

Aus dem Department für Pathobiologie
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

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

**Zusammenhang von Ostertagia-Antikörpertitern mit
Milchleistungsparametern in österreichischen Milchkuhbetrieben**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Julia Rumpl

Wien, im Mai 2021

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

Institut für Parasitologie

Department für Pathobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

BegutachterIn:

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	6
2.1	TRICHOSTRONGYLIDEN IM ALLGEMEINEN	8
2.2	BIOLOGIE UND RELEVANZ VON <i>O. OSTERTAGI</i>	9
2.2.1	Systematik und Morphologie	9
2.2.2	Lebenszyklus.....	9
2.2.3	Vorkommen und Verbreitung	13
2.2.4	Ökonomische Bedeutung	18
2.3	PATHOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN UND KLINIK	18
2.4	DIAGNOSTIK.....	20
2.4.1	Koproscopische Nachweisverfahren	20
2.4.2	Serumpepsinogenmessung	22
2.4.3	Antikörper-ELISA aus der Milch.....	22
2.4.4	Larvendifferenzierung mittels droplet digital PCR (ddPCR)	24
2.5	THERAPIE UND BEKÄMPFUNG	26
3.	EIGENE ARBEIT	30
3.1	MATERIAL UND METHODEN.....	30
4.	ERGEBNISSE.....	33
5.	DISKUSSION	42
6.	ZUSAMMENFASSUNG	46
7.	SUMMARY	47
8.	LITERATURVERZEICHNIS.....	48
9.	ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS.....	53

Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei der Betreuerin meiner Arbeit Dr.med.vet. Dipl. EVPC Barbara Hinney herzlich für ihre Geduld und ihren Einsatz bedanken.

Ein weiterer großer Dank geht an Roman Peschke für die großartige technische Unterstützung.

Auch meinen zwei Mitstreiterinnen im Labor Julia Heidenreich und Helena Theresa Hochreiter möchte ich einen großen Dank für die vielen gemeinsamen Arbeitsstunden aussprechen.

Besonderen Dank an meinen Freund Matthias für das regelmäßige Auffangen, Mut zusprechen und Tabellen formatieren.

Am Ende danke ich am meisten meiner Familie und meinen Freunden für die unendliche Unterstützung bei diesem Studium und das unermüdliche Korrekturlesen dieser Arbeit.

1. Einleitung und Fragestellung

Trichostrongylidae parasitieren im Magen-Darm-Trakt von Wirbeltieren mit Ausnahme von Fischen. Am häufigsten tritt diese Familie von Nematoden in Mischinfektionen auf. Im Rinderbereich sind die am weitesten verbreiteten Vertreter im gemäßigten Klima *Ostertagia ostertagi* und *Trichostrongylus axei*, die im Labmagen parasitieren, sowie *Cooperia oncophora*, die den Dünndarm befallen (Deplazes et al. 2020). Diese Arbeit befasst sich jedoch ausschließlich mit *O. ostertagi*, dem Braunen Magenwurm, der hauptsächlich das Rind befällt, jedoch sporadisch auch in kleinen Wiederkäuern zu finden ist.

Wenngleich dieser Nematode klinisch meist nur bei Jungrindern Relevanz findet, so stehen bei der Milchkuh vor allem ökonomische Aspekte im Vordergrund. Bei ihnen führt eine starke Infektion mit *O. ostertagi* zu einer späteren ersten Kalbung und auch zu einer signifikant höheren Mortalität von Kälbern im ersten Lebensjahr (Delafosse 2013). Außerdem gibt es auch einen Zusammenhang mit starker Infektion und suboptimaler Milchleistung (Forbes et al. 2008).

Da die Wurmbürde bei *O. ostertagi* sehr stark von der Haltungsform und dem Management, besonders dem Weidemanagement, abhängig ist (Forbes et al. 2008), hat dieser Parasit in Österreich größte Relevanz. Aus traditionellen und wirtschaftlichen Gründen werden die meisten Rinder im Alpenraum über die Sommermonate nicht nur auf Weiden verbracht, sie werden auch gealpt. Dort teilen sich häufig mehrere Bauern die Flächen, was zu einer intensiven Vermischung der Herden untereinander führt. Dadurch kommt es zu einem massiv erhöhten Risiko für Infektionen mit Trichostrongyliden, besonders *O. ostertagi*, bei dem man von einer Prävalenz von 100 % ausgehen muss (Prosl 1985).

Die diagnostischen Verfahren für diesen Parasiten können aus verschiedenen Gründen nur unzureichend sensitive bzw. spezifische Ergebnisse liefern. Die einfachste Methode zum Nachweis von Trichostrongyliden ist die koproskopische Untersuchung. Diese ist jedoch recht wenig aussagekräftig, da meistens nur Kälber und Jungrinder in der ersten Weideperiode viele Eier ausscheiden. Auch sind während der Präpatenz noch keine Eier im Kot feststellbar. Dazu kommt die unterschiedlich starke Eiausscheidung, die nicht immer mit der tatsächlich vorhandenen Wurmbürde korreliert (Prosl 1985). Da die Eier von Trichostrongyliden in der Koproskopie nicht weiter differenziert werden können, muss im Anschluss an die

Koproskopie eine Larvenkultur angelegt werden, um zu einem späteren Zeitpunkt die L₃-Larven der unterschiedlichen Arten unterscheiden zu können.

Auch die Bestimmung des Serumpepsinogenlevels kann zur Diagnostik herangezogen werden. Der Anstieg von Pepsinogen im Serum erklärt sich durch die Schädigung der Labmagendrüsen. Daraus resultiert eine reduzierte Salzsäureproduktion und eine erhöhte Aktivität der Enzyme Gastrin und Pepsinogen. Dieser Test eignet sich wiederum nur für Kälber, da bei älteren Weiderindern keine gute Korrelation zwischen Pepsinogenlevel und Befallsintensität mehr feststellbar ist (Charlier et al. 2011).

Für adulte Milchkühe bietet sich der Antikörper – ELISA aus Milchproben, meistens Tankmilchproben, an. Dieser ist eine zeiteffiziente, nicht invasive Methode, um einen guten Überblick über die aktuelle Herdensituation zu bekommen. Auch existieren zu diesem ELISA relativ viele Studien, die Grenzwerte festgelegt haben, ab wann eine Herde bzw. ein Einzeltier ökonomisch von einer Behandlung profitieren kann (Vanderstrichel et al. 2013).

Auf diesem Weg ließe sich auch eine selektive Entwurmungsstrategie für den jeweiligen Betrieb erarbeiten. So würden die Bauern von einer besseren Milchleistung pro Kuh und Tag profitieren und man könnte die anthelminthische Behandlung entsprechend anpassen.

Von einer Auswahl an österreichischen Milchbetrieben wurden Milchproben sowohl von Einzeltieren als auch Tankmilchproben gewonnen und mit dem kommerziell erhältlichen SVANOVIR® *O. ostertagi*-Antikörper-ELISA von Boehringer Ingelheim SVANOVA zu untersuchen. Die Ergebnisse dieses ELISAs sollen in Zusammenhang mit dem Milchleistungsdaten des jeweiligen Betriebes bzw. der einzelnen Milchkuh und deren in der Koproskopie ermittelten Eiausscheidung gebracht werden. Die Hypothese dieser Pilotstudie war, dass Milchkühe mit einer hohen Konzentration von Antikörper gegen *O. ostertagi* eine niedrigere Milchleistung haben, als Kühe, die niedrige Antikörperlevel haben.

2. Literaturübersicht

2.1 Trichostrongyliden im Allgemeinen

Die Trichostrongyliden (*Trix*, Gen. *Trichos* (gr.): Haar; *strongylos* (gr.): rund) sind haarfeine, zum Teil auch etwas dickere Nematoden mit einer Länge von 5-30 mm, die zu den weltweit wichtigsten Magen-Darm-Parasiten der Haus- und Wildwiederkäuer zählen. Sie können zu erheblichen Leistungsminderungen führen. Bei jungen und/oder immunologisch naiven Tieren führen sie auch zu klinisch relevanten Krankheitsbildern. Besiedelt wird der Labmagen (*O. ostertagi*, *T. axei*) sowie der Dünndarm (*C. oncophora*) (Deplazes et al. 2020).

Sie besitzen einen homoxenen Entwicklungszyklus, was bedeutet, dass sie sich während ihres gesamten Lebenszyklus auf eine Wirtsspezies beschränken. Das macht sie zu relativ wirtsspezifischen Parasiten. Im Kot ihrer Wirte werden die Eier ausgeschieden, welche sich in der Umwelt zu der infektiösen L₃-Larve entwickeln, die wiederum in der Lage sind, weitere Tiere über die orale Aufnahme zu infizieren. Dadurch ergibt sich, dass die Infektion hauptsächlich über die Weide erfolgt, was die Epidemiologie stark saisonal prägt (Deplazes et al. 2020).

In Mitteleuropa kommen zahlreiche Trichostrongylidenarten bei den Hauswiederkäuern vor. Rinder sind meist mit *O. ostertagi* befallen. Die Befallsstärke ist meist sehr hoch (Prosl 1985), was zur Folge hat, dass vor allem Kälber und Jungrinder an parasitärer Gastroenteritis (PGE) erkranken können. Auch *C. oncophora* parasitiert häufig vor allem in Jungrindern, aber auch in Milchkühen (16,5-26,7% der österreichischen Almrinder (Prosl 1985)), ist hier aber deutlich weniger pathogen. Bei Schafen und Ziegen stehen vor allem die Labmagenparasiten *Haemonchus contortus* und *Teladorsagia circumcincta* sowie die Dünndarmparasiten *Cooperia curticei* und verschiedene *Trichostrongylus*-Arten im Vordergrund. Einige Trichostrongyliden mit geringer Wirtsspezifität, wie z.B. *T. axei*, können auch auf andere Säugetiere, wie Equiden oder Menschen übergehen (Deplazes et al. 2020).

2.2 Biologie und Relevanz von *O. ostertagi*

2.2.1 Systematik und Morphologie

O. ostertagi, auch brauner Magenwurm genannt, ist ein homoxener, rinderspezifischer Fadenwurm der Familie der Trichostrongylidae (Deplazes et al. 2020).

Stamm: Nematoda

Klasse: Scerenentea

Ordnung: Strongylida

Familie: Trichostrongylidae

Gattung: *Ostertagia*

Art: *Ostertagia ostertagi*

Die Nematoden sind haarfein und haben eine stark reduzierte Mundkapsel. Die weiblichen Würmer werden 8 – 9 mm lang. Die männlichen Exemplare haben eine gut ausgeprägte, dreilappige Bursa copulatrix, zwei Spicula und ein ausgeprägtes Gubernaculum. Die Eier von *O. ostertagi* sind oval, dünnchalig und enthalten 16 oder mehr Furchungszellen. Die Abmessungen der Eier betragen $70-98 \times 30-50 \mu\text{m}$ (Deplazes et al. 2020).

2.2.2 Lebenszyklus

Alle gastrointestinalen Nematoden beim Rind haben einen direkten Lebenszyklus. So auch bei *O. ostertagi*. Die Eier werden typischerweise mit dem Kot ausgeschieden und entwickeln sich im Kot auf der Weide weiter (Abb. 1). Die Weiterentwicklung erfolgt über Häutungen von der L₁-Larve bis hin zur infektiösen L₃-Larve. In optimalen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen dauert dieser Prozess nur etwa ein bis zwei Wochen.

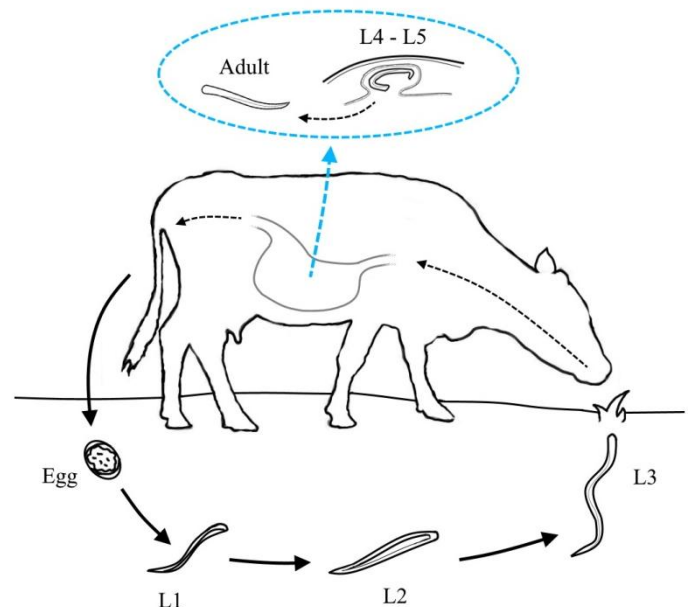


Abb. 1: Lebenszyklus von *O. ostertagi*

Hält die optimale Feuchtigkeit weiter an, kann die L₃-Larve aus dem Kotballen auswandern und auf das Gras migrieren, um besser von dem Wirt aufgenommen werden zu können (Charlier et al. 2020).

Unter für den Parasiten ungünstigen Wetterbedingungen verharrt der Parasit im Kotfladen, da dieser einen gewissen Schutz bietet. Die Larven bleiben mitunter bis zu einem Jahr im Kot. Da die Drittlarven keine Nahrung mehr aufnehmen, wandern sie dann bei genügend Niederschlägen aus dem Fladen aus. Ihr Lebensraum nach der Auswanderung aus dem Kot lässt sich in drei verschiedene Bereiche gliedern (Prosl 1985):

- Obere Erdschicht: Hier überwintern die Eier und Larven der meisten Rindertrichostrongyliden. Im Frühjahr in 10 cm Tiefe eingegrabene Eier können schon nach 16 Tagen als Larven an der Erdoberfläche gefunden werden (vertikale Migration).
- Mulchschicht: Die Mulchschicht besteht aus abgestorbenen und verrottenden Pflanzenteilen und bietet den Larven ideale mikroklimatische Verhältnisse. Die Dicke dieser Schicht variiert sehr stark und ist abhängig von dem Alter und der Art der Vegetation. Dauerweiden weisen die dickste Mulchschicht auf und sind somit ein günstiges Biotop für Trichostrongyliden.
- Blatt- und Stängelteil der Pflanzen: Hier befinden sich die Nematoden in den warmen Monaten Juni, Juli und August bevorzugt. Sie konzentrieren sich vor allem in den vor Austrocknung und Sonneneinstrahlung geschützten bodennahen Regionen. In dieser Schicht ist die Wahrscheinlichkeit, von einem Wirt aufgenommen zu werden am größten (Prosl 1985).

