

Bovine Fasciolose in bayerischen „Bio-Betrieben“: Prävalenz  
und Risikofaktoren

von Michael Schäffer



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

Bovine Fasciolose in bayerischen „Bio-Betrieben“: Prävalenz  
und Risikofaktoren

von Michael Schäffer

aus Riedlingen

München 2018



Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie der Wiederkäuer

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Gabriela Knubben-Schweizer

Mitbetreuung durch: Anna Rieger



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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Gabriela Knubben-Schweizer

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Nicolai T. Siegel

Tag der Promotion: 27.07.2018





Meinen Eltern



**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
1.	Vorkommen der Fasciolose .....	3
2.	Bovine Fasciolose .....	3
3.	Epidemiologie .....	3
4.	Diagnostische Verfahren.....	5
5.	Prävalenzdaten deutscher Studien.....	6
5.1.	KOCH (2005).....	6
5.2.	KUERPICK et al. (2013) .....	6
6.	Prävalenzstudien mit Vergleich zwischen ökologisch produzierenden und konventionellen Betrieben .....	7
6.1.	HÖGLUND et al. (2010) .....	7
6.2.	NOVOBILSKY et al. (2015) .....	7
7.	Bekannte Risikofaktoren für die Übertragung des großen Leberegels.....	7
7.1.	Tierspezifische Faktoren .....	7
7.2.	Weidespezifische Faktoren .....	8
7.3.	Management-Faktoren .....	9
7.4.	Klimatische Faktoren .....	10
8.	Fragebogenstudien zu Risikofaktoren der Übertragung diverser Helminthen.....	11
8.1.	BENNEMA et al. (2010) .....	11
8.2.	BENNEMA et al. (2011) .....	12
8.3.	SELEMETAS et al. (2015) .....	12
8.4.	NOVOBILSKY et al. (2015) .....	12
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>13</b>
1.	Prävalenzstudie .....	13
1.1.	Anzahl der zu beprobenden Betriebe .....	13
1.2.	Herkunft der Proben, Anonymisierung.....	13

---

1.3.	Auswahl der Milchviehbetriebe .....	14
1.4.	Erstellung einer Testreihe .....	16
1.5.	Transport, Lagerung und Haltbarmachung der Proben.....	18
1.6.	Auswertung per ELISA.....	19
1.7.	Statistische Auswertung.....	19
2.	Risikofaktorenstudie .....	20
2.1.	Erstellung des Fragebogens .....	20
2.2.	Teilnehmende Betriebe .....	20
2.3.	Besprechung des Fragebogens .....	20
2.4.	Versand der Probenröhrchen, Probenlagerung .....	21
2.5.	Auswertung der Tankmilch- und Kotproben .....	21
2.6.	Rückmeldung der Ergebnisse .....	22
2.7.	Statistische Auswertung der Fragebögen.....	22
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>23</b>
1.	Ergebnisse der Prävalenzstudie.....	23
1.1.	Prävalenz der ökologisch produzierenden Betriebe bayernweit .....	23
1.2.	Prävalenz der konventionell produzierenden Betriebe bayernweit .....	23
1.3.	Vergleich zwischen konventionell und ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben .....	23
1.4.	Prävalenz der ökologisch produzierenden Betriebe auf Landkreisebene .....	23
1.5.	Prävalenz der konventionell produzierenden Betriebe auf Landkreisebene .....	26
2.	Ergebnisse der Risikofaktorenstudie.....	28
2.1.	Deskriptive Statistik.....	29
2.2.	Binär-logistische Regression .....	31
2.2.1.	Modell zur Auswertung der Risikofaktoren der Literaturquellen aus Kapitel II.7. ....	31
2.2.2.	Modell zur Auswertung der Risikofaktoren der deskriptiven Statistik (Kapitel IV.2.1.).....	32

---

2.2.3.	Kombiniertes Modell der Faktoren der Literaturquellen und der deskriptiven Statistik.....	32
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>35</b>
1.	Diagnostische Verfahren.....	35
2.	Prävalenzstudie .....	36
2.1.	Fallzahlplanung.....	36
2.2.	Prävalenzen verschiedener deutscher Studien .....	37
2.3.	Prävalenzen verschiedener Betriebsarten .....	37
2.4.	Prävalenzen auf Landkreisebene.....	38
3.	Risikofaktorenstudie .....	38
3.1.	Teilnehmende Rinderbetriebe .....	38
3.2.	Der Fragebogen.....	39
3.3.	Statistische Auswertung.....	39
3.3.1.	Faktoren der univariaten Analyse .....	39
3.3.2.	Faktoren der binär-logistischen Regression.....	41
3.3.2.1.	Risikofaktoren der Literaturquellen .....	41
3.3.2.2.	Risikofaktoren der univariaten Analyse.....	42
3.3.2.3.	Risikofaktoren der kombinierten Auswertung.....	43
4.	Fazit.....	43
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>45</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>47</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>49</b>
<b>IX.</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>53</b>
<b>X.</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>57</b>



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

Ak	Antikörper
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Fa.	Firma
<i>F. hepatica</i>	<i>Fasciola hepatica</i>
k. A.	keine Angabe
NE	Nettoextinktion
ODR	Optical density ratio
p. i.	post infectionem
Pos.	Positiv
UV	Ultraviolett





## I. EINLEITUNG

Die bovine Fasciolose ist eine durch den großen Leberegel (*Fasciola hepatica*) verursachte, weltweit verbreitete, parasitäre Erkrankung, die beim Rind vorwiegend in der chronischen Form auftritt. Diese führt hauptsächlich zu Einbußen in der Milch- und Reproduktionsleistung (SCHWEIZER et al., 2005). Die Übertragung des großen Leberegels findet im Wesentlichen über die Weide oder über im Stall verfüttertes Gras statt.

