncophora*). Die *Cooperia*-Larven unterscheiden sich von den anderen durch zwei einzigartige dunkle Körper im Kopf der Larven (van Wyk und Mayhew 2013).

2.5.5. Knötchenwürmer

Zu den Knötchenwürmern werden *Oesophagostomum* und *Chabertia* gezählt. Das Hauptunterscheidungsmerkmal liegt in der Anzahl der Darmzellen. Während die anderen Larven 16 Darmzellen haben, können bei *Oesophagostomum* 18–22 und bei *Chabertia* 28–32 beobachtet werden. Ein Merkmal der L3-Larven beider Gattungen ist, dass sie einen relativ langen STE haben. Sie ähneln einander stark und sind nicht leicht zu unterscheiden. Die Gesamtlänge von *Oesophagostomum* beträgt in etwa 850 µm und die Schwanzlänge 155 µm. Der STE beträgt ca. 5 'X' und das Filament 60 %–70 %. *Chabertia* hat eine Gesamtlänge von etwa 750 µm und eine Schwanzlänge von 125 µm. Die Länge des STE beträgt ca. 4 'X' und das Filament 25 % (van Wyk und Mayhew 2013).

3. Tiere, Material und Methodik

Ein Großteil dieses Kapitels ist auch in der bereits veröffentlichten Publikation, bei der auch die Autorin dieser Diplomarbeit Co-Autorin ist, erschienen (Untersweg et al. 2021).

3.1. Betriebe und Tiere

Im Zeitraum von Oktober 2019 bis Dezember 2019 wurden bei insgesamt 16 Schafbetrieben aus dem Bundesland Salzburg, bei denen eine Durchführung hinsichtlich Erreichbarkeit, Praktikabilität und Interesse durch die behandelnden Tierärztinnen und Tierärzte und Landwirte möglich war, Kotproben zur Untersuchung entnommen. Die Herdengröße betrug zwischen sechs und 19 Tieren. Elf Betriebe wurden vom Tiergesundheitsdienst des Landes Salzburg beraten und per E-Mail über AR informiert. Eine Diplomandin des Instituts der Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien (Viktoria Ferner) besuchte sie persönlich. Die Informationen sollten dazu beitragen, auf die Problematik der AR hinzuweisen und die Betriebe zur Teilnahme ermutigen. Darüber hinaus nahmen auch fünf Betriebe teil, die nicht im Tiergesundheitsdienst des Landes Salzburg organisiert waren, die jedoch Probleme bei ihren Herden beobachteten und ihr Entwurmungsmanagement verbessern wollten. Diese wurden nicht besucht, sondern die Proben wurden von den behandelnden Tierärztinnen und Tierärzten nach Anleitung des Institutes für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität entnommen und eingereicht.

3.2. Probengewinnung und Auswertung

Von jedem teilnehmenden Schaf der untersuchten Herden wurde der Kot rektal entnommen. Um die korrekte Menge des Anthelminthikums berechnen zu können, wurden die Schafe auf einer tragbaren Waage (Soehnle Professional 2755, Soehnle Industrial Solutions GmbH, Backnang, Deutschland) gewogen. Einen Tag nach der Kotuntersuchung kam es dann zur Entwurmung durch ein von den Tierärztinnen und Tierärzten frei gewähltes Anthelminthikum (Untersweg et al. 2021). Folgende Anthelminthika kamen zum Einsatz:

Tabelle 1: Übersicht der verwendeten Anthelminthika der einzelnen Betriebe

Anthelminthikum	Fenbendazol	Ivermectin	Albendazol	Monepantel	Moxidectin
Betrieb	9	12, 13, 16	1, 7, 10, 14*, 15	8, 11	2, 3, 4, 5, 6, 14**

*Jungschafe, **Altschafe

Die Proben wurden innerhalb von drei Tagen mittels Mini-FLOTAC (University of Naples Federico II) mit einer Nachweisgrenze von 5 Eiern pro Gramm (EPG) Kot unter Verwendung einer Natriumchlorid-Flotationslösung (FS2, spezifisches Gewicht = 1,200) für jedes teilnehmende Schaf der Herde im parasitologischen Institut der Veterinärmedizinischen Universität Wien untersucht (= Messzeitpunkt 1, im Folgenden MZP 1). Anschließend wurde von jedem Betrieb aus einer Sammelkotprobe eine Larvenkultur angelegt. Es gibt verschiedene Methoden zur Herstellung von Kotkulturen. In der vorliegenden Arbeit wurde das Verfahren nach Wyk angewandt (van Wyk und Mayhew 2013). Um eine körnige Mischung zu erhalten, wurden die Sammelkotproben mit Vermiculit gemischt und in Glasgefäße gegeben. Anschließend erfolgte die Befeuchtung mit ausreichend Wasser, um eine Austrocknung der Kulturen zu verhindern. Danach wurden sie bei 25°C für 13 Tage in einem Wärmeschrank im Dunkeln bebrütet und in dieser Zeit regelmäßig kontrolliert und ggf. befeuchtet. Zum Ernten der Larven wurden die Glasgefäße mit warmem Wasser aufgefüllt und umgestülpt in einer Petrischale für einige Stunden stehen gelassen, damit die L3-Larven in die Petrischale einwandern konnten. Zum Ernten der Larven wurde das Wasser mit den ausgewanderten Larven mittels einer Pipette entnommen und in ein Probengefäß überführt. Zur Bestimmung der Larven wurde ein Tropfen der gewonnenen Flüssigkeit auf einen Objektträger pipettiert und mit einem Deckglas abgedeckt. Anschließend wurde das Präparat von oben links beginnend mäanderförmig unter dem Mikroskop nach Larven abgesucht, und die ersten 100 Larven wurden differenziert. Falls einzelne Larven noch lebten und aufgrund von schnellen Bewegungen nicht bestimmt werden konnten, wurde der Objektträger an der entsprechenden Stelle mit einem Feuerzeug abgeflammt, um so die Larve abzutöten. Die Larvendifferenzierung erfolgte wie in Kapitel 2.5. beschrieben.

Am Tag 14 nach der anthelminthischen Behandlung wurden erneut Kotproben gesammelt und nach der gleichen Vorgehensweise wie bei der ersten Probennahme ausgewertet (MZP 2). Bei allen Betrieben, bei denen keine ausreichende Eireduktion stattgefunden hatte, wurde erneut eine Larvenkultur mit anschließender Larvendifferenzierung angelegt. Die Definition von AR erfolgte in Anlehnung an Coles et al. (Coles et al. 1992), wobei eine Resistenz als vorhanden gilt, wenn die Eizahlreduktion weniger als 95 % und das untere Konfidenzintervall weniger als 90 % beträgt. Eine vermutete Resistenz liegt vor, wenn nur eines der beiden Kriterien beobachtet wird.

Eine detailliertere Beschreibung zur Probengewinnung und Auswertung findet sich in Untersweg et al. (2021).

3.3. Statistik

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm R (2021). Das Signifikanzniveau wurde für alle Analysen mit 0,05 festgelegt. Um zu analysieren, ob sich die Verteilung der Larven zwischen den MZP unterscheidet, wurden Chi-Quadrat-Tests berechnet. Hierfür wurden nur Betriebe herangezogen, für die zu beiden MZP Daten vorlagen. Dies war bei den Betrieben 3, 8 und 9 gegeben.

4. Ergebnisse

Die Ergebnisse wurden bereits in einer Publikation zusammengefasst (Untersweg et al. 2021). Im Folgenden soll die Anzahl der vorkommenden Larven für die jeweiligen Betriebe vor und zwei Wochen nach anthelminthischer Behandlung (MZP 1 und MZP 2) noch etwas detaillierter beschrieben werden. Da nicht bei allen Larvenkulturen ausreichend Larven gewonnen werden konnten, liegen nicht für alle Betriebe entsprechende Daten vor. Es zeigte sich eine verminderte Wirksamkeit aller verwendeten Anthelminthikapräparate bei der Hälfte der untersuchten Betriebe (Untersweg et al. 2021, siehe auch Tabelle 3).

Tabelle 2 zeigt den Anteil der differenzierten Larven zum MZP 1.