O. ostertagi schlüpft unter Laborbedingungen auch noch bei 4°C, jedoch erreichen diese Larven nie das Drittlarvenstadium, was ein Absterben unter Feldbedingungen bedeutet. Vollständig embryonierte Eier und die bescheideten L₃-Larven sind die widerstandsfähigsten Stadien und können selbst trockene Hitzeperioden überstehen. In diesen Stadien können die Nematoden mehrere Monate bis zu einem Jahr auf der Weide überdauern (Charlier et. al 2020). Wird der Kot anschließend durch Niederschläge ausreichend angefeuchtet, kann die Entwicklung ungehindert weiter ablaufen. Bezogen auf die Umwelt- und Haltungsverhältnisse in Österreich muss man außerdem berücksichtigen, dass auf den Almweiden vor allem im

Winter extremere Wetterbedingungen herrschen. *O. ostertagi* ist es möglich, sich sowohl nach Almbtrieb im Oktober als auch schon im Februar bei relativ niedrigen Außentemperaturen von 5-10°C, zu Drittlarven weiterzuentwickeln. Diese Eigenschaft führt zu einem großen Vorteil gegenüber anderen Trichostrongyliden wie z.B. *C. oncophora* (Prosl 1985).

Nachdem die infektiöse Drittlarve von einem geeigneten Wirt peroral aufgenommen wurde, wird sie durch bestimmte Signale im Pansen zur Ausscheidung von Enzymen stimuliert, die von innen auf die Scheide einwirken. Darauf kommt es zur Ecdysis (Häutung). Als Schlüsselreize gelten der CO₂-Gehalt der Gasphase, das Puffersystem H₂CO₃/HCO₃⁻ und ein pH von 6,5-6,9. Die Larven wandern nun in die Lumina der Labmagendrüsen, ohne jedoch dabei die Epithelschicht zu durchbrechen. Dies geschieht bei *O. ostertagi* bis zum achten Tag post infectionem. Dort angekommen häuten sich die meisten Larven innerhalb einiger Tage zu präadulten Stadien, von denen sich einige in der Mucosa ansiedeln, um dort die weitere Entwicklung bis zur Geschlechtsreife zu durchlaufen (Deplazes et al. 2020). Ein Teil der Parasiten kann an diesem Punkt der Entwicklung in Hypobiose verfallen. Durch diesen Lebenszyklus ergibt sich eine Präpatenz von 18-21 Tagen (Craig 2018).

Die Hypobiose, die temporäre Unterbrechung der Weiterentwicklung im präadulten Larvenstadium, ist ein biologisches Phänomen, welches von großer epidemiologischer Bedeutung ist. Man geht davon aus, dass Umweltfaktoren, wie die Umgebungstemperatur, eine wichtige Rolle beim Eingehen der Hypobiose spielen. So gehen L₃-Larven, die zuvor sechs Wochen bei 4°C aufbewahrt wurden, zu 55% in Hypobiose, wohingegen Drittlarven, die zuvor sechs Wochen bei 10°C gelagert wurden, nur zu 34% in Hypobiose verfallen. Auch die Befallsintensität sowie Mischinfektionen mit anderen Nematoden der einzelnen Tiere spielt eine wesentliche Rolle bei der Hypobioserate. Bei stark befallenen, unbehandelten Tieren liegt diese Rate bei 25,6 % (Prosl 1985, Verschave et al. 2014). Allerdings sind die genauen Faktoren, die zur Hypobiose führen, sowie auch der genaue Ablauf der Wiederaufnahme der Weiterentwicklung bis heute nur teilweise erforscht (Charlier et al. 2020).

Nach Ablauf der vollständigen Entwicklung bis zum adulten Wurm leben und parasitieren die adulten Nematoden im Abomasum der Rinder. Dort sterben täglich etwa 2% der Würmer ab. Die Sterblichkeitsrate wird signifikant von der Infektionsstärke und Infektionsdauer des

jeweiligen Einzeltieres beeinflusst. 54% der adulten *O. ostertagi* sind weiblich. Auch diese Rate steht in positiver Korrelation mit Infektionsstärke und -dauer. Diese Tatsache impliziert, dass die weiblichen Nematoden entweder eine längere Lebensdauer haben, oder dass sie widerstandsfähiger sind, als ihre männlichen Artgenossen. Jedes weibliche Exemplar legt dort täglich durchschnittlich 284 Eier, die wiederum mit dem Kot ausgeschieden werden und auf den Weiden landen (Verschave et al. 2014).

Durch diesen Lebenszyklus kommt es zu einer starken Saisondynamik der Larvenpopulation auf den Weideflächen. Da die infektiösen L₃-Larven selbst auf hoch gelegenen Bergwiesen überwintern können, hängt der Kontaminationsgrad der Weiden stark von dem des vorhergehenden Jahres und den Witterungsverhältnissen zusammen (Hildreth und McKenzie 2018). In Mitteleuropa ist die Zahl der zu Infektion fähigen Larven bis April/Mai recht hoch, geht jedoch bis Mai/Juni stark zurück. Sind die Larven etwa im Hochgebirge von einer Schneedecke geschützt, kann auch noch bis Juli eine erhebliche Larvenkontamination bestehen. Die überwinterten Larven stellen besonders zu Beginn der Weidesaison eine wichtige Infektionsquelle, vor allem für Kälber und Jungrinder, dar. Wegen der Präpatenz von *O. ostertagi* von nur 21 Tagen scheiden die infizierten Tiere schon nach drei Wochen wiederum Eier aus und sorgen so selbstständig für die kontinuierliche Kontamination der Flächen. Ab Mitte Juli herrschen für die Weiterentwicklung und Translokation der Nematoden meist optimale Verhältnisse, was zur Zunahme des Infektionsrisikos auch für ältere Tiere führt. Ab August entwickeln sich aus den ausgeschiedenen Eiern zwar immer noch L₃-Larven, jedoch können diese ab ca. September nicht mehr aktiv auf die Pflanzen übergehen, was das Infektionsrisiko langsam wieder sinken lässt. Ein Teil dieser Larven überlebt den darauffolgenden Winter und sorgt im nächsten Jahr für neuerliche Infektionen (Charlier et al. 2020, Deplazes et al. 2020).

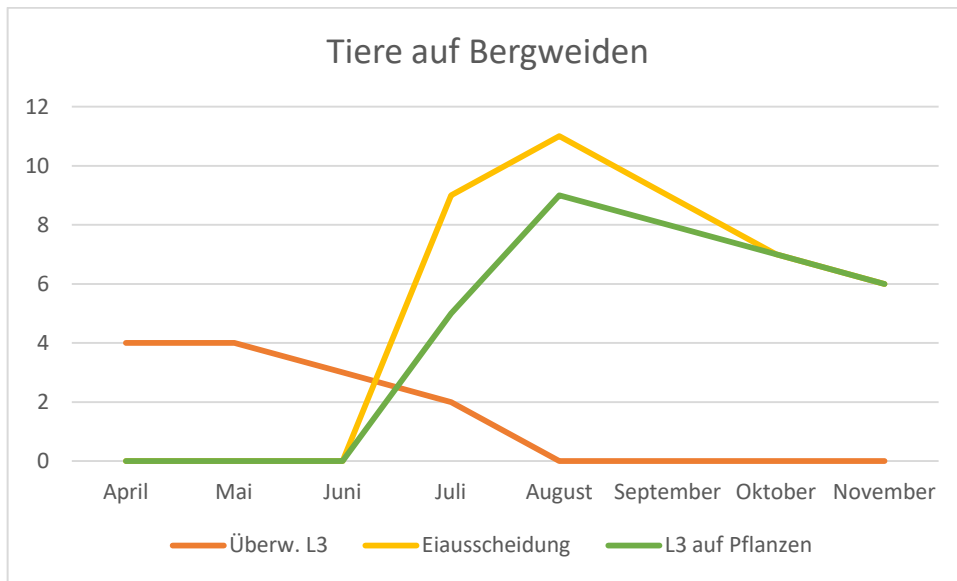


Abb. 2: Ostertagiose des Rindes: Schema der Epidemiologie auf Bergweiden (nach Institut für Parasitologie, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich; Prosl 1982)

2.2.3 Vorkommen und Verbreitung

O. ostertagi ist überall dort verbreitet, wo sowohl geeignete Wirte, als auch die geeigneten klimatischen Voraussetzungen zu finden sind. Der Parasit ist weder gegen extreme, lang andauernde Kälte, noch gegen extreme Hitze und UV-Einstrahlung besonders widerstandsfähig, was zu einem Vorkommen besonders in gemäßigten Klimazonen führt (Charlier et al. 2020).

In Österreich konnte bei einer Untersuchung aus dem Jahr 1985 die deutliche Dominanz von *O. ostertagi* gegenüber anderen Trichostrongyliden belegt werden. Bei allen der 87 untersuchten Kälbern und Jungrindern konnte der Parasit nachgewiesen werden. Bei den Kälbern machte er 43,2-86,5 % der Wurmbürde aus, bei gealpten Rindern stellte er sogar bis zu 81,5 % der Parasitenbelastung. Bei älteren Tieren machte er 66,1-81,5 % der Parasiteninfektionen aus (Prosl 1985).

In einer Studie aus der Region Flandern in Belgien konnte bei Milchkühen eine Prävalenz von ökonomisch relevanten Infektionen von 59,1 % festgestellt werden. Hier wurden 7002 Milchkühe aus 1758 Herden mittels ELISA Tankmilchproben untersucht. Hier konnten auch regionale Cluster festgestellt werden, die größtenteils auf Managementfaktoren

zurückzuführen sind. Jedoch war auch in den anderen, weniger befallenen Regionen eine hohe Prävalenz nachweisbar (Bennema et al. 2009).

Tab. 1: Ostertagia – Untersuchungen an Rindern weltweit: Stichprobengröße, Anteil als positiv eingestuft Tiere und Untersuchungsmethode. TM: Tankmilch, SPT: Serumpepsiongentest

Land	Gebiet	Probenanzahl (n)	Untersuchungs-methode	Als positiv eingestuft	Quelle
Österreich	Almregionen	87 Schlachtrinder + ca. 2000 Kotproben aus den Regionen	Abomasum + Koproskopie	Bis zu 81,5 %	Prosl 1985
Belgien	Flandern	1758 TM – Proben	ELISA	59,1 %	Bennema et al. 2009
Schweiz		1036 TM – Proben	ELISA	95,5 %	Frey et al. 2018
Deutschland		344 Herden	SPT + ELISA aus TM – Proben	18,3 % der Kälber, 28,2 % der Milchkühe	Franke et al. 2017
Polen	Nordöstliche und zentrale Provinz	598 TM – Proben	ELISA	n.ö. Provinz: 80,3 %, z. Provinz: 51,1 %	Kowalczyk et al. 2018
Schweden	Südlich-zentrale Region	210 TM – Proben	ELISA	42 %	Höglund et al. 2010
Vereinigtes Königreich	England und Wales	974 Schlachtrinder	Abomasum	89 %	Bellet et al. 2016
Italien		1209 TM - Proben	ELISA	26,1 %	Bosco et al. 2018
Nordamerika	Dakota + Westminnesota	98 Herden	Koproskopie	94 % mind. ein Ei in 3g Kot	Hildreth und McKenzie 2018
Nordamerika	Wyoming	208 Schlachtrinder	Abomasum + Koproskopie	98 %	Malczewski et al. 1996
Mexiko		1058 TM – Proben	ELISA	67,2 %	Villa-Mancera und Reynoso-Palomar 2019
Kanada	Saskatchewan	6 Betriebe	Koproskopie	85 % → <i>O. ostertagi</i> oder <i>C. oncophora</i>	Scott et al. 2019
Kanada	Ontario	59 Kühe + 38 Kälber	Koproskopie	39 % der Larven → <i>O. ostertagi</i>	Slocombe und Curtis 1989

In Schweizer Untersuchungen wurden von 1036 Milchkuhherden Tankmilchproben genommen. Auch mit diesen wurde ein ELISA durchgeführt, um Antikörpertiter messen zu können. 989 dieser Herden konnten positiv auf *O. ostertagi* getestet werden. Die geschätzte Seroprävalenz in diesen Betrieben betrug 95,5 % (Frey et al. 2018).

In Deutschland wurde eine Kombination aus Serumpepsinogentest und Milch-ELISA verwendet, um Kälber und Milchkühe aus 344 Herden aus dem ganzen Land zu untersuchen. 18,3 % der Kälber und 28,2 % der Milchkühe wurden hier positiv auf *O. ostertagi* getestet, 46,5 % der Milchkühe befanden sich in der diagnostischen Grauzone. Die höchste Prävalenz wurde in Niedersachsen festgestellt (Franke et al. 2017).

Untersuchungen aus Polen zeigten bei 598 Herden, ca. 65 % davon in der nordöstlichen und ca. 35 % in der zentralen Provinz, mittels ELISA aus Tankmilchproben eine Seroprävalenz von 80,3 % (Nordosten) bzw. 51,5 % (Zentral). Lokalisation der Herde, längere Weideperioden sowie der gemeinsame Nutzen mehrerer Herden von Weideflächen korrelierten positiv mit der Seroprävalenz. Die Unterschiede zwischen den beiden Regionen sind hier sowohl auf klimatische Unterschiede sowie Managementdifferenzen zurückzuführen (Kowalczyk et al. 2018).