In ökologisch produzierenden Rinderbetrieben ist der Weidegang besonders häufig zu finden, daher sind Tiere dieser Betriebe besonders gefährdet, sich mit diesem Endoparasiten zu infizieren (SCHLEMMER et al., 2015). Zudem ist die medikamentöse Parasitenbekämpfung u. a. aufgrund verlängerter Wartezeiten bei Tieren ökologisch geführter Betriebe begrenzt (SVENSSON et al., 2000). Im Weiteren bestehen ökologisch genutzte Weideflächen zum Teil aus naturbelassenen Gebieten, auf denen eine große Pflanzendiversität, sowie eine sehr verschiedenartige Feld- und Weidebegrenzung, anzutreffen ist (PERRUCCI et al., 2007), welche die Ansiedelung des Zwischenwirtes, der Zwergschlammschnecke *Galba truncatula*, begünstigen könnten.

Die vorliegende Studie, die Teil des Projekts `Tackling the parasitological challenges in organic ruminant farming practices (PrOPara)` (Core Organic Plus) ist, beinhaltet zwei Studienteile: Eine Prävalenzstudie sowie eine Risikofaktorenstudie zum Vorkommen von *Fasciola hepatica* in ökologisch produzierenden, vorwiegend bayerischen Rinderbetrieben.

Mit Hilfe der Prävalenzstudie soll bayernweit untersucht werden, ob ein Unterschied des Befalls mit dem großen Leberegel zwischen ökologisch produzierenden und konventionell produzierenden Rinderbetrieben vorliegt.

In der Risikofaktorenstudie soll durch einen Fragebogen ermittelt werden, ob in ökologisch produzierenden Rinderbetrieben, außer dem Weidegang, weitere Risikofaktoren für die Infektion mit dem großen Leberegel erkannt werden können. Die Identifikation von Risikofaktoren, die in „Bio-Betrieben“ die Übertragung der Parasitose besonders fördern, soll helfen, in ökologisch produzierenden

Rinderbetrieben die Bekämpfung der Fasciolose angepasster und mit möglichst geringem Einsatz von Anthelminthika durchzuführen.

## **II. LITERATURÜBERSICHT**

### **1. Vorkommen der Fasciolose**

Die Fasciolose ist eine parasitäre Erkrankung der herbivoren Tierarten Wiederkäuer und Pferd, sowie der omnivoren Spezies Schwein und Mensch, verursacht durch den Trematoden *Fasciola hepatica*, auch großer Leberegel genannt (SCHNIEDER, 2006). Dieser Parasit ist weltweit verbreitet.

Der Entwicklungszyklus von *Fasciola hepatica* schließt als Zwischenwirt die Zwergschlamm Schnecke *Galba truncatula* ein.

### **2. Bovine Fasciolose**

Beim Rind werden die akute, subakute und chronische Fasciolose unterschieden.

Die sehr selten beim Rind auftretende akute Fasciolose wird durch eine hohe Anzahl juveniler Leberegelstadien im Leberparenchym verursacht. Ebenfalls selten kommt beim Rind die subakute Form vor, welche durch eine mittelgradige Anzahl juveniler Stadien im Leberparenchym verursacht wird. Gleichzeitig liegen bei der subakuten Form bereits adulte Parasiten in den Gallengängen vor.

Die beim Rind am häufigsten auftretende chronische Fasciolose wird verursacht durch eine mäßige Anzahl adulter Leberegelstadien in den Gallengängen.

Der Leberegelbefall kann zu klinischen Symptomen wie Inappetenz sowie reduzierter Milch- und Mastleistung führen. Er kann jedoch auch asymptomatisch verlaufen (DEPLAZES et al., 2012).

### **3. Epidemiologie**

Der Entwicklungszyklus des großen Leberegels schließt als Endwirt diverse herbivore und omnivore Säugetiere, denen das Rind angehört, sowie als Zwischenwirt in Europa die Zwergschlamm Schnecke *Galba truncatula* ein (SCHNIEDER, 2006).

Die adulten Leberegel leben in den Gallengängen des Rindes und legen täglich bis

zu 20'000 Eier, die über den Kot ausgeschieden werden. In wässrigem Milieu und bei ausreichend hoher Temperatur ( $>10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) entwickeln sich diese zu Mirazidien (LUZON-PENA et al., 1995). Die Mirazidien dringen aktiv in den Zwischenwirt *Galba truncatula* ein. In der Schnecke entwickeln sich die Mirazidien über Sporozysten zu Redien und schließlich zu Zerkarien, die das Schneckengewebe durchwandern und die Zwergschlammschnecke frühestens 7 Wochen p. i. verlassen. Die Zerkarien schwimmen im Wasser und heften sich mit ihrem Bauchsaugnapf an Pflanzen fest. Hier findet die Enzystierung statt, bei der sie zu infektiösfähigen Metazerkarien werden. Ein Teil der Zerkarien bildet an der Wasseroberfläche Schwimmzysten. Diese infektiösfähigen Stadien können nun vom Endwirt Rind durch das Fressen metazerkarien-besetzter Pflanzen bzw. über infiziertes Trinkwasser aufgenommen werden. Im Duodenum schlüpfen die Jungegel und saugen sich an der Dünndarmmukosa fest. Nach Eindringen und Durchwandern der Darmwand gelangen diese über die Peritonealhöhle schließlich zur Leber, deren Gewebe sie für 6-8 Wochen besiedeln. Letztlich dringen diese in die Gallengänge ein, erlangen ihre Geschlechtsreife, was zur erneuten Eiablage führt (DEPLAZES et al., 2012; SCHNIEDER, 2006).