Tabelle 2: Anteil der Larven für jeden Betrieb zum MZP 1

Betrieb	Häufigkeiten MZP 1					Anthelminthikum
	Haemonchus	Trichostrongylus	Teladorsagia	Knötchenwurm	Cooperia	
1	0	1	0	0	0	Albendazol
2	8	10	0	0	0	Moxidectin
3	19	40	1	1	0	Moxidectin
4	40	6	0	0	0	Moxidectin
5	2	10	0	0	10	Moxidectin
6	3	0	0	0	3	Moxidectin
7	-	-	-	-	-	Albendazol
8	12	86	0	2	0	Monepantel
9	16	23	1	3	57	Fenbendazol
10	1	0	0	0	0	Albendazol
11	0	11	7	0	15	Monepantel
12	3	116	0	1	0	Ivermectin
13	40	16	0	2	43	Ivermectin
14	1	1	0	0	0	Albendazol/Moxidectin
15	24	53	16	9	8	Albendazol
16	0	1	0	0	0	Ivermectin
Gesamt	169	374	25	18	136	
Gesamt %	23,41 %	51,80 %	3,46 %	2,49 %	18,84 %	

Legende: MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, 0 = keine Larven gefunden, - = keine Larven geschlüpft

Bei Betrieb 7 sind keine Larven geschlüpft. Am häufigsten und für fast alle Betriebe (außer 6 und 10) konnte *Trichostrongylus* und *Haemonchus* (außer Betrieb 1, 11, 16) gefunden werden. *Cooperia* konnte insgesamt bei sechs Betrieben (5, 6, 9, 11, 13, 15) identifiziert werden. Ebenfalls bei sechs Betrieben (3, 8, 9, 12, 13, 15) kamen Knötchenwürmer vor. Mit vier

Betrieben (3, 9, 11, 15) am seltensten wurde *Teladorsagia* nachgewiesen. Insgesamt am häufigsten kam *Trichostrongylus* mit 51,8 %, gefolgt von *Haemonchus* mit 23,4 % und *Cooperia* mit 18,8 % vor. *Teladorsagia* war mit 3,5 % und Knötchenwürmer mit 2,5 % vertreten.

Tabelle 3 zeigt den Anteil der differenzierten Larven zum MZP 2. Bei acht Betrieben fand nach der anthelminthischen Behandlung keine ausreichende Eizahlreduktion statt, daher konnte hier eine Larvenkultur nach der Behandlung angelegt werden (MZP 2). Bei vier der Betriebe liegen keine Daten vor, da für diese Betriebe keine Larven geschlüpft sind. Deshalb existieren bezüglich MZP 2 nur Daten für insgesamt vier Betriebe (1, 3, 8, 9). Einer davon (Betrieb 1) konnte aufgrund der geringen Anzahl der gefundenen Larven nicht in der Statistik berücksichtigt werden. Bei den drei verbleibenden Betrieben (3, 8, 9) mit Daten zu beiden MZP, war *Trichostrongylus* zu beiden MZP am häufigsten, gefolgt von *Cooperia* und *Haemonchus*, vertreten. *Cooperia* wurde allerdings nur bei einem Betrieb, dafür jedoch in großer Anzahl, zu beiden MZP gefunden (Betrieb 9). Bei den anderen Betrieben, bei denen zum MZP 1 *Cooperia*-Larven gefunden wurden, führte die anthelminthische Behandlung zu einer ausreichenden Reduktion der Nematoden. Daher wurde keine zweite Larvenkultur angelegt (Betrieb 5, 6, 11, 15). Auffällig ist jedoch, dass bei allen Betrieben *Trichostrongylus* mit 60 % am häufigsten zu finden war. Am zweithäufigsten wurde *Cooperia* mit 30,2 %, gefolgt von *Haemonchus* mit 7,8 %, gefunden. *Teladorsagia* mit 0,4 % und Knötchenwürmer mit 1,6% konnten jeweils nur noch für einen Betrieb und in geringer Anzahl beobachtet werden (Betrieb 1 und 3).

Tabelle 3: Anteil der Larven für jeden Betrieb zum MZP 2

Betrieb	Häufigkeiten MZP 2					
	<i>Haemonchus</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Teladorsagia</i>	Knötchenwurm	<i>Cooperia</i>	Anthelminthikum
1	1	8	1	0	1	Albendazol
2	-	-	-	-	-	Moxidectin
3	13	70	0	4	0	Moxidectin
8	1	56	0	0	0	Monepantel
9	5	19	0	0	76	Fenbendazol
10	-	-	-	-	-	Albendazol
13	-	-	-	-	-	Ivermectin
16	-	-	-	-	-	Ivermectin
Gesamt	20	153	1	4	77	
Gesamt %	7,84 %	60,00 %	0,39 %	1,57 %	30,20 %	

Legende: MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung, 0 = keine Larven gefunden, - = keine Larven geschlüpft

In den Abbildungen 2–11 wird die Verteilung der einzelnen Trichostrongyliden einmal für die Betriebe, für die zu beiden MZP Daten vorliegen, und einmal für alle untersuchten Betriebe über beide MZP aufgezeigt. Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse für die einzelnen Trichostrongyliden-Gattungen aufgezeigt.

4.1.1. *Trichostrongylus*

Zum MZP 1 konnten bei 13 Betrieben (1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 14, 16) *Trichostrongylus*-Larven differenziert werden (siehe Abbildung 3). Für vier davon liegen auch zum MZP 2 Daten vor (1, 3, 8, 9). Insgesamt wurde *Trichostrongylus* am häufigsten beobachtet und konnte bei fast allen Betrieben (bis auf 6 und 10), bei denen Larven geschlüpft sind, zum MZP 1 nachgewiesen werden. Von den vier Betrieben (1, 3, 8, 9), bei denen für *Trichostrongylus* zu beiden MZP Daten vorlagen, konnten auch zum MZP 2 noch Larven gefunden werden. Bei zwei davon wurde sogar eine Zunahme des Anteils von *Trichostrongylus* zwischen MZP 1 und MZP 2 beobachtet.

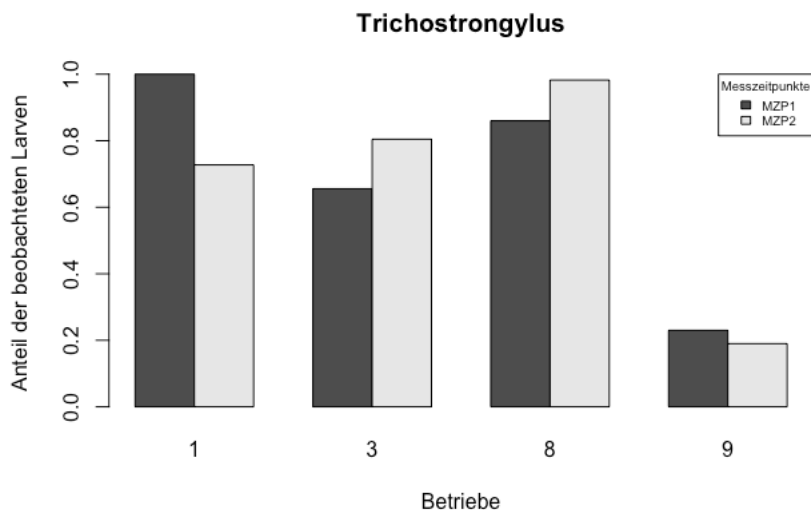


Abbildung 2: Anteil der *Trichostrongylus*-Larven zu beiden MZP

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

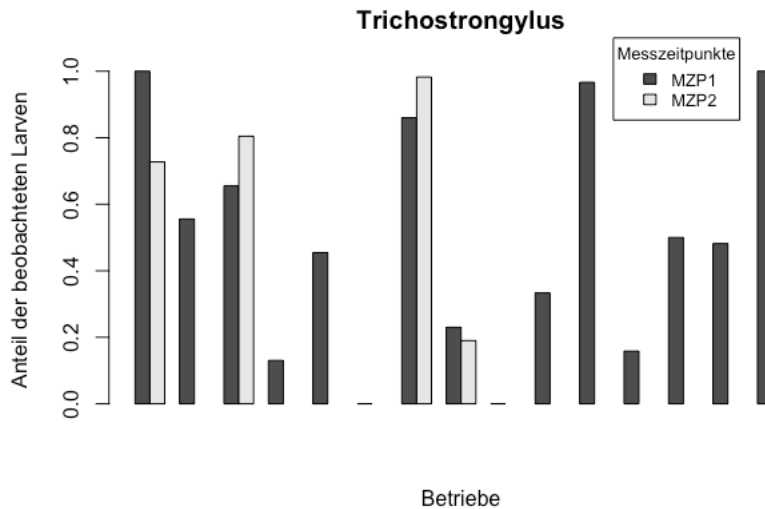


Abbildung 3: Anteil der *Trichostrongylus*-Larven zum MZP1 und MZP 2 über alle Betriebe.