Auch in Schweden wurden diesbezüglich schon einige Untersuchungen und Studien durchgeführt. Wie zuvor wurde auch in dieser Untersuchung mit ELISA aus Tankmilchproben gearbeitet. Hier wurde vor allem die unterschiedliche Befallsstärke von Biobetrieben im Vergleich mit konventionellen Betrieben untersucht. Von den insgesamt 210 gesammelten Proben wiesen 42 % eine optical densio rate (ODR) von $\geq 0,8$ auf, was allgemein hin als ökonomisch relevant eingestuft wird. Der Unterschied zwischen Bio- und konventionellen Betrieben war mit einer durchschnittlichen ODR von 0,82 bzw. 0,66 signifikant (Höglund et al. 2010).

Bellet et al. (2016) konnten im Vereinigten Königreich, sowohl in England als auch in Wales, bei ihren Untersuchungen am Abomasum von 974 Schlachtrindern eine Prävalenz von durch *Ostertagia* verursachte Läsionen von 89 % feststellen. Somit konnte auch hier die eindeutige Dominanz von dem Nematoden bestätigt werden. Die Autoren führen dies vor allem auf den relativ einfachen und direkten Lebenszyklus des Parasiten zurück.

Auch in Italien wurde eine derartige Untersuchung durchgeführt. Bei den Tankmilchproben aus 1209 Betrieben, aus denen hier ein ELISA gemacht wurde, wurden 26,1 % als eindeutig positiv eingestuft. 57,7 % der ODR-Werte befanden sich im Graubereich. Die höchsten Werte wurden im südlichen Italien gefunden (Bosco et al. 2018).

Auch in Nordamerika, wo 98 Rinderherden in Dakota und Westminnesota mittels Kotuntersuchung untersucht wurden, konnte in 94 % der Proben mindestens ein Trichostrongylidenei in 3g Kot gefunden werden. Eine andere Untersuchung aus Wyoming zeigte bei 98 % der geschlachteten Rinder adulte Würmer im Abomasum. Auch in Minnesota und Oregon wurde *O. ostertagi* gemeinsam mit *C. oncophora* als die dominante Trichostrongylidenart festgestellt (Hildreth und McKenzie 2018).

Forscher/innen in Mexiko haben mittels Tankmilchproben aus 1058 Milchkuhherden eine Prävalenz von 67,2 % feststellen können. Auch hier ergaben sich regionale Unterschiede zwischen Veracruz mit der höchsten Prävalenz von 78,45 % und Hidalgo mit der niedrigsten von 59,4 %. Auch hier führen die Autoren die Unterschiede auf klimatische Bedingungen zurück, die Prävalenz in tropischen Gebieten mit 78,59 % war hier am höchsten (Villa-Mancera und Reynoso-Palomar 2019).

In der kanadischen Provinz Saskatchewan wurden in sechs Betrieben die Kalbinnen in den aufeinander folgenden Monaten Juni, Juli und August desselben Jahres mittels Koprokopie untersucht. Hier wiesen zwischen 67-88 % der Tiere Eier von Trichostrongyliden auf. Es wurde daraufhin eine DNA – Sequenzierung durchgeführt, um die Strongylideneier auf die jeweilige Art zurückführen zu können. Für über 85 % der Strongylideneier waren *O. ostertagi* und *C. oncophora* verantwortlich (Scott et al. 2019).

Zudem hat eine Untersuchung aus Belgien, die über acht Jahre 1680 Milchkuhbetriebe beobachtet hat, gezeigt, dass der Klimawandel einen deutlichen Einfluss auf *O. ostertagi* hat. In diesen Jahren hat sich der generelle Aussetzungsgrad gegenüber dem Parasiten erhöht, was teilweise auf die Anzahl an Regentagen und warmen Tagen (>10 °C) im Jahr zurückzuführen ist. Jedoch sind zum Thema gastrointestinale Nematoden und Klimawandel noch keine verlässlichen Langzeitdaten vorhanden (Charlier et al. 2016).

2.2.4 Ökonomische Bedeutung

Infektionen mit gastrointestinalen Nematoden wie *O. ostertagi* werden als wichtige leistungsmindernde Faktoren angesehen. Besonders großen Einfluss bei Milchkühen haben sie auf Milchleistung, Wachstum und Fruchtbarkeit (Charlier et al. 2012). Es wird davon ausgegangen, dass Betriebe, die per Tankmilch – ELISA positiv auf den Parasiten getestet werden, rund 975l weniger Milch pro Kuh und Jahr produzieren, als negativ getestete Betriebe. Mit Paracalc© (online verfügbares Kalkulationsprogramm für landwirtschaftliche Betriebe) errechnet sich dadurch ein wirtschaftlicher Verlust von etwa 721€ pro Jahr für den Bauern. Der größte Teil ergibt sich auch hier wieder durch eine geringere Milchleistung von vor allem den multiparen Kühen (Franke et al. 2017).

Einfluss auf diese ökonomischen Faktoren hat besonders das Management der Tiere. Ein Aufschieben vom Beginn der Weidesaison auf Juni bzw. Juli hatte einen Effekt von 8,36€ pro Kuh pro Jahr. Jedoch war das frühere Aufstallen der Rinder und somit die Beendigung der Weidesaison mit Oktober bzw. September mit Verlusten von 9,05€ pro Kuh pro Jahr verbunden. Auch die Verkürzung der Weidedauer pro Tag von 24 auf 12 bzw. unter 6 Stunden brachte ein Minus von 53,37€ pro Kuh und Jahr. Dies ist vor allem auf die erhöhten Futtermittelkosten zurückzuführen (van der Voort et al. 2017).

Auch andere Parameter werden maßgeblich von der Infektion, besonders vom Infektionsgrad, mit *O. ostertagi* beeinflusst. Beispielsweise konnten auch Zusammenhänge mit dem Gewicht der Schlachtkörper der Rinder gefunden werden. So hatten die Schlachtkörper von Rindern mit nachgewiesenen Läsionen verursacht durch *Ostertagia* sowohl ein signifikant niedrigeres Gewicht, als auch eine niedrigere Fettklasse (Bellet et al. 2016).

2.3 Pathologische Veränderungen und Klinik

Bei der Ostertagiose, der klinisch relevanten Form von einer Infektion mit *O. ostertagi*, existieren verschiedene Formen der Erkrankung.

- Ostertagiose Typ I oder auch Sommerostertagiose: Diese Erkrankungsform betrifft vor allem Jungrinder, wie Kälber und Kalbinnen. Dadurch, dass die Tiere in den warmen Monaten auf der Weide sind, können täglich große Mengen an L₃-Larven

aufgenommen werden. Die Larven wandern, wie schon zuvor beschrieben, in die Drüsen des Abomasums, entwickeln sich dort zu adulten Würmern weiter und brechen dann aus den Drüsen aus, wobei sie erheblichen Schaden verursachen. (Myers und Taylor 1989) Dies führt zu je nach Schweregrad zu Leistungseinbußen oder den typischen Symptomen einer PGE. Die Jungtiere zeigen dann wässrig-blasigen, stinkenden, seltener auch blutigen Durchfall, schnell auftretenden Gewichtsverlust, Ödeme als Folge des Proteinverlustes, Anämie und vermindertes Allgemeinbefinden. Es kann auch zu frühzeitigen Todesfällen kommen (Dirksen et al. 2002).

- Vorstufe zu Ostertagiose Typ II oder auch Winterostertagiose: Dieser Typ kommt dadurch zustande, dass viele infektiöse Larven aufgenommen wurden, dann jedoch in Hypobiose gegangen sind. So können 100.000 oder mehr hypobiotische Larven über Monate im Magen-Darm-Trakt der Tiere ruhen, ohne Symptome hervorzurufen. Dieser Zustand führt letztendlich zu Typ II der Erkrankung (Myers und Taylor 1989).
- Ostertagiose Typ II: Hier setzt sich die Vorstufe zu diesem Typ fort. Sobald sich die Umwelt- und Wetterbedingungen wieder ändern, triggert das die hypobiotischen Larven, ihre Entwicklung weiter fortzuführen. Das kann langsam und graduell oder auch wie eine große Explosion ablaufen. Je schneller und abrupter dieser Prozess abläuft, desto dramatischer sind die klinischen Symptome. Diese sind mit den Symptomen von Typ I vergleichbar (Myers und Taylor 1989).

Zu Beginn der Ostertagiose kommt es zur Erweiterung der betroffenen Drüsen, zur Hyperplasie und Entdifferenzierung der Epithelzellen, besonders der Belegzellen, im Abomasum. Es bilden sich im weiteren Verlauf zunehmend herdförmige, zelluläre Infiltrate in der Propria. Diese Veränderungen greifen schließlich auf die nicht parasitierten Drüsen über (Deplazes et al. 2020).

In der Sektion treten durch diese (zunächst nur histologisch sichtbaren) Veränderungen bei Typ I wie Typ II bald multiple, weiße, erhabene Knötchen mit nabelartiger Eindellung auf der Schleimhautoberfläche des Abomasums auf. Oft sind diese Knötchen mit einer Rötung und Ödematisierung der Schleimhaut vergesellschaftet. Sie entstehen durch die massive Dehnung der Drüsen und die zellige Infiltration. Die von den Nematoden verlassenen Drüsen kollabieren oder füllen sich mit entzündlichem Exsudat. Nach einiger Zeit sind die

Schleimhautfalten des Labmagens bindegewebig verdickt. Die Regeneration in diesem Stadium kann einige Monate in Anspruch nehmen (Deplazes et al. 2020).

Vor allem die Zerstörung der HCl – produzierenden Belegzellen führt zu einem Abfall der Säureproduktion, was einen Anstieg des pH-Wertes von $\geq 2,6$ auf bis zu 7 zur Folge hat. Dadurch kann das Pepsinogen nicht in das proteolytische Pepsin umgewandelt werden. Ab einem pH 5 sistiert die Verdauung und es kommt zu einer bakteriellen Überwucherung, welche weiter zum Durchfallgeschehen beiträgt. Zusätzlich werden Proteine (v.a. Albumin) und Natrium aus dem Blut ins Lumen vom Abomasum bewegt (Myers und Taylor 1989).

Zu den systemischen pathophysiologischen Veränderungen zählt außerdem die Verringerung des Appetits des betroffenen Tieres. Das ist der Hauptgrund für Leistungseinbußen, wie verminderte Gewichtszunahme oder sogar Gewichtsverlust. Der Mechanismus, mit dem *O. ostertagi* den Appetit unterdrückt ist noch nicht vollständig untersucht, man geht aber von einer veränderten Verdauungshormonproduktion aus. Auch wie der Parasit Durchfall, welcher mit den gleichen Eigenschaften wie bakteriell induzierter Durchfall einhergeht, auslösen kann, ist noch nicht umfassend geklärt (Myers und Taylor 1989).

2.4 Diagnostik

2.4.1 Koproscopische Nachweisverfahren

Generell ist zu sagen, dass besonders bei Trichostrongyliden wie *Ostertagia* die Eiausscheidung über den Kot inkonstant und nur der positive Befund auch beweisend ist. Man sagt, dass etwa 20 % der Herde für 80 % der Wurmbürde verantwortlich ist. Bei adulten Rindern ist die Eiausscheidung meist sehr gering bis hin zu nicht nachweisbar. Zudem sind Trichostrongyliden über eine simple Kotuntersuchung nicht voneinander zu unterscheiden (Craig 2018).

Flotationsverfahren (Qualitativer Nachweis)

Hier werden in einem geeigneten Gefäß 3-5 g Kot mit dem ca. 10-fachen an Flotationsmedium gemischt und gründlich verrieben. Anschließend wird die Suspension

durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 500-800 µm in Zentrifugenröhrchen gegossen und drei Minuten bei 300-500 × g zentrifugiert. Nachdem die Zentrifugation abgeschlossen ist, werden mit einer Drahtöse einige Tropfen von der Flüssigkeitsoberfläche abgehoben und auf einen Objektträger aufgebracht. Die Probe kann, abgedeckt mit einem Deckglas, unter dem Mikroskop begutachtet werden. Die analytische Sensitivität wird hier mit 70-90 % angegeben (Deplazes et al. 2020).

Mini FLOTAC – Zählverfahren (Quantitativer Nachweis)

Bei dieser Untersuchungsmethode wird eine definierte Menge an Kot in eine markierte Zählkammer gebracht, um anschließend die ermittelte Zahl auf die Anzahl der Eier pro Gramm Kot (EpG) hochrechnen zu können.

$$\text{EpG} = \frac{\text{Eizahl aus zwei Z hlfeldern (N)}}{\text{Kotmenge (g)} \times \text{Z hlfeldgröße (cm}^2\text{)}} \times \frac{\text{Suspensionsvolumen (ml)}}{\text{Kammergröße (cm)} \times \text{Anzahl der Z hlfelder}}$$

Bei der Mini FLOTAC – Methode werden 5 g Kot mit 45 ml gesättigter NaCl-Lösung verrieben, die Suspension wiederum durch ein Sieb in ein kleineres Behältnis (z.B. Kotbecher) umgefüllt. Nun wird unter ständigem Rühren mit einer Pipette Suspension entnommen und in den Mini FLOTAC gefüllt, bis dieser vollständig gefüllt ist. Damit die Eier flotieren, muss man den FLOTAC zehn Minuten stehen lassen. Nach Ablauf der zehn Minuten wird der obere Disk um 90° gedreht, wodurch der oberste Flüssigkeitsfilm abgehoben und auf die Zählfläche aufgebracht wird. Dann können die Eier in den Zählkammern unter 100-facher Vergrößerung ausgezählt werden (Deplazes et al. 2020). Die Sensitivität dieses Verfahrens für die Diagnostik von Trichostrongyliden ist höher als die von der McMaster-Zählung und wird mit bis zu 100 % angegeben (Bosco et al. 2014).

