

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ. - Prof. Dr. med.vet. Kurt Pfister

Untersuchungen zur Verbreitung von *Strongylus vulgaris* im Rahmen
der Selektiven Entwurmung bei Pferden in Süddeutschland

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Lena Greite

aus Braunschweig

München 2013

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Kurt Pfister

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. Bettina Wollanke

Tag der Promotion: 09. Februar 2013

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Strongyliden beim Pferd	3
1.1.	Große Strongyliden beim Pferd	3
1.1.1.	Morphologie und Entwicklung	3
1.1.2.	Vorkommen	5
1.1.3.	Pathogenese und Pathologie	6
1.1.3.1.	Klinik	7
1.2.	Kleine Strongyliden beim Pferd	7
1.2.1.	Morphologie und Entwicklung	7
1.2.2.	Vorkommen	8
1.2.3.	Pathogenese und Pathologie	8
1.2.3.1.	Klinik	9
1.3.	Epidemiologie Großer und Kleiner Strongyliden.....	10
2.	Diagnose von Strongyliden beim Pferd.....	11
2.1.	Herkömmliche Methoden	12
2.1.1.	Kombiniertes Sedimentations- und Flotationsverfahren	12
2.1.2.	Modifiziertes McMaster – Verfahren	12
2.1.3.	Larvenanzucht nach Roberts und O’Sullivan	12
2.2.	Molekularbiologische Methoden	13
2.2.1.	PCR.....	13
2.2.2.	Reverse Line Blot	13
3.	Therapie von Strongylideninfektionen	14
3.1.	Strategisches Bekämpfungsprogramm gegen Große Strongyliden und Umsetzung in Deutschland	14
3.2.	Neue Methoden zur Bekämpfung von Infektionen mit Kleinen Strongyliden – Selektive Entwurmung.....	17
III.	MATERIAL UND METHODEN.....	19
1.	Probenmaterial und Datensammlung.....	19
2.	Untersuchungen	20
2.1.	Eizahlbestimmung mit der McMaster – Methode	20

2.2.	Larvenkultur nach Roberts und O'Sullivan	20
2.2.1.	Weitere Untersuchungen	22
3.	Zusätzliche Datenerhebung bei Funden von <i>S. vulgaris</i>.....	23
4.	Statistische Untersuchungen	24
IV.	ERGEBNISSE	25
1.	Vorkommen Großer Strongyliden.....	25
1.1.	Befallsfrequenzen.....	25
1.2.	Epidemiologische Faktoren auf den betroffenen Betrieben.....	27
1.3.	Nachuntersuchungen und Verdünnungsreihen.....	28
2.	Ergebnisse der Larvenanzucht	28
2.1.	Wiederholungsuntersuchungen	28
2.1.1.	Anzüchtbarkeit der Larven.....	29
2.2.	Einfluss des Alters auf die Strongylideneianzahl.....	29
2.3.	Einfluss der Temperatur von der Probennahme bis zur Untersuchung.....	31
V.	DISKUSSION	32
1.1.	Befallsfrequenzen mit <i>S. vulgaris</i> in dieser Studie und die Situation in Deutschland.....	32
1.2.	Befallsfrequenzen im Ausland und mögliche Erklärungen.....	34
1.3.	Verbreitung von <i>S. vulgaris</i> in Dänemark bei Selektiver Entwurmung.....	36
1.4.	Schlussfolgerung für die Wurmbekämpfung in Deutschland	37
1.5.	Konsequenzen für die Selektive Entwurmung in Deutschland.....	38
1.6.	Erkenntnisse aus der Larvenanzucht und der Strongylideneianzahl.....	39
2.	Fazit	40
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	41
VII.	SUMMARY.....	42
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	43
IX.	DANKSAGUNG	55

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BZ	Benzimidazole
EL3	early third larva 3; Larve 3 im frühen Entwicklungsstadium
EpG	Ei pro Gramm Kot
ERP	egg reapperance period
EZRT	Eizahlreduktionstest
FEC	Faecal egg count
FECRT	Faecal Egg Count Reduction Test
IVM	Ivermectin
L1	Larve im ersten Entwicklungsstadium
L2	Larve 2 nach erster Häutung
L3, L4, L5	Larven 3, 4, und 5 jeweils nach den Häutungen
LpG	Larve pro Gramm Kot
MDS	Magen – Darm – Strongyliden
ML	Makrozyklische Laktone
MOX	Moxidectin
PCR	Polymerase Chain Reaction
PYR	Pyrantel
RLB	reverse Line Blot
SE	Selektive Entwurmung
TST	Targeted selective Treatment
WAAVP	World Association of the Advancement of Veterinary Parasitology

I. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Seit der Einführung von Ivermectin Anfang der 1980er Jahre (Campbell et al., 1983) und Moxidectin Anfang der 1990er Jahre (Steel, 1993) stehen drei Wirkstoffklassen für eine anthelminthische Behandlung der Pferde zur Verfügung. Seitdem sind jedoch keine neuen Wirkstoffe auf den Markt gebracht worden. Über die Jahre haben einige Helminthenarten Resistenzen gebildet, so dass ein Umdenken im Umgang mit Anthelminthika gefordert wird (Kaplan, 2004). Eine Möglichkeit dazu bildet die Selektive Entwurmung, bei der nur Pferde behandelt werden, die nach Kotuntersuchungen eine bestimmte Anzahl von Wurmeiern im Kot ausscheiden (Duncan und Love, 1991).

In Dänemark ist aufgrund einer Gesetzesänderung im Jahre 1999 die Abgabe von Anthelminthika verschreibungspflichtig, so dass dort schon vor längerer Zeit auf die Selektive Entwurmung umgestellt wurde (Nielsen et al., 2006b). In neuesten Untersuchungen wurden in dänischen Pferdebeständen erhöhte Prävalenzen von *Strongylus vulgaris* festgestellt (Bracken et al., 2012; Nielsen et al., 2012). Die Verbreitung von Großen Strongyliden wurde durch eine regelmäßige mehrmalige Entwurmung pro Jahr (strategische Therapie) gut eingedämmt (Hinney et al., 2011a; Love et al., 1999).

Dadurch stellt sich jetzt die Frage, ob die Verbreitung von Großen Strongyliden infolge des reduzierten Anthelminthikaeinsatzes im Rahmen der Selektiven Entwurmung wieder zunimmt (Nielsen et al., 2008; Nielsen, 2012). Ein Befall mit Großen Strongyliden ist jedoch nur mit einer zeit- und arbeitsaufwendigen Larvenkultur diagnostizierbar.

Aufgrund dieser Ausgangslage und der zunehmenden Anwendung der Selektiven Entwurmung in Deutschland beschäftigt sich diese Studie mit folgenden Fragen:

1. Große Strongyliden

- Wie steht es um die geographische Verbreitung von Großen Strongyliden in süddeutschen Pferdebeständen, die die Selektive Entwurmung einführen?

- Wie hoch ist die Prävalenz?
- Gibt es einen gemeinsamen epidemiologischen Ursprung der Infektionen?

2. Anzuchtbarkeit von Larven Kleiner Strongyliden

- Lässt sich im Verhältnis immer der gleiche Prozentsatz Larven aus unterschiedlichen Kotproben eines einzelnen Pferdes anzüchten?
- Lässt sich ein Zusammenhang zwischen der Anzuchtbarkeit und Faktoren wie dem Alter des Pferdes und den Konservierungs- und Umgebungsbedingungen der Kotproben zum Untersuchungszeitpunkt herstellen?

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Strongyliden beim Pferd

Die Familie Strongylidae stellt beim adulten Pferd die Familie der Endoparasiten dar, die die größte Verbreitung und Bedeutung hat (Nielsen, 2012). Diese auch als Magen – Darm – Strongyliden (MDS) bezeichneten Rundwürmer gehören alle zum Stamm der Nematoda, Ordnung Strongylida (Eckert et al., 2008). Wichtigste Vertreter sind die Großen und Kleinen Strongyliden. Große Strongyliden gehören zu der Gattung *Strongylus* mit den in Mitteleuropa vorkommenden Arten *Strongylus vulgaris*, *S. equinus* und *S. edentatus*. Die Arten der Kleinen Strongyliden stammen hauptsächlich aus der Unterfamilie der Cyathostominae mit über 50 Arten (Lichtenfels et al., 2002).

1.1. Große Strongyliden beim Pferd

1.1.1. Morphologie und Entwicklung

Die Großen Strongyliden werden bis zu 5 cm lang und haben nach Eckert et al. (2008) einen direkten Entwicklungszyklus. Der Zyklus umfasst eine externe und eine interne Entwicklung im Wirtstier. Die externe, auch präparasitische Phase genannt, verläuft bei allen drei Arten der Großen Strongyliden ähnlich (Duncan, 1974b). Nachdem die Eier von einem befallenen Tier mit dem Kot ausgeschieden wurden (Abbildung 1), entwickelt sich noch im Ei die Larve 1. Diese schlüpft und häutet sich auf der Weide weiter über die L2 zur L3. Diese drei Stadien sind frei lebend, jedoch nur die L3 ist infektiös. Aufgrund einer unvollständigen Elimination der alten Haut bei jeder Häutung ist die L3 bescheidet und somit sehr widerstandsfähig gegenüber äußeren Einflüssen. Ihre Überlebenszeit auf der Weide kann mehrere Monate betragen (von Greleck et al., 1977).

Die infektiöse L3 wird beim Grasens von einem Pferd aufgenommen und es beginnt die interne Entwicklungsphase. Im Dickdarm des Pferdes dringen die von der Scheide befreiten L3 in die Mukosa des Zäkums und ventralen Kolons ein. Ab

hier entwickeln sich alle drei Arten der Großen Strongyliden unterschiedlich.



Abbildung 1: Strongyliden im Kot einer ungarischen Stute (siehe Pfeile)

- *Strongylus vulgaris*: Nach Burkhardt (1983) häutet sich die L3 in der Mukosa zur L4, welche in die Arteriolen der Submukosa eindringt und von dort über die Hauptarterien von Ileum, Zäkum und Kolon in die kraniale Gekrösewurzel wandert. Dort findet die Häutung zur Larve 5 statt, falls die L4 nicht fälschlicherweise in die großen Körperarterien abgeschwemmt wird (Duncan, 1974b). Nach der Häutung zur L5 wandern die Larven in den Arterien zurück in den Darm, wo sich *S. vulgaris* bevorzugt im Zäkum ansiedelt. In der Darmwand bilden die L5 kleine Knötchen, aus denen sie ins Darmlumen durchbrechen. Dort entwickeln sie sich zu Adulten, die dann wiederum Eier ausscheiden (Duncan, 1974b).
- *Strongylus equinus*: Eckert et al. (2008) beschreiben den internen Entwicklungszyklus von *S. equinus* wie folgt: Die L3 häuten sich auch hier in der Darmmukosa zur L4 und wandern dann durch die Peritonealhöhle zur Leber, durch die sie nach einer Phase der Inaktivität mehrere Wochen migriert. Anschließend wandern die L4 in das

benachbarte Pankreas, wo sie sich zur L5 häuten. Als L5 wandern sie zurück in die Darmwand, von wo sie aus in Darmlumen durchbrechen und ebenfalls hier als Adulte Eier ausscheiden. Häufig sind sie dort im Übergangsbereich des Zäkums zum Kolon und im ventralen Kolon lokalisiert.

- *Strongylus edentatus*: Die L3 dringen in die Darmvenen ein und werden vom Pfortaderblut in die Leber transportiert, in der sie einige Wochen umherwandern (Drudge und Lyons, 1966). Hier findet die Häutung zur L4 statt. Anschließend dringen sie in die Leberbänder sowie das große Netz ein, vor allem jedoch unter das parietale Blatt des Peritoneums, wo die Häutung zur L5 stattfindet. Die Larven, denen es gelingt über die Leberbänder in den Darm zurückzukehren, werden an den gleichen Orten gefunden, wie *S. equinus* (Eckert et al., 2008; von Samson-Himmelstjerna, 2006).

Die Präpatenz von *S. vulgaris* beträgt 6,5 – 7 Monate (McCraw und Slocombe, 1976), die Präpatenz von *S. equinus* wird mit 8,5 – 9 Monaten angegeben. *S. edentatus* hat die längste Präpatenzzeit von 10,5 – 11 Monaten (Drudge und Lyons, 1966). Die Patenz bei *S. vulgaris* und *S. edentatus* kann bis zu 1,5 Jahre dauern (Eckert et al., 2008; von Samson-Himmelstjerna, 2006).

1.1.2. Vorkommen

Vor einigen Jahrzehnten waren die Großen Strongyliden mit Prävalenzen bis zu 90% verbreitet (McCraw und Slocombe, 1976; Ogbourne, 1975). Damals hatten strategische Bekämpfungsprogramme das Ziel, Infektionen mit Großen Strongyliden zu vermeiden (Drudge und Lyons, 1966). Heute sind aufgrund eines meist systematischen Bekämpfungsschemas und des häufigeren Anthelminthikaeinsatzes die Prävalenzen für *S. vulgaris* niedriger, wobei hier die Angaben weltweit von 4 – 34% variieren (Bracken et al., 2012; Fog et al., 2011; Mughini Gras et al., 2011; Pilo et al., 2012). *S. edentatus* wurde nur noch in den Studien von Mughini Gras et al. (2011) und Pilo et al. (2012) gefunden, letztere beschreiben auch eine Prävalenz von 0,09% für *S. equinus*. Neueste Studien aus

Norddeutschland (Brandenburg und Nordrhein – Westfalen) beschreiben geringe Prävalenzen für *S. vulgaris* von 0,8 – 1,3% auf Betriebsebene (Fritzen, 2005; Hinney et al., 2011a). Seit Mitte der 1990er Jahre wurden in Oberbayern keine Großen Strongyliden nachgewiesen (Beelitz et al., 1996; Beelitz und Gothe, 1997).

1.1.3. Pathogenese und Pathologie

Die Großen Strongyliden verursachen vor allem aufgrund ihrer ausgeprägten Körperwanderung große Probleme (Beschreibung erfolgt nach (Eckert et al., 2008; von Samson-Himmelstjerna, 2006)):

- *Strongylus vulgaris*: Nach Eindringen in die Darmwand bilden sich um die Larven entzündliche Knötchen in der Mukosa und Submukosa (Burkhardt, 1983). Auf der Wanderung durch die arteriellen Gefäße und unter dem Endothel zur kranialen Gekrösewurzel kommt es zu entzündlichen Veränderungen in der Gefäßwand und durch Zerstörung des Endothels zu Thrombenauflagerungen. In diesen Thromben befinden sich zum Teil Wurmlarven. An der geschädigten Arterienwand kann es außerdem zur Bildung von Aneurysmen kommen. Aufgrund dieser sog. Enderteritis thrombotica verminosa kommt es zur Abschwemmung von Thrombusteilchen und in der Folge zu Embolien im Darmbereich, die zu thrombotisch – embolischen Koliken führen können. Gelegentlich werden Parasitenstadien abgeschwemmt und es kann zu Aneurysmen, Thrombosen und Embolien im Aortenbogen oder an der Aufzweigung der Gefäße der Hintergliedmaße kommen.
- *Strongylus equinus*: Die larvalen Stadien verursachen keine Störungen im Blutgefäßsystem, jedoch in den Zielorganen. Vor allem eine Fibrose des Pankreas und der Verlust sekretorischer Zellen werden beobachtet. Auch granulomatöse Entzündungen in der Leber, im Peritoneum und im großen Netz können auftreten. In der Leber sind später deutlich Wandergänge der Larven zu erkennen.

- *Strongylus edentatus*: Die Larven erzeugen entzündliche Veränderungen der Leber und des Peritoneums. Es kann zu Verklebungen des großen Netzes und andere seröser Häute kommen.

Die adulten Stadien können bei hochgradigem Befall eine starke Schädigung an der Darmwand erzeugen, indem sie einen Schleimhautpfropf einsaugen was zu örtlichen Blutungen führen kann.

1.1.3.1. Klinik

Klinisch kommt es laut Lehrbüchern (Dietz und Huskamp, 2006; Eckert et al., 2008) bei der akuten Form der Strongylose zu Koliken mit hohen Fieberschüben, Intoxikationssymptomatik und veränderter Abdominalflüssigkeit.

Die chronische Form zeichnet sich durch Inappetenz, schlechtes Haarkleid, rezidivierende Koliken und intermittierenden Durchfall aus.

1.2. Kleine Strongyliden beim Pferd

1.2.1. Morphologie und Entwicklung

Kleine Strongyliden können bis zu 3 cm lang werden und sind gelb-weiß bis rötlich gefärbt. Die Entwicklung wird nach Eckert et al. (2008) ebenfalls in einen externen und einen internen Zyklus unterteilt. Von der Eiausscheidung bis zur Aufnahme durch das Wirtstier sind alle Schritte gleich dem Entwicklungszyklus der Großen Strongyliden.

Die L3 der Kleinen Strongyliden besitzen meist 8 Mitteldarmzellen, es können aber auch 16 oder 20 Mitteldarmzellen auftreten. Im Dickdarm dringen die entscheideten L3 in die Darmmukosa ein, um sich dort innerhalb von 6 – 12 Tagen zur L4 zu häuten. Anschließend kehren sie wieder ins Darmlumen zurück, es findet keine Körperwanderung statt. Im Darm entwickeln sie sich vornehmlich im ventralen und dorsalen Kolon und im Zäkum zu den adulten Stadien weiter. Vor allem in der Zeit von Juli bis September tritt ein Großteil der Larven in eine

länger andauernde histotrophe Phase über, in der die Weiterentwicklung aussetzt (Eysker et al., 1990). In diesem Stadium der sog. Hypobiose finden sich vornehmlich 0,5 mm lange frühe Larven 3 (EL3) in der Mukosa, die dort persistieren und sich meist erst gegen Ende des Winters weiterentwickeln (Klei, 1996; Matthews et al., 2004; von Samson-Himmelstjerna, 2006). Dadurch kommt es im Frühjahr zu einem Anstieg der Eiausscheidung (von Samson-Himmelstjerna, 2006). Dieses Phänomen spielt eine große Rolle in der Epidemiologie der Cyathostominae (Eysker et al., 1990).

Je infiziertem Pferd treten häufig mehr als 10 verschiedene Arten auf (Lichtenfels et al., 2002), der Großteil der Wurmbürde wird jedoch immer aus denselben Arten gebildet (Reinemeyer et al., 1984).

Die Präpatenzzeiten werden zwischen 5,5 Wochen bis zu 3 Monaten angegeben. Die Patenz kann bis zu 2,5 Jahren dauern (Eckert et al., 2008; von Samson-Himmelstjerna, 2006).

1.2.2. Vorkommen

Mittlerweile gelten die Kleinen Strongyliden trotz deutlicher geographischer und klimatischer Unterschiede als die am meisten verbreiteten Nematoden bei Pferden weltweit (Love et al., 1999; Nielsen et al., 2007; von Samson-Himmelstjerna, 2006). Kleine Strongyliden haben Anteile an der Wurmbürde der Pferde von 90 – 100% (Lyons et al., 1999; Nielsen, 2012; Reinemeyer et al., 1984). In Deutschland werden zurzeit Prävalenzen auf Betriebsebene von über 98% in Nordrhein – Westfalen und Brandenburg beschrieben (Fritzen, 2005; Hinney et al., 2011a). In Bayern waren 97,3% aller untersuchten Mutterstuten einer Studie positiv für Kleine Strongyliden (Beelitz et al., 1996).

1.2.3. Pathogenese und Pathologie

Im Vergleich zu den Großen Strongyliden, die in deutlich geringeren Zahlen auftreten, befallen die Kleinen Strongyliden ihre Wirte mit bis zu Millionen

Würmern pro Tier.

Nach Eckert et al. (2008) saugen sich die adulten Stadien an der Darmschleimhaut fest, um sich vom Darmmucus zu ernähren und verursachen so begrenzt geringe oberflächliche Schädigungen. Deutlich pathogener sind die Larvenstadien in der Darmwand. Die dort vorhandenen Larven bilden entzündliche kleine Knötchen (Durchmesser: 0,5 – 5 mm), die sich später bindegewebig verkapseln. Bei einem hochgradigen Befall können bis zu 20 – 50 Knötchen pro cm² gefunden werden (Love et al., 1999). Es kommt zu entzündlichen Infiltrationen und Ödematisierung der Darmschleimhaut (Love et al., 1999).

1.2.3.1. Klinik

Durch die Permeabilitätstörungen in der Darmmukosa kommt es bei der chronischen Form der Cyathostominose zu wechselnder Kotkonsistenz, gelegentlichem Durchfall, gestörter Gewichtszunahme und einem struppigen Haarkleid. Diese Form tritt meist gegen Ende der Weideperiode bei Jährlingen auf, wohingegen die chronische Diarrhö ältere Pferde betrifft und keine Saisonalität aufweist (von Samson-Himmelstjerna, 2006). Diese Pferde zeigen als Hauptsymptom Diarrhö von bis zu 8 Wochen Dauer sowie veränderte Laborparameter wie Hypoalbuminämie, Leukozytose und Neutrophilie (Murphy und Love, 1997; von Samson-Himmelstjerna, 2006).

Am schwerwiegendsten ist die akute Form, die larvale Cyathostominose, die auftreten kann, wenn viele Larven aufgrund noch nicht geklärter Ursachen gleichzeitig die Mukosa verlassen (Love et al., 1999). Diese entzündliche Enteropathie tritt vor allem in den Wintermonaten von November bis April bei Pferden bis zu 5 Jahren auf (Love et al., 1999). Klinisch kann sich dies in Durchfall, Gewichtsabnahme, Fieber, Koliken, subkutanen Ödemen, Hypoalbuminämie und Anämien manifestieren und zum Tod des Tieres führen (Love et al., 1999).

1.3. Epidemiologie Großer und Kleiner Strongyliden

Die Kleinen und Großen Strongyliden unterscheiden sich außer in der Hypobiose der Kleinen Strongyliden nicht in der Epidemiologie und werden deswegen im Folgenden zusammengefasst dargestellt.

Der Befall mit Strongyliden ist eine Weideinfektion und tritt auf, wenn infektiöse L3 mit dem Gras oral aufgenommen werden (Döpfer et al., 2004; Eckert et al., 2008). Die erste Kontamination der Weiden wird durch Pferde verursacht, die sich im Vorjahr infiziert haben und im Frühjahr erstmals und / oder erneut Eier ausscheiden (Duncan, 1974a). Vor allem hypobiotische Stadien, die sich dann zu neuen geschlechtsreifen Adulten weiterentwickeln, tragen dazu bei (Eysker et al., 1990).

Studien auf dem Bayrischen Haupt- und Landesgestüt Schwaiganger zeigten, dass einzelne Strongylideneier bei günstigen Witterungsbedingungen auch im Winter auf der Weide überleben und danach für Neuinfektionen sorgen können (Hasslinger und Bittner, 1984). Eine schützende Schneedecke führt zu gleichmäßigen Temperaturen über dem Gefrierpunkt, so dass die Eier zum Teil den Winter überleben (Hasslinger, 1981). Schwankungen zwischen Frost und Tauwetter wirken sich jedoch stark negativ auf Eier und Larven aus (Nielsen et al., 2007).

Strongylidenlarven entwickeln sich innerhalb eines breiten Temperaturspektrums mit einem Optimum bei 25 – 33° Celsius (Mfitalodze und Hutchinson, 1987). Bei Temperaturen unter 4° Celsius und ab 40° Celsius sterben sie jedoch größtenteils ab (Nielsen et al., 2007). Nach etwa 5 – 14 Tagen schlüpfen bei Temperaturen von 20 bis 33° Celsius Larven aus den Eiern (McCraw und Slocombe, 1976). Ogbourne (1972) beschreibt eine Entwicklung zum infektiösen Stadium bei optimalen Bedingungen innerhalb von 5 – 7 Tagen. In Trockenperioden (< 20% Feuchtigkeit) findet keine Larvenentwicklung statt (Mfitalodze und Hutchinson, 1987). Hasslinger und Bittner (1984) fanden einen um 85% geringeren Larvenanteil auf trockenem Gras gegenüber nassem Gras am Morgen. Bei einer Feuchtigkeit von > 20% können die Larven jedoch mehrere Monate in der Außenwelt überleben (Eckert et al., 2008). Entsprechend nimmt das Risiko einer Infektion mit L3 vom späten Frühjahr an über den Sommer hinweg zu, so dass der

Spätsommer bzw. Frühherbst der Hauptinfektionszeitraum ist (Duncan, 1974b; Nielsen et al., 2007).

2. Diagnose von Strongyliden beim Pferd

Infektionen mit Strongyliden lassen sich durch den Nachweis der Eier im Kot diagnostizieren. Die Eier sind dünnchalig und besitzen im Inneren mindestens acht Furchungszellen (Abbildung 2). Zwischen Großen und Kleinen Strongyliden kann bislang nur durch eine Larvenanzucht differenziert werden, wenn sich L3 entwickeln und morphologisch unter dem Lichtmikroskop identifiziert werden. Bei der larvalen Cyathostominose kann die Eiausscheidung im Kot jedoch fehlen. Veränderungen von Laborparametern wie Hypoalbuminämie, Leukozytose und Eosinophilie können weiter Hinweise auf eine klinisch relevante Infektion darstellen.

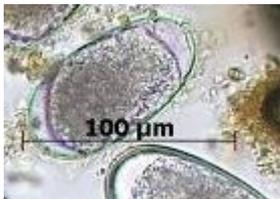


Abbildung 2: Strongylidenei; Größe ca. 70 – 140 x 40 – 65 µm

Beim Nachweis von Strongylideneiern im Kot wird zwischen qualitativen Untersuchungsmethoden wie dem Flotationsverfahren auch in Kombination mit einem Sedimentationsschritt und quantitativen Verfahren wie dem modifizierten McMaster – Zählverfahren unterschieden. Vor einigen Jahren ist eine PCR zum Nachweis von großen Strongyliden im Kot entwickelt worden (Bracken et al., 2012; Nielsen et al., 2008).

2.1. Herkömmliche Methoden

2.1.1. Kombiniertes Sedimentations- und Flotationsverfahren

Hiermit können neben Nematoden – und Zestodeneiern auch Oozysten nachgewiesen werden.

Diese Methode ist im QM – Handbuch des Lehrstuhls für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie hinterlegt (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, 2004).

Durch eine Suspendierung des Kots in einer Flüssigkeit mit einer spezifischen Dichte steigen leichte Eier an die Oberfläche, während schwere Kotpartikel nach unten sinken. Hierzu werden Zuckerlösungen, Zinksulfat ($ZnSO_4$) oder Zinkchlorid ($ZnCl_2$) benutzt (Eckert et al., 2008). Wird vor der Flotation ein Sedimentationsschritt durchgeführt, erreicht die Probe einen höheren Reinigungsgrad von groben Partikeln. Dazu wird der Kot mit Wasser aufgemischt und über Nacht stehengelassen, so dass nur das Sediment weiter verarbeitet werden kann.

2.1.2. Modifiziertes McMaster – Verfahren

Dieses Verfahren bietet als einziges die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung der Helmintheneier. Es besteht aus der Errechnung einer Eizahl pro Gramm Kot (EpG), indem aus einer definierten Menge an aufgeschwemmtem Kot die darin enthaltenen Eier in einer speziellen Zählkammer ausgezählt und auf ein Gramm hochgerechnet werden. Diese Methode ist im QM – Handbuch des Lehrstuhls für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie hinterlegt (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, 2004).

2.1.3. Larvenanzucht nach Roberts und O’Sullivan

Durch die Anzucht von L3 der Strongyliden können diese nach Isolation

morphologisch differenziert werden.

Die Inkubationszeit variiert je nach Autoren zwischen 7 Tagen im Inkubator (Nielsen et al., 2010) und 14 Tagen bei Raumtemperatur in einer Feuchtigkeitskammer (Nielsen et al., 2012). Die Menge der Kotprobe kann unterschiedlich groß sein, um eine höhere Ausbeute an Larven zu erzielen. Die klimatischen Bedingungen, denen die Proben im Inkubationszeitraum ausgesetzt sind, beeinflussen ebenfalls die Larvenentwicklung. Um eine bessere Auflockerung der Kotproben zu erzielen, wird teilweise Vermiculite (Bello und Allen, 2009; Nielsen et al., 2012) oder Torfmoos untergemischt (Nielsen et al., 2010). Um einen größeren Überblick über die Probe zu haben, können alle Larven einer Probe differenziert werden (Nielsen et al., 2012) oder ein Aliquot der Gesamtprobe (Bello und Allen, 2009; Nielsen et al., 2010).

2.2. Molekularbiologische Methoden

2.2.1. PCR

Eine real-time PCR kann die Eier von *S. vulgaris* nachweisen (Bracken et al., 2012; Nielsen et al., 2008). Dazu werden zunächst Eier mittels Flotation gewonnen und deren DNA extrahiert. Diese wird dann mit den unterschiedlichen Primern für die zweite internal transcribed spacer (IST – 2) region für *S. vulgaris* und Cyathostominae im Thermocycler vervielfältigt. Anschließend wird die vervielfältigte DNA in einem Agarose - Gel aufgetrennt, gefärbt und sichtbar gemacht.

2.2.2. Reverse Line Blot

Mittels einer Reverse Line Blot können 13 verschiedene Arten von adulten Cyathostominae identifiziert und von allen drei Großen Strongylidenarten unterschieden werden (Traversa et al., 2007). Hierzu wird die DNA erwachsener Spezies gewonnen und durch eine PCR multipliziert. Auf einer spezifischen Membran werden Oligonucleotidsequenzen befestigt, die sich an spezifische

DNA – Abschnitte der unterschiedlichen Spezies binden und dann sichtbar gemacht werden können.

Beide oben erwähnten Methoden stehen jedoch noch nicht zur Routinediagnostik zu Verfügung.

3. Therapie von Strongylideninfektionen

Zurzeit befinden sich drei für Pferde zugelassene Anthelminthikagruppen auf dem Markt (Kaplan, 2002). In den 1960er Jahren wurden die Benzimidazole (BZ) eingeführt (Kaplan, 2004). Im Abstand von etwa 10 Jahren folgte Pyrantel (PYR) und in den 1980er Jahren wurden mit Ivermectin (IVM) die makrozyklischen Laktone auf den Markt gebracht (Campbell et al., 1983; Kaplan, 2004). Als letztes Anthelminthikum wurde Moxidectin (MOX) als zweites makrozyklisches Lakton in den frühen 1990er Jahren zur Marktreife entwickelt (Kaplan, 2004; Steel, 1993).

Allerdings werden die enzystierten Stadien der Kleinen Strongyliden in der Mukosa von den meisten Wirkstoffen nicht erreicht (Nielsen et al., 2007). Hier wirkt nur Moxidectin (Bairden et al., 2001; Bairden, 2006; Cobb und Boeckh, 2009; Monahan et al., 1996; Xiao et al., 1994) oder eine fünftägige Gabe von Fenbendazol (7,5 mg pro kg Körpergewicht) (Duncan et al., 1998; Steinbach et al., 2006).

3.1. Strategisches Bekämpfungsprogramm gegen Große Strongyliden und Umsetzung in Deutschland

Um Große Strongyliden wirksam zu bekämpfen, müssen erwachsene Stadien aus dem Darm entfernt werden. Damit wird die Eiausscheidung und somit der Infektionsdruck auf der Weide gesenkt (Drudge und Lyons, 1966). Behandlungen gegen Strongyliden sollten daher nach diesen Autoren kontinuierlich erfolgen. Sie schlugen deshalb ein „Interval dosed programme“ vor, um das Infektionspotential stets niedrig zu halten. Dieses strategische Behandlungsregime sieht eine

Behandlung alle 6 – 8 Wochen vor, da die damals auf dem Markt vorhandenen Anthelminthika eine Wirkdauer von 4 – 6 Wochen hatten. Hauptziel war die Elimination von *S. vulgaris* und der anderen großen Strongyliden, der Gruppe der Cyathostominae wurde keine große Bedeutung beigemessen (Drudge und Lyons, 1966). Da die Cyathostominae zwar schon auftraten, aber trotz ihrer hohen Befallsintensitäten aber keine klinischen Symptome herbeizuführen schienen, wurde der Focus der anthelminthischen Bekämpfung auf die Großen Strongyliden gelegt (Love et al., 1999).

Dieses strategische Entwurmungsprogramm wurde über viele Jahre so weitergeführt, ohne dass die Abstände an die moderneren Anthelminthika angepasst worden sind (Nielsen, 2009). Zudem wird meist nur noch eine Wirkstoffgruppe wiederholt und häufig eingesetzt, so dass Resistenzen gefördert werden und Pferde keine Immunität den Strongyliden gegenüber entwickeln können (Herd, 1993).

Heute werden viele Pferde immer noch, auch ohne Nachweis eines Strongylidenbefalls, mehrmals pro Jahr entwurmt (Hinney et al., 2011b). In England werden Pferde durchschnittlich 6 x pro Jahr anthelminthisch behandelt, maximal 11 Behandlungen wurden hier evaluiert (Lloyd et al., 2000). In Deutschland werden durchschnittlich zwei Entwurmungen bei erwachsenen Pferden pro Jahr durchgeführt, Fohlen werden bis zu 4x pro Jahr entwurmt (Hinney et al., 2011b; von Samson-Himmelstjerna et al., 2007; Wirtherle et al., 2004). In einer anderen Studie gaben über 50% der 1065 befragten Pferdebesitzer an, viermal pro Jahr zu entwurmen (Becher et al., 2010b). Dabei wird sehr häufig nur ein Wirkstoff aus der Klasse der makrozyklischen Laktone benutzt (Hinney et al., 2011b; Wirtherle et al., 2004).

Doch schon 20 Jahre nach der Empfehlung einer Entwurmung alle 6 – 8 Wochen riet Herd (1986) zu einer zweimaligen Behandlung pro Jahr und verstärkten weidehygienischen Maßnahmen, um durch Anthelminthika hervorgerufene Probleme zu minimieren.

Inzwischen hat die Prävalenz von Großen Strongyliden stark abgenommen, so dass mittlerweile die Bekämpfung der Kleinen Strongyliden in den Vordergrund gerückt ist (Love und Duncan, 1991).

Der frequente Einsatz derselben Wirkstoffklassen ist jedoch nicht ohne Folgen

geblieben. Es wird immer häufiger über Stämme Kleiner Strongyliden berichtet, die gegen ein oder mehrere Wirkstoffe resistent sind (Kaplan, 2002, 2004). Mittlerweile sind BZ überall meist völlig wirkungslos (Traversa et al., 2009). Gegen Pyrantel entwickeln Kleine Strongyliden ebenfalls immer häufiger eine Resistenz. Dies trifft vor allem in den USA zu, wo es als Futtermittelzusatz zur täglichen Gabe erhältlich ist (Kaplan, 2002, 2004).

Einzig Ivermectin und Moxidectin scheinen trotz des jahrelangen Einsatzes noch immer voll wirksam (Bairden et al., 2001; Bairden, 2006; Becher und Pfister, 2010; Klei et al., 2001; Larsen et al., 2011; Wirtherle et al., 2004). Andere Autoren weisen allerdings eine bereits verkürzte egg reappearance period nach, d.h. es werden schneller wieder Eier ausgeschieden als dies ursprünglich nach einer Behandlung mit IVM der Fall war (Lyons et al., 2011; Molento et al., 2008, 2011; von Samson-Himmelstjerna et al., 2007). In England wurde 2005 eine deutlich verringerte Effektivität von MOX in zwei Eselherden festgestellt (Trawford et al., 2005).

In einer Studie in Norddeutschland wurden bei 33 der insgesamt 60 teilnehmenden Pferde (55%) Resistenzen gegen BZ entdeckt. Diese Pferde standen auf 10 unterschiedlichen Betrieben und es gab mindestens ein positives Pferd pro Betrieb (Wirtherle et al., 2004). In Oberbayern fanden sich schon 1999 Resistenzen gegen BZ (Reuber, 1999). Ebenfalls wird von Beständen mit verminderter Wirksamkeit von PYR berichtet (Becher und Pfister, 2010; von Samson-Himmelstjerna et al., 2007). Bei Verwendung von PYR empfehlen deshalb einige Autoren nach 14 Tagen einen Eizahlreduktionstest durchzuführen, um die Wirksamkeit zu überprüfen (Becher und Pfister, 2010; Coles et al., 1992; Kaplan, 2002).

3.2. Neue Methoden zur Bekämpfung von Infektionen mit Kleinen Strongyliden – Selektive Entwurmung

Aufgrund der zunehmenden Entwicklung von Resistenzen sollten neue Maßnahmen zur Bekämpfung der Kleinen Strongyliden ergriffen werden (Kaplan, 2002). Eine Möglichkeit ist die Methode der Selektiven Entwurmung, bei der Pferde nur entwurmt werden, wenn vorher eine quantitativ definierte Eiausscheidung diagnostiziert wurde (Duncan und Love, 1991). Es sind jedoch nicht alle Würmer gleichmäßig auf jedes Pferd eines Bestandes verteilt, sondern einzelne Tiere einer Population tragen den Großteil der Wurmbürde einer Gesamtpopulation in sich (Crofton, 1971; Galvani, 2003; Nielsen et al., 2006a). Nicht jedes Pferd scheidet zudem gleich viele Eier aus (Nielsen et al., 2006a). Somit besteht die Möglichkeit durch eine Kotuntersuchung die Pferde zu identifizieren, die viele Eier ausscheiden. Diese Pferde können so dann gezielt behandelt werden (Duncan und Love, 1991; Gomez und Georgi, 1991).

Untersuchungen ergaben, dass jedes Pferd eine relativ stetige Eiausscheidung hat (Becher et al., 2010a; Döpfer et al., 2004; Nielsen et al., 2006a). Pferde, die bei einer Untersuchung wenig Eier im Kot haben, werden auch mit hoher Wahrscheinlichkeit in den Folgeuntersuchungen niedrige EpG – Werte haben (Nielsen et al., 2006a). Die Behandlung von Pferden, deren Kotuntersuchung einen festgelegten Schwellenwert an Eiern überschritten hat (Gomez und Georgi, 1991; Uhlinger, 1993), kann die Frequenz von Entwurmungen im Vergleich zu einer strategischen Behandlung deutlich reduzieren (Becher et al., 2010a; Krecek et al., 1994; Little et al., 2003). Je nach Autoren und Studie wurden Schwellenwerte zwischen 100 – 500 EpG definiert (zusammengefasst in Uhlinger, 1993).

Es sollte allerdings erwähnt werden, dass von den Ergebnissen einer McMaster – Untersuchung nicht auf die konkrete Anzahl der Würmer im Pferd geschlossen werden kann (Uhlinger, 1993). Die Höhe der ermittelten Eizahl ist von vielen Faktoren des Wirtes, der Umwelt und des Labors abhängig (Uhlinger, 1993). Durch eine Behandlung der Pferde, die viele Eier ausscheiden, sinkt die Gesamtanzahl an Eiern auf einer Weide, so dass auch weniger L3 von den einzelnen Pferden aufgenommen werden können (Duncan und Love, 1991;

Uhlinger, 1993).

Außerdem wurde nachgewiesen, dass bei jungen Pferden mit einem EpG < 500 eine tatsächlich kleinere Wurmbürde zu erwarten ist (Nielsen et al., 2010). Die Anzahl der Eier im Kot, über einen längeren Zeitraum wiederholt untersucht, gibt gewisse Hinweise zur Intensität des Wurmbefalls bei einem Pferd (Nielsen et al., 2010). Deshalb sind wiederholte Untersuchungen sinnvoll, um eine kontinuierliche koprologische Überwachung zu gewährleisten (Scheuerle, 2012).

Bei keiner der Untersuchungsmethoden zur Feststellung einer Eizahl im Kot kann jedoch zwischen den Strongyliden – Arten unterschieden werden. Deshalb besteht die Gefahr, dass Pferde auch mit den hoch pathogenen Großen Strongyliden infiziert sind und trotzdem unbehandelt bleiben, da sie einen EpG – Wert unter dem Schwellenwert haben (Nielsen et al., 2007, 2008, 2012; Nielsen, 2012).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Probenmaterial und Datensammlung

Vom 03. Februar 2011 bis zum 04. Januar 2012 wurden Kotproben an das koprologische Labor der LMU München geschickt. Der größte Teil der untersuchten Pferde stammt aus dem Großraum München und Oberbayern.

Alle Pferde, deren Kotproben untersucht wurden, befanden sich im ersten Jahr eines Selektiven Entwurmungsprogramms. Die Proben wurden größtenteils über die Tierarztpraxis Thurmading eingesandt oder sie erreichten das Labor im Rahmen einer Kooperation mit dem Futtermittelhersteller Marstall®.

Dadurch konnten viele zusätzliche Informationen zu den einzelnen Pferden gesammelt werden. Das Alter, die Rasse und das Geschlecht sowie das Datum der letzten Entwurmung, der verwendete Wirkstoff und die Entwurmungsfrequenz wurden zu den einzelnen Tieren vermerkt. Die maximale und minimale Temperatur am Tag der Einsendung (bezeichnet als Tag 0) und am Tag davor bzw. zwei Tage vorher (Tag -1 bzw. Tag -2) wurden ermittelt (Quelle: Deutscher Wetterdienst; www.dwd.de).

Für einen besseren Überblick erfolgte eine Kategorisierung des Alters der Pferde in Gruppen von 5 Jahren und der Temperatur in 5°Celsius – Schritten. Die täglichen Temperaturschwankungen zwischen der höchsten und der niedrigsten Temperatur an den Tagen 0, -1, und -2 wurden errechnet und aus ihnen eine Summe gebildet. Diese diente als Maß für die Temperaturschwankungen, denen die Proben ausgesetzt waren.

2. Untersuchungen

2.1. Eizahlbestimmung mit der McMaster – Methode

Aus jeder Probe wurde mittels eines modifizierten McMaster – Verfahrens die Eizahl pro Gramm Kot (EpG) bestimmt. Diese Methode ist im QM – Handbuch des Lehrstuhls für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie hinterlegt (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, 2004).

Folgende Formel wurde zur Berechnung der Eizahl pro Gramm Kot verwendet:

$$\text{EpG} = \frac{\text{Anzahl gezählter Eier} \times \text{Suspensionsvolumen [ml = cm}^3\text{]}}{\text{Kotmenge [g]} \times \text{Zählnetzfläche [cm}^2\text{]} \times \text{Kammerhöhe [cm]} \times \text{Anzahl der Zählfelder}}$$

Das bedeutet, dass bei einer Menge von 6,7 g Kot die Anzahl der Eier beider Zählfelder mit 20 multipliziert wurde.

2.2. Larvenkultur nach Roberts und O’Sullivan

Bei Proben mit einem $\text{EpG} \geq 20$ wurde eine Larvenanzucht nach Roberts und O’Sullivan durchgeführt, um die Strongylidenarten zu bestimmen. Diese Methode ist im QM – Handbuch des Lehrstuhls für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie hinterlegt (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, 2004).

Dazu wurde zunächst die Probe gut homogenisiert und anschließend 30 g abgewogen. Diese Menge wurde aufgelockert und in beschriftete Plastikcontainer gegeben. Anschließend erfolgte die Inkubationszeit von 14 Tagen. Ein tägliches Abnehmen der Containerdeckel gewährleistete die Versorgung der Larven mit Sauerstoff (Abbildung 3). Davon abgesehen verblieben die Probendosen bei Raumtemperatur in einem dunklen Schrank.



Abbildung 3: Larvenkulturen beim täglichen Lüften

Nach Abschluss der Inkubationszeit wurde das Probengefäß mit Wasser gefüllt, eine Petrischale als Deckel darauf gepresst und beides zusammen umgedreht. Das Probengefäß stand nun auf der Petrischale. Der Raum zwischen Petrischale und Probencontainer wurde ebenfalls mit sauberem Wasser gefüllt. Während der nächsten 12 Stunden wanderten die Larven aus dem Kot in das saubere Wasser der Petrischale, mit welchem sie in ein Becherglas abgegossen werden konnten. Die wurde mit Wasser auf 300 ml aufgefüllt und für eine weitere Nacht in den Kühlschrank gestellt. Die Larven setzten sich in dieser Zeit auf dem Boden des Becherglases ab.

Am nächsten Tag wurde der Überstand der Probe mit einer Saugpumpe abgenommen. Die verbliebene Probenflüssigkeit, die nun alle Larven einer Kotprobe enthielt, wurde auf Reagenzgläser verteilt und zentrifugiert (Rotofix 32, Hettich Zentrifugen).

Nach Abnahme des Überstands ergab sich ein Probenvolumen von 1 ml. Die darin enthaltenen Larven wurden durch Schütteln gleichmäßig verteilt und mit einer Pipette ein Aliquot von 10% (100 μ l) entnommen. In diesem wurden nach der Färbung mit Lugolscher Lösung die Larven (Kleine und Große Strongylidenlarven, Larven 2 und Erdnematoden) unter dem Mikroskop identifiziert (Tabelle 1) und numerisch erfasst (Bairden et al., 2001; Bürger und Stoye, 1968; Kornaš et al., 2009).

Tabelle 1: Differenzierungsschema für Strongylidenlarven nach Bürger und Stoye (1968)

Art	Länge (ca.)	Mitteldarmzellen	Körper - Schwanz - Verhältnis
Kleine Strongyliden	850 µm	8 (einige 16 oder 20)	1,5:1
<i>Strongylus vulgaris</i>	1000 µm	32 (dunkel granuliert)	2,5:1
<i>Strongylus equinus</i>	1000 µm	16	2,8:1
<i>Strongylus edentatus</i>	800 µm	20 (meist undeutlich)	2,0:1

Aus der Menge der ausgezählten Larven wurde die Larvenanzahl pro Gramm Kot (LpG) nach folgender Formel bestimmt (Bello und Allen, 2009; Nielsen et al., 2010):

$$\text{LpG} = \frac{\text{Anzahl Strongylidenlarven} \times \text{Volumen des Aliquots}}{\text{Kotmenge [g]}}$$

2.2.1. Weitere Untersuchungen

Zusätzlich wurde von einer Kotprobe, die nachweislich Larven von *S. vulgaris* enthielt, eine Verdünnungsreihe mit unterschiedlichen Mengen an Kot (30 g; 25 g; 20 g; 15 g; 10 g und 5 g) angesetzt. Außerdem wurde eine Sammelkotprobe von 3 Pferden inklusive der positiven Probe mit insgesamt 30 g Kot angesetzt.

3. **Zusätzliche Datenerhebung bei Funden von *S. vulgaris***

Bei Feststellung einer Infektion mit Großen Strongyliden, erfolgte ein Besuch des Herkunftsbetriebes und eine Befragung des Pferdebesitzers und / oder Stalleigentümers.

Die Lage der Stallungen und Weideflächen zueinander und Informationen über den Tagesablauf auf dem Betrieb wurden erfasst. Von besonderem Interesse waren vor allem die Haltungsbedingungen, das Fütterungsmanagement, die Weide – und Paddockhygiene, die Gruppierung der Pferde, Maßnahmen bei Neueinstellung, der Kontakt zu anderen Pferden außerhalb des Betriebs (im Rahmen von Turnieren, Ausbildung, etc.), die Reinigung der Boxen sowie die Lagerung und Entsorgung des Mistes.

Zusätzlich wurden Informationen über die Krankheitsgeschichte des mit *S. vulgaris* infizierten Pferdes gesammelt. Hier lag der Schwerpunkt der Befragung auf Krankheiten des Verdauungstrakts (Koliken, Durchfall).

Es wurde festgestellt, seit wann das Pferd im Betrieb war, wo es herkam und wie dort entwurmt wurde.

Abschließend wurde von dem infizierten Pferd und denjenigen, die zu ihm Kontakt hatten, eine erneute Kotprobe genommen. Allen Pferden, die aufgrund eines niedrigen EpG – Wertes in der letzten McMaster – Untersuchung nicht entwurmt worden sind wurde eine Wurmkur verabreicht. Das positive Pferd erhielt ebenfalls eine anthelminthische Behandlung. Alle Kotproben wurden erneut mit einer Larvenanzucht untersucht. 14 Tage nach der Entwurmung wurde eine neue Kotprobe des infizierten Pferdes mit der McMaster – Methode untersucht, um die Wirksamkeit der Entwurmung durch eine Reduktion der Strongylideneizahl zu überprüfen. Zusätzlich wurde nochmals eine Larvenanzucht zur Kontrolle angesetzt.

Aufgrund der langen Präpatenz von *S. vulgaris* erfolgte eine regelmäßige Larvenanzucht von Kotproben der Kontaktpferde, um mögliche Ansteckungen auszuschließen. In einem Fall gelang es, Kotproben aus dem Ursprungsbetrieb eines positiven Pferdes zu bekommen und damit Larvenanzuchten durchzuführen.

4. Statistische Untersuchungen

Alle statistischen Untersuchungen erfolgten mit SPSS 20 und Microsoft Excel 2003.

Da die Daten nicht normal verteilt waren, wurde die Korrelation zwischen dem Ergebnis der McMaster – Untersuchung und der Anzahl der angezüchteten Larven mithilfe des Spearman Koeffizienten errechnet.

Als Parameter für die Anzüchtung bzw. Anzüchtbarkeit wurde aus den Werten LpG und EpG einer Kotprobe der Quotient gebildet.

Wurden wiederholt Kotproben von einem Pferd untersucht, so wurden die Ergebnisse der Anzüchtung aufeinander bezogen: Eine Korrelation nach Spearman wurde zwischen der ersten und zweiten, zweiten und dritten sowie ersten und dritten Untersuchung errechnet.

Die Gruppen Alterskategorien und Temperatur wurden mit dem Kruskal – Wallis Test auf eine unterschiedliche Verteilung bezüglich der Zielvariablen EpG, LpG und Anzüchtung geprüft.

IV. ERGEBNISSE

In dem Untersuchungszeitraum wurden Kotproben von 354 Pferden einmalig untersucht. Voraussetzung für eine Larvenanzucht der Proben war, dass das Ergebnis der McMaster – Untersuchung mindestens 20 EpG betrug.

1. Vorkommen Großer Strongyliden

1.1. Befallsfrequenzen

In vier Proben der 354 Pferde wurden L3 von *S. vulgaris* gefunden (Abbildung 4). Dies entspricht 1,13% aller untersuchten Tiere. In keiner Probe fanden sich Larven von *S. edentatus* und *S. equinus*.

Die mit *S. vulgaris* infizierten Pferde wurden alle auf unterschiedlichen Betrieben gehalten, die im Einzugsbereich der Pferdepraxis Thurmading in Pleiskirchen liegen (Abbildung 5). Auf die 68 teilnehmenden Betriebe im Praxisgebiet bezogen, stellen die vier infizierten Bestände einen prozentuellen Anteil von 5,9% dar.

Es konnte jedoch auf keinem Betrieb ein weiteres Pferd gefunden werden, bei dem eine Ausscheidung von *S. vulgaris* – Eiern festgestellt wurde. In den Kotproben vom Ursprungsbetrieb des Pferdes C (Tabelle 2) wurden nur Eier Kleiner Strongyliden nachgewiesen.



Abbildung 4: In einer Probe gefundene Larve von *S. vulgaris* mit 32 Mitteldarmzellen

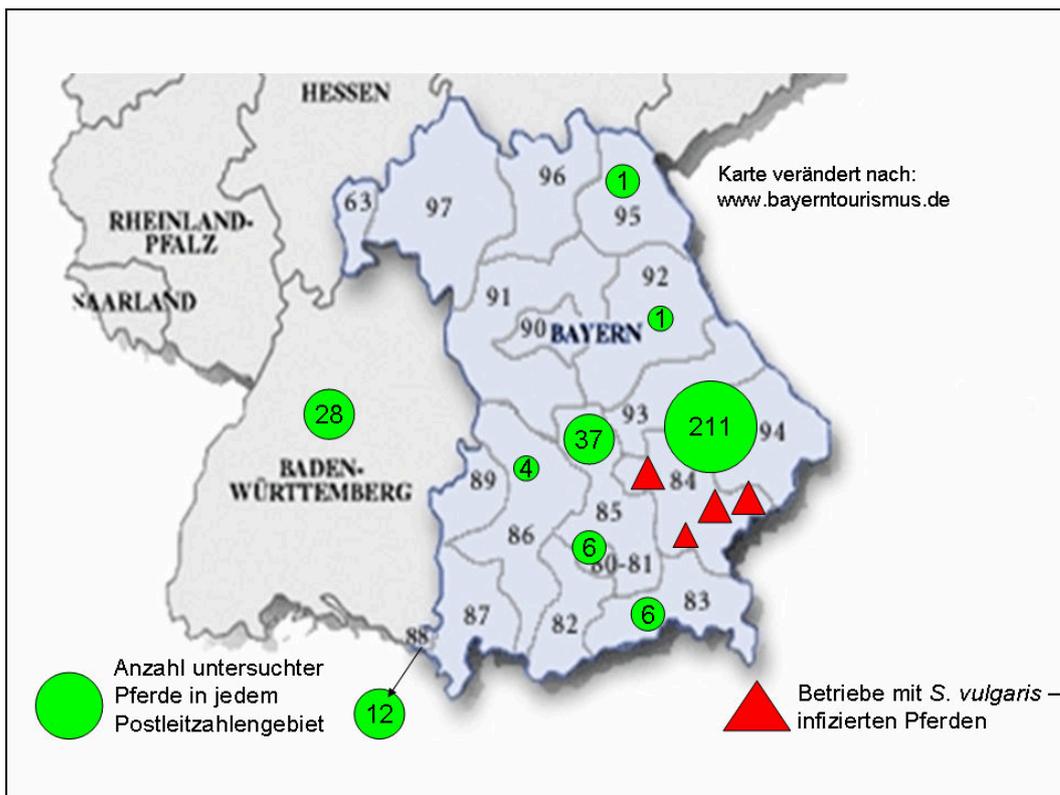


Abbildung 5: Nach Postleitzahlen eingeteilte Karte Bayerns mit der Anzahl der dort untersuchten Pferde. Rot markiert sind die Bestände, in denen bei jeweils einem Pferd *S. vulgaris* gefunden wurde

1.2. Epidemiologische Faktoren auf den betroffenen Betrieben

In Tabelle 2 sind die positiven Pferde mit den entsprechenden Untersuchungsergebnissen zusammengefasst. Kein Pferd zeigte zum Zeitpunkt der Untersuchung klinische Symptome eines Strongylidenbefalls oder einer anderen Krankheit.

Auf keinem der betroffenen Betriebe existierten anthelminthische Quarantänemaßnahmen für neu ankommende Pferde. Eine Gemeinsamkeit aller infizierten Pferde ist, dass sie relativ neu im Bestand waren und sofort engen Kontakt mit der ursprünglichen Pferdepopulation auf dem Hof hatten.

Tabelle 2: Untersuchungszahlen und epidemiologische Fakten zu den mit *S. vulgaris* infizierten Pferden

Pferd	Datum der Untersuchung	EpG	LpG	Bemerkungen
Pferd A	09.03.2011	180	150	Import Ungarn 2010
Pferd B	22.06.2011	700	125	Zugekauft 2011
Pferd C	26.10.2011	1800	342	Zugekauft 2011
Pferd D	03.11.2011	820	230	Import Ungarn 2011

Die Importpferde wurden beide erst einige Monate nach Ankunft im Bestand das erste Mal entwurmt, ohne Kenntnis über das Entwurmungsmanagement im Herkunftsbetrieb. Pferd A wäre aufgrund des EpG unter dem Schwellenwert von 200 nicht entwurmt worden, wenn nicht eine Infektion mit *S. vulgaris* durch die Larvenanzucht diagnostiziert worden wäre.

Vor der Umstellung auf eine Selektive Entwurmung haben sämtliche Betriebe regelmäßig alle Pferde des Bestandes entwurmt:

- Betrieb A = 1 x / Jahr
- Betrieb B = 2 x / Jahr
- Betrieb C = 4 x / Jahr

- Betrieb D = keine Angabe.

1.3. Nachuntersuchungen und Verdünnungsreihen

Die McMaster – Untersuchung der infizierten Pferde 14 Tage nach der Entwurmung fiel stets negativ aus. Auch in der zusätzlich angesetzten Larvenanzucht konnten keine Larven von *S. vulgaris* mehr identifiziert werden.

In der Larvenanzucht mit absteigenden Probenmengen eines mit *S. vulgaris* infizierten Pferdes konnten bis zu einem Probenvolumen von 10 g Kot noch *S. vulgaris* – Larven identifiziert werden. Auch unter den entwickelten Larven der Sammelkotprobe gelang es, Larven von *S. vulgaris* zu differenzieren.

2. Ergebnisse der Larvenanzucht

2.1. Wiederholungsuntersuchungen

Von einigen Pferden wurden im Laufe des Jahres mehrmals Kotproben untersucht. Wie in Abbildung 6 dargestellt, erfolgte bei 275 Pferden eine einmalige Untersuchung (77,7%), 61 Pferde wurden zweimal untersucht (17,2% aller Pferde), eine dreimalige Untersuchung erfolgte bei 17 Pferden (4,8%) und von einem einzelnen Pferd wurden vier unterschiedliche Kotproben untersucht (0,3%). Dies ergibt ein Gesamtvolumen von 425 Proben von 354 Pferden.

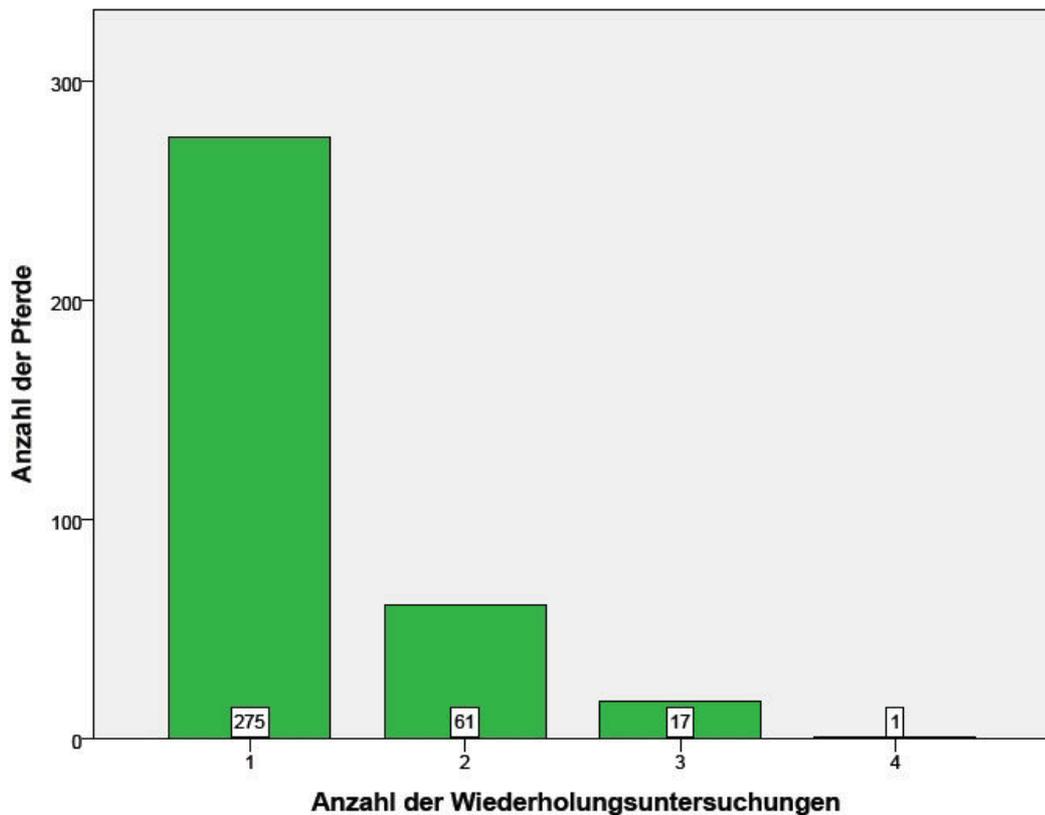


Abbildung 6: Aufteilung der 354 Pferde nach der Anzahl ihrer Kotproben

2.1.1. Anzuchtbarkeit der Larven

Die Zeit, die zwischen der Ankunft der Proben im Labor und dem Ansatz der Larvenkultur lag, zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Larvenzahl und die Anzuchtbarkeit.

Zwischen der Anzahl der Strongylideneier und der Anzahl der sich entwickelten Larven bestand eine signifikante Korrelation ($r = 0,792$; $p = 0,000$).

Bei dem Vergleich der Anzuchtung korreliert die Erstuntersuchung mit der Zweituntersuchung desselben Pferdes ($r = 0,322$; $p = 0,004$) und die Erstuntersuchung mit der Drittuntersuchung ($r = 0,521$; $p = 0,027$).

2.2. Einfluss des Alters auf die Strongylideneianzahl

Die Anzahl der Strongylideneier nimmt mit zunehmendem Alter der Pferde ab

und ist am niedrigsten in der Alterskategorie 16 – 20 Jahre (Abbildung 7). Ab 21 Jahren nimmt die Anzahl nachgewiesener Strongylideneier wieder zu. Der Kruskal – Wallis Test bestätigt eine statistisch signifikante unterschiedliche Verteilung der Strongylideneianzahl in den verschiedenen Alterskategorien ($p = 0,022$). Der Median der Anzahl der Strongylideneier liegt in der Alterskategorie von 0 – 5 bei 360 EpG, fällt dann auf 150 EpG (Pferde von 6 – 10) bzw. 160 EpG (Pferde von 11 – 15 Jahre). Am niedrigsten ist die Anzahl der Strongylideneier mit 100 EpG im Median in der Kategorie 16 – 20 Jahre, um dann über 200 EpG (21 – 25 Jahre) auf 340 EpG (Pferde, die älter als 26 sind), anzusteigen.

Es wurden jedoch nur 47 Pferde über 20 Jahre untersucht, wohingegen die Gruppe der Pferde von 6 – 10 Jahre mit 164 Pferden am stärksten vertreten ist.

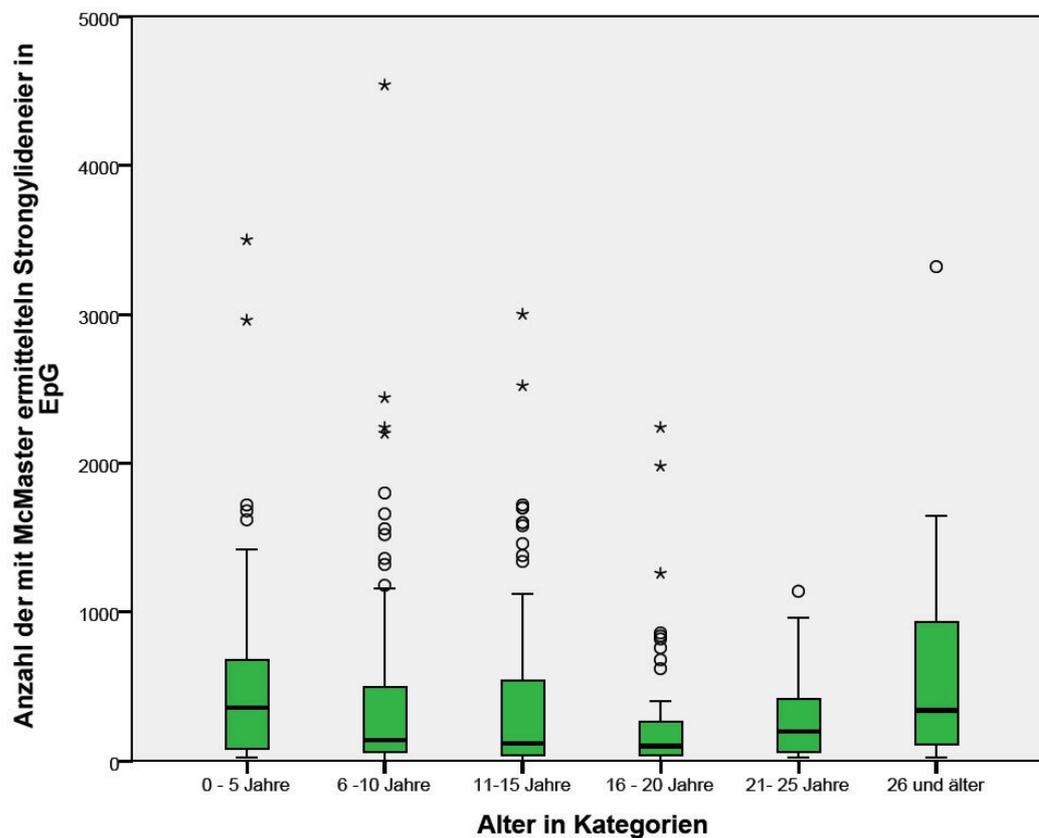


Abbildung 7: Die ermittelte Strongylideneianzahl im Verhältnis zum Alter in Kategorien; nicht dargestellt ist ein Wert in der Alterskategorie 26 und älter mit 8840 EpG und 53 LpG

2.3. Einfluss der Temperatur von der Probennahme bis zur Untersuchung

Wie Abbildung 8 zeigt, entwickelten sich mehr Larven aus den Proben, die während ihrer Einsendung geringen Temperaturschwankungen unterlagen, als aus Proben, die in der Summe über die drei untersuchten Tage einem großen Unterschied zwischen Tagesmaximum und – minimum ausgesetzt waren ($p = 0,032$).

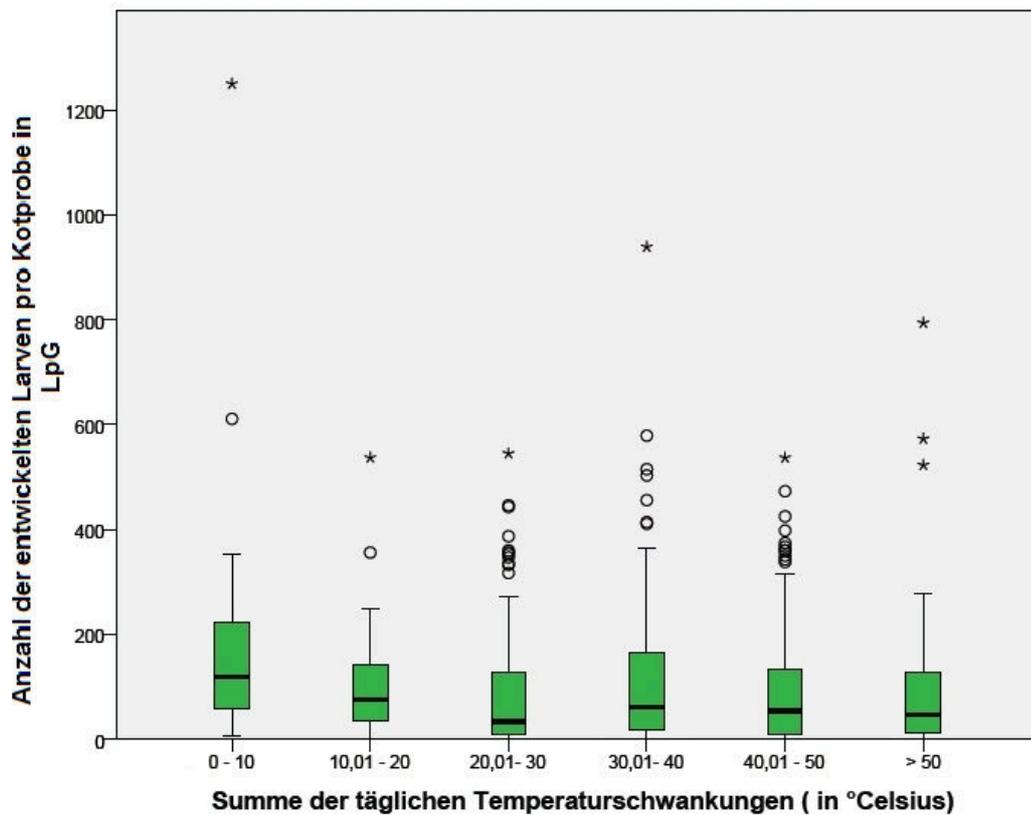


Abbildung 8: Die Summe der täglichen Temperaturschwankungen während der Einsendung und ihr Einfluss auf die Larvenanzucht

V. DISKUSSION

1.1. Befallsfrequenzen mit *S. vulgaris* in dieser Studie und die Situation in Deutschland

Die in der vorliegenden Studie festgestellte Befallsfrequenz für *S. vulgaris* von vier der 354 untersuchten Pferde (1,13%) stimmt weitgehend mit den aktuellen Angaben aus Brandenburg (0,8%) und Nordrhein – Westfalen (1,3%) überein (Fritzen, 2005; Fritzen et al., 2010; Hinney et al., 2011a; von Samson-Himmelstjerna et al., 2007). Allerdings sind diese Angaben aus Norddeutschland keine Werte, die sich auf einzelne Pferde beziehen, sondern auf mit Sammelkotproben untersuchte Betriebe. Zudem wurden in beiden Studien immer nur 100 Larven aus der gepoolten Probe ausgezählt. Deshalb besteht die Möglichkeit, dass *S. vulgaris* – Larven unentdeckt geblieben sind.

Eine Bestandsfrequenz aller untersuchten Tiere konnte in dieser Studie nicht direkt ermittelt werden, da nur ein Teil der Einzelkotproben bestimmten Betrieben zuzuordnen waren. Auf das Gebiet der Tierarztpraxis Thurmading bezogen, lässt sich jedoch eine Befallsfrequenz von 5,9% auf Bestandsebene ermitteln (vier von 68 Betrieben). Vor dem Hintergrund, dass sich diese Untersuchung auf Einzelkotproben stützt, kann die epidemiologische Situation im Untersuchungsgebiet trotzdem ähnlich wie in Norddeutschland beschrieben werden. Eine weitere Parallele ist, dass weder in dieser noch in den oben genannten Studien *S. edentatus* oder *S. equinus* gefunden wurden (Fritzen, 2005; Hinney et al., 2011a).

Um die Entwicklung der epidemiologischen Situation zu beurteilen, können Studien aus Süddeutschland aus den 1990er Jahren betrachtet werden: 1993 wurden im Bayrischen Haupt- und Landesgestüt Schwaiganger bei 12 von 48 untersuchten Pferden (25%) mittels Koprokultur Larven von *S. vulgaris* gefunden (Peitgen, 1993). Ebenfalls auf Schwaiganger stellte Zeeuw 1997 bei 4 von 47 untersuchten Pferden (8,5%) eine Infektion mit *S. edentatus* fest. Allerdings untersuchten beide Autoren nur zweijährige Pferde. Dies ist im Vergleich zu der

vorliegenden Studie, in der Pferde aller Altersklassen untersucht wurden, zu berücksichtigen. Bei Jungpferden ist die Ausscheidung von Strongylideneiern generell höher als bei älteren Tieren (Larsen et al., 2002; Little et al., 2003; Uhlinger, 1993). Da in diesen Studien jeweils mehrere von einem Gestüt stammende Jungtiere befallen waren, ist die Befallssituation so zu werten, dass zum damaligen Zeitpunkt Infektionen mit *S. edentatus* und *S. vulgaris* auf dem Bestand endemisch waren. Dies ist ein entscheidender Unterschied zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Alle betroffenen Pferde waren hier als einzige auf den Betrieben infiziert und zudem neu in die bestehende Pferdepopulation gekommen.

Spätere, umfassendere Studien aus Bayern fanden weder mittels Larvenanzucht (Beelitz et al., 1996; Beelitz und Gothe, 1997) noch im Darmtrakt von 400 Schlachttieren (Rehbein et al., 2004) Große Strongyliden. 1996 untersuchte Beelitz 37 Fohlen und ihre Mutterstuten in neun Betrieben in Oberbayern. Nur in sechs der neun Bestände wurde regelmäßig entwurmt, drei Betriebe hatten drei Jahre vorher keine Behandlung mit Anthelminthika durchgeführt. Auch in der Larvenanzucht dieser Betriebe fanden sich keine Larven von Großen Strongyliden (Beelitz et al., 1996).

In der Folgestudie an erwachsenen Pferden und Jährlingen wurden 1997 mittels Larvenanzucht ebenfalls keine Großen Strongyliden identifiziert (Beelitz und Gothe, 1997). Die untersuchte Population war mit 127 Pferden aus fünf oberbayerischen Beständen größer als die Studie aus dem Vorjahr. Die Pferde wurden in den letzten vier Jahren vor der Studie regelmäßig mindesten zwei- und maximal viermal pro Jahr entwurmt.

In Bayern lässt sich dementsprechend die epidemiologische Entwicklung im Bezug auf *S. vulgaris* zusammenfassend folgendermaßen darstellen: Während Anfang der 1990er Jahre *S. vulgaris* zumindest noch in einem Betrieb als endemisch nachgewiesen werden konnte (Peitgen, 1993), wurden danach keine solcher Infektionen mehr gefunden. Die vorliegende Studie bestätigt dieses Ergebnis, da alle betroffenen Pferde Neuzugänge waren.

Da in Norddeutschland nicht untersucht wurde, wie viele Pferde pro Bestand infiziert waren, bleibt unklar, ob es dort noch endemische Fälle gibt. Generell sollte jedoch erwähnt werden, dass die Bestandsgrößen und die Pferdepopulation

im Norden deutlich größer sind als in Süddeutschland. Dies dürfte auch auf die epidemiologische Verbreitung von *S. vulgaris* eine Auswirkung haben.

Trotzdem sollten Erklärungen für das verschwindend geringe Vorkommen von *S. vulgaris* in Gesamtdeutschland gefunden werden: Die regelmäßige und häufige Entwurmung der Pferde (Becher et al., 2010b) und der verstärkte Einsatz von langwirksamen makrozyklischen Laktonen (Hinney et al., 2011b) in den letzten Jahrzehnten führten vermutlich zu der dargestellten Entwicklung.

Somit ist die Folge, dass für Pferde in Deutschland und insbesondere im süddeutschen Raum im Moment keine Gefahr mehr von Großen Strongyliden ausgeht.

1.2. Befallsfrequenzen im Ausland und mögliche Erklärungen

Die Prävalenzen von Großen Strongyliden sind jedoch in den Nachbarländern teilweise deutlich höher als in Deutschland. In italienischen Studien wurden Schlachtpferde aus Ungarn und Italien untersucht und Prävalenzen von 24 – 39% für *S. vulgaris* und 14% für *S. edentatus* festgestellt (Mughini Gras et al., 2011; Pilo et al., 2012). Die Pferde aus Ungarn hatten jedoch im Vergleich einen geringeren Befall mit Großen Strongyliden als die italienischen (Mughini Gras et al., 2011; Stancampiano et al., 2010). Diese Befallsfrequenzen sind deutlich höher als die von Pilo et al. (2012) mit Larvenanzucht ermittelten Werte auf Sardinien. Hier war der Anteil an den insgesamt ausgezählten Larven 4,3% für *S. vulgaris* und 0,09% für *S. edentatus*. Zusätzlich wurden Larven von *S. equinus* gefunden (1,37%). Auf Sardinien werden laut Montinaro et al. (2002) über 60% aller Pferde mindestens 3 x pro Jahr anthelminthisch behandelt.

Neueste Untersuchungen aus Polen beschreiben Prävalenzen von 22,8% für *S. vulgaris*, 18,3% für *S. edentatus* und 1,7% für *S. equinus* (Studzinska et al., 2012). Die Diagnose der Art erfolgte an adulten Würmern, die aus dem Darmtrakt von 725 Schlachtpferden gesammelt wurden. Die Pferde kamen von unterschiedlichen Betrieben aus Polen. Informationen über frühere Entwurmungsfrequenzen liegen nicht vor.

Die Befallsfrequenzen, die an Schlachtpferden in den Studien aus Italien und

Polen festgestellt wurden, liegen in der Regel deutlich über der Frequenz, die aus Larvenanzuchten ermittelt wurde. Pilo fanden *S. vulgaris* – Larven in 39% der kranialen Mesenterialarterien von Schlachtpferden. Die Larvenanzuchten von Proben derselben Pferde waren nur zu 26% positiv für *S. vulgaris*. Der Anteil der *S. vulgaris* – Larven an der Gesamtanzahl der ausgezählten Larven lag noch mal deutlich darunter (4,3%). Somit lässt sich festhalten, dass Befallsintensitäten mittels Larvenkultur nicht mit denen einer post – mortalen Untersuchung der Organe verglichen werden können.

Mughini Gras et al. (2011) vermuten, dass italienische Pferde nicht unbedingt mit dem Ziel gehalten werden, sie zur Fleischproduktion zu nutzen, wohingegen dies in Ungarn häufiger der Fall ist. Aus Polen wird berichtet, dass dort ebenfalls sehr viele Tiere für den Export von Pferdefleisch gehalten werden (Staempfli, 1991). Es lässt sich deshalb vermuten, dass Pferde zur Fleischproduktion wesentlich extensiver gehalten und auch entwurmt werden als Reitpferde.

Da in Deutschland wenig bis gar keine Pferde primär zur Fleischproduktion gehalten werden, lässt sich der Unterschied in der Befallsfrequenz erklären.

In den Niederlanden und der Schweiz stellt sich die epidemiologische Situation dagegen ähnlich wie in Deutschland dar. In der Schweiz wurden auf vier von 81 Betrieben (5%) mittels Koprokultur Larven von *S. vulgaris* und *S. edentatus* gefunden (Meier und Hertzberg, 2005). Alle Betriebe hatten jährlich zwei- bis siebenmal entwurmt.

Döpfer et al. (2004) fanden auf zwei von 18 mehrheitlich zweimal im Jahr entwurmten Pferdebeständen (insgesamt 484 Pferde) in den Niederlanden Larven von *S. vulgaris*. Der Anteil von *S. vulgaris* – Larven betrug auf dem einen Betrieb 11%, auf dem anderen 4% der gesamten Larvenanzahl in gepoolten Proben. Diese Betriebe hatten beide bis zur Untersuchung keine anthelminthische Behandlung durchgeführt. Borgsteede et al. (1993) fanden außerdem 0,3% *S. vulgaris* – und 1,9% *S. edentatus* – Larven in Sammelkotproben von 10 niederländischen Beständen. Hier wurden jedoch immer nur 100 Larven pro Probe ausgezählt und differenziert, was die niedrigere Prävalenz im Vergleich zu Döpfer erklären könnte. Über die anthelminthische Behandlung vor der Studie ist nichts bekannt. Durch den ähnlichen Stellenwert des Pferdes in den Niederlanden und der Schweiz wie in Deutschland und den damit verbundenen ähnlichen

Behandlungsfrequenzen könnte die Parallele in der epidemiologischen Situation erklärt werden.

Zwei Untersuchungen aus Spanien berichten von einem Vorkommen von Großen Strongyliden, jedoch wurden keine Befallsfrequenzen ermittelt (Francisco et al., 2009a, 2009b). Bei einer der mit Larvenanzucht untersuchten Herden handelte es sich um eine ursprüngliche, spanische Rasse (Pura Raza Galega). Die Pferde wurden zur Flurreinigung ganzjährig in einem Waldgebiet gehalten und bekamen selten bis nie eine anthelminthische Behandlung. Da es sich hierbei um Untersuchungen von einzelnen, nicht repräsentativen Herden handelt, kann nicht auf das Vorkommen von *S. vulgaris* in ganz Spanien geschlossen werden.

Im Vergleich dieser europäischen Länder lässt sich dementsprechend ein Einfluss der Frequenz der anthelminthischen Behandlungen und der Nutzungsrichtung der Pferde auf die Verbreitung von *S. vulgaris* feststellen.

1.3. Verbreitung von *S. vulgaris* in Dänemark bei Selektiver Entwurmung

Eine grundsätzlich andere Situation liegt in Dänemark vor, da hier seit 1999 die Abgabe von Anthelminthika verschreibungspflichtig ist. Dort wird schon seit längerer Zeit in vielen Beständen das Prinzip der Selektiven Entwurmung eingesetzt (Nielsen et al., 2006b). Hier wurden in neuesten Studien vermehrt *S. vulgaris* gefunden (Nielsen et al., 2012). Die Prävalenzen von 15,4% bei Pferden mit Selektiver Entwurmung (83,3% auf Bestandsebene) weisen eine weite Verbreitung von *S. vulgaris* in Dänemark nach (Nielsen et al., 2012). Aber auch strategisch entwurmete Pferde zeigten dort Prävalenzen für *S. vulgaris* von 7,7% sowie 38,9% auf Bestandsebene (Nielsen et al., 2012). Damit ist die Befallsfrequenz auf Bestandsebene in Dänemark deutlich höher als die Werte aus den aktuellen deutschen, niederländischen und Schweizer Studien.

In einer Befragung von dänischen Tierärzten zeigt sich, dass nur 41% die Larvenkultur in ein Selektives Behandlungsprogramm implementiert haben (Nielsen et al., 2006b). Dies könnte eine der Ursachen für die weite Verbreitung von *S. vulgaris* in dänischen Pferdebeständen sein. Außerdem weist eine aktuelle Umfrage unter Pferdebesitzern nach, dass in Dänemark bei strategischer

Behandlung weniger häufig entwurmt wird als in Deutschland (Becher et al., 2010b). Eine andere mögliche Ursache kann sein, dass in der Studie von Nielsen et al. (2012) alle angezüchteten Larven von Einzelkotproben differenziert wurden und nicht nur Larven aus Aliquots von 10% wie in dieser Studie oder Sammelkotproben angezüchtet wurden.

1.4. Schlussfolgerung für die Wurmbekämpfung in Deutschland

Aus der unterschiedlichen Verbreitung von *S. vulgaris* ergeben sich damit folgende Schlussfolgerungen für die Wurmbekämpfung:

In Deutschland sind die Großen Strongyliden in den letzten Jahrzehnten erfolgreich durch eine regelmäßige Entwurmung eingedämmt worden. Der Focus einer anthelminthischen Therapie braucht nun nicht mehr auf der Bekämpfung Großer Strongyliden zu liegen, wie es von Drudge und Lyons (1966) empfohlen wurde. Vielmehr stehen nun die Kleinen Strongyliden und der Umgang mit zunehmenden Resistenzen im Vordergrund (Coles, 2002; Duncan und Love, 1991).

Zusätzlich muss verhindert werden, dass Große Strongyliden durch Neuzugänge in Betriebe, unabhängig von der Entwurmungsmethode, eingeschleppt werden. Alle vier positiven Pferde dieser Untersuchung waren neu in den Bestand gekommen, wobei zwei ohne Wissen um ihren Wurmstatus und das Quarantänemanagement importiert wurden.

Solange Große Strongyliden in deutschen Nachbarländern noch so weit verbreitet sind, müssen besondere Schutz – und Quarantänemaßnahmen ergriffen werden, wenn ein Pferd neu in einen deutschen Bestand kommt:

Es empfiehlt sich daher generell, Neuzugänge mit einem larviziden Anthelminthikum (z. B. MOX) zu behandeln (Kaplan, 2002; Sangster, 1999). Da die Pferde bis zu 14 Tage nach der Entwurmung noch Eier ausscheiden, sollten sie solange vom restlichen Pferdebestand getrennt gehalten werden. Am besten wird nach 14 Tagen mit einer McMaster – Untersuchung der Erfolg der Entwurmung kontrolliert (von Samson-Himmelstjerna et al., 2007). Eine andere Möglichkeit ist, die Neuzugänge vor Umsiedlung mit einer McMaster – Untersuchung auf Ausscheidung von Strongylideneiern zu untersuchen. Bei einem positiven

Ergebnis sollten mit einer Larvenanzucht die Gattungen bestimmt werden. Dies erfordert jedoch etwas Vorlaufzeit, da die Larvenanzucht bis zu zwei Wochen dauert und das Pferd erst dann den Bestand wechseln kann.

Pferde, die nur für einen Zeitraum von ca. 6 Wochen neu in einen Betrieb kommen, können mit IVM entwurmt werden. Dieser Wirkstoff hat zurzeit noch eine sehr gute Effektivität gegen die luminalen Stadien der Großen Strongyliden, und es kommt erst nach 6 – 8 Wochen zu einer erneuten Eiausscheidung. Somit kann der Betrieb nicht mit Eiern von *S. vulgaris* kontaminiert werden (Kaplan, 2002).

Soll zusätzlich eine Verschleppung resistenter Stämme Kleiner Strongyliden vermieden werden, empfiehlt sich als Quarantänemanagement eine Kombination aus larvizider Behandlung, Eizahlreduktionstest und Larvenanzucht.

Solche Quarantänemaßnahmen werden in Deutschland zurzeit kaum durchgeführt, obwohl sich viele Pferdebesitzer der Gefahr einer Einschleppung von Parasiten durch Neuankömmlinge bewusst sind (Hinney et al., 2011b). Vor allem beim Import von Pferden aus dem Ausland sollte auf eine Einhaltung von Quarantänemaßnahmen durch die Tierärzte geachtet werden.

1.5. Konsequenzen für die Selektive Entwurmung in Deutschland

Wird die Methode der Selektiven Entwurmung als Kontrollstrategie gegen Kleine Strongyliden angewandt (Gomez und Georgi, 1991) und damit insgesamt weniger entwurmt, sollte die Verbreitung Großer Strongyliden im Auge behalten werden (Nielsen et al., 2006b, 2008, 2012).

Die Entwicklungen in Dänemark zeigen, dass im Zusammenhang mit der Selektiven Entwurmung in Deutschland zusätzlich zu den empfohlenen Quarantänemaßnahmen ein regelmäßiges Monitoring für Große Strongyliden erfolgen sollte. Vor allem bei Pferden, die aufgrund ihrer niedrigen EpG – Werte länger nicht entwurmt werden (wie in dieser Studie Pferd A), ist eine regelmäßige Larvenanzucht zur Diagnose einer möglichen Infektion mit Großen Strongyliden zu empfehlen.

1.6. Erkenntnisse aus der Larvenanzucht und der Strongylideneianzahl

Die wiederholt untersuchten Proben eines Pferdes wiesen auch in der zweiten, dritten oder vierten Untersuchung keine Larven von Großen Strongyliden auf. Somit wurden alle positiven Pferde in der ersten Anzucht erkannt. Einmalige Koprokulturen stellen damit ein gutes Mittel zur Identifikation von Großen Strongylidenlarven dar. Nielsen et al. (2010) bestimmten einen positiven Vorhersagewert für *S. vulgaris* von 0,73 und für *S. edentatus* von 0,75 bei der Durchführung von Larvenanzuchten.

Die Anzahl der Strongylideneier korrelierte signifikant mit der Anzahl der entwickelten Larven. Damit liefert eine Larvenanzucht im Vergleich zum McMaster – Verfahren keine zusätzlichen Informationen über das Infektionspotential der ausgeschiedenen Eier der Kleinen Strongyliden.

Döpfer et al. (2004) fanden wie diese Studie höhere Strongylideneizahlen bei Pferden, die älter waren. Eine Erklärung dafür ist, dass die Immunität gegen Strongyliden mit dem Älterwerden verloren gehen kann (Klei und Chapman, 1999). Somit sollten im Rahmen der Selektiven Entwurmung die alten Pferde gesondert betrachtet werden.

Wie Abbildung 8 zeigt, sollten beim Transport der Kotproben starke Temperaturschwankungen vermieden werden, da vor allem ein Wechsel zwischen Frost und Auftauen die Eier schädigt (Nielsen et al., 2007) und somit keine Larvenanzucht mehr möglich ist. Deshalb ist zu empfehlen, die Larvenanzucht im Sommer bei konstanten Temperaturen durchzuführen. Außerdem ist die Eiausscheidung der Strongyliden gegen Ende des Sommers am höchsten, so dass zu diesem Zeitpunkt am meisten Larven zur Differenzierung angezüchtet werden können.

2. Fazit

Abschließend ist zu sagen, dass es mit der hier nachgewiesenen und zu vernachlässigenden Prävalenz der Großen Strongyliden richtig ist, die Wurmbekämpfung in Süddeutschland auf die Kleinen Strongyliden auszurichten. Die Selektive Entwurmung stellt dazu eine neue und wirksame Methode dar. In diesem Rahmen muss jedoch unbedingt ein Monitoring erfolgen, mit dem gegebenenfalls eine Infektion mit Großen Strongyliden diagnostiziert werden kann. Dazu hat sich eine Larvenanzucht der Kotproben bewährt. Vor allem Neuzugänge und Importpferde sollten unabhängig von der Bekämpfungsmethode nach der derzeitigen Lage in den meisten Nachbarländern besonders überwacht werden. Die oberste Priorität bei der Bekämpfung der Großen Strongyliden im süddeutschen Raum ist im Moment die Verhinderung der Reinfektion der einzelnen Pferdebestände. Deshalb sollte die korrekte Durchführung von Quarantänemaßnahmen ein wichtiges Ziel für jeden Pferdepraktiker sein. So kann nicht nur eine Neuinfektion mit Großen Strongyliden verhindert, sondern auch die Verbreitung von resistenten Arten der Kleinen Strongyliden aufgehalten werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der Zeit zwischen Februar 2011 und Januar 2012 wurden Kotproben von 354 Pferden ein bis viermal untersucht. Die Pferde stammten hauptsächlich aus Bayern und dem süddeutschen Raum und nahmen im ersten Jahr an einem Selektiven Entwurmungsprogramms teil. Bei allen eingesandten Proben wurde die Strongylideneianzahl mit dem McMaster – Verfahren bestimmt und bei denjenigen, die einen Wert von über 20 Eiern pro Gramm Kot aufwiesen, eine Larvenanzucht angesetzt. Es erfolgte eine morphologische Identifizierung der entwickelten L3. Bei vier der 354 Pferde wurde ein Befall mit *S. vulgaris* festgestellt. In keiner Probe fanden sich Larven von *S. edentatus* und *S. equinus*. Die betroffenen Pferde kamen von unterschiedlichen Betrieben und waren alle erst seit kurzer Zeit dort, zwei Pferde wurden importiert. Quarantänemaßnahmen erfolgten in keinem Bestand. Die Anzahl der Strongylideneier korrelierte signifikant mit der Anzahl der sich entwickelnden Larven aus der Koprokultur. Das Alter zeigte einen statistisch nachgewiesenen Einfluss auf die Höhe der Eiausscheidung, junge und ältere Pferde schieden vermehrt Strongylideneier aus. Die Transportbedingungen für Kotproben sind im Idealfall gekühlt und unter möglichst geringen Temperaturschwankungen zu halten, da sonst eine geringere Larvenanzahl resultiert.

Die Larvenanzucht zeigte sich in dieser Studie als probates Mittel, um eine Infektion mit *S. vulgaris* zu diagnostizieren. Die Verbreitung Großer Strongyliden in Süddeutschland scheint jedoch fast vollständig eingedämmt zu sein. Trotzdem darf nun der Focus nicht ausschließlich auf die Bekämpfung Kleiner Strongyliden gelegt werden, da nicht absehbar ist, ob es zu einer Wiederverbreitung von Großen Strongyliden kommen wird. Generell sollte ein gutes Quarantänemanagement die Einschleppung von Strongyliden in den neuen Bestand verhindern.

VII. SUMMARY

From February 2011 till January 2012 faecal samples of 354 horses were examined at least once. The horses were mainly from Southern Germany and participated in the first year of a selective treatment scheme. The faecal egg count of each sample was evaluated using the McMaster technique. From faecal samples with $\text{EpG} \geq 20$ larval cultures were performed and the L3 were identified morphologically. The samples of four different horses showed larvae of *S. vulgaris*, while larvae of *S. edentatus* and *S. equinus* were not detectable. All horses with *S. vulgaris* came from different horse farms and had arrived there only recently. Two horses had been imported and no quarantine management is established on these farms. The faecal egg count correlated significantly with the larval count. The horses' age influences the shedding of strongylid eggs, i.e. young and older horses have significantly higher egg counts. Shipping of the samples should take place in a cool (+4 -- +8°C) and thermally constant environment because less larvae hatch out of damaged samples.

In conclusion, the coproculture is a good method for the horse practitioner to detect large strongyles, especially when performing selective treatment. Along with a monitoring routine for *S. vulgaris* a better quarantine management is highly recommended to prevent spreading and re-emergence of large strongyle infection on horse farms using selective treatment in Southern Germany.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Erstellt mit Endnote X5 (2011), unter Verwendung des modifizierten Output Style „Veterinary Parasitology“.

Bairden, K., Brown, S.R., McGoldrick, J., Parker, L.D., Talty, P.J., 2001. Efficacy of moxidectin 2 per cent gel against naturally acquired strongyle infections in horses, with particular reference to larval cyathostomes. *Vet Rec* 148, 138-141.

Bairden, K., 2006. Efficacy of moxidectin 2 per cent oral gel against cyathostomins, particularly third-stage inhibited larvae, in horses. *Vet Rec* 158, 766-768.

Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K., Pfister, K., 2010a. Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): an investigation into strongyle egg shedding consistency. *Vet Parasitol* 171, 116-122.

Becher, A.M., Nielsen, M.K., Göbel, F., Kaplan, R.M., Van Doorn, D.C.K., Pfister, K., 2010b. Befragung von Pferdebesitzern in Deutschland und Dänemark zu ihrem Vorgehen bei der Wurmbekämpfung. In: Tagung der DVG-Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten", Hannover.

Becher, A.M., Pfister, K., 2010. [The efficacy of anthelmintic drugs against horse strongyles in the area of Salzburg and preliminary results of selective anthelmintic treatment]. *Wien Klin Wochenschr* 122 Suppl 3, 71-75.

Beelitz, P., Gobel, E., Gothe, R., 1996. [Spectrum of species and incidence of endoparasites in foals and their mother mares from breeding farms with and without anthelmintic prophylaxis in upper Bavaria]. *Tierärztl Prax* 24, 48-54.

Beelitz, P., Gothe, R., 1997. [Endoparasitic fauna and incidence of species in yearling and adult horses in Upper Bavarian breeding farms with regular anthelmintic prophylaxis lasting for many years]. Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 25, 445-450.

Bello, T.R., Allen, T.M., 2009. Comparison of two fecal egg recovery techniques and larval culture for cyathostomins in horses. Am J Vet Res 70, 571-573.

Borgsteede, F.H., Boersma, J.H., Gaasenbeek, C.P., van der Burg, W.P., 1993. The reappearance of eggs in faeces of horses after treatment with ivermectin. Vet Q 15, 24-26.

Bracken, M.K., Wohlk, C.B., Petersen, S.L., Nielsen, M.K., 2012. Evaluation of conventional PCR for detection of *Strongylus vulgaris* on horse farms. Vet Parasitol 184, 387-391.

Bürger, H.J., Stoye, M., 1968. Therapogen Praxisdienst, Parasitologische Diagnostik (Teil II), Eizählung und Larvendifferenzierung. Therapogen-Werk, Zweigniederlassung der Sharp&Dohme GmbH, München.

Burkhardt, E., 1983. Zur Pathologie des *Strongylus (Delafondia) vulgaris*-Befall beim Pferd - eine Übersicht. Berl Münch Tierärztl 96, 37-43.

Campbell, W., Fisher, M., Stapley, E., Albers-Schonberg, G., Jacob, T., 1983. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. Science 221, 823-828.

Cobb, R., Boeckh, A., 2009. Moxidectin: a review of chemistry, pharmacokinetics and use in horses. Parasit Vectors 2 Suppl 2, S5.

Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J., 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. Vet Parasitol 44, 35-44.

Coles, G.C., 2002. Sustainable use of anthelmintics in grazing animals. *Veterinary Record* 151, 165-169.

Crofton, H.D., 1971. A quantitative approach to parasitism. *Parasitology* 62, 179-193.

Dietz, O., Huskamp, B., 2006. *Handbuch Pferdepraxis*. Enke, Stuttgart.

Döpfer, D., Kerssens, C.M., Meijer, Y.G.M., Boersema, J.H., Eysker, M., 2004. Shedding consistency of strongyle-type eggs in dutch boarding horses. *Vet Parasitol* 124, 249-258.

Drudge, J.H., Lyons, E.T., 1966. Control of Internal Parasites of the Horse. *J Am Vet Med Assoc* 148, 378-383.

Duncan, J.L., 1974a. Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infections in the horse. *Vet Rec* 94, 337 - 345.

Duncan, J.L., 1974b. *Strongylus vulgaris* infection in the horse. *Vet Rec* 95, 34-37.

Duncan, J.L., Love, S., 1991. Preliminary observations on an alternative strategy for the control of horse strongyles. *Equine Vet J* 23, 226-228.

Duncan, J.L., Bairden, K., Abbott, E.M., 1998. Elimination of mucosal cyathostome larvae by five daily treatments with fenbendazole. *Vet Rec* 142, 268-271.

Eckert, J., Friedhoff, K.T., Zahner, H., Deplazes, P., 2008. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. Enke, Stuttgart.

Eysker, M., Boersema, J.H., Kooyman, F.N.J., 1990. Seasonally inhibited development of cyathostomine nematodes in shetland ponies in The Netherlands. *Vet Parasitol* 36, 259-264.

Fog, P., Vigre, H., Nielsen, M.K., 2011. Strongyle egg counts in Standardbred trotters: Are they associated with race performance? *Equine Vet J* 43 Suppl 39, 89-92.

Francisco, I., Arias, M., Cortinas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Dacal, V., Suarez, J.L., Uriarte, J., Morrondo, P., Sanchez-Andrade, R., Díez-Banos, P., Paz-Silva, A., 2009a. Intrinsic Factors Influencing the Infection by Helminth Parasites in Horses under an Oceanic Climate Area (NW Spain). *J Parasitol Res* 2009.

Francisco, I., Arias, M., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Sánchez, J.A., Uriarte, J., Suárez, J.L., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R., Díez-Baños, P., Paz-Silva, A., 2009b. Silvopastoralism and autochthonous equine livestock: Analysis of the infection by endoparasites. *Vet Parasitol* 164, 357-362.

Fritzen, B., 2005. Untersuchungen zum Vorkommen von Anthelminthika-Resistenz in nordrhein-westfälischen Pferdebeständen. *Vet. med. Diss. Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.*

Fritzen, B., Rohn, K., Schnieder, T., Von Samson-Himmelstjerna, G., 2010. Endoparasite control management on horse farms – lessons from worm prevalence and questionnaire data. *Equine Vet J* 42, 79-83.

Galvani, A.P., 2003. Immunity, antigenic heterogeneity and aggregation of helminth parasites. *J Parasitol* 89, 232-241.

Gomez, H.H., Georgi, J.R., 1991. Equine helminth infections: control by selective chemotherapy. *Equine Vet J* 23, 198-200.

Hasslinger, M.-A., 1981. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Temperaturen auf Eier und Larven von Pferdestrongyliden unter Laboratoriumsbedingungen sowie das Verhalten dieser exogenen Stadien auf der Weide. Berl Münch Tierärztl 94, 1-5.

Hasslinger, M.A., Bittner, G., 1984. [Seasonal dynamics of equine strongyle larvae and its relations to the risk of infection at pasture]. Zentralbl Veterinärmed B 31, 25-31.

Herd, R.P., 1986. Epidemiology and control of equine strongylosis at Newmarket. Equine Vet J 18, 447-452.

Herd, R.P., 1993. Control strategies for ruminant and equine parasites to counter resistance, encystment, and ecotoxicity in the USA. Vet Parasitol 48, 327-336.

Hinney, B., Wirtherle, N., Kyule, M., Miethe, N., Zessin, K.-H., Clausen, P.-H., 2011a. Prevalence of helminths in horses in the state of Brandenburg, Germany. Parasitol Res 108, 1083-1091.

Hinney, B., Wirtherle, N.C., Kyule, M., Miethe, N., Zessin, K.H., Clausen, P.H., 2011b. A questionnaire survey on helminth control on horse farms in Brandenburg, Germany and the assessment of risks caused by different kinds of management. Parasitol Res 109, 1625-1635.

Kaplan, R.M., 2002. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. Vet Res 33, 491-507.

Kaplan, R.M., 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. Trends Parasitol 20, 477-481.

Klei, T.R., 1996. Workshop summary: Equine parasitology. Vet Parasitol 64, 163-166.

Klei, T.R., Chapman, M.R., 1999. Immunity in equine cyathostome infections. *Vet Parasitol* 85, 123-136.

Klei, T.R., Rehbein, S., Visser, M., Langholff, W.K., Chapman, M.R., French, D.D., Hanson, P., 2001. Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. *Vet Parasitol* 98, 315-320.

Kornaś, S., Gawor, J., Cabaret, J., Molenda, K., Skalska, M., Nowosad, B., 2009. Morphometric identification of equid cyathostome (Nematoda: Cyathostominae) infective larvae. *Vet Parasitol* 162, 290-294.

Krecek, R.C., Guthrie, A.J., Nieuwenhuizen, L., Booth, L.M., Nieuwenhuizen, L.C., 1994. A comparison between the effects of conventional and selective antiparasitic treatments on nematode parasites of horses from two management schemes. *J S Afr Vet Assoc* 65, 97 - 100.

Larsen, M., Lendal, S., Chriel, M., Olsen, S.N., Bjorn, H., 2002. Risk Factors for High Endoparasitic Burden and the Efficiency of a Single Anthelmintic Treatment of Danish Horses. *Acta Vet Scand* 43, 99-106.

Larsen, M.L., Ritz, C., Petersen, S.L., Nielsen, M.K., 2011. Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *Vet J* 188, 44-47.

Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, d.L.M., 2004. QM-Methoden-Handbuch, In: QM-Methoden-Handbuch.

Lichtenfels, J.R., Gibbons, L.M., Krecek, R.C., 2002. Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominea (Nematoda: Strongyloidea) of horses. *Vet Parasitol* 107, 337-342.

Little, D., Flowers, J.R., Hammerberg, B.H., Gardner, S.Y., 2003. Management of drug-resistant cyathostomiasis on a breeding farm in central North Carolina. *Equine Vet J* 35, 246-251.

Lloyd, S., Smith, J., Connan, R.M., Hatcher, M.A., Hedges, T.R., Humphrey, D.J., Jones, A.C., 2000. Parasite control methods used by horse owners: factors predisposing to the development of anthelmintic resistance in nematodes. *Vet Rec* 146, 487-492.

Love, S., Duncan, J.L., 1991. Could the worms have turned? *Equine Vet J* 23, 152-154.

Love, S., Murphy, D., Mellor, D., 1999. Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet Parasitol* 85, 113-121; discussion 121-112, 215-125.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Drudge, J.H., 1999. Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. *Vet Parasitol* 85, 97-112.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., 2011. Reduced activity of moxidectin and ivermectin on small strongyles in young horses on a farm (BC) in Central Kentucky in two field tests with notes on variable counts of eggs per gram of feces (EPGs). *Parasitol Res* 108, 1315-1319.

Matthews, J.B., Hodgkinson, J.E., Dowdall, S.M., Proudman, C.J., 2004. Recent developments in research into the Cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. *Vet Res* 35, 371-381.

McCraw, B.M., Slocombe, J.O.D., 1976. *Strongylus vulgaris* in the horse: a review. *Can. Vet. Jour.* 16, 150-157.

Meier, Hertzberg, 2005. Strongyliden beim Pferd. II. Vorkommen von Anthelminthika-Resistenzen in der Schweiz. Schweiz Arch Tierheilkd 147, 389-396.

Mfitilodze, M.W., Hutchinson, G.W., 1987. Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. Vet Parasitol 23, 121-133.

Molento, M., Antunes, J., Bentes, R., Coles, G., 2008. Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. Vet Rec 162, 384 - 385.

Molento, M.B., Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., 2011. Resistance to avermectin/milbemycin anthelmintics in equine cyathostomins - Current situation. Vet Parasitol.

Monahan, C.M., Chapman, M.R., Taylor, H.W., French, D.D., Klei, T.R., 1996. Comparison of moxidectin oral gel and ivermectin oral paste against a spectrum of internal parasites of ponies with special attention to encysted cyathostome larvae. Vet Parasitol 63, 225-235.

Montinaro, S., Scala, A., Battelli, G., Stancampiano, L., 2002. Epidemiologia delle infestazioni gastrointestinali del cavallo. Obiettivi Documenti Vet. 23, 35-42.

Mughini Gras, L., Usai, F., Stancampiano, L., 2011. Strongylosis in horses slaughtered in Italy for meat production: epidemiology, influence of the horse origin and evidence of parasite self-regulation. Vet Parasitol 179, 167-174.

Murphy, D., Love, S., 1997. The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. Vet Parasitol 70, 99-110.

Nielsen, M.K., Haaning, N., Olsen, S.N., 2006a. Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Vet Parasitol* 135, 333-335.

Nielsen, M.K., Monrad, J., Olsen, S.N., 2006b. Prescription-only anthelmintics—A questionnaire survey of strategies for surveillance and control of equine strongyles in Denmark. *Vet Parasitol* 135, 47-55.

Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J., Olsen, S.N., 2007. Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *Vet J* 174, 23-32.

Nielsen, M.K., Peterson, D.S., Monrad, J., Thamsborg, S.M., Olsen, S.N., Kaplan, R.M., 2008. Detection and semi-quantification of *Strongylus vulgaris* DNA in equine faeces by real-time quantitative PCR. *Int J Parasitol* 38, 443-453.

Nielsen, M.K., 2009. Restrictions of anthelmintic usage: perspectives and potential consequences. *Parasit Vectors* 2, S7.

Nielsen, M.K., Baptiste, K.E., Tolliver, S.C., Collins, S.S., Lyons, E.T., 2010. Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Vet Parasitol* 174, 77-84.

Nielsen, M.K., 2012. Sustainable equine parasite control: Perspectives and research needs. *Vet Parasitol* 185, 32-44.

Nielsen, M.K., Vidyashankar, A.N., Olsen, S.N., Monrad, J., Thamsborg, S.M., 2012. *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms—Is it reemerging? *Vet Parasitol* 189, 260-266.

Ogbourne, C.P., 1972. Observations on the free-living stages of strongylid nematodes of the horse. *Parasitology* 64, 461-477.

Ogbourne, C.P., 1975. Studies on the epidemiology of *Strongylus vulgaris* infection of the horse. *Int J Parasitol* 5, 423-426.

Peitgen, U., 1993. Vergleichende Untersuchungen zum Einfluß von Ivermectin, Pyrantelmonat und Cambendazol auf Strongylidenbefall bei Pferden unter Berücksichtigung von Behandlungsintervall und Weidekontamination. *Vet. med. Diss. Ludwig-Maximilians-Universität, München.*

Pilo, C., Altea, A., Pirino, S., Nicolussi, P., Varcasia, A., Genchi, M., Scala, A., 2012. *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900) in horses in Italy: Is it still a problem? *Vet Parasitol* 184, 161-167.

Rehbein, S., Visser, M., Winter, R., Maidl, M., 2004. Untersuchungen zum Parasitenbefall bei 400 Schlachtpferden in Ostbayern. In: *Tagung der DVG-Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten", Starnberg.*

Reinemeyer, C.R., Smith, S.A., Gabel, A.A., Herd, R.P., 1984. The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Vet Parasitol* 15, 75-83.

Reuber, K., 1999. Untersuchungen zu Anthelminthika - Resistenzen kleiner Strongyliden bei Pferden in Oberbayern. *Vet. med. Diss. Ludwig-Maximilians-Universität, München.*

Sangster, N.C., 1999. Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycins? *Vet Parasitol* 85, 189-204.

Scheuerle, M., 2012. Variabilität der McMaster - Ergebnisse und Selektive Entwurmung beim Pferd. In: *Tagung der DVG-Fachgruppe "Parasitologie und parasitäre Krankheiten", Hannover.*

Staempfli, H., 1991. A veterinary tour of Eastern Europe - the curtain is rising! *Can Vet J* 32, 467-469.

Stancampiano, L., Gras, L.M., Poglayen, G., 2010. Spatial niche competition among helminth parasites in horse's large intestine. *Vet Parasitol* 170, 88-95.

Steel, J.W., 1993. Pharmacokinetics and metabolism of avermectins in livestock. *Vet Parasitol* 48, 45-57.

Steinbach, T., Bauer, C., Sasse, H., Baumgartner, W., Rey-Moreno, C., Hermosilla, C., Damriyasa, I.M., Zahner, H., 2006. Small strongyle infection: consequences of larvicidal treatment of horses with fenbendazole and moxidectin. *Vet Parasitol* 139, 115-131.

Studzinska, M.B., Tomczuk, K., Demkowska-Kutrzepa, M., Szczepaniak, K., 2012. The Strongylidae belonging to *Strongylus* genus in horses from southeastern Poland. *Parasitol Res* 111, 1417-1421.

Traversa, D., Iorio, R., Klei, T.R., Kharchenko, V.A., Gawor, J., Otranto, D., Sparagano, O.A.E., 2007. New Method for Simultaneous Species-Specific Identification of Equine Strongyles (Nematoda, Strongylida) by Reverse Line Blot Hybridization. *J Clin Microbiol* 45, 2937-2942.

Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Milillo, P., Schurmann, S., Barnes, H., Otranto, D., Perrucci, S., di Regalbono, A., Beraldo, P., Boeckh, A., Cobb, R., 2009. Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. *Parasit Vectors* 2, S2.

Trawford, A., Burden, F., Hodgkinson, J.E., 2005. Suspected Moxidectin Resistance in Cyathostomes in two Donkey Herds in the Donkey Sanctuary, UK. In: WAAVP, Christchurch, New Zealand.

Uhlinger, C.A., 1993. Uses of fecal egg count data in equine practice. *Comp Cont Educ Pract Vet* 15, 742-748.

von Grelck, H., Hörchner, F., Wöhrl, H.E., 1977. Entwicklungsfähigkeit und Überlebensdauer von Larven der Pferdestrongyliden im Freiland. *Prakt Tierarzt* 58, 265-268.

von Samson-Himmelstjerna, G., 2006. Veterinärmedizinische Parasitologie, In: Schnieder, T. (Ed.) 6.Auflage. Parey Verlag, Stuttgart.

von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schürmann, S., Rohn, K., Schnieder, T., Epe, C., 2007. Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Vet Parasitol* 144, 74-80.

Wirtherle, N., Schnieder, T., von Samson-Himmelstjerna, G., 2004. Prevalence of benzimidazole resistance on horse farms in Germany. *Vet Rec* 154, 39-41.

Xiao, L., Herd, R.P., Majewski, G.A., 1994. Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Vet Parasitol* 53, 83-90.

Zeeuw, G., 1997. Vergleichende Untersuchungen über Effekt und Wirkungsdauer von Moxidectin, Ivermectin und Pyrantelmonat bei Pferden unter Gestütsbedingungen. *Vet. med. Diss. Ludwigs-Maximilians-Universität, München.*

IX. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Kurt Pfister, für die Überlassung dieses Themas und der Bereitstellung des Arbeitsplatzes. Herzlichen Dank für die unzähligen Korrekturen, Denkanstöße und die Unterstützung, die ich von Ihnen während der Arbeit erhalten habe.

Ein ganz herzliches Dankeschön geht an Anne Becher für ihre tatkräftige Unterstützung in sämtlichen Belangen, ob bei der Betreuung der Proben, der Auswertung der Daten, den unzähligen Stunden der statistischen Erhebungen und dem Erstellen der Graphiken. Danke für den stetigen Ideenaustausch, für die vielen Problemdiskussionen, für deine ständige Erreichbarkeit, fürs Korrigieren und Mutmachen.

Meinen großen Dank möchte ich Elisabeth Kiess und Miriam Scheuerle für Rat und Tat bei der Untersuchung der Proben aussprechen. Stets standen sie mir zur Seite und haben geholfen für jedes Problem eine Lösung zu finden. Ebenfalls hervorgehoben werden muss die Unterstützung von Ute Mauerer, die für eine allzeit gute Stimmung im Labor sorgte.

Marcus Menzel bin ich sehr dankbar für die gute Zusammenarbeit, für die Bereitstellung der Daten und der Proben sowie die häufige telefonische Hilfe und für den intensiven Austausch, vor allem in der Endphase.

Jedem Pferd und vor allem ihren Besitzern gebührt meine große Anerkennung, dass sie die Proben bereitwillig zur Verfügung gestellt haben und viele meiner Fragen gerne und auskunftsfreudig beantwortet haben.

Meinen Eltern danke ich ganz ausdrücklich für ihren unerschütterlichen Glauben an mich und die Liebe zur Natur und Tieren, die sie mir vermittelt haben. Ohne eure immense mentale und auch monetäre Unterstützung wäre diese Arbeit so nicht entstanden.

Robert, vielen Dank für die Unterstützung in der letzten Phase sowie das Korrekturlesen!

Mein lieber Roman, thank you so much für die englischen Korrekturen, die Hilfe mit Formatierungen und anderen Computerproblemen und vor allem fürs

Auffangen, Dasein und die Ruhe und Gelassenheit, die du mir gibst.

Meine lieben Mädels und Beanies, herzlichen Dank für eure Unterstützung in welcher Form auch immer und dass ich immer ein offenes Ohr bei euch gefunden habe.