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

4.1.2. *Haemonchus*

Bei zwölf Betrieben (2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15) wurden zum MZP 1 *Haemonchus*-Larven nachgewiesen (siehe Abbildung 5). Für vier davon liegen auch zum MZP 2 Daten vor (1, 3, 8, 9). Somit konnte der für Schafe pathogenste *Haemonchus* nach *Trichostrongylus* am zweithäufigsten identifiziert werden. Lediglich bei drei Betrieben (1, 11, 16) wurden zum MZP 1 keine Larven gefunden. Für vier Betriebe (1, 3, 8, 9) liegen zu beiden MZP Daten vor, wobei bei einem Betrieb (1) zum MZP 2 nur eine Larve gefunden wurde und zum MZP 1 gar keine. Bei Betrieb 8 wurden zum MZP 1 Larven gefunden, allerdings konnte zum MZP 2 nur noch eine einzige nachgewiesen werden. In den vier Betrieben, für die zu beiden MZP Daten vorliegen, kam es bei dreien (3, 8, 9) zu einer Reduktion der Larven zwischen MZP 1 und MZP 2 (siehe Abbildung 4).



Abbildung 4: Anteil der *Haemonchus*-Larven zu beiden MZP

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

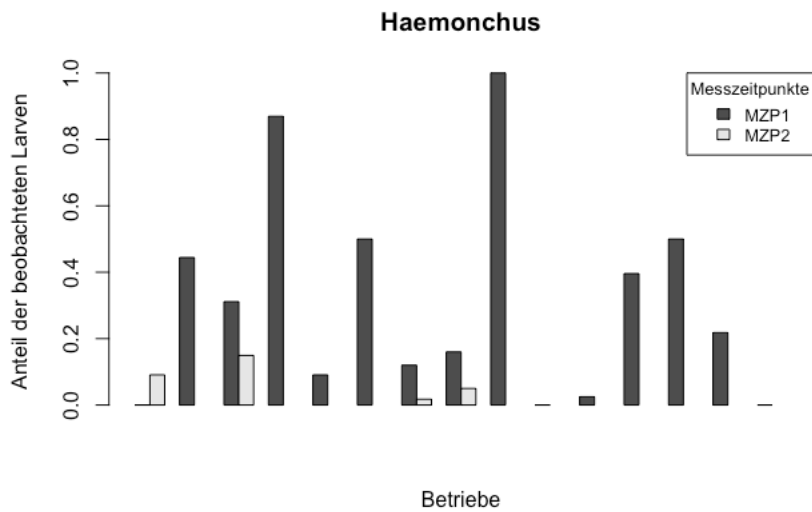


Abbildung 5: Anteil der *Haemonchus*-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

4.1.3. Cooperia

Cooperia-Larven wurden zum MZP 1 insgesamt bei sechs Betrieben gefunden (5, 6, 9, 11, 13, 15). Für fünf davon liegen zum MZP 2 keine Daten vor (Betrieb 5, 6, 11, 13, 15). Zum MZP 2 wurde bei einem Betrieb (Betrieb 1) eine Larve identifiziert, allerdings zum MZP 1 keine. Nur für einen Betrieb (9) liegen zu beiden MZP Daten vor, bei diesem konnte sogar ein Anstieg des Larvenanteils zum MZP 2 beobachtet werden (siehe Abbildung 6).

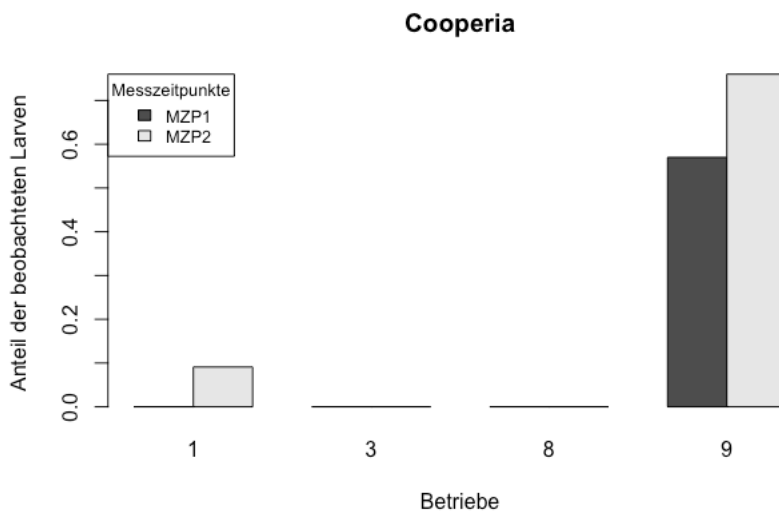


Abbildung 6: Anteil der *Cooperia*-Larven zu beiden MZP

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

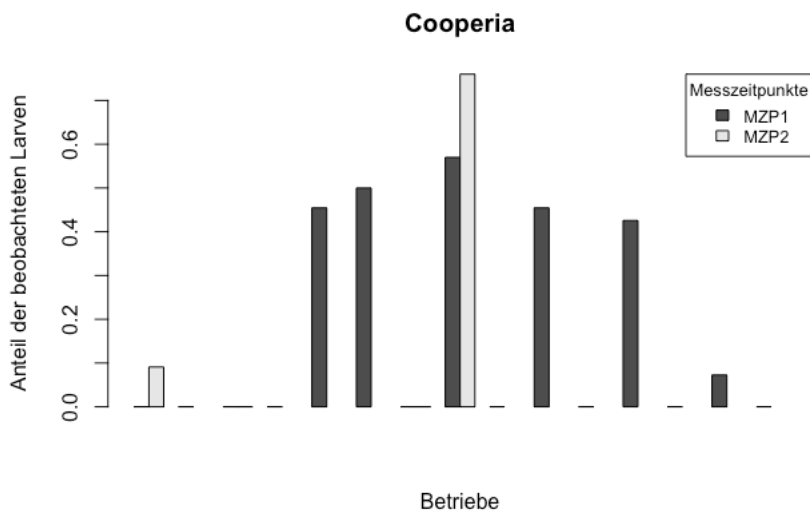


Abbildung 7: Anteil der *Cooperia*-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

4.1.4. *Teladorsagia*

Insgesamt konnten für vier Betriebe (3, 9, 11, 15) zum MZP 1 Larven identifiziert werden. Bei einem Betrieb wurde zum MZP 2 eine Larve gefunden, allerdings keine zum MZP 1. Für *Teladorsagia* konnten bei keinem Betrieb zum MZP 1 und MZP 2 Larven gefunden werden.

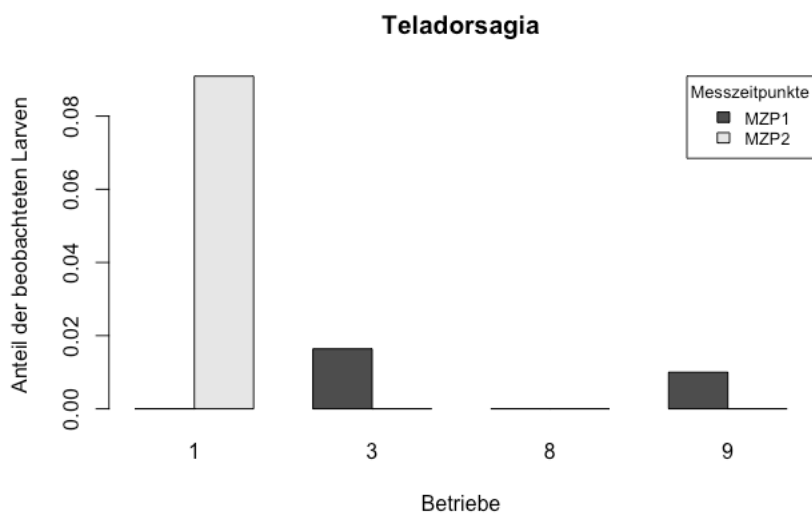


Abbildung 8: Anteil der *Teladorsagia*-Larven zu beiden MZP

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

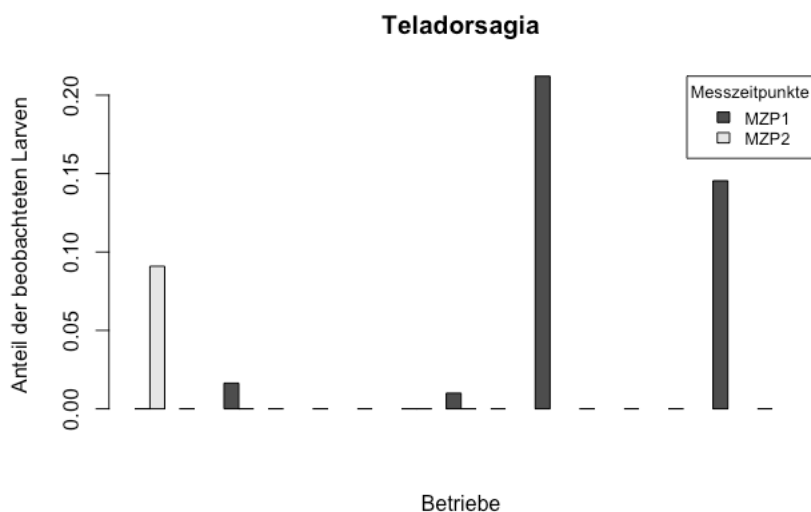


Abbildung 9: Anteil der *Teladorsagia*-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

4.1.5. Knötchenwürmer

Bei den Knötchenwürmern konnten in sechs Betrieben zum MZP 1 Larven gefunden werden. Zum MZP 2 fanden sich nur bei einem Betrieb (3), dies allerdings nur einmal zu beiden MZP, Larven. Hier kam es nach der anthelminthischen Behandlung zu einem Anstieg des Anteils an Knötchenwürmern (siehe Abbildung 10).