Larvenkultur

Im Anschluss an beide eben genannten Methoden muss zur weiteren Differenzierung der Nematoden eine Larvenkultur angelegt werden. Dabei werden die infektiösen Drittlarven

gezüchtet, die dann morphologisch zur Artendifferenzierung herangezogen werden können. Bei Rinderkot müssen hierfür mindestens 50 g Kot mit Sägemehl und ggf. etwas Wasser gemischt und in ein Schraubglas gefüllt werden. Dieses Glas wird dann bis ca. 25 °C 7-10 Tage inkubiert. Nach der Inkubationsphase wird das Glas mit Wasser gefüllt und auf eine Petrischale umgestülpt. So wird die Kultur für weitere zwölf Stunden stehen gelassen bevor man die Larven, die sich mittlerweile in der mit Flüssigkeit gefüllten Petrischale befinden, mit einer Pipette entnehmen und betrachten kann (Deplazes et al. 2020).

2.4.2 Serumpepsinogenmessung

Hier wird Blut entnommen, um den Pepsinogenwert im Serum zu bestimmen. Dieses Verfahren wird seit Jahrzehnten als diagnostische Methode für Ostertagiose beim Rind angewandt. In der ersten Weidesaison des jeweiligen Einzeltieres korrelieren die Werte mit dem Auftreten von PGE. Leider existiert jedoch kein Standardprozedere für diese Untersuchung, was zum einen die Vergleichbarkeit in Frage stellt und zum anderen das Erstellen von Grenzwerten schwierig macht. Auch können erhöhte Pepsinogenwerte auch bei klinisch gesunden Kühen auftreten. Somit kann der Pepsinogenwert nur im Zusammenhang mit der Klinik und anderen parasitologischen Untersuchungsverfahren zur Diagnostik verwendet werden (Eysker und Ploeger 2000).

2.4.3 Antikörper-ELISA aus der Milch

Bei diesem minimalinvasiven Verfahren werden Milchproben genommen. Diese können aus der Tankmilch wie auch von einem Einzeltier entnommen werden. Für *O. ostertagi* gibt es einen kommerziell erhältlichen Antikörper-ELISA. Der SVANOVIR® *O. ostertagi* (Boehringer Ingelheim SVANOVA, Uppsala, Schweden) ist ein semiquantitativer, indirekter ELISA, der EU-weit getestet und validiert wurde (Boehringer Ingelheim <https://www.svanova.com/index.php/products/bovine/bp15.html> (Zugriff am 24.02.2021)).

Bei einem indirekten ELISA werden sowohl primäre als auch sekundäre Antikörper verwendet, was ihn vom direkten ELISA unterscheidet, wo nur ein primärer Antikörper verwendet wird. In den kommerziell erhältlichen Platten befinden sich Proteine, die von dem

jeweiligen Parasiten stammen. Die Milchproben werden einzeln in die Wells gefüllt. Enthält die Probe Antikörper, so binden diese an das Antigen in der Platte. Nachdem die Milchproben gewaschen wurden, wird der enzymgebundene Sekundärantikörper hinzugefügt. Dieser kann wiederum nur binden, wenn Primärantikörper vorhanden ist. Schlussendlich wird ein Substrat hinzugefügt, welches sich im positiven Fall blaugrün färbt (Difference between <https://www.differencebetween.com/difference-between-direct-and-vs-indirect-elisa/> (Zugriff am 24.02.2021)). Nach einiger Zeit wird diese Reaktion gestoppt und mit einem Photometer die optical density (OD) gemessen. Dieser Wert kann dann mit folgender Formel zur ODR umgerechnet werden:

$$ODR = \frac{OD\ Probe - OD\ Negativ}{OD\ Positiv - OD\ Negativ}$$

Diverse Faktoren haben Einfluss auf die ODR. Mit einer hohen ODR können z.B. Zugang zu Weide, lange Weidedauer am Tag, lange Weideperiode auf das Jahr bezogen, schlechterer Milchleistung und bekannter Anwesenheit von *Fasciola hepatica* in Zusammenhang gebracht werden. Allgemein gesprochen: je höher die ODR, desto schlechter die Milchleistung. Durchschnittlich geben die Kühe in Herden mit einer höheren ODR 0,9-1,25 kg weniger Milch am Tag (Forbes et al. 2008). Untersucht man die Milchproben von Einzeltieren, so wird davon ausgegangen, dass die Kühe bereits ab einem individuellen ODR-Wert von 0,12, gemessen in der Spätlaktation, von einer anthelminthischen Behandlung profitieren können (Vanderstrichel et al. 2013).

In einer Untersuchung von Guerden et al. aus 2017 konnte herausgefunden werden, dass Milchkühe von einer Behandlung mit Moxidectin pour-on in der Trockenstehzeit bezogen auf die Milchleistung in der folgenden Laktation profitieren können. Die behandelten Kühe gaben bis zu 2,35 kg mehr Milch am Tag. Diese Entwicklung ist darauf zurückzuführen, dass die Milchleistung weniger schnell abgesunken ist.

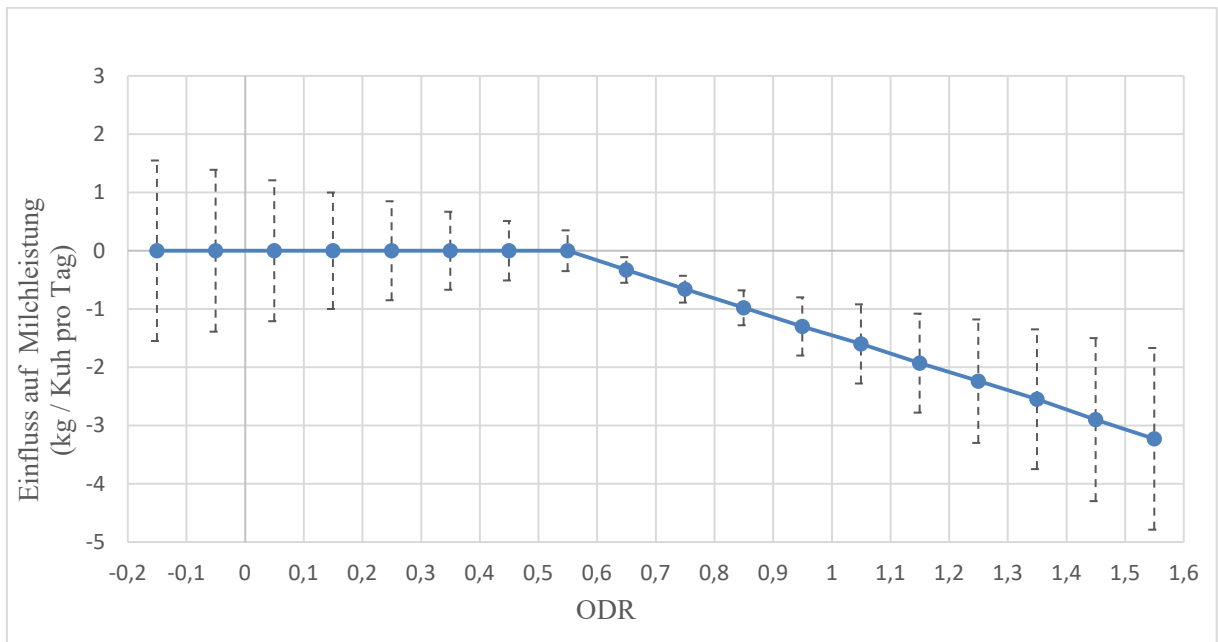


Abb. 3: Richtwertgrafik zur Interpretation von der ODR von Tankmilchproben in Relation zum Einfluss auf die tägliche Milchleistung pro Kuh in Milchküherden nach Forbes et al. 2008

2.4.4 Larvendifferenzierung mittels droplet digital PCR (ddPCR)

Bei der digitalen PCR handelt es sich um eine quantitative PCR-Methode, bei der eine Quantifizierung von DNA möglich ist. Vom Prinzip her läuft diese PCR wie eine quantitative Real-time PCR (qPCR) ab. Hier kann über die Zugabe von fluoreszierenden Farbstoffen die Reaktion in Echtzeit verfolgt werden (MVZ Martinsried GmbH <https://www.medizinische-genetik.de/diagnostik/allgemeine-informationen/methoden/real-time-pcr> (Zugriff am 24.02.2021)). Bei der ddPCR werden die DNA-Moleküle jedoch vor der Amplifikation in viele tausend Reaktionskammern ausgezellt, mit dem Ziel, nur ein einziges Molekül in jeder Kammer zu haben. Nach Ablauf der Reaktion wird das Fluoreszenzsignal aller Reaktionskammern ausgelesen und gemessen/gezählt, ob und in wie vielen Kammern die Sequenz amplifiziert werden konnte. Im Vergleich zur qPCR kann eine höhere Sensitivität und Spezifität erreicht werden (MVZ Martinsried GmbH <https://www.medizinische-genetik.de/diagnostik/allgemeine-informationen/methoden/ddpcr-droplet-digital-pcr> (Zugriff am 24.02.2021)).

Bezogen auf *O. ostertagi* kann die DNA aus jedem Material gewonnen werden, das potentiell den Parasiten bzw. Bestandteile von diesem enthält. Es eignen sich sowohl Eier, Larvenkulturen, Grasproben also auch adulte Würmer. Die PCR kann gemeinsam mit einer PCR auf *C. oncophora* gemacht werden, wodurch eine Erkennung der wichtigsten Trichostrongyliden der Rinder möglich wird (Baltrušis et al. 2019).

2.5 Therapie und Bekämpfung

Prinzipiell stehen zur Therapie und Metaphylaxe (Behandlung von klinisch noch nicht erkrankten Tieren) gut wirksame und verträgliche Medikamente zur Verfügung (Tab. 2).

Tab. 2: Gegen *O. ostertagia* wirksame Anthelmintika für Rinder mit Richtdosierungen und Wartezeiten; BZ: Benzimidazole, ML: makrozyklische Laktone, PBZ: Pro-Benzimidazole, IT: Imidazothiazole; aus Deplazes et al. 2020

Wirkstoff und (Wirkstoffklasse)	Dosierung in mg/kg	Applikationsart	Wartezeit essbare Gewebe/Milch in Tagen
Albendazol (BZ)	7,5	p. o.	21/129
Fenbendazol (BZ)	7,5	p. o.	10/120
Netobimin (PBZ), Zulassung für Schafe	7,5	p. o.	-
Oxfendazol (BZ)	4,5	p. o.	14/120
Levamisol (IT)	10,0	pour-on	112/n. a.
Doramectin (ML)	0,5/0,2	pour-on	70/n. a.
Eprinomectin (ML)	0,5/0,2	pour-on/s. c.	15/0
Ivermectin (ML)	0,5/0,2	pour-on/s. c.	49/n. a.
Moxidectin (ML)	0,5/0,2	pour-on/s. c.	143/n. a.

Diese Anthelminthika sind gegen adulte und unreife Stadien der Trichostrongyliden wirksam, jedoch bestehen Unterschiede bezüglich der Wirksamkeit bei hypobiotischen Stadien. makrozyklische Laktone haben den Vorteil, dass sie gegen die hypobiotischen L₄-Larven wirksam sind, langsam in den Tierkörper ausgeschieden werden und somit eine gewisse Langzeitwirkung (Residualwirkung) haben. Die Dauer der persistierenden Wirkung ist abhängig von Wirkstoff, Dosierung und Applikationsart. Gegen *O. ostertagi* wirkt Ivermectin (s. c.) eine Woche, Eprinomectin (pour-on) bis zu vier Wochen, Doramectin (pour-on) vier bis

fünf Wochen und Moxidectin (pour-on) fünf Wochen. Diese Residualwirkung kann man sich im Bekämpfungsprogramm zu Nutze machen (Deplazes et al. 2020).

Da der Einsatz von Anthelminthika trotz großer Wirkstoffpalette wegen Resistenzbildung nur sehr sparsam und gezielt erfolgen sollte, gilt es, auch Managementmaßnahmen in das Bekämpfungsprogramm mit einfließen zu lassen. Beispielsweise kann der Beginn der Weideperiode nach hinten, auf Juni oder gar Juli, verschoben werden, da Untersuchungen gezeigt haben, dass die auf den Weiden überwinterten infektiösen Drittlarven dann langsam ihre Energiereserven aufgebraucht haben und absterben. Die Rate, mit der die Larven sterben, hängt von der Temperatur und den Niederschlägen ab und variiert somit von Jahr zu Jahr. Somit könnte man den zeitlich gezielten Einsatz von makrozyklischen Laktonen mit einem späteren Beginn der Weideperiode kombinieren. So könnten die Tiere schon etwas früher auf die Weide und die L₃-Larven würden auf der Weide sterben, während die Residualwirkung des Medikaments noch vorhanden ist und die Rinder vor Infektion bewahrt (Hildreth und McKenzie 2018).

Der Aussetzungsgrad der Tiere mit den Nematoden wird von diversen Parametern beeinflusst. Wider Erwarten waren in einer Studie niedrige Besatzdichten der Weiden mit höheren Infektionsraten verbunden (Bennema et al. 2010). Die Autoren vermuteten, dass die Kühe, die mehr Grasfläche zur Verfügung hatten, diese auch mehr nutzten und mehr Gras und weniger zusätzliches Futter während der Weidesaison fraßen (Bennema et al. 2010). Maßnahmen, wie das Mähen der Weideflächen, können den Kontakt von dem Rind mit *O. ostertagi* reduzieren (Charlier et al. 2020).

Obwohl in der Schafhaltung bereits wesentlich größere Probleme mit Anthelminthikaresistenzen herrschen, gibt es auch immer mehr Berichte zu reduzierter Wirksamkeit von Anthelminthika von *O. ostertagi* beim Rind. Von einer Resistenz spricht man, wenn die Wirksamkeit unter 95 % liegt. Dieses Thema allein könnte eine ganze Arbeit füllen, deswegen hier nur eine Auswahl an Berichten zu diesem Thema:

- Injiziertes Ivermectin zeigte bei 122 Kalbinnen aus Kalifornien keine ausreichende Wirksamkeit gegen die hypobiotischen L₄-Larven. Auch oral appliziertes Oxfendazol hatte bei den sich entwickelnden L₄-Larven keine genügende Wirksamkeit, jedoch erfasste es relativ effizient die hypobiotischen Larven (Edmonds et al. 2010).