Die Lebensdauer des großen Leberegels im Rind beträgt bis zu 26 Monate (ROSS, 1968). Da das Rind keinen vollständigen Immunschutz aufbaut, sind Reinfektionen möglich (KNUBBEN-SCHWEIZER et al., 2011).

Dieser Infektionsweg zeigt auf, wie stark die Entwicklung des großen Leberegels an das Vorhandensein feuchter Umweltbedingungen geknüpft ist. Die Zwergschlammschnecke *Galba truncatula* ist als Zwischenwirt an Wasserstellen adaptiert (DEPLAZES et al., 2012; SCHNIEDER, 2006). Ebenso benötigen die freilebenden Parasitenstadien (Mirazidien und Zerkarien) eine feuchte Umgebung, um den Zwischenwirt zu finden bzw. sich zu enzystieren und aktiv Pflanzen aufzusuchen, an die sie sich mittels Bauchsaugnapf anheften können.

Neben der Feuchtigkeit ist auch eine Temperatur von über  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  eine zwingende Voraussetzung für die Übertragung des großen Leberegels. So entwickeln sich die im Kot ausgeschiedenen Eier nur über  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  zu Mirazidien und für die Fortpflanzung der Zwergschlammschnecke ist ein Temperaturbereich zwischen  $10$  und  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  optimal (LUZON-PENA et al., 1995, KENDALL and McCULLOUGH, 1951).

Für deutsche Wetterverhältnisse bedeutet dies, dass der vollständige Zyklus nur bei milden Temperaturverhältnissen zwischen Frühjahr und Herbst vollständig ablaufen kann und in der Regel durch die kalten Wintermonate unterbrochen wird (DEPLAZES et al., 2012; SCHNIEDER, 2006).

Für die Beschreibung der epidemiologischen Faktoren wird auf das Kapitel II.7 verwiesen.

#### **4. Diagnostische Verfahren**

Während der Patenzphase ist als koproscopische Methode das Sedimentationsverfahren geeignet. Bei der koproscopischen Untersuchung ist zu beachten, dass die Leberegeleiausscheidung im Rinderkot sehr stark schwankt. Bei einer einmaligen Untersuchung von 10 g Kot ist mit einer Sensitivität von 69,0 % zu rechnen. Wird diese Kotprobe zweimalig aufeinanderfolgend untersucht, kann die Sensitivität auf 86,1 % erhöht werden. Sie kann auf 89,6 % gesteigert werden, wenn aus einer Kotprobe, 3 mal 10 g Kot untersucht werden (RAPSCH et al., 2006).

Ak-ELISA sind sowohl zur Untersuchung von Blutserum als auch von Einzelgemelksproben und Tankmilchproben geeignet. Der Ak-ELISA Fasciolosis Verification Test der Firma IDEXX weist bei der Untersuchung von Milchproben eine Sensitivität von 88 % und eine Spezifität von 84 % auf. Es ist hierbei zu berücksichtigen, dass nach erfolgreicher anthelminthischer Leberegeltherapie die Antikörper über bis zu 8 Monate persistieren können (DEPLAZES et al., 2012).

Im Blut kann sich eine Erhöhung der Leberenzyme, eine Eosinophilie, Anämie sowie Hypalbuminämie manifestieren, sodass diese Parameter zur Diagnostik herangezogen werden können (DEPLAZES et al., 2012).

Bei der Schlachttieruntersuchung können durch Anschneiden der Leber bindegewebig verdickte Gallengänge, die zusätzlich verkalkt sein können, sowie aus dem Gallengangslumen auspressbare Leberegelstadien diagnostiziert werden.

## 5. Prävalenzdaten deutscher Studien

### 5.1. KOCH (2005)

KOCH (2005) untersuchte im Zeitraum von 2003 bis 2005 bayernweit 5278 Tankmilchproben mittels ELISA auf das Vorhandensein von Antikörper gegen *Fasciola hepatica*.

Sie fasste alle schwach positiven, positiven und stark positiven Proben als `Positiv-Proben` zusammen. In 32,42 % der untersuchten bayerischen Betriebe wurden *Fasciola-hepatica*-Antikörper in der Tankmilch gefunden. Die Rinderbetriebe im Gebiet der bayerischen Alpen zeigten serologisch eine durchschnittliche Prävalenz von 64,5 %.

Es wurde in dieser Studie nicht zwischen konventionellen und ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben unterschieden. Ziel war die Prävalenzbestimmung der Fasciolose der Milchviehbetriebe in Gesamtbayern, sowie die Verteilung auf die einzelnen Regierungsbezirke.

### 5.2. KUERPICK et al. (2013)

KUERPICK et al. (2013) sammelten im November 2008 20'749 Tankmilchproben deutschlandweit zur Untersuchung auf Antikörper gegen *Fasciola hepatica*. Dies entsprach der Untersuchung von 20,9 % aller deutschen Milchviehherden.