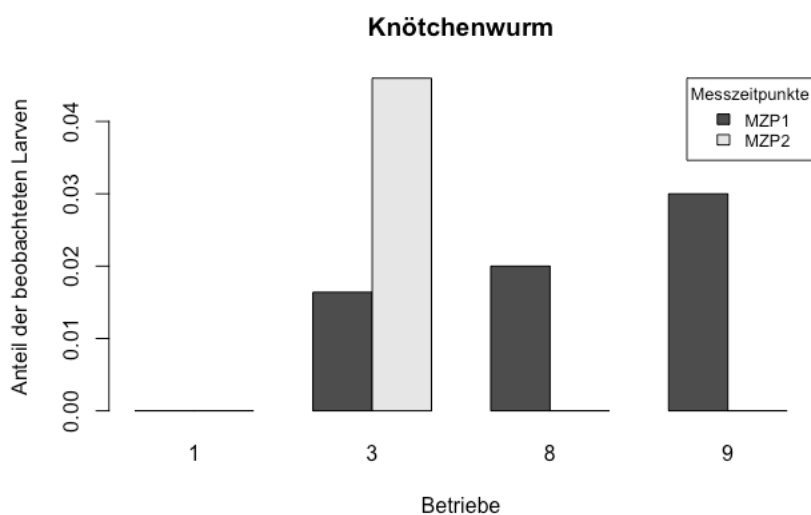


Abbildung 10: Anteil der Knötchenwurm-Larven zu beiden MZP

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

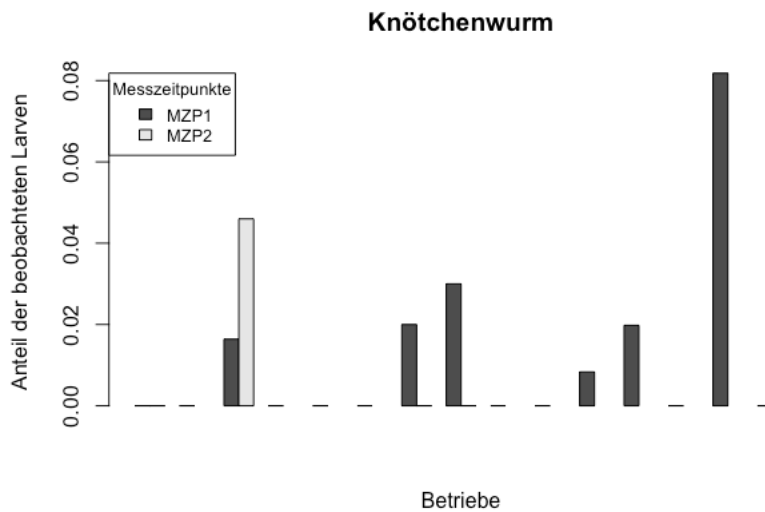


Abbildung 11: Anteil der Knötchenwurm-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe

Legende: 1,0 $\hat{=}$ 100 %, MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

4.2. Verteilung der Larven vor und nach anthelminthischer Behandlung

Da nicht bei allen Betrieben zu beiden MZP Larven geschlüpft sind, werden im Folgenden nur die Betriebe genauer betrachtet, bei denen zu beiden MZP Daten in ausreichender Anzahl vorlagen. Hierbei handelt es sich um die Betriebe 3, 8 und 9. Auch bei Betrieb 1 lagen teilweise Daten für beide MZP vor, allerdings in so geringem Ausmaß, dass dieser Betrieb ebenfalls aus den statistischen Analysen ausgeschlossen wurde. Folgende Anthelminthika wurden für die Betriebe 3,8 und 9 verwendet:

Betrieb 3: Moxidectin

Betrieb 8: Monepantel

Betrieb 9: Fenbendazol

Für diese Betriebe soll zuerst die Gesamtverteilung der Larven dargestellt werden. Anschließend erfolgt eine Übersicht des prozentuellen Vorkommens der Larven für jeden der drei Betriebe.

Abbildung 12 zeigt die Verteilung der Larven zu beiden MZP. Hier zeigt sich, dass der Anteil von *Trichostrongylus* und *Cooperia* zwischen MZP 1 und MZP 2 etwas zunahm, wohingegen

der Anteil von *Haemonchus* abnahm. Für die *Teladorsagia*- und Knötchenwurm-Larven konnte aufgrund des seltenen Vorkommens keine Zu- oder Abnahme beobachtet werden. Ein Chi-Quadrat-Test zeigt, dass sich die Verteilung der Larven zum MZP 2 signifikant von dem zum MZP 1 unterscheidet ($\chi^2(4) = 12,13$, $p = ,016$).

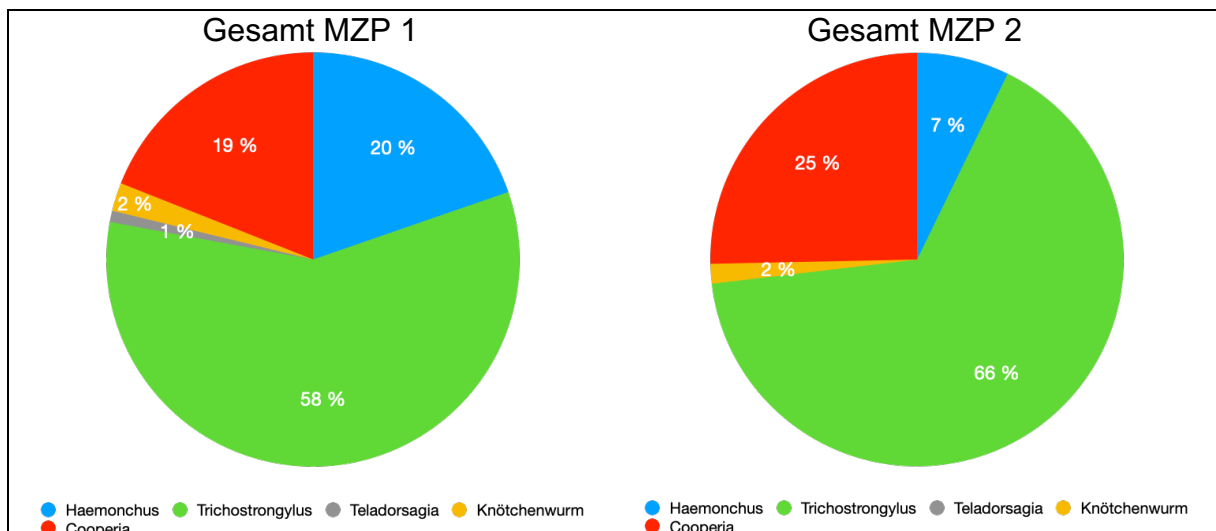


Abbildung 12: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für die drei Höfe zu denen Daten zum MZP 2 vorliegen

Legende: MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

Auch bei der Betrachtung der einzelnen Höfe zeigte sich, dass zwischen MZP 1 und MZP 2 vor allem der Anteil von *Haemonchus* abnahm. Abbildung 13 zeigt die Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 3. Der am häufigsten vorkommende *Trichostrongylus* nahm zum MZP 2 um 14 % zu, während *Haemonchus* um 16 % abnahm. *Teladorsagia*- und Knötchenwurm-Larven kamen mit einem Anteil von jeweils 2 % zum MZP 1 vor. Zum MZP 2 wurden keine *Teladorsagia*-Larven mehr gefunden, während bei den Knötchenwürmern ein Anstieg von 3 % beobachtet werden konnte. Ein Chi-Quadrat-Test zeigt, dass sich auch bei Betrieb 3 die Verteilung der Larven zum MZP 2 signifikant von der zum MZP 1 unterscheidet ($\chi^2(3) = 18,79$, $p < ,001$).