- Auch auf europäischen Rinderbetrieben konnte auf 12,5 % der untersuchten Betriebe eine Anthelminthikaresistenz gegen die makrozyklischen Laktone Ivermectin und Moxidectin festgestellt werden (Geurden et al. 2015).
- Pour-on-Präparate mit makrozyklischen Laktonen wiesen auch in Schwedischen Jährlingsherden eine reduzierte Wirksamkeit gegen *O. ostertagi* bei 15 % der Gruppen auf (Areskog et al. 2013).
- In Irland wurden 23 Rinderbetriebe untersucht. Hier wurden reduzierte Wirksamkeiten von Fenbendazol (60 % der Betriebe) und Ivermectin (100 % der Betriebe) festgestellt (Kelleher et al. 2020).
- Eine der neusten Untersuchungen in diesem Feld zeigt eine Wirksamkeit von 0 % von Fenbendazol. Die am häufigsten mit dieser Resistenz verbundenen Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) waren F200Y und F167Y (Bartley et al. 2021).

Targeted Treatment (TT) und Targeted Selective Treatment (TST)

Ziel des TT und des TST ist es, unnötige Behandlungen zu vermeiden. Beim TT wird immer die gesamte Herde behandelt, wenn die Risiken einer Infektion vorhanden sind oder Parameter erhoben wurden, die auf eine Infektion hindeuten. Bei der verfeinerten Variante, dem TST, werden nur einzelne Tiere einer Herde gezielt behandelt, unter der Prämisse, vor allem krankheitsgefährdete Tiere und Hoचाusscheider zu entwurmen (Charlier et al. 2014).

Bei den Tieren, die sich in ihrer ersten Weideperiode befinden, kann hier der schon genannte Serumpepsinogentest, vor allem am Ende der Weidesaison, angewandt werden. Auch die koproskopische Untersuchung ist hier geeignet. Diese sollte eher am Anfang der Weidezeit, also in den ersten vier bis acht Wochen herangezogen werden. Ein EpG von > 100 wird hier als behandlungswürdig angesehen. Eine Zeit lang galt das regelmäßige Wiegen der Jungtiere als bewährt, dies ist aber allenfalls zusätzlich zu empfehlen (Charlier et al. 2014).

Adulte Milchkühe profitieren von einem Monitoring per Antikörperlevel. Auch der durchschnittliche „time of effective contact“ (TEC) kann zur Entscheidungsfindung mitherangezogen werden. Dieser besagt, wie lange eine Kalbin vor der ersten Abkalbung effektiv Kontakt mit infektiösen Nematodenlarven hatte. Dieser Kontakt wird von der

Weidedauer und eventuellen Vorbehandlungen mit Anthelminthika beeinflusst. Der TEC nimmt im weiteren Verlauf großen Einfluss auf die Ausbildung einer Immunität. TEC um die acht Monate wird als ungenügend eingestuft, um Reinfektionen zu verhindern. Daraus ergibt sich, dass Tiere mit einem niedrigen TEC mehr von einer Behandlung profitieren, als Tiere mit einem $TEC \geq 8$ Monate (Ravinet et al. 2014).

Somit könnte der TEC und die Antikörpertitermessung kombiniert werden, um eine individuelle Behandlungsentscheidung treffen zu können (Ravinet et al. 2014). Das höchste Ansprechen auf Behandlung zeigen Tiere mit hohen ODR-Werten in individuellen Milchproben (Vanderstrichel et al. 2013). Was die Kotprobenuntersuchung und die anschließende Eizählung angeht, sind weitere Untersuchungen nötig, da die aktuellen Studien sehr unterschiedliche Ergebnisse erzielt haben (Charlier et al. 2014).

3. Eigene Arbeit

3.1 Material und Methoden

Im Rahmen dieser Studie wurden individuelle Milchproben von 27 laktierenden Milchkühen von drei Betrieben in Tirol und Niederösterreich im November und Dezember 2020 genommen. Von einem Betrieb wurde außerdem eine Tankmilchprobe gezogen. Zudem wurden Kotproben der einzelnen Tiere genommen und untersucht. Das Alter und die Rasse der Tiere wurden notiert. Zudem wurden Betriebsdaten wie Betriebsgröße und Entwurmungsfrequenz sowie Informationen zum Weidegang erhoben. Die Kühe wurden vorangehend nicht mit Anthelmithika behandelt. Die Betriebe wurden willkürlich ausgewählt. Das einzige Auswahlkriterium war, dass die Tiere im Sommer 2020 gealpt wurden. Im Vorfeld wurden auch Kotproben von diesen Tieren entnommen, mittels Mini FLOTAC untersucht. Die genauen Ergebnisse der koproskopischen Untersuchungen sind Gegenstand der Diplomarbeiten von Frau Haidenreich und Frau Hochreiter.

Die gewonnenen Proben wurden anschließend mit dem kommerziell erhältlichen SVANOVIR[®] *O.ostertagi*-Ab ELISA aufgearbeitet. Hierbei wurde nach folgendem Schema vorgegangen:

- Zuerst wurden die gefrorenen Milchproben aufgetaut und anschließend 15 Minuten bei $2000 \times g$ zentrifugiert, damit sich der Fettanteil an der Oberseite absetzt. Die Proben wurden unter dem Fettfilm entnommen.
- Als erstes wurden sowohl 100 μ l von der Positiv- als auch von der Negativkontrolle paarig in die Wells pipettiert.
- Dann wurden auch jeweils 100 μ l der Proben in Duplikaten in die Wells gefüllt.
- Nachdem die Platte etwas geschüttelt worden war, wurde sie versiegelt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.
- Nach Ablauf der Zeit wurden die Wells mit dem beiliegenden, bereits verdünnten PBS-Tween Waschpuffer dreimal gewaschen und ausgeklopft.
- Anschließend wurden 100 μ l von dem HRP Konjugate zu jedem Well hinzugefügt, die Platte wiederum versiegelt und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Das Konjugate besteht aus einem bovinen IgG, welches mit Meerrettichperoxidase (engl. HRP) konjugiert wurden.

- Nach der Inkubationszeit wurde die Platte abermals dreimal gewaschen und ausgeklopft.
- Pro Well wurde dann 100 μ l von der Substratlösung beigefügt. So wurde die Platte ein letztes Mal für 30 Minuten bei Raumtemperatur, dieses Mal im Dunkeln, inkubiert. Es entwickelt sich bei diesem Schritt die blau-grüne Indikatorfarbe.
- Dann wurde nach genau 30 Minuten die Stopplösung hinzugefügt.
- Die Platte wurde dann 15 Minuten nach dem Hinzufügen der Stopplösung mit einem ELISA-Reader, in diesem Fall mit dem FilterMax F5 Multi-Mode Microplate Reader (Molecular Devices LLC., San José, Vereinigte Staaten), mit 405 nm ausgelesen.

Da die Proben und auch die Kontrollwells jeweils in Duplikaten pipettiert wurden, wurde nur für jede Probe der Mittelwert aus den beiden Werten ermittelt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P	P	7	7	15	15	23	23				
B	N	N	8	8	16	16	24	24				
C	1	1	9	9	17	17	25	25				
D	2	2	10	10	18	18	26	26				
E	3	3	11	11	19	19	27	27				
F	4	4	12	12	20	20	28	28				
G	5	5	13	13	21	21						
H	6	6	14	14	22	22						

Abb. 4: Schemazeichnung von einer 96er-Mikrotiterplatte mit dem hier verwendeten Pipettierschema

Die Hersteller geben einen OD von $> 0,8$ für die Positivkontrolle und $< 0,4$ für die Negativkontrolle an. Hier lag die Positivkontrolle bei 1,312 und die Negativkontrolle bei 0,169, was die Validität des Tests bestätigt.

Anschließend wurde für den Mittelwert jeder Probe die ODR mit folgender Formel berechnet:

$$ODR = \frac{OD\ Probe - OD\ Negativ}{OD\ Positiv - OD\ Negativ}$$

Dieser ODR-Wert wurde dann sowohl mit den Ergebnissen der Koproskopie (Mini FLOTAC und Larvenkultur) als auch mit den jeweiligen Milchleistungsdaten des Betriebes bzw. des Einzeltieres in Kontext gesetzt.

Da von dem Hersteller des Testkits keine Grenzwerte angegeben werden, wurde bei der Interpretation der Ergebnisse die Cut-off – Werte von Bosco et al. 2018 übernommen. Dieser teilt die ODR in drei Kategorien ein:

$$\text{negativ} < 0,30 \leq \text{Grauzone} \leq 0,60 < \text{positiv}$$

Zur Berechnung von Zusammenhängen zwischen 1. der *Ostertagia*-ODR und der Milchleistung, 2. der *Ostertagia*-ODR und den EpG-Werten, sowie 3. den EpG Werten mit der Milchleistung der Einzeltiere, wurde die Korrelation nach Pearson mit dem Programm SPSS (IBM GmbH, Ehningen, Deutschland) berechnet. Die Korrelation nach Pearson kann Werte zwischen -1 (maximale negative Korrelation, 0 (keine Korrelation) und 1 (maximale positive Korrelation) annehmen. Zudem wurde zur Visualisierung eines möglichen linearen Zusammenhangs für die jeweiligen Parameter ein Scatterplot erstellt.

Unterschiede der EpG-Werte, Milchleistung in kg/Jahr und *Ostertagia* -ODR der drei verschiedenen Betriebe wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test miteinander verglichen. Bei allen Berechnungen galt ein p-Wert < 0.05 als signifikant.

4. Ergebnisse

Betriebsdaten:

In allen Betrieben wurde Fleckvieh gehalten. Die Betriebsdaten sind in Tabelle 3 aufgeführt. Betrieb 1 hielt die meisten Milchkühe. Alle Betriebe entwurmt nur das Jungvieh mit Eprinomectin, wobei nur Betrieb 3 mehr als einmal jährlich entwurmt. Auf allen Betrieben wurden die Tiere gealpt. Die gesamte Weidedauer (Weide und Alm) für Erstsömmrige war auf Betrieb 3 am längsten, nur auf Betrieb 1 wurden Erstsömmrige Rinder auch gealpt. Die Weidedauer für Zweitsömmrige war auf Betrieb 2 am längsten. Laktierende Milchkühe hatten auf Betrieb 1 und 2 mit 6 Monaten den längsten Weidegang, wurden jedoch nicht auf die Alm aufgetrieben. Hingegen standen die Milchkühe des dritten Betriebs 4 Monate auf der Alm.

Tab. 3: Betriebsdaten, Parasitenmanagement und Informationen zum Weidegang der drei untersuchten Betriebe

	Betrieb 1:	Betrieb 2:	Betrieb 3:
Bundesland	Tirol	Niederösterreich	Tirol
Anzahl der Rinder auf dem Betrieb	64 Milchkühe, 35 Stück Jungvieh	26 Milchkühe, 60 Stück Jungvieh	55 Milchkühe, 25 Stück Jungvieh
Entwurmungshäufigkeit	1x jährlich (nur Jungvieh)	1x jährlich (nur Jungvieh)	2x jährlich (nur Jungvieh)
Entwurmungsmittel	Eprinomectin	Eprinomectin	Eprinomectin
Wurde ein Rückgang der Milchleistung beobachtet?	nein	nein	nein
Wurde eine Abmagerung der Tiere bemerkt?	nein	nein	nein
Hatten Sie schon einmal Probleme mit Parasiten?	ja	ja	nein
Haben Sie eine Jungtier-Koppel? Wie groß ist diese?	8,7 ha	0,4 ha	2 ha

Wie lange sind die Tiere auf der Weide/ auf der Alm?			
• Erstsömmrige	30/ 100 Tage	150 (nur Weide)	210 (nur Weide)
• Zweitsömmrige	30 /100	30/150	135 (nur Alm)
• Drittsömmrige oder ältere	100/ 80 (nur Trockensteher, Kurzrasenweide)	180 (nur Weide)	120 (nur Alm)

Milchleistungsdaten:

Die Milchleistungen der Betriebe waren sehr unterschiedlich. Betrieb 2 brachte mit durchschnittlich 7692,4 kg/Jahr pro Kuh die eindeutig höchste Milchleistung, während sie im Betrieb 1 am niedrigsten war (Abb. 5)

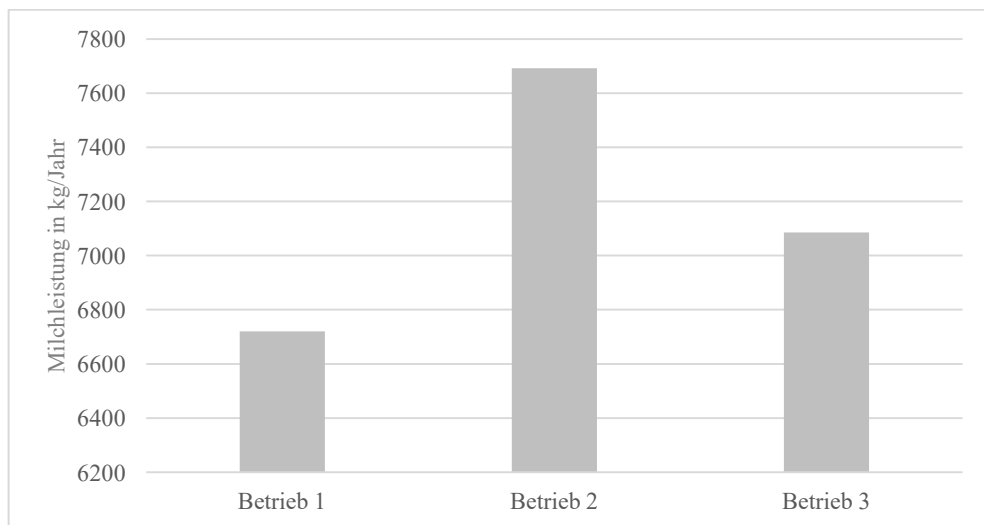


Abb. 5: Mittelwert von der Milchleistung in kg/Jahr pro Kuh für die einzelnen Betriebe im Vergleich

Ostertagia-ODR-Werte:

Von den 27 untersuchten Einzeltieren waren nur zwei negativ, acht befanden sich in der Grauzone und 17 waren teils hoch positiv.