Die Proben wurden mit den jeweiligen Postleitzahlen markiert, um die geographische Zuordnung zu gewährleisten. Somit war es möglich, die Prävalenzdaten jedes einzelnen Bundeslandes zu ermitteln.

Da einige Proben aus der Studie ausgeschlossen werden mussten, wurden letztlich 19'947 Tankmilchproben auf Fasciolose-Antikörper mittels eines nicht-kommerziellen (ES) ELISAs untersucht (KUERPICK et al., 2012).

Gemäß BENNEMA et al. (2009) sind in Rinderherden mit einem ODR = 0,8 sowie ODR > 0,8 signifikante Produktionsverluste durch Fasciolose zu erwarten. Dementsprechend wurden Sammeltankmilchproben mit ODR = 0,8 und ODR > 0,8 als Fasciolose-positive Betriebe gewertet.

Das Ergebnis der Untersuchungen ergab eine deutschlandweite Prävalenz für *Fasciola hepatica* von 23,6 %. Für Bayern wurde mittels Untersuchung von 877

Sammeltankmilchproben eine Herdenprävalenz von 17,7 % ermittelt.

## **6. Prävalenzstudien mit Vergleich zwischen ökologisch produzierenden und konventionellen Betrieben**

### **6.1. HÖGLUND et al. (2010)**

HÖGLUND et al. (2010) untersuchten Tankmilchproben von 105 ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben sowie 105 konventionell produzierenden Rinderbetrieben in Schweden unter anderem zur Ermittlung der Prävalenz des großen Leberegels. Die untersuchten Betriebe waren Weidebetriebe. Die Seroprävalenz wurde mittels ELISA ermittelt. 7,6 % der ökologisch produzierenden Rinderbetriebe und 6,7 % der konventionell produzierenden Milchviehbetriebe wiesen ein positives Ergebnis auf. Der Unterschied der Prävalenz war statistisch nicht signifikant. Die positiven Herden waren hauptsächlich entlang der Küstenlinie oder in der Nähe großer Seen angesiedelt.

### **6.2. NOVOBILSKY et al. (2015)**

NOVOBILSKY et al. (2015) untersuchten in Schweden im Jahr 2012 insgesamt 426 Tankmilchproben mittels SVANOVIR® *F. hepatica*-Ab ELISA test. Die durchschnittliche Seroprävalenz betrug 25 %, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen ökologisch und konventionell produzierenden Betrieben erkennbar war. Die Kühe und Färsen aller Betriebe hatten während der Weidesaison Zugang zur Weide, so wie es in Schweden vorgeschrieben war. Der Einsatz von Medikamenten gegen den Erreger *Fasciola hepatica* war sowohl für ökologisch produzierende als auch für konventionell produzierende Milchviehbetriebe zum Studienzeitpunkt stark eingeschränkt.

## **7. Bekannte Risikofaktoren für die Übertragung des großen Leberegels**

### **7.1. Tierspezifische Faktoren**

PERRUCCI et al. (2007) stellten bei verschiedenen Rinderrassen unterschiedlich

hohe Prävalenzen fest. Die hauptsächlich befallene Rinderrasse war `Pisana`, wobei diese in den ersten beiden Jahren der Studie die einzige durch *F. hepatica* befallene Rasse war. Dies wurde in Zusammenhang gebracht mit der Tatsache, dass die von der Rasse `Pisana` genutzten Weiden aufgrund fehlender Drainagegräben häufiger überschwemmt waren sowie vermehrt Wasseransammlungen auf den Weiden vorhanden waren.

Es zeigte sich eine signifikante Verbindung zwischen dem Infektionsstatus von Rinderbetrieben und der Anwesenheit anderer möglicher Wirte (Pferd, Schaf, Ziege) auf derselben Weide (MARTINS et al., 2014). Der Anteil der positiv-getesteten Rinder war hier sieben Mal so hoch wie in Betrieben mit reinen Rinderherden ohne Anwesenheit anderer Tierarten (MARTINS et al., 2014). Ein bedeutender Endwirt scheint aufgrund der hohen Eiausscheidungsrate das Schaf zu sein, mit einer Ausscheidung von einer halben Million Eiern im Kot pro Tag bei einer milden, subklinischen Infektion, sowie einer Ausscheidung von 3 Millionen Eiern pro Tag bei moderater Infektion (BORAY and HAPPICH, 1969).

## 7.2. Weidespezifische Faktoren

Der Boden-pH-Wert wurde als wichtiger Einflussfaktor auf die Leberegelentwicklung angesehen. So soll ein neutraler pH-Wert förderlich für die frei-lebenden Stadien von *Fasciola hepatica* sein (McCANN et al., 2010; MALONE, 2005).

Hänge sowie Steigungen des Terrains wurden als negative Risikofaktoren angesehen. Begründet wurde dies durch den hohen Drainageeffekt des Bodengefälles. Ebenfalls beeinflusste die Hanglage die Vegetation und den Bodentyp (McCANN et al., 2010). Im Gegensatz dazu fiel BENNEMA et al. (2011) auf, dass Hänge sowie Steigungen zu erhöhtem Infektionsrisiko führten. Dies könnte laut Autoren daher rühren, dass sich in Folge von Niederschlag Bäche und schließlich Wasseransammlungen in tieferen Höhenlagen in Form von Weihern und Seen bilden (BENNEMA et al., 2011).

Die geographische Höhenlage wies einen negativen Effekt auf den serologischen Status der Rinderbetriebe auf (KUEPICK et al., 2013).