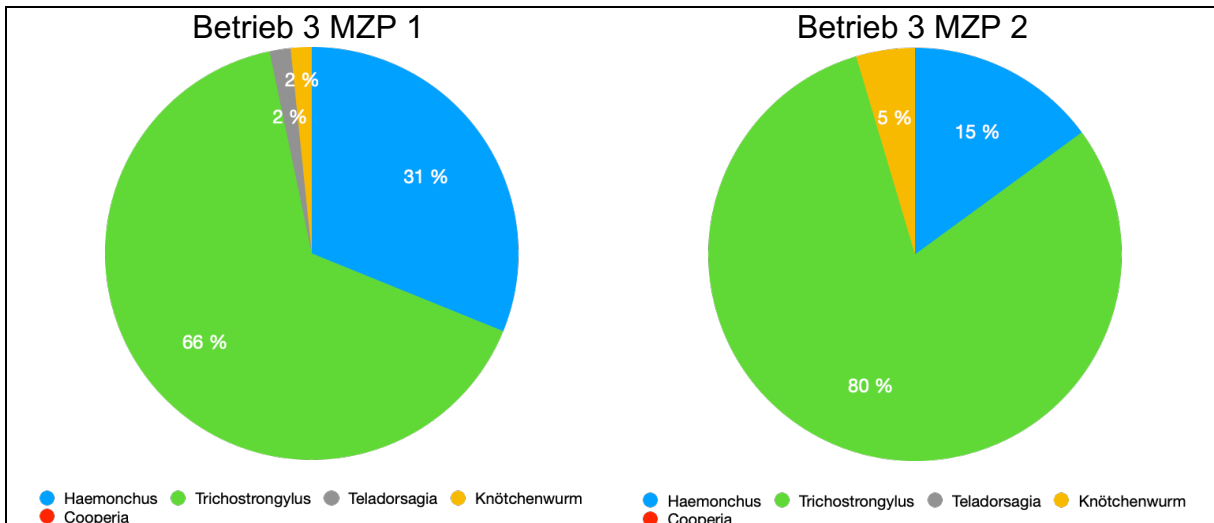


Abbildung 13: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 3

Legende: MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

Abbildung 14 zeigt die Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 8. Ähnlich wie bei Betrieb 3 nahm hier vor allem der Anteil von *Haemonchus* (um 10 %) ab, sodass zum MZP 2 fast nur noch *Trichostrongylus* vertreten war, bei welchem es wie bei Betrieb 3 zu einem Anstieg kam (um 12 %). Ebenfalls konnte hier zum MZP 1 ein mit 2 % geringerer Anteil Knötchenwürmer festgestellt werden, welche jedoch zum MZP 2 nicht mehr nachweisbar waren. Ein Chi-Quadrat-Test zeigt, dass sich auch bei Betrieb 8 die Verteilung der Larven zum MZP 2 signifikant von der zum MZP 1 unterscheidet ($\chi^2(2) = 12,49$, $p < ,003$).

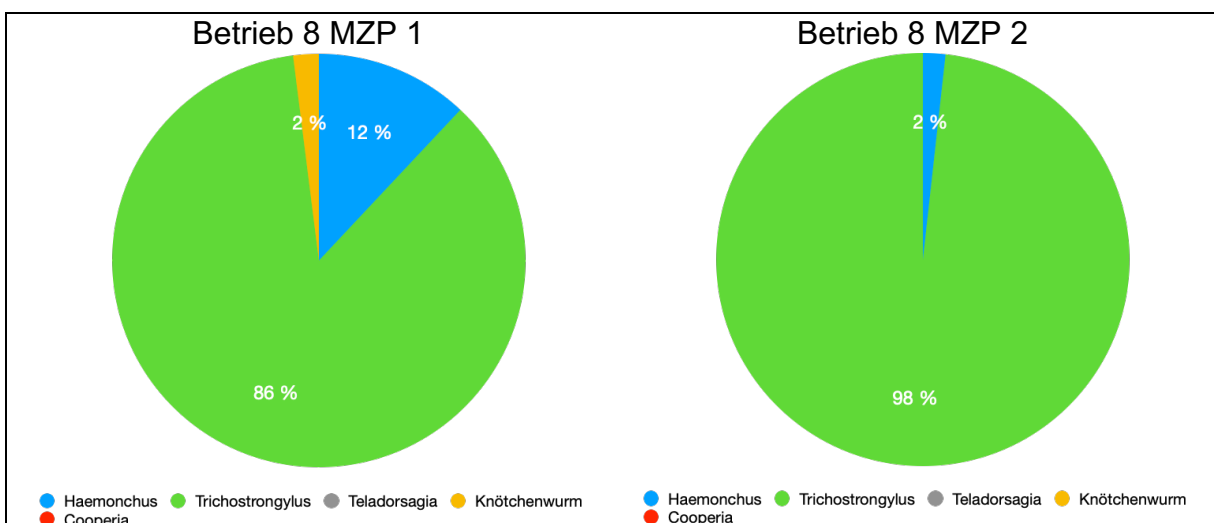


Abbildung 14: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 8

Legende: MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

Abbildung 15 zeigt die Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 9. Auffällig ist hier der hohe Anteil an *Cooperia*-Larven, die in den anderen beiden Betrieben nicht vorkamen. Ähnlich wie in den anderen beiden Betrieben wurde durch die Anwendung der Anthelminthika auch hier vor allem der Anteil an *Haemonchus* aber auch der von *Trichostrongylus*, (um 11 %), reduziert. Zum MZP 2 nahm vor allen der Anteil von *Cooperia* zu. Ebenfalls konnten in geringer Anzahl zum MZP 1 Knötchenwürmer (3 %) und *Teladorsagia* (1 %) identifiziert werden. Allerdings waren diese zum MZP 2 verschwunden. Auch für Betrieb 9 zeigt ein Chi-Quadrat-Test, dass sich die Verteilung der Larven zum MZP 2 signifikant von dem zum MZP 1 unterscheidet ($\chi^2(4) = 18,59, p < ,001$).

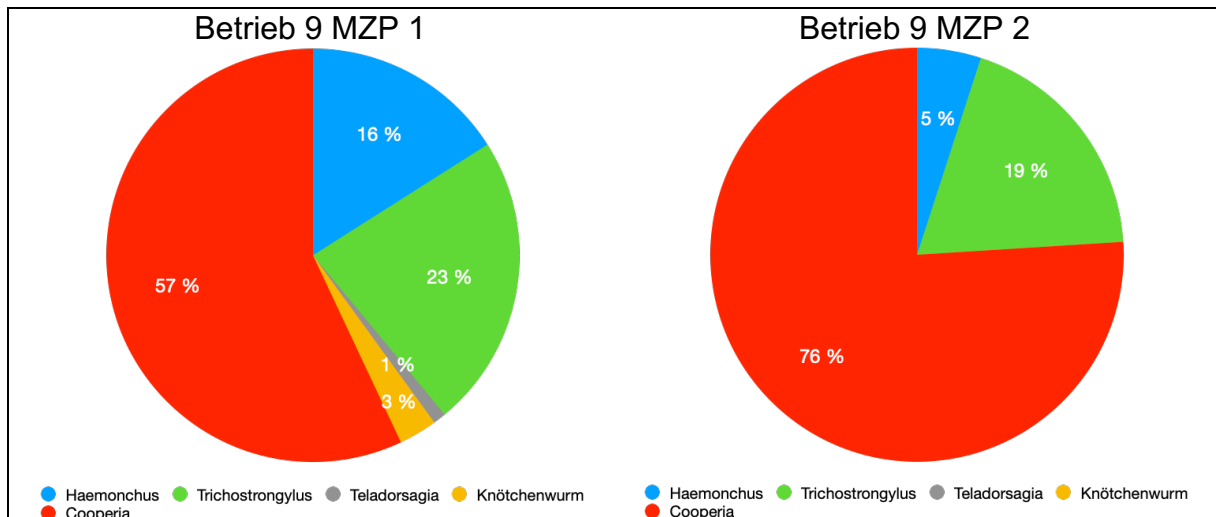


Abbildung 15: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 9

Legende: MZP 1 = Messzeitpunkt vor anthelminthischer Behandlung, MZP 2 = Messzeitpunkt nach anthelminthischer Behandlung

4.2.1. Ergebnisse der Statistik

Die statistische Analyse mittels Chi-Quadrat-Tests zeigt, dass sich die Verteilung der Larven zum MZP 2, sowohl insgesamt über alle drei Betriebe als auch für jeden der drei Betriebe einzeln, signifikant von der Verteilung zum ersten MZP unterschied. Über alle drei Betriebe nahm der Anteil der *Trichostrongylus*- und *Cooperia*-Larven vom ersten zum zweiten MZP zu, während der Anteil der *Haemonchus*-Larven zurückging (siehe Abbildung 12). Ein ähnlicher Zusammenhang zeigte sich einzeln für den Betrieb 3, allerdings lagen hier keine Daten für *Cooperia*-Larven vor (siehe Abbildung 13). Auch für den Betrieb 8 zeigte sich ein Rückgang des Anteils der *Haemonchus*-Larven und ein Anstieg des Anteils der *Trichostrongylus*-Larven vom ersten zum zweiten MZP (siehe Abbildung 14).