Der erste Betrieb zeigte insgesamt die niedrigsten Ostertagia-ODR-Werte (Tab. 3, Abb. 6). Hier waren nur fünf der elf getesteten Kühe im eindeutig positiven Bereich. Auch fünf befanden sich in der Grauzone. Die Probe eines Tieres lag knapp unter dem Cut-Off von 0,3 und wurde somit als negativ klassifiziert. Die durchschnittliche ODR für diesen Betrieb lag bei 0,592.

Tab. 4: Übersicht über die Werte des ersten Betriebes; ODR: optical density rate, EpG: Eier pro Gramm Kot

Probe:	ODR:	Einteilung:	EpG:	Milchleistung in kg/Jahr:
1	0,466	Grauzone	0	5856
2	0,430	Grauzone	0	7329
3	0,836	positiv	55	Noch keine Daten
4	0,371	Grauzone	5	4559
5	0,907	positiv	110	Noch keine Daten
6	0,540	Grauzone	0	7611
7	0,686	positiv	55	6913
8	0,252	negativ	25	5853
9	0,830	positiv	50	8861
10	0,625	positiv	15	7406
11	0,565	Grauzone	15	6093

Im zweiten Betrieb waren die Werte etwas höher und somit im Mittelfeld (Tab. 4, Abb. 6). Von acht individuell getesteten Tieren zeigten vier einen positiven Wert. Drei Tiere befanden sich im Graubereich und eines hatte einen als negativ eingestuften Wert. Auch die Tankmilchprobe lag mit 0,73 im deutlich positiven Bereich (Tab. 4). Die durchschnittliche ODR für diesen Betrieb lag bei 0,863.

Tab. 5: Übersicht über die Werte des zweiten Betriebes; ODR: optical density rate, EpG: Eier pro Gramm Kot

Probe:	ODR:	Einteilung:	EpG:	Milchleistung in kg/Jahr:
1	0,461	Grauzone	30	7730
2	0,737	Positiv	20	7076
3	0,913	Positiv	0	Noch keine Daten
4	0,585	Grauzone	0	7390
5	0,521	Grauzone	35	Noch keine Daten
6	0,622	positiv	60	Noch keine Daten
7	0,295	negativ	0	7582
8	0,727	positiv	5	8684
TM-Probe	0,730	positiv	-	-

Die insgesamt höchsten Werte zeigte der dritte Betrieb (Tab. 5 Abb. 6). Alle seiner acht getesteten Milchkühe hatten Werte im positiven, teils auch hoch positiven Bereich (Tab. 3). Die durchschnittliche ODR für diesen Betrieb lag bei 0,86.

Tab. 6: Übersicht über die Werte des dritten Betriebes; ODR: optical density rate, EpG: Eier pro Gramm Kot

Probe:	ODR:	Einteilung:	EpG:	Milchleistung in kg/Jahr:
1	1,017	positiv	0	7187
2	0,801	positiv	0	8007
3	0,923	positiv	10	6971
4	0,635	positiv	0	6342
5	0,675	positiv	10	7391
6	0,784	positiv	10	6616
7	1,099	positiv	15	Keine Daten
8	0,968	positiv	15	Keine Daten

Kotprobenuntersuchungen

Details zu den Kotprobenuntersuchungen werden in der Diplomarbeit von Frau Hochreiter behandelt. Anbei werden nur die Informationen genannt, die zum Vergleich mit den *Ostertagia*-ODR-Werten verwendet wurden.

Im Betrieb 1 konnten bei drei der Tiere keine Eier im Kot nachgewiesen werden, der durchschnittliche EpG lag bei 30 und war somit von allen Betrieben am höchsten (Tab. 3; Abb. 7). In der Larvenkultur zeigte sich bei diesem Betrieb, dass 0 % von den gefundenen Larven *O. ostertagia* angehörten.

Auch im Betrieb 2 konnten im Kot von drei Tieren keine Eier gefunden werden, Der durchschnittliche EpG lag bei 19 (Tab. 4; Abb. 7). Bei der Larvenuntersuchung der Kotproben dieses Betriebes stellten sich 22,5 % der Larven als *O. ostertagia* heraus.

Wie auch bei den anderen Betrieben konnten im Betrieb 3 bei drei Tieren keine Eier im Kot gefunden werden. Der durchschnittliche EpG war hier mit 7,5 am niedrigsten (Tab 5; Abb. 7). Die Larvenuntersuchung ergab hier einen Anteil von 28 % *Ostertagia* – Larven.

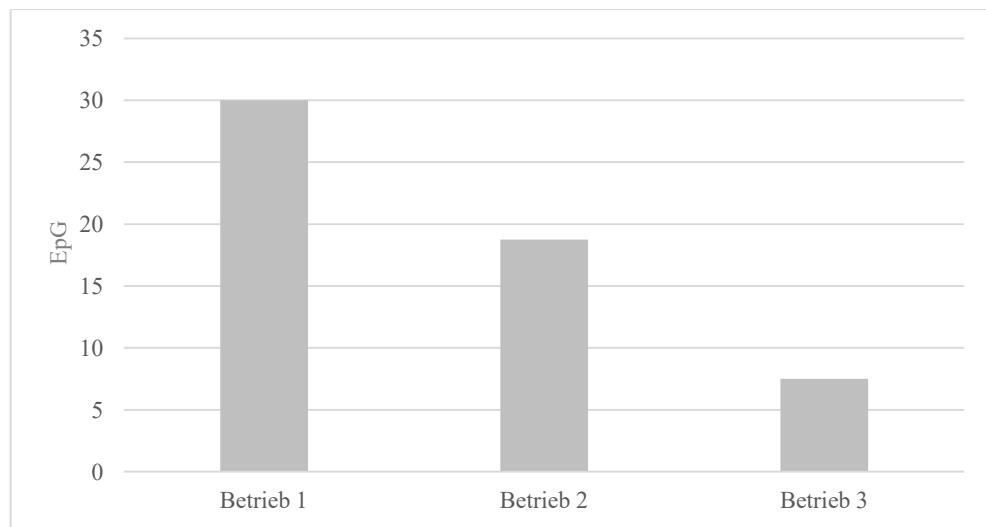


Abb. 6: Mittelwert vom EpG für die einzelnen Betriebe

Statistische Auswertung

Mit der Korrelation nach Pearson wurde nur ein schwacher und nicht signifikanter positiver Zusammenhang zwischen *Ostertagia*-ODR und Milchleistung berechnet ($r = 0,413$; $p = 0,070$). Dies zeigt sich auch im Scatterplot (Abb. 8). Auch zwischen *Ostertagia*-ODR und EpG war nur eine sehr schwache, nicht signifikante positive Korrelation zu erkennen ($r = 0,187$; $p = 0,351$; $N = 27$). Auch dies ist entsprechend im Scatterplot sichtbar (Abb. 9). Der Vergleich von Milchleistung und EpG ergab ebenfalls nur einen schwachen positiven und nicht signifikanten Zusammenhang ($r = 0,170$; $p = 0,472$; Abb. 10).

Es gab keinen mit dem Kruskal-Wallis-Test feststellbaren signifikanten Unterschied der Betriebe hinsichtlich dem EpG ($p = 0,345$) oder der Milchleistung ($p = 0,214$). Lediglich bei

den *Ostertagia*-ODR-Werten hatte der Betrieb 3 signifikant höhere Werte als die anderen Betriebe ($p=0,017$).