Als positiver Prädiktor für Fasciolose wurde ein hoher Feinstsandanteil des Bodens ausgemacht. Je feiner der Bodenuntergrund, desto schlechter ist die Drainagewirkung (McCANN et al., 2010). Auch BENNEMA et al. (2011) sowie



CHARLIER et al. (2011) erkannten, dass Böden mit niedrigem Drainageeffekt ein höheres Infektionsrisiko bergen. So wiesen z. B. Lehm-Böden ein höheres Infektionsrisiko, unter anderem aufgrund des geringeren Drainageeffektes, auf (CHARLIER et al., 2011).

Bei der Analyse der Bodenmineralien zeigte Eisen einen negativen Effekt, Phosphor dagegen einen positiven Effekt auf die Fasciolose. Diese Bodenmineralien könnten Einfluss auf die Schneckenbiologie haben (McCANN et al., 2010).

Stehende Gewässer erhöhten das Fascioloserisiko in statistisch signifikanter Weise (KUEPICK et al., 2013).

### **7.3. Management-Faktoren**

Das Mähen der Weiden führte gemäß BENNEMA et al. (2011) zu einem reduzierten Infektionsrisiko für die weidenden Kühe. Begründet wurde dies dadurch, dass das Mähen im Frühjahr vor Weideaustrieb zu einer Reduktion der Leberegeleier sowie der Mirazidien, Metazerkarien und der Zwergschlammschnecken auf der Weide führte. Ferner ermöglichte es das bessere Eindringen von UV-reichem Sonnenlicht in tiefere Vegetationsschichten bis in Bodennähe, und somit auf freilebende Parasitenstadien, was zu deren vermehrtem Absterben geführt haben könnte, so wie dies bei gastrointestinalen Nematoden in der Studie von VAN DIJK et al. (2009) nachgewiesen wurde.

Je höher der Anteil des Weidegrases an der Gesamtnahrungsaufnahme war, desto größer erwies sich das Infektionsrisiko für Fasciolose (BENNEMA et al., 2011). Dies legte den Zusammenhang mit einer damit vergesellschafteten vermehrten Metazerkarienexposition nahe (BENNEMA et al., 2011).

Der Grund, weswegen eine längere Weidesaison ein höheres Infektionsrisiko ergab, lag laut BENNEMA et al. (2011) darin, dass die Anzahl der freien Leberegelstadien im Laufe der Saison auf der Weide zunahm. Der höchste Infektionsdruck sei im Herbst zu erwarten (BENNEMA et al., 2011). Dies beobachteten auch NOVOBILSKY et al. (2015) an der saisonalen Weidezeit der Färsen, jedoch nicht bei den Kühen. Auch CHARLIER et al. (2011) erkannten, dass ein später Weideaustrieb erst ab Anfang Mai das Fasciolose-Risiko senkte.

Von CHARLIER et al. (2011) wurde unter anderem die Art der Tränkestellen

untersucht. Hier stellten Bäche, Teiche und Pumpen ein höheres Expositionsrisiko dar, wohingegen Nippeltränken und offene Kübeltränken ein niedrigeres beinhalteten.

Laut CHARLIER et al. (2011) ergab eine Besatzdichte zwischen 5-10 Tieren pro Hektar Weide ein niedrigeres Expositionslevel im Gegensatz zu Besatzdichten von unter 5 sowie über 10 Tieren pro Hektar. KUERPICK et al. (2013) erkannten den Faktor Rinderdichte als bedeutenden Risikofaktor.

#### **7.4. Klimatische Faktoren**

Niederschlag hatte einen fördernden Einfluss auf die Fasciolose-Prävalenz, wobei die Beobachtung des stetigen Niederschlags über eine Studiendauer von 5 Jahren bedeutender war als die eines Ein-Jahres-Zeitraums (McCANN et al., 2010). BENNEMA et al. (2011) berichteten, dass der Faktor Niederschlag in negativer Korrelation zum Auftreten wirtschaftlich bedeutender Leberegelinfektionen steht. Die Publikation von KUERPICK et al. (2013) beschreibt, dass bzgl. des Parameters Niederschlag in der statistischen Analyse der Einzelquartale lediglich im 2. Quartal (April bis Juni) eine positive Korrelation zum ELISA-Ergebnis bestand, während in der kombinierten Analyse aller Quartale das 3. und 4. Quartal (Juli bis Dezember) positiv zum ELISA-Ergebnis korrelierten.

McCANN et al. (2010) erachteten die Temperatur als wichtigen Risikofaktor, da sie Einfluss auf die frei-lebenden Leberegelstadien und den Zwischenwirt *Galba truncatula* ausübte. In der Studie von KUERPICK et al. (2013) wurde der Parameter Temperatur zuerst pro Quartal analysiert, wobei nur das 4. Quartal (Oktober bis Dezember) eine positive Korrelation zum ELISA-Ergebnis aufzeigte, dagegen alle anderen Quartale negativ korrelierten. Anschließend wurden beim Faktor Temperatur alle Quartale zusammen analysiert. Dabei ergab sich, dass das 1. Quartal (Januar bis März) und das 4. Quartal positiv zum ELISA-Ergebnis korrelierten (KUERPICK et al., 2013).

## **8. Fragebogenstudien zu Risikofaktoren der Übertragung diverser Helminthen**

### **8.1. BENNEMA et al. (2010)**

BENNEMA et al. führten 2010 eine Fragebogenstudie zur Epidemiologie und zu Risikofaktoren zur Übertragung des Nematoden *Ostertagia ostertagi* in Milchviehherden durch.