Im Betrieb 9 ließ sich eine Reduktion des Anteils der *Haemonchus*- und *Trichostrongylus*-Larven vom ersten zum zweiten MZP beobachten. Bei den *Cooperia*-Larven zeigte sich ein Anstieg (siehe Abbildung 15). Aufgrund der insgesamt sehr geringen Anzahl an *Teledorsagia*- und Knötchenwurm-Larven lässt sich hier keine Aussage über den Zusammenhang zwischen den Verteilungen über die MZP treffen.

Insgesamt deuten die Daten darauf hin, dass die gewählten Anthelminthika der vorliegenden Stichprobe bei *Haemonchus* besser als bei den anderen Trichostrongyliden wirkten.

5. Diskussion

Die Ergebnisse der Larvendifferenzierung im Rahmen der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass *Trichostrongylus*, *Haemonchus* und *Cooperia* in Schafbetrieben in der Region Salzburg am häufigsten differenziert werden konnten. Diese Tatsache deckt sich auch mit der ersten aufgestellten Hypothese: *Trichostrongylus* und *Haemonchus* sind die in Salzburger Schafbetrieben vorherrschenden Trichostrongyliden. Für *Teladorsagia*- und Knötchenwurm-Larven konnte aufgrund des seltenen Vorkommens kein Zusammenhang der Larvenverteilung zwischen den beiden MZP festgestellt werden. Eine ähnliche Larvenverteilung zeigt eine Studie aus dem Jahr 2017, welche die Verteilung der gastrointestinalen Strongyliden bei gealpten Schafen in der Steiermark untersuchte, und *Trichostrongylus*, gefolgt von *Haemonchus*, als häufigsten Nematoden nachweisen konnte (Schoiswohl et al. 2017). In einer kürzlich veröffentlichten Studie (Untersweg et al. 2021) wurde zusätzlich zur Larvendifferenzierung im Raum Salzburg, welche Grundlage dieser Arbeit ist, die Verteilung der Trichostrongylidenlarven in Tirol und der Steiermark untersucht. Dort wurde *Haemonchus*, gefolgt von *Trichostrongylus*, am häufigsten differenziert (Untersweg et al. 2021). Daraus kann jedoch nicht geschlossen werden, dass *Haemonchus* in der Steiermark und Tirol häufiger vorkommt als in anderen Regionen, da verschiedene Faktoren die Larvenverteilung und deren Entwicklung beeinflussen können. Ein Grund könnten die unterschiedlichen jahreszeitlichen Entnahmezeiten der Kotproben sein, denn die Kotproben, in denen *Haemonchus* dominierte, wurden im September und Oktober entnommen (Untersweg et al. 2021), während die der vorliegenden Studie von Oktober bis Dezember entnommen wurden. Eine Möglichkeit wäre, dass *Haemonchus* wegen der kälteren Temperaturen zum späteren Zeitpunkt schon in Hypobiose war (Untersweg et al. 2021). Das wäre auch eine Erklärung, weshalb *Haemonchus* zum MZP 1 häufiger gefunden wurde als zum MZP 2. Auffällig ist jedoch das allgemein häufigere Auftreten von *Haemonchus* in neueren Untersuchungen im Vergleich zu früheren Studien, denn 1977 wurde *Haemonchus* kaum bei Schafen in Österreich nachgewiesen, dagegen vorrangig *Teladorsagia* und *Trichostrongylus* (El-Moukdad 1977). Es wurde angenommen, dass *Haemonchus* vorrangig in wärmeren und *Teladorsagia* in kühleren Regionen vorkommt (Stear et al. 2009). Die Tatsache, dass er in der vorliegenden Studie bei fast allen untersuchten Betrieben nachgewiesen werden konnte, hinterfragt die frühere Annahme der Irrelevanz für alpine Regionen (Eckert und Hertzberg 1994). Da *Haemonchus* vermehrt in wärmeren Regionen vorkommt, könnte die veränderte Zusammensetzung der Nematodenpopulationen eine Folge des Klimawandels sein (van Dijk et al. 2008). Da jedoch

bis heute keine österreichweiten repräsentativen geographischen Daten generiert wurden, kann nicht mit Sicherheit geschlossen werden, dass die Prävalenz von *Haemonchus*, *Cooperia* und *Trichostrongylus* in Österreich in den letzten Jahren zugenommen hat (Untersweg et al. 2021).

Die Entwicklung der AR scheint ein wesentlicher Faktor in der Verteilung der Larven zu sein (Untersweg et al. 2021). Dies zeigt die hohe Prävalenz von *Trichostrongylus*, *Cooperia* und *Haemonchus* zum MZP 2. Durch den Rückgang der *Haemonchus*-Larven zum MZP 2 kann die zweite aufgestellte Hypothese (bei Betrieben mit Anthelminthikaresistenz ist *Haemonchus* der vorherrschende Parasit) nicht bestätigt werden. Dies könnte bedeuten, dass die verwendeten Anthelminthika noch eine bessere Wirksamkeit gegen *Haemonchus* als gegen *Trichostrongylus* und *Cooperia* haben und erklären, warum es zum MZP 2 zu einem Anstieg der *Trichostrongylus*- und *Cooperia*-Larven kam. Es besteht die Möglichkeit, dass *Haemonchus* in der Salzburger Region zwar häufig vorkommt, im Resistenzgeschehen aber noch eine untergeordnetere Rolle spielt als in anderen Regionen. Hier scheinen *Trichostrongylus* und eventuell auch *Cooperia* im Moment die größere Gefahr für die Schafgesundheit darzustellen. Somit wäre dann das klinische Bild der Schafe vorrangig geprägt durch Diarrhoe und den damit verbundenen Folgen und weniger durch die durch den blutsaugenden *Haemonchus* ausgelöste Anämie. Andererseits könnte wie oben schon diskutiert auch das kältere Klima und somit eine mögliche Hypobiose zum Zeitpunkt der zweiten Kotprobenentnahme ein Grund für den Rückgang von *Haemonchus* sein. Durch seine Fruchtbarkeit und hohe genetische Vielfalt hat *Haemonchus* die Fähigkeit, AR besonders schnell zu entwickeln (Kotze und Prichard 2016). Interessanterweise zeigte auch eine kürzlich durchgeführte Studie nur wenige Benzimidazol-Resistenzallele bei *Teladorsagia* aus Österreich, während sie bei *Haemonchus* und *Trichostrongylus* in hohen Frequenzen auftraten (Hinney et al. 2020). Diese Beobachtungen passen zu den Ergebnissen einer geringen *Teladorsagia*-Prävalenz in der vorliegenden Studie (Untersweg et al. 2021). Auffällig ist das häufige Vorkommen von *Cooperia* bei Betrieb 9 zu beiden MZP (die Behandlung für diesen Betrieb erfolgte mit Fenbendazol). Dies deutet darauf hin, dass auch *Cooperia* Resistenzen gegen Benzimidazole entwickelt, welche bis jetzt bei Schafen in Österreich noch nicht beschrieben sind. Leider liegen hier nur für einen Betrieb (9) Daten vor, und somit kann kein allgemeiner Trend ausgemacht werden. Für zukünftige Studien ist interessant, ob es sich dabei um einen Einzelfall handelt oder ob in Zukunft auch mit einem vermehrten Auftreten von Resistenzen bei *Cooperia* in Österreich zu rechnen ist. Eine Studie bei Schafen aus Neuseeland konnte Resistenzen von *Cooperia* bei post mortem Untersuchungen nach der

Behandlung mit Ivermectin bestätigen. Somit sind zumindest Resistenzen gegen Makrozyklische Laktone bekannt (Hughes und McKenna 2005).

5.1. Limitationen

Es ist wichtig zu beachten, dass die von einer Gattung abgelegten Eier nicht direkt mit der Anzahl der Individuen im Wirt korrelieren. Insbesondere *Haemonchus*-Eier sind in größerer Menge im Kot zu finden als die der meisten anderen Trichostrongylidenarten. Es muss davon ausgegangen werden, dass diese Spezies auch deshalb häufig gefunden wird, weil besonders viele Eier ausgeschieden werden (Lejambre et al. 1971, Roberts und Swan 1981, Taylor 2012). Ein weiterer Faktor, der an der Eiausscheidung beteiligt ist, ist der Wirt selbst, da Immunität, Gesundheit und Genetik die Anzahl der ausgeschiedenen Eier stark beeinflussen können (Rose Vineer et al. 2019). Deshalb muss die Verteilung der Larven mit Vorsicht betrachtet werden.