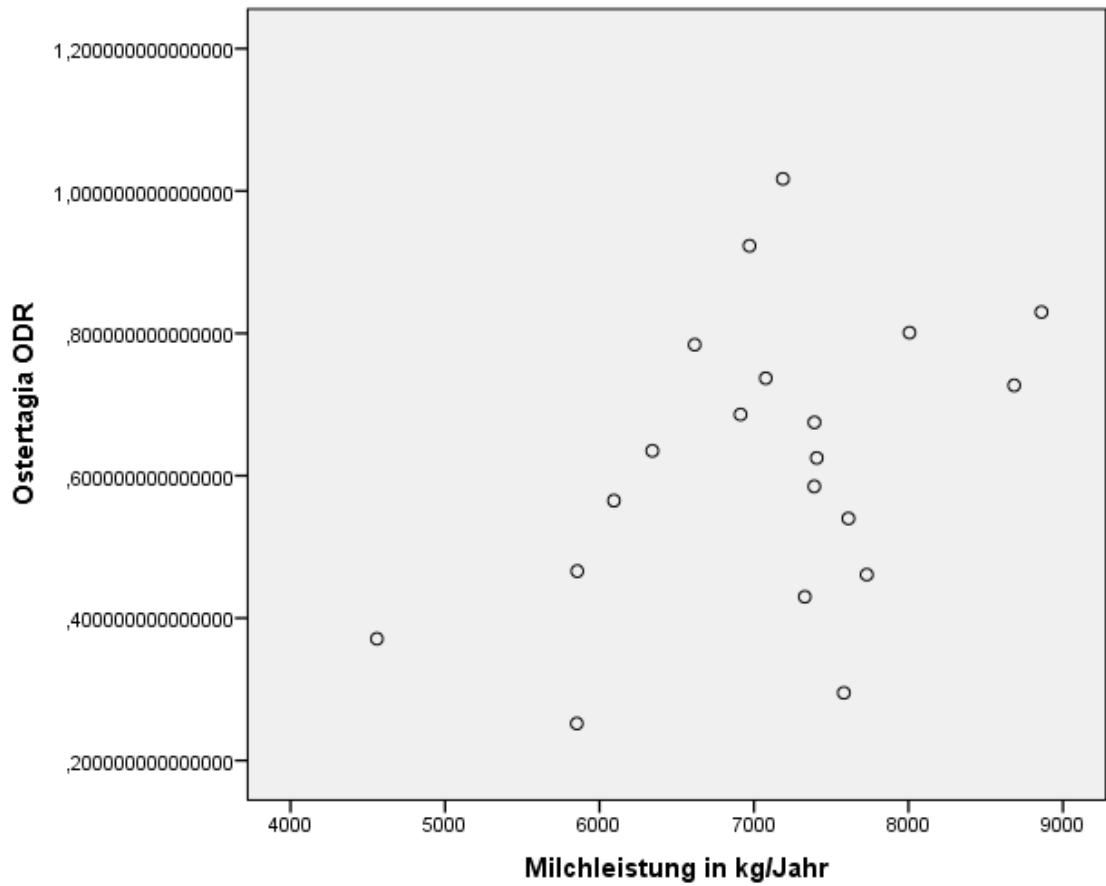


Abb. 7: Zusammenhang von Milchleistung und Ostertagia ODR in einem Scatterplot

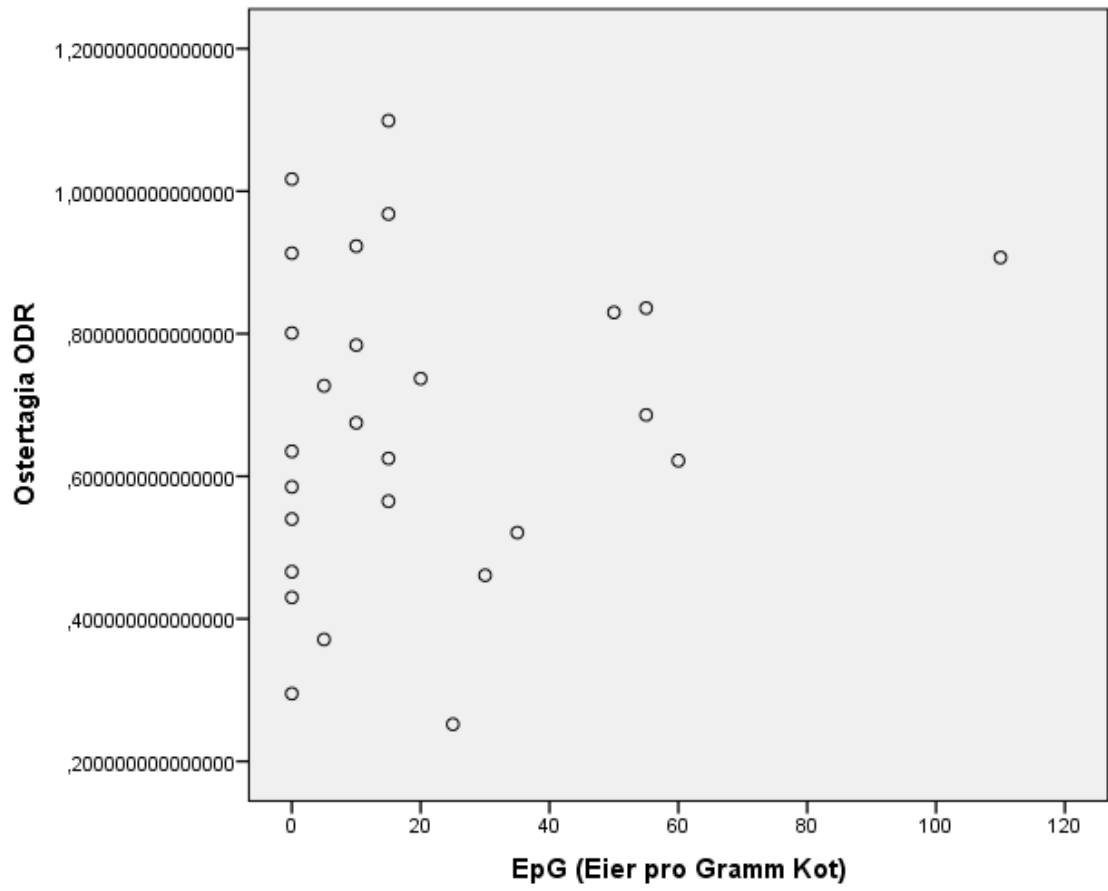


Abb. 8: Zusammenhang von EpG und ODR in einem Scatterplot

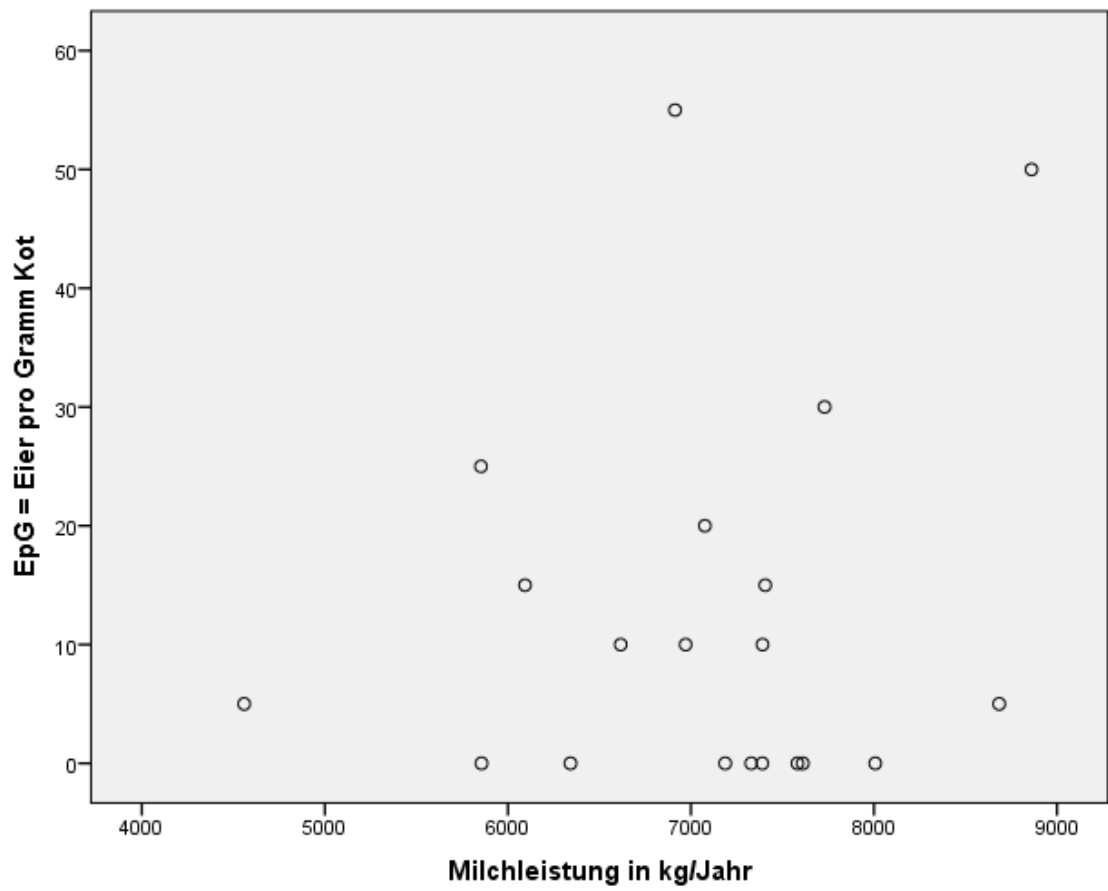


Abb. 9: Zusammenhang von EpG mit der Milchleistung in einem Scatterplot

5. Diskussion

Ziel dieser Pilotstudie war es, die Befallsintensität von Milchkühen in österreichischen Betrieben mit *O. ostertagi* mittels serologischer Untersuchung der Milch zu erfassen und eventuelle Korrelationen mit anderen diagnostischen Methoden und besonders mit der jeweiligen Milchleistung festzustellen. Dabei sollten auch Informationen gesammelt werden die notwendig sind, um Folgestudien zu diesem Thema zu planen. Hierfür wurden im November und Dezember 2020 von drei Betrieben mit insgesamt 27 Milchkühen Milch- und Kotproben untersucht und die Jahresmilchleistungsdaten zur statistischen Auswertung gesammelt.

Bei dieser Untersuchung konnte kein Zusammenhang zwischen Milchleistung und den *Ostertagia*-ODR-Werten festgestellt werden. Die Hypothese dieser Studie wurde also nicht bestätigt. Allerdings war die Anzahl der Betriebe dieser Pilotstudie auch zu gering, um entsprechende Aussagen zu treffen.

Aufgrund der geringen Anzahl untersuchter Betriebe kann nur spekuliert werden, ob Unterschiede in der Milchleistung auch auf den Befall mit *Ostertagia* zurückzuführen sind. Der Betrieb mit der höchsten Milchleistung (Betrieb 2) hatte einen ODR-Wert von 0,6. Bei diesem Wert gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben, ob eine anthelminthische Behandlung zu einem Anstieg der Milchleistung führen könnte (Bosco et al. 2018, Forbes et al. 2008). Zudem hatte auch der Betrieb mit der niedrigsten Milchleistung den gleichen mittleren ODR-Wert wie Betrieb 2. Den höchsten *Ostertagia*-ODR-Wert hatte Betrieb 3, der aber nicht die niedrigste Milchleistung hatte. Die Milchleistung kann durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst werden und es ist aufgrund der geringen Stichprobengröße und auch, weil nur parasitenbezogene Parameter erhoben wurden, nicht möglich, die entscheidende Ursache für die Unterschiede in der Milchleistung zu ermitteln. Wahrscheinlich spielte auch die Lokalisation der Betriebe eine große Rolle. Der Betrieb mit der höchsten Milchleistung kam aus Niederösterreich, während die beiden anderen Betriebe in Tirol lagen. In Folgestudien sollten nur Betriebe aus einer Region verglichen werden, um diese Störvariable auszuschließen. Auch über den Zusammenhang vom Weidemanagement mit den *Ostertagia*-ODR-Werten kann nur spekuliert werden. Betrieb 3 hatte die höchsten ODR-Werte. Er war der einzige Betrieb, bei dem auch die Milchkühe gealpt wurden und der Betrieb mit den

durchschnittlich niedrigsten EpG-Werten. Da ein hoher ODR-Wert auf eine starke Immunantwort auf *Ostertagia* hinweist, könnte vermutet werden, dass die Tiere durch die Alpung im Sommer und den dadurch konstant erfolgenden Kontakt mit *Ostertagia*-Larven eine stärkere Immunantwort gegen *Ostertagia* ausgebildet haben und daher am Ende der Weidesaison weniger Parasiteneier ausschieden. Dies sind allerdings nur Spekulationen, die durch Untersuchungen einer größeren Stichprobe und genauerer Erfassung relevanter Parameter überprüft werden sollten. Ergebnisse aus Studien anderer Länder können nicht einfach auf die Milchviehbetriebe in Österreich mit Alpung übertragen werden, da sie sich in der Betriebsstruktur sehr unterscheiden.

Insgesamt zeigten die drei Betriebe einen Durchschnitts-ODR-Wert von 0,677, der im internationalen Vergleich eher hoch abschneidet. In Italien wurde beispielsweise eine durchschnittliche ODR von 0,49 gemessen (Bosco et al. 2018). Auch in Dänemark (0,48), Deutschland (0,48), Niederlande (0,45), Portugal (0,61), Spanien (0,53) und England (0,60) fanden sich durchwegs niedrigere Durchschnittswerte (Forbes et al. 2008). Offensichtlich waren die untersuchten Milchkühe der österreichischen Betriebe also vergleichsweise stark mit *Ostertagia* infiziert bzw. zeigten sie eine vergleichsweise starke Immunreaktion auf eine Infektion. Ob diese Infektionen aber klinisch relevant sind und eine Behandlung der Milchkühe zu höherer Milchleistung führen könnte, muss in Folgestudien erhoben werden.

Der Untersuchungszeitpunkt der Betriebe im Herbst nach Aufstallung kann als günstiger Zeitpunkt gewertet werden, da zum Abschluss der Weidesaison die beste Aussage zur Parasitenbürde mittels Antikörpernachweis getroffen werden kann (Charlier et al. 2011). Für koproskopische Untersuchungen ist der Zeitpunkt nach Aufstallung im Herbst/Winter jedoch nicht der ideale Zeitpunkt, da viele Tiere aufgrund der Immunitätsbildung schon keine Nematoden-Eier mehr ausscheiden (Prosl et al. 1985). Diese Untersuchung sollte eher im Sommer erfolgen. Diese Beobachtung konnte auch mit dieser Studie bestätigt werden, da die ermittelten EpG-Werte allgemein sehr niedrig waren.

Ein weiterer Nachteil der koproskopischen Untersuchung ist der hohe Zeitaufwand, besonders bei der Untersuchung von großen Betrieben.

Die serologische Untersuchung von Milchproben mittels ELISA ist daher eine interessante Methode für die epidemiologische Kontrolle von Infektionen mit *O. ostertagi* (Forbes et al.

2008, Bennema et al. 2009, Höglund et al. 2010, Delafosse 2013, Vanderstrichel et al. 2013, Bosco et al. 2018). Die Probengewinnung, die vom Landwirt selbst durchgeführt werden kann, ist nicht invasiv und wesentlich weniger aufwendig als beispielsweise die Sammlung von einzelnen Kotproben. Außerdem ist die Gewinnung einer Tankmilchprobe ohne Unterbrechung der jeweiligen Betriebsroutine durchführbar. Die Untersuchung dieser ist zeitsparend und gibt zumindest einen Richtwert, wie stark die Herde infiziert ist. Dennoch ist die Aussage über die Einzeltiere natürlich relativ gering. Mit Tankmilchproben kann nur eine Aussage auf Herdenebene getroffen werden. Einzeltiere serologisch zu untersuchen ist aber leider recht teuer und somit zum aktuellen Zeitpunkt für den Landwirt nicht in den regelmäßigen Abständen, die notwendig wären, umsetzbar.

Alle drei in dieser Studie untersuchten Betriebe behandelten ihre Milchkühe nicht gegen Nematodeninfektionen, nur Jungtiere wurden einmal im Jahr behandelt. Angesichts der zunehmenden Problematik von Anthelminthikaresistenzen ist dies prinzipiell positiv zu werten. Es ist anzunehmen, dass diese niedrige Behandlungsfrequenz die Entwicklung von Anthelminthikaresistenzen verlangsamt. Daher sollte auch erst nach gründlicher Kosten-Nutzen-Analyse empfohlen werden, Milchkühe zu behandeln, die hohe *Ostertagia*-ODR-Werte zeigen. Erst wenn eindeutig nachgewiesen werden kann, dass die Tiergesundheit und/oder Milchleistung dadurch deutlich erhöht wird, sollte die anthelminthische Behandlung der Milchkühe in Erwägung gezogen werden. Auch, falls eine Behandlung für empfehlenswert erachtet wird, sollten Strategien des targeted selected treatment in die Behandlung einbezogen werden (z.B. könnten nur die Kühe behandelt werden, die klinisch auffällig sind oder eine auffallend niedrige Milchleistung zeigen).

Noch wurden keine Anthelminthikaresistenzen bei Rindern in Österreich beschrieben, doch sollte immer auf einen eher restriktiven Umgang mit Anthelminthika geachtet werden und möglichst selektiv, also nach vorausgegangener Untersuchung, behandelt werden. Zum anderen profitieren die Landwirte von möglichst gesunden und durch Parasiten wenig belasteten Kühen, die vor allem leistungsstärker im Bezug auf Milch sind. Bei einer durchdachten Strategie, geeigneter Diagnostik und korrekt eingeleiteter Therapie hat der Bauer gesunde Kühe, die mehr Milch geben (Forbes et al. 2008).

Die Erhöhung der Milchleistung von Einzeltieren ist auch ein Faktor, der durchaus global von Bedeutung sein kann. Die Menschheit sieht sich immer mehr in einer Klima- und Umweltkrise, die nicht zuletzt auch auf die Nutztierhaltung zurückzuführen ist. Kühe produzieren Treibhausgase, die mitverantwortlich für die Erderwärmung sind und sie benötigen Futtermittel, die natürlich auch angebaut werden müssen. Daher wäre es ein Gewinn, wenn durch gutes Parasitenmanagement eine Kuh mehr Milch geben kann und somit unter dem Strich weniger Kühe den Markt beliefern können (Charlier et al. 2012, Forbes et al. 2008).

Da in dieser Arbeit die durchschnittliche ODR im internationalen Vergleich recht hoch war, wäre es durchaus ein Gewinn für die ökonomisch und ökologisch betriebene Landwirtschaft, wenn hier noch umfangreichere Untersuchungen gemacht würden. Denn die drei untersuchten Betriebe wiesen eine ODR von $> 0,8$ auf, was nach Forbes et al. 2008 eine Minderung der Milchleistung um bis zu einem Liter pro Kuh pro Tag bedeutet.

6. Zusammenfassung

Ostertagia ostertagi ist einer der häufigsten Magen-Darm-Parasiten beim Rind. Während Jungtiere bei einem starken Befall schwer erkranken können, kommt es bei adulten Tieren meist nicht zu einer Erkrankung. Jedoch kann eine Infektion bei älteren Tieren durchaus zu Leistungseinbußen führen. Besonders leicht messbar ist diese Leistungsminderung bei Milchkühen; in mehreren Studien konnte bereits eine niedrigere Milchleistung bei seropositiven Kühen gefunden werden. Um die Seroprävalenz von *O. ostertagi* bei österreichischen Milchkühen zu bestimmen, wurden von drei Milchbetrieben (zwei aus Tirol, einer aus Niederösterreich) von insgesamt 27 Kühen Milchproben gewonnen und der ODR-Wert bestimmt. Zudem wurden Kotproben dieser Tiere untersucht und der EpG-Wert (Eier pro Gramm Kot) für ausgeschiedene Trichostrongylideneier bestimmt. Anschließend wurde der Zusammenhang vom *Ostertagia*-ODR-Wert mit der Milchleistung und dem EpG-Wert berechnet.