Hierfür wurden Tankmilchproben von Milchviehherden aus Belgien, dem Vereinigten Königreich, Irland, Deutschland sowie Schweden per ELISA untersucht. Durch einen Fragebogen, der lediglich geschlossene Fragen beinhaltete, wurden Informationen zur Herdengröße, Weidemanagementfaktoren sowie zu anthelminthischen Therapien gesammelt. Dieser wurde den beteiligten Rinderbetrieben per E-Mail zugesandt. Ausgewertet wurde der Fragebogen durch Spearman-Korrelation, Kreuztabellen und Chi-Quadrat-Test, wobei ein Signifikanzniveau von  $p = 0,05$  festgelegt wurde.

Als Risikofaktoren mit signifikanter positiver Assoziation zum ELISA-Ergebnis erwiesen sich in allen teilnehmenden Ländern das Ende der Weidesaison (je später, desto höhere ODR) sowie die tägliche Weidedauer (je länger, desto höhere ODR). Negative statistische Korrelation zum ELISA-Ergebnis ergaben das Mähen der Weiden (je häufiger, desto niedrigere ODR), die Besatzdichte (je höher, desto niedrigere ODR) und präventive anthelminthische Therapien.

Anhand der belgischen Fragebögen ließen sich als zusätzliche Risikofaktoren eine kleine Herdengröße sowie gemischte Milch-Fleisch-Rinderherden und der Zeitpunkt des Weideaustriebs erkennen.

Durch zusätzliche Analyseverfahren konnten noch weitere statistische Signifikanzen dargestellt werden. Dazu gehörten die tägliche Weidedauer, das Ende der Weidesaison, das Mähen der Weiden sowie der Grasanteil der Futtermischung sowohl der Kühe als auch der Färsen.

In der multivariaten Regression ergaben sich als wichtigste Faktoren die tägliche Weidedauer der Kühe, die anthelminthische Therapie, das Mähen der Kuhweide, das Ende der Weidesaison der Kühe sowie der Beginn der Weidesaison der Färsen.

**8.2. BENNEMA et al. (2011)**

BENNEMA et al. (2011) führten eine Fragebogenstudie zum Thema Fasciolose in Belgien durch.

Hierin wurden die Risikofaktoren in Klima-, Umwelt- und Managementfaktoren unterteilt. In 3 aufeinanderfolgenden Jahren wurden Tankmilchproben per ELISA untersucht, um die Beziehung zwischen diesen Risikofaktoren zu erkunden. Teilnehmende Landwirte wurden vom Personal der `milk production recording organisation` mithilfe des standardisierten Fragebogens befragt.

**8.3. SELEMETAS et al. (2015)**

SELEMETAS et al. (2015) untersuchten in Irland Milchviehherden auf ihren serologischen Status für *Fasciola hepatica* und kombinierten dies mit einer Fragebogenstudie. Der Fragebogen wurde in die Abschnitte Betriebsstruktur, Weidemanagement sowie anthelminthische Therapie unterteilt. Der Fragebogen, der aus 44 sowohl offenen als auch geschlossenen Fragen bestand, wurde zusammen mit dem Material zur Entnahme der Tankmilchproben den Landwirten zugesandt.

**8.4. NOVOBILSKY et al. (2015)**

NOVOBILSKY et al. (2015) führten eine Fragebogenstudie in Schweden durch. Es wurden sowohl ökologisch gehaltene als auch konventionelle Rinderherden in die Studie miteinbezogen. Allen Kühen und Färsen der teilnehmenden Betriebe wurde für mehrere Monate während der Weidesaison Weidegang angeboten, wie es in Schweden verlangt wurde. Mit Hilfe eines Fragebogens wurden sowohl Managementfaktoren als auch Leberegel-Schlachtbefunde der teilnehmenden Betriebe erfasst. Tankmilchproben dieser Betriebe wurden per ELISA untersucht. Der Fragebogen enthielt sowohl Multiple-choice-Fragen als auch offene Fragen.

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

Diese Studie ist Teil des Projekts PrOPara von Core Organic Plus. In das Projekt sind neben Deutschland auch Dänemark, Frankreich, Litauen, Schweden, die Schweiz sowie die Niederlande involviert.

#### **1. Prävalenzstudie**

##### **1.1. Anzahl der zu beprobenden Betriebe**

Der statistischen Fallzahlplanung wurden die Prävalenzdaten aus den deutschen Studien KOCH (2005) sowie KUERPICK et al. (2013) zugrunde gelegt. In beiden Studien wurde keine Unterscheidung zwischen ökologisch wirtschaftenden und konventionellen Betrieben vorgenommen. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p = 0,05$  festgesetzt. Es wurde in der vorliegenden Studie angenommen, dass die Prävalenz in den ökologisch wirtschaftenden Betrieben, im Vergleich zu den konventionellen Betrieben, höher liegt. Zur Bestimmung der Stichprobengröße wurde der Chi-Quadrat-Test auf Unabhängigkeit zweier dichotomer Merkmale ohne Stetigkeitskorrektur für kleine Stichproben angewandt. Zur Ermittlung der notwendigen Betriebsanzahl wurde ein erwarteter Mindestunterschied der Prävalenz der konventionell produzierenden zu den ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben von 10 % zugrunde gelegt. Durch statistische Fallzahlplanung wurde hierbei ermittelt, dass bei einem Verhältnis der konventionellen zu den ökologisch produzierenden Betrieben von 1:1 je 366 Betriebe für die Probenahme notwendig sind.

##### **1.2. Herkunft der Proben, Anonymisierung**

Die Tankmilchproben der Milchviehbetriebe wurden vom Milchprüfing Bayern e.V. bezogen. Sie wurden, nach Beendigung deren Untersuchungen durch den Milchprüfing Bayern e.V., in gekühlter Form für unsere Studie bereitgestellt.

Diese wurden in anonymisierter Form an uns weitergeleitet, wobei für jede Probe jeweils die Zuordnung zum Landkreis und zur Betriebsart (ökologisch/konventionell) möglich war.

Diese Probenziehung fand vom 01.10.2015 bis zum 20.10.2015 statt.

### **1.3. Auswahl der Milchviehbetriebe**

Der Milchprüfing Bayern e.V. erstellte im Jahr 2015 in Kooperation mit dem LKV Bayern eine Datei, in der alle 1170 derzeit bekannten bayerischen ökologisch produzierenden Milchviehbetriebe gelistet waren. Diese diente als Ausgangspunkt für die Auswahl der Probenziehung. Da die Probenauswertung auf Landkreisebene stattfinden sollte, wurden diese 1170 Betriebe ihren Landkreisen zugeordnet. Bayernweit gab es laut dieser Datei 69 Landkreise/kreisfreie Städte, in denen ökologisch produzierende Milchviehbetriebe angesiedelt waren (Tabelle 1). Aus Datenschutzgründen wurden nur diejenigen Landkreise in die Probenziehung einbezogen, in denen mindestens drei ökologisch produzierende Milchviehbetriebe Tankmilchproben an den Milchprüfing Bayern e.V. ablieferten. Somit blieben 52 Landkreise/kreisfreie Städte, die für die Probenziehung dieser Studie relevant waren. Diese können der Tabelle 1 entnommen werden.

Die Gesamtstichprobenzahl von 366 Stichproben (ökologisch produzierende Milchviehbetriebe) wurde verhältnismäßig anhand der Betriebsanzahl je Landkreis auf die einzelnen Landkreise verteilt (Tabelle 1).

Diese Stichprobenzahlen pro Landkreis wurden auf die konventionell produzierenden Milchviehbetriebe übertragen, sodass je Landkreis dieselbe Anzahl an konventionellen wie an ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben getestet wurde.

Durch den Milchprüfing Bayern e.V. wurden die Milchviehbetriebe pro Landkreis/kreisfreier Stadt per Zufallszahlengenerator ausgewählt. Für die Generierung der Zufallszahlen wurde die dafür vorgesehene Standard-Programmfunktion der Oracle-Datenbank (`dbms_random.value()`) benutzt.

Tabelle 1: Anzahl Tankmilchproben je Landkreis, die auf *Fasciola hepatica* Antikörper untersucht wurden, sowie Betriebszahlen auf Landkreisebene

Landkreis	Probenzahl konventionelle Betriebe je Landkreis	Probenzahl ökologische Betriebe je Landkreis	Gesamtzahl Milchviehbetriebe je Landkreis <sup>1</sup>	Gesamtzahl ökologische Betriebe je Landkreis <sup>1,2</sup>
Altötting	4	4	308	6
Berchtesgadener Land	11	11	417	38
Bad Tölz/Wolfratshausen	14	14	496	55
Dachau	0	0	184	2
Ebersberg	6	6	288	15
Eichstätt	3	3	195	4
Erding	5	5	457	10
Freising	3	3	163	4
Garmisch-Partenkirchen	6	6	180	19
Landsberg/Lech	7	7	303	23
Miesbach	25	25	485	106
Mühldorf	5	5	585	13
München	4	4	64	7
Neuburg-Schrobenhausen	3	3	171	3
Pfaffenhofen-Ilm	3	3	137	4
Rosenheim	24	24	1228	100
Starnberg	5	5	94	12
Traunstein	23	23	968	98
Weilheim/Schongau	16	16	714	65
Deggendorf	0	0	182	2
Freyung-Grafenau	3	3	280	5
Kelheim	0	0	114	1
Landshut	3	3	353	5
Passau	5	5	630	11
Regen	3	3	321	4
Rottal/Inn	4	4	721	6
Straubing-Bogen	0	0	256	3
Dingolfing-Landau	0	0	105	2
Amberg	0	0	k. A.	1
Amberg-Sulzbach	5	5	332	10
Cham	4	4	617	9
Neumarkt/Opf.	5	5	363	11
Neustadt/Waldnaab	4	4	431	6
Regensburg	3	3	219	4

<sup>1</sup> Angaben gemäß Information des Milchprüfing Bayern sowie LKV Bayern, Stand Juli 2015.

<sup>2</sup> Nicht alle der gelisteten Betriebe liefern Milch an Molkereien ab.

Schwandorf	4	4	413	7
Tirschenreuth	4	4	341	9
Bamberg	3	3	178	4
Bayreuth	4	4	395	7
Coburg	3	3	175	5
Hof	4	4	331	7
Kronach	3	3	88	3
Kulmbach	3	3	148	5
Lichtenfels	0	0	99	1
Wunsiedel/Fichtelgebirge	3	3	173	5
Ansbach	6	6	741	17
Erlangen-Höchstadt	3	3	104	4
Fürth	0	0	113	1
Nürnberger Land	0	0	152	4
Neustadt-Bad Windsheim	4	4	394	7
Roth	4	4	267	6
Weißenburg-Gunzenhausen	0	0	322	2
Bad Kissingen	4	4	89	7
Rhön-Grabfeld	0	0	47	1
Haßberge	3	3	109	3
Kitzingen	0	0	134	2
Main-Spessart	0	0	29	1
Schweinfurt	0	0	64	2
Kaufbeuren	0	0	k. A.	2
Kempten	4	4	k. A.	7
Aichach-Friedberg	3	3	207	3
Augsburg	5	5	329	10
Dillingen-Donau	0	0	201	2
Günzburg	5	5	243	12
Neu-Ulm	0	0	147	2
Lindau-Bodensee	10	10	330	38
Ostallgäu	29	29	1355	123
Unterallgäu	16	16	1121	62
Donau-Ries	3	3	298	5
Oberallgäu	30	30	1070	130

#### 1.4. Erstellung einer Testreihe

Der in dieser Studie verwendete ELISA Fasciolosis Verification Test der Firma IDEXX ist für native Milchproben zugelassen. Die für diese Studie vom Milchprüfing Bayern e.V. bezogenen Milchproben waren mit Zusatzstoffen versetzt, um die Haltbarkeit zu gewährleisten. Es gab zwei verschiedene Arten der



Vorbelegung der Probenröhrchen:

Probenröhrchen mit `blauer Vorbelegung` enthielten die Stoffe Natriumchlorid, Patentblau VF sowie demineralisiertes Wasser.

Probenröhrchen mit `oranger Vorbelegung` enthielten die Stoffe Chloramphenicol, Ethanol 96 %ig, Natriumazid, Citronensäure TriNatrium Salz Dihydrat 99 %, E 110 ERKA Typ S 2020 gelb-orange sowie demineralisiertes Wasser.

Zunächst musste der Frage der Beeinflussbarkeit des ELISA-Ergebnisses durch die vom MPR Bayern zugegebenen Zusatzstoffe nachgegangen werden. Dazu wurde sowohl mit dem Hersteller des ELISA Kontakt aufgenommen als auch eine Testreihe durchgeführt.

Durch ein Telefonat mit der IDEXX-Serviceabteilung konnte abgeklärt werden, dass in diesem Kontext das Natriumazid eine bedeutende Komponente darstellt. Es kann ab einer Konzentration von  $> 0,5$  % das ELISA-Ergebnis beeinflussen. Ein Teil der restlichen Zusatzstoffe der Milchprobenröhrchen des MPR Bayern könnten laut IDEXX-Serviceabteilung bei einer Konzentrationen  $> 1$  % die ELISA-Reaktion beeinflussen.

Laut Information durch den MPR Bayern lag die Konzentration an Natriumazid bei korrekt befüllten Milchprobenröhrchen deutlich unter 0,5 %.

Zur abschließenden Bewertung einer möglichen Beeinflussung des ELISA-Ergebnisses durch die Zusatzstoffe der Milchprobenröhrchen wurde am 16.09.2015 eine Testreihe mit 10 Einzelgemelksproben eines Milchviehbetriebs aus 83607 Holzkirchen angelegt, wobei jede Milchprobe sowohl in nativer Form als auch in Kombination mit den Zusatzstoffen im ELISA getestet wurde.

Anhand der ELISA-Ergebnisse konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den nativen und den mit Zusatzstoffen versetzten Milchproben erkannt werden (Tabelle 2). Somit wurde davon ausgegangen, dass die Zusatzstoffe in den Milchprobenröhrchen des MPR Bayern keinen signifikanten Einfluss auf das ELISA-Ergebnis hatten.

Tabelle 2: Ergebnisse der Testreihe von 10 Milchproben. Vergleich der Verhältnisse der Nettoextinktionen (NE; Optische Dichte bei 450 nm) der einzelnen Milchproben ohne bzw. mit Zusatzstoffe sowie deren Befundung (Proben 2, 3, 5, 9, 10 mit blauer Vorbelegung<sup>1</sup>, Proben 1, 4, 6, 7, 8 mit oranger Vorbelegung<sup>2</sup>)

Probennummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
NEp/NEpk (%) <sup>3</sup> ohne Zusatzstoffe [A]	5,3	141	48	332	59	46	13	82	138	13
NEp/NEpk (%) <sup>3</sup> mit Zusatzstoffen [B]	9,2	141	50	299	48	33	-4	81	133	13
Differenz [A]-[B]	-3,9	0	-2	33	11	13	17	1	5	0
Befundung	Negativ	3-fach Pos.	1-fach Pos.	3-fach Pos.	1-fach Pos.	1-fach Pos.	Negativ	3-fach Pos.	3-fach Pos.	Negativ

Befundungstabelle	
Befundung	NEp/NEpk (%) <sup>3</sup>
Negativ	bis 30 %
1-fach Positiv	> 30 - 60 %
2-fach Positiv	> 60 - 80 %
3-fach Positiv	> 80 %

<sup>1</sup>Natriumchlorid, Patentblau VF und demineralisiertes Wasser

<sup>2</sup>Chloramphenicol, Ethanol 96 %ig, Natriumazid, Citronensäure TriNatrium Salz Dihydrat 99 %, E 110, ERKA Typ S 2020 gelb-orange und demineralisiertes Wasser

<sup>3</sup>NEp/NEpk (%) entspricht der Nettoextinktion der Probe in Beziehung zur Nettoextinktion der Kontrolle