Da in dieser Studie nur für drei Betriebe zu beiden MZP Daten vorliegen, sind diese zwar für die jeweiligen Betriebe repräsentativ, es können aber keine Rückschlüsse auf die anderen Betriebe oder die generelle Situation in Österreich gezogen werden. So erscheint der Anteil von *Cooperia*-Larven im Vgl. zu anderen Studien zum MZP 2 recht hoch, jedoch wurden nur bei einem Betrieb zum MZP 2 Larven gefunden, dafür aber in sehr hoher Anzahl, was den hohen *Cooperia* Prozentsatz relativiert. Im Hinblick auf die Ergebnisse wird jedoch deutlich, dass das in vielen Betrieben dieser Studie angewandte Entwurmungsprogramm der Schafherden keine ausreichende Reduktion der Infektion mit Trichostrongyliden gewährleistet und zukünftig neue Bekämpfungsstrategien notwendig werden.

6. Zusammenfassung

Weltweit kann ein starker Anstieg resistenter Trichostrongyliden gegen Anthelminthika und eine veränderte Larvenverteilung bei Schafen beobachtet werden. Dies ist zurückzuführen auf den übermäßigen und oftmals ungenauen Einsatz von Anthelminthika im Entwurmungsmanagement der Schafbetriebe und auf das Versäumnis der Entwicklung zuverlässiger Methoden zur Verhinderung dieser Tendenz.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, festzustellen, welche verschiedenen Trichostrongyliden wie häufig bei Schafen vor und nach anthelminthischer Behandlung im Bundesland Salzburg vorkommen. Bei 16 Schafbetrieben wurde in einer Studie der Eizahlreduktionstest (FECRT) mit der Mini-FLOTAC-Methode (University of Naples Federico II) und anschließender Larvenkultur durchgeführt. Die Differenzierung der Larven erfolgte zu zwei Zeitpunkten, nämlich vor und nach der anthelminthischen Behandlung der Schafe. Die Anthelminthika konnten von den betreuenden Tierärztinnen und Tierärzten der Betriebe frei gewählt werden. Vor anthelminthischer Behandlung wurde in den Larvenkulturen am häufigsten *Trichostrongylus* mit 52 %, gefolgt von *Haemonchus* 23 %, *Cooperia* 19 %, *Teladorsagia* 3 % und Knötchenwürmern 2 %, differenziert. Nach der Behandlung konnte ein Anstieg des Anteils an *Trichostrongylus* (auf 66 %) und *Cooperia* (auf 25 %) beobachtet werden, bei *Haemonchus* konnte eine Reduktion (auf 7 %) festgestellt werden. *Teladorsagia* wurde nicht mehr vorgefunden und Knötchenwürmer kamen noch mit 2 % vor. Es bestand eine reduzierte Wirksamkeit aller verwendeten Präparate. Es besteht die dringende Notwendigkeit, effiziente Strategien zu entwickeln, um die Parasitenkontrolle nachhaltig verbessern.

7. Summary

A sharp increase in trichostrongylids resistant to anthelmintics and altered larval distribution in sheep can be observed worldwide. This is due to the overuse and often inaccurate use of anthelmintics in deworming management on sheep farms and the failure to develop reliable methods to prevent this trend.

The aim of the present study was to determine which different gastrointestinal strongylids how frequently were present in sheep before and after anthelmintic treatment in the federal state Salzburg. On 16 sheep farms, the egg count reduction test (FECRT) was performed in a study using the mini-FLOTAC method (University of Naples Federico II) followed by larval culture. Larval differentiation was performed twice, namely before and after anthelmintic treatment of the sheep. The supervising veterinarians were free to use the anthelmintics of their choice. Before anthelmintic treatment, *Trichostrongylus* was most frequently found in larval cultures with 52%, followed by *Haemonchus* 23%, *Cooperia* 19%, *Teladorsagia* 3% and nodule worms 2%. After treatment, an increase in the percentage of *Trichostrongylus* (to 66%) and *Cooperia* (to 25%) was observed, *Haemonchus* showed a reduction (to 7%). *Teladorsagia* was no longer found and nodule worms were still present at 2%. There was a reduced efficacy of all preparations used. There is an urgent need to develop efficient strategies that make parasite control better and more sustainable.

8. Literaturverzeichnis

Anderson N, Hansky J, Titchen DA. 1985. Effects on plasma pepsinogen, gastrin and pancreatic polypeptide of *Ostertagia* spp. transferred directly into the abomasum of sheep. *International Journal for Parasitology*, 15(2):159–165.

Baker NF, Cook EF, Douglas JR, Cornelius CE. 1959. The pathogenesis of trichostrongyloid parasites. III. Some physiological observations in lambs suffering from acute parasitic gastroenteritis. *The Journal of Parasitology*, 45:643–651.

Barker IK. 1975. Location and distribution of *Trichostrongylus colubriformis* in the small intestine of sheep during the prepatent period, and the development of villus atrophy. *Journal of Comparative Pathology*, 85(3):417–426.

Barker IK, Titchen DA. 1982. Gastric dysfunction in sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*, a nematode inhabiting the small intestine. *International Journal for Parasitology*, 12(4):345–356.

Besier RB, Kahn LP, Sargison ND, Van Wyk JA. 2016. Diagnosis, Treatment and Management of *Haemonchus contortus* in Small Ruminants. *Advances in Parasitology*, 93:181–238.

Beveridge I, Pullman AL, Phillips PH, Martin RR, Barelds A, Grimson R. 1989. Comparison of the effects of infection with *Trichostrongylus colubriformis*, *T. vitrinus* and *T. rugatus* in merino lambs. *Veterinary Parasitology*, 32(2–3):229–245.

Boch J. 2006. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

Bostedt H, Ganter M, Hiepe T. 2019. *Klinik der Schaf- und Ziegenkrankheiten*. Stuttgart, New York: Thieme Verlag.

Charlier J, Rinaldi L, Musella V, Ploeger HW, Chartier C, Rose Vineer H, Hinney B, von Samson-Himmelstjerna G, Băcescu B, Mickiewicz M, et al. 2021. Corrigendum to „Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant

livestock industry in Europe“ [Prev. Vet. Med. 182 (2020) 105103]. Preventive veterinary medicine, 188:105213.

Colditz IG, Le Jambre LF, Hosse R. 2002. Use of lectin binding characteristics to identify gastrointestinal parasite eggs in faeces. *Veterinary Parasitology*, 105(3):219–227.

Cole VG. 1986. *Helminth parasites of sheep and cattle*. Canberra: Australian Government Publishing Service.

Coles GC, Bauer C, Borgsteede FH, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44(1–2):35–44.

Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, Samson-Himmelstjerna G von, Zahner H. 2021. *Parasitologie für die Tiermedizin*. 4., überarbeitete Auflage 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

van Dijk J, David GP, Baird G, Morgan ER. 2008. Back to the future: developing hypotheses on the effects of climate change on ovine parasitic gastroenteritis from historical data. *Veterinary Parasitology*, 158(1–2):73–84.

Dobson RJ, Barnes EH, Birclijin SD, Gill JH. 1992. The survival of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in faecal culture as a source of bias in apportioning egg counts to worm species. *International Journal for Parasitology*, 22(7):1005–1008.

Donald AD, Southcott WH, Dineen JK. 1978. *The epidemiology and control of gastro-intestinal parasites of sheep in Australia*. Melbourne, Australia, Division of Animal Health, CSIRO.

Eckert J, Friedhoff KT, Zahner H, Deplazes P. 2008. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. 2., vollständig überarbeitete Auflage 2., vollständig überarbeitete Auflage. Thieme Verlag.

Eckert J (Zurich U (Switzerland) I of P, Hertzberg H. 1994. Parasite control in transhumant situations. *Veterinary Parasitology* (Netherlands).

El-Moukdad AR. 1977. Untersuchungen über die Endo Parasiten der Schafe in Österreich. *Wiener tierärztliche Monatsschrift*, 64, 283–288.

Feichtenschlager C, Hinney B, Klose S, Tichy A, Tix A, Strobl L, Bauer K, Krametter-Frötscher R. 2014. Vorkommen von Helminthen beim kleinen Wiederkäuer in der Steiermark mit besonderer Berücksichtigung der Wirksamkeit von Benzimidazolen und Makrozyklischen Laktonen. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 12.

Gasser RB, Bott NJ, Chilton NB, Hunt P, Beveridge I. 2008. Toward practical, DNA-based diagnostic methods for parasitic nematodes of livestock--bionomic and biotechnological implications. *Biotechnology Advances*, 26(4):325–334.

Geurden T, Chartier C, Fanke J, di Regalbono AF, Traversa D, von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J, Vanimisetti HB, Bartram DJ, Denwood MJ. 2015. Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5(3):163–171.

Hiepe HB| MG| T, Ganter M. 2001. *Lehrbuch der Schafkrankheiten*, m. CD-ROM. Berlin: Parey.

Hiepe T, Lucius R, Gottstein B, Aspöck H, Auer H, Briegel H, Burchard G, Conraths FJ, Dauschies A, Frank B, et al. 2006. *Allgemeine Parasitologie*. Thieme Verlag.

Hinney B, Schoiswohl J, Melville L, Ameen VJ, Wille-Piazzai W, Bauer K, Joachim A, Krücken J, Skuce PJ, Krametter-Frötscher R. 2020. High frequency of benzimidazole resistance alleles in trichostrongyloids from Austrian sheep flocks in an alpine transhumance management system. *BMC Veterinary Research*, 16(1):132.

Hughes PL, McKenna PB. 2005. Confirmation of resistance to ivermectin by *Cooperia curticei* in sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, 53(5):344–346.

Jurasek ME, Bishop-Stewart JK, Storey BE, Kaplan RM, Kent ML. 2010. Modification and further evaluation of a fluorescein-labeled peanut agglutinin test for identification of *Haemonchus contortus* eggs. *Veterinary Parasitology*, 169(1–2):209–213.

Kaplan RM. 2020. Biology, Epidemiology, Diagnosis, and Management of Anthelmintic Resistance in Gastrointestinal Nematodes of Livestock. *The Veterinary clinics of North America Food animal practice*, 36(1):17–30.

Kassai T. 1999. *Veterinary helminthology*. Oxford; Boston: Butterworth-Heinemann.

Kotze AC, Prichard RK. 2016a. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*: History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in Parasitology*, 93:397–428.

Kotze AC, Prichard RK. 2016. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*: History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in Parasitology*, 93:397–428.

Lejambre LF, Ractliffe LH, Uhazy LS, Whitlock JH. 1971. Fecal egg output of lambs in relationship to *Haemonchus contortus* burden. *International Journal for Parasitology*, 1(2):157–160.

Levine ND. 1968. *Nematode parasites of domestic animals and of man*. Nematode parasites of domestic animals and of man.

McKellar QA. 1993. Interactions of *Ostertagia* species with their bovine and ovine hosts. *International Journal for Parasitology*, 23(4):451–462.

McKenna PB. 1998. The effect of previous cold storage on the subsequent recovery of infective third stage nematode larvae from sheep faeces. *Veterinary Parasitology*, 80(2):167–172.

Palmer DG, McCombe IL. 1996. Lectin staining of trichostrongylid nematode eggs of sheep: rapid identification of *Haemonchus contortus* eggs with peanut agglutinin. *International Journal for Parasitology*, 26(4):447–450.

R Core Team. (2021). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.R-project.org/>.

Roberts JL, Swan RA. 1981. Quantitative studies of ovine haemonchosis. I. Relationship between faecal egg counts and total worm counts. *Veterinary Parasitology*, 8(2):165–171.

Roeber F, Jex AR, Campbell AJD, Campbell BE, Anderson GA, Gasser RB. 2011. Evaluation and application of a molecular method to assess the composition of strongylid nematode populations in sheep with naturally acquired infections. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 11(5):849–854.

Roeber F, Jex AR, Campbell AJD, Nielsen R, Anderson GA, Stanley KK, Gasser RB. 2012a. Establishment of a robotic, high-throughput platform for the specific diagnosis of gastrointestinal nematode infections in sheep. *International Journal for Parasitology*, 42(13–14):1151–1158.

Roeber F, Larsen JWA, Anderson N, Campbell AJD, Anderson GA, Gasser RB, Jex AR. 2012b. A Molecular Diagnostic Tool to Replace Larval Culture in Conventional Faecal Egg Count Reduction Testing in Sheep. *PLOS ONE*, 7(5): e37327.

Roeber F, Jex A, Gasser R. 2013. Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance - An Australian perspective. *Parasites & vectors*, 6:153.

Roeber F, Morrison A, Casaert S, Smith L, Claerebout E, Skuce P. 2017. Multiplexed-tandem PCR for the specific diagnosis of gastrointestinal nematode infections in sheep: an European validation study. *Parasites & Vectors*, 10(1):226.

Rose H, Rinaldi L, Bosco A, Mavrot F, de Waal T, Skuce P, Charlier J, Torgerson PR, Hertzberg H, Hendrickx G, et al. 2015. Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. *The Veterinary Record*, 176(21):546.

Rose Vineer H, Baber P, White T, Morgan ER. 2019. Reduced egg shedding in nematode-resistant ewes and projected epidemiological benefits under climate change. *International Journal for Parasitology*, 49(12):901–910.

Rossanigo CE, Gruner L. 1996. The length of strongylid nematode infective larvae as a reflection of developmental conditions in faeces and consequences on their viability. *Parasitology Research*, 82(4):304–311.

Sangster NC, Whitlock HV, Kelly JD, Gunawan M, Hall CA. 1979. The effect of single and divided dose administration on the efficacy of fenbendazole against adult stages of benzimidazole resistant sheep trichostrongylids. *Research in Veterinary Science*, 26(1):85–89.

Schoiswohl J, Joachim A, Hinney B, Tichy A, Bauer K, Stanitznig A, Krametter-Frötscher R. 2017. Influence of communal alpine pasturing in Styria, Austria, on the development of gastrointestinal strongylid infections over the grazing season in sheep – a pilot study. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 130.

Stear M, Boag B, Cattadori I, Murphy L. 2009. Genetic variation in resistance to mixed, predominantly *Teladorsagia circumcincta* nematode infections of sheep: From heritabilities to gene identification. *Parasite immunology*, 31:274–82.

Stear MJ, Bishop SC, Henderson NG, Scott I. 2003. A key mechanism of pathogenesis in sheep infected with the nematode *Teladorsagia circumcincta*. *Animal Health Research Reviews*, 4(1):45–52.

Taylor MA. 2012. SCOPS and COWS--'worming it out of UK farmers'. *Veterinary Parasitology*, 186(1–2):65–69.

Untersweg F, Ferner V, Wiedermann S, Göller M, Hörl-Rannegger M, Kaiser W, Joachim A, Rinaldi L, Krücken J, Hinney B. 2021. Multispecific resistance of sheep trichostrongylids in Austria. *Parasite*, 28:50.

Van Wyk JA. 2001. Refugia--overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 68(1):55–67.

van Wyk JA, Mayhew E. 2013. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80(1):539.

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung einer infektiösen L3-Larve nach Wyk	9
Abbildung 2: Anteil der Trichostrongylus-Larven zu beiden MZP	17
Abbildung 3: Anteil der Trichostrongylus-Larven zum MZP1 und MZP 2 über alle Betriebe	18
Abbildung 4: Anteil der Haemonchus-Larven zu beiden MZP	19
Abbildung 5: Anteil der Haemonchus-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe	19
Abbildung 6: Anteil der Cooperia-Larven zu beiden MZP	20
Abbildung 7: Anteil der Cooperia-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe	20
Abbildung 8: Anteil der Teladorsagia-Larven zu beiden MZP	21
Abbildung 9: Anteil der Teladorsagia-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe	22
Abbildung 10: Anteil der Knötchenwurm-Larven zu beiden MZP	22
Abbildung 11: Anteil der Knötchenwurm-Larven zu beiden MZP über alle Betriebe	23
Abbildung 12: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für die drei Höfe zu denen Daten zum MZP 2 vorliegen	24
Abbildung 13: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 3	25
Abbildung 14: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 8	25
Abbildung 15: Verteilung der Larven zum MZP 1 und MZP 2 für Betrieb 9	26

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der verwendeten Anthelminthika der einzelnen Betriebe	12
Tabelle 2: Anteil der Larven für jeden Betrieb zum MZP 1	15
Tabelle 3: Anteil der Larven für jeden Betrieb zum MZP 2	16

Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei Dr.med.vet. Barbara Hinney, Dipl. EVPC für ihren Einsatz und ihre Bemühungen um mich bei der Betreuung meiner Diplomarbeit bedanken.

Vielen Dank auch an Sandra Wiedermann für die tolle Hilfe während meiner Arbeit im Labor und die Geduld der Einarbeitung in die Larvendifferenzierung.

Mein Dank geht auch an das restliche Team der Parasitologie und an die anderen an diesem Projekt beteiligten Diplomanden für die gute Zusammenarbeit.

Danke auch an die Betriebe, welche die Proben für diese Studie bereitgestellt haben.

Ein besonderer Dank geht an meine Mutter, meine Schwester und meinen Bruder für ihre großartige Unterstützung, diese letzte Hürde meines Studiums zu meistern.