Die durchschnittliche ODR der drei Betriebe lag bei 0,677, was laut Bosco et al. 2018 als eindeutig positiv zu werten ist. Auch im weltweiten Vergleich fielen die Werte hoch aus. Bezogen auf die Einzeltiere lagen die ODR-Werte zwischen 0,252 und 1,099. In der koproskopischen Untersuchung konnten meist keine oder nur wenige Trichostrongyliden-Eier gefunden werden, was zum einen auf den Zeitpunkt der Probenentnahme und zum anderen auf das Alter der Tiere zurückzuführen ist.

Es konnte kein Zusammenhang zwischen ODR und EpG bei den einzelnen untersuchten Tieren festgestellt werden. Auch wurde kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen ODR und Milchleistung gefunden. Die erhobenen Daten geben dennoch einen Hinweis darauf, dass in diesem Bereich noch weitere Forschung notwendig ist. Die Untersuchung einer größeren Stichprobe könnte beispielsweise einen Zusammenhang der erwähnten Parameter zeigen.

7. Summary

Ostertagia ostertagi is one of the most common gastrointestinal parasites in cattle. While it may cause severe diseases in young animals, adult animals usually do not show clinical signs. However, an infection can cause production losses in adult animals. The decreasing performance can be easily measured in dairy cattle. Several studies were able to document a lower milk yield in seropositive cows. To determine the seroprevalence of *O. Ostertagi* in Austrian cattle, milk samples from three dairy farms (two from Tyrol, one from Lower Austria) from a total of 27 dairy cows were collected and evaluated via antibody ELISA and the ODR-value was determined. Additionally, faecal samples of these animals were examined and the EpG value (egg per gramm of faeces) of trichostrongylids was determined. Then, the correlation of *Ostertagia*-ODR-level and milk yield and EpG-value was calculated.

The overall average ODR of the three farms was 0,677. According to Bosco et al. 2018 this ODR is clearly positive. In global comparison that is also relatively high. Regarding the ODR of the individual cows the values ranged between 0,252 and 1,099. In the coproscopic screening none or only few Trichostrongylid eggs were found. On the one hand this is attributable to the time of sample collection – on the other hand to the age of the cows.

There was no correlation found between ODR and EpG regarding the individual animals. Also no statistically relevant correlation could be found between ODR and milk yield. However, the collected data gives a lead to more studies needed in this particular field. Screening a larger amount of dairy cattle could probably show a correlation of the mentioned parameters.

8. Literaturverzeichnis

- Areskog M, Ljungström B, Höglund J. 2013. Limited efficacy of pour-on anthelmintic treatment of cattle under Swedish field conditions. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 3: 129-134.
- Baltrušis P, Halvarsson P, Höglund J. 2019. Molecular detection of two major gastrointestinal parasite genera in cattle using a novel droplet digital PCR approach. *Parasitology Research*, 118: 2901-2907.
- Bartley DJ, Jewell NJ, Andrews LM, Mitchell S, Morrison AA. 2021. Molecular and phenotypic characterization of fenbendazole resistance in a field-derived isolate of *Ostertagia ostertagi*. *Veterinary Parasitology*, 289.
- Bellet C, Green MJ, Vickers M, Forbes A, Berry E, Kaler J. 2016. *Ostertagia spp.*, rumen fluke and liver fluke single- and poly-infections in cattle: An abattoir study of prevalence and production impacts in England and Wales. *Preventive Veterinary Medicine*, 132: 98-106.
- Bennema S, Vercruyse J, Claerebout E, Schnieder T, Strube C, Ducheyne E, Hendrickx G, Charlier J. 2009. The use of bulk-tank ELISAs to assess the spatial distribution of *Fasciola Hepatica*, *Ostertagia ostertagi* und *Dictyocaulus viviparus* in dairy cattle in Flanders (Belgium). *Veterinary Parasitology*, 165: 51-57.
- Bennema S, Vercruyse J, Morgan E, Stafford K, Höglund J, Demeler J, von Samson-Himmelstjerna G, Charlier J. 2010. Epidemiology and risk factors for exposure to gastrointestinal nematodes in dairy herds in northwestern Europe. *Veterinary Parasitology*, 173: 247-254.
- Bosco A, Amadesi A, Morandi N, Pepe P, Maurelli MP, Cringoli G, Rinaldi L. 2018. *Ostertagia ostertagi* antibodies in bulk tank milk from dairy cattle in Italy: A nation-wide survey. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 13: 166-170.
- Bosco A, Rinaldi L, Maurelli MP, Musella V, Coles GC, Cringoli G. 2014. The comparison of FLOTAC, FECPAK and McMaster techniques for nematode egg counts in cattle. *Acta Parasitologica*, 59: 625-628.

- Charlier J, Dorny P, Levecke B, Demeler J, von Samson-Himmelstjerna G, Höglund J, Vercruysse J. 2011. Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. *Research in Veterinary Science*, 90: 451-456.
- Charlier J, Ghebretinsae AH, Levecke B, Ducheyne E, Claerebout E, Vercruysse J. 2016. Climate-driven longitudinal trends in pasture-borne helminth infections of dairy cattle. *International Journal of Parasitology*, 46: 881-888.
- Charlier J, Höglund J, Morgan ER, Geldhof P, Vercruysse J, Claerebout E. 2020. Biology and Epidemiology of Gastrointestinal Nematodes in Cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36: 1-15.
- Charlier J, Morgan ER, Rinaldi L, van Dijk J, Demeler J, Höglund J, Hertzberg H, Van Ranst B, Hendrickx G, Vercruysse J, Kenyon F. 2014. Practices to optimize gastrointestinal nematode control in sheep, goat and cattle farms in Europe using targeted (selective) treatments. *Veterinary Record*: 250-255.
- Charlier J, Van der der Voort M, Hogeveen H, Vercruysse J. 2012. ParaCalc® - A novel tool to evaluate the economic importance of worm infections on the dairy farm. *Veterinary Parasitology*, 184: 204-211.
- Craig T. 2018. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 34: 185-199.
- Delafosse A. 2013. The association between *Ostertagia ostertagi* antibodies in bulk tank milk samples and parameters linked to cattle reproduction and mortality. *Veterinary Parasitology*, 197: 212-220.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, von Samson-Himmelstjerna G, Zahner H. 2020. *Parasitologie für die Tiermedizin*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, Hrsg. 2002. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. Vierte Aufl. Berlin: Parey Buchverlag.

- Edmonds MD, Johnson EG, Edmonds JD. 2010. Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States. *Veterinary Parasitology*, 170: 224-229.
- Eysker M, Ploeger HW. 2000. Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infection in ruminants. *Parasitology*, 120: 109-119.
- Fanke J, Charlier J, Steppin T, von Samson-Himmelstjerna G, Vercruysse J, Demeler J. 2017. Economic assessment of *Ostertagia ostertagi* and *Fasciola hepatica* infections in dairy cattle herds in Germany using Paracalc®. *Veterinary Parasitology*, 240: 39-48.
- Forbes AB, Vercruysse J, Charlier J. 2008. A survey of the exposure to *Ostertagia ostertagi* in dairy cow herds in Europe through the measurement of antibodies in milk samples from the bulk tank. *Veterinary Parasitology*, 157: 100-107.
- Frey CF, Eicher R, Raue K, Strube C, Bodmer M, Hentrich B, Gottstein B, Marreros N. 2018. Apparent prevalence of and risk factors for infection with *Ostertagia ostertagi*, *Fasciola hepatica* und *Dictyocaulus viviparus* in Swiss dairy herds. *Veterinary Parasitology*, 250: 52-59.
- Geurden T, Chartier C, Fanke J, Fragipane di Regalbono A, Treversa 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: 163-171.
- Geurden T, Bartram DJ, Vanimisetti HB, Fanke J, Camuset P, Devos J, Sawyer A, von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J, Charlier J. 2017. A multi-country study to assess the effect of a treatment with moxidectin pour-on during the dry period on milk production in dairy cows. *Veterinary Parasitology*, 237: 104-109.
- Hildreth MB, McKenzie JB. 2018. Epidemiology and Control of Gastrointestinal Nematodes of Cattle in Northern Climates. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36: 59-71.
- Höglund J, Dahlström F, Engström A, Hessle A, Jakubek EB, Schnieder T, Strube C, Sollenberg S. 2010. Antibodies to major pasture borne helminth infections in bulk-tank milk samples from organic and nearby conventional dairy herds in south-central Sweden. *Veterinary Parasitology*, 171: 293-299.

- Kelleher AC, Good B, de Waal T, Keane OM. 2020. Anthelmintic resistance among gastrointestinal nematodes of cattle on dairy calf to beef farms in Ireland. *Irish Veterinary Journal* 73:12.
- Kowalczyk SJ, Czopowicz M, Weber CN, Müller E, Nalbert T, Berenowski A, Kaba J. 2018. Herd-level seroprevalence of *Fasciola hepatica* and *Ostertagia ostertagi* infection in dairy cattle population in the central and northeastern Poland. *BMC Veterinary Research*, 14:131.
- Myers GH, Taylor RF. 1989. Ostertagiasis in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1: 195-200.
- Prosl H. 1982. Seasonal dynamics of trichostrongylid larvae in mountain pastures. *Tierärztliche Praxis*, 10(4): 471-481.
- Prosl H. 1985. Zur Epidemiologie der Trichostrongylidose der Rinder auf österreichischen Almweiden [Habilitationsschrift]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.
- Ravinet N, Bareille N, Lehebel A, Ponnau A, Chartier C, Chauvin A. 2014. Change of milk production after treatment against gastrointestinal nematodes according to grazing history, parasitological and production-based indicators in adult dairy cows. *Veterinary Parasitology*, 201: 95-109.
- Scott H, Avramenko R, Redman E, Jelinski M, Luby C, Henderson T, Wagner B, Gilleard J, Uehlinger F. 2019. Survey of gastrointestinal nematodes in breeding-age heifers on 6 Saskatchewan dairy farms. *Canadian Veterinary Journal*, 60: 1342-1348.
- Slocombe JOD, Curtis RA. 1989. Aspects of the Epidemiology of Nematode Infections in a Cow-Calf Herd in Ontario. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 53: 336-339.
- Vanderstrichel R, Dohoo I, Sanchez J, Sithole F, Keefe G, Stryhn H. 2013. Predicting the effect of anthelmintic treatment in milk production of dairy cattle in Canada using an *Ostertagia ostertagi* ELISA from individual milk samples. *Preventive Veterinary Medicine*, 111: 63-75.
- van der Voort M, Van Meensel J, Lauwers L, de Haan MHA, Evers AG, Van Huylenbroeck G, Charlier J. 2017. Economic modelling of grazing management against gastrointestinal nematodes in dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, 236: 68-75.

Verschave SH, Vercruyse J, Claerebout E, Rose H, Morgan ER, Charlier J. 2014. The parasitic phase of *Ostertagia ostertagi*: quantification of the main life history traits through systematic review and meta-analysis. *International Journal for Parasitology*, 44: 1091-1104.

Villa-Mancera A, Reynoso-Palomar A. 2019. Prevalence, economic assessment, and risk factors of gastrointestinal nematodes infecting herds in tropical, dry and temperate climate regions in Mexico. *Microbial Pathogenesis*, 129: 50-55.

Boehringer Ingelheim.

<https://www.svanova.com/index.php/products/bovine/bp15.html> (Zugriff am 24.02.2021)

Difference between.

<https://www.differencebetween.com/difference-between-direct-and-vs-indirect-elisa/> (Zugriff am 24.02.2021)

MVZ Martinsried GmbH.

<https://www.medizinische-genetik.de/diagnostik/allgemeine-informationen/methoden/real-time-pcr> (Zugriff am 24.02.2021)

9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Lebenszyklus von <i>O. ostertagi</i>	9
Abbildung 2: Ostertagiose des Rindes: Schema der Epidemiologie auf Bergweiden (nach Institut für Parasitologie, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich; Prosl 1982)	13
Abbildung 3: Richtwertgrafik zur Interpretation von der ODR von Tankmilchproben in Relation zum Einfluss auf die tägliche Milchleistung pro Kuh in Milchkuhherden nach Forbes et al. 2008	24
Abbildung 4: Schemazeichnung von einer 96er-Mikrotiterplatte mit dem hier verwendeten Pipettierschema	31
Abbildung 5: Mittelwert von der Milchleistung in kg/Jahr pro Kuh für die einzelnen Betriebe im Vergleich	34
Abbildung 6: Mittelwert vom EpG für die einzelnen Betriebe	38
Abbildung 7: Zusammenhang von Milchleistung und Ostertagia ODR in einem Scatterplot	39
Abbildung 8: Zusammenhang von EpG und ODR in einem Scatterplot	40
Abbildung 9: Zusammenhang von EpG mit der Milchleistung in einem Scatterplot	41

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: <i>Ostertagia</i> – Untersuchungen an Rindern weltweit: Stichprobengröße, Anteil als positiv eingestufte Tiere und Untersuchungsmethode. TM: Tankmilch, SPT: Serumpepsiongentest	15
Tabelle 2: Gegen <i>O. ostertagia</i> wirksame Anthelmintika für Rinder mit Richtdosierungen und Wartezeiten; BZ: Benzimidazole, ML: makrozyklische Lactone, PBZ: Pro-Benzimidazole, IT: Imidazothiazole; aus Deplazes et al. 2020	26

Tabelle 3: Betriebsdaten, Parasitenmanagement und Informationen zum Weidegang der drei untersuchten Betriebe 33

Tabelle 4: Übersicht über die Werte des ersten Betriebes; ODR: optical density rate, EpG: Eier pro Gramm Kot 35

Tabelle 5: Übersicht über die Werte des zweiten Betriebes; ODR: optical density rate, EpG: Eier pro Gramm Kot 36

Tabelle 6: Übersicht über die Werte des dritten Betriebes; ODR: optical density rate, EpG: Eier pro Gramm Kot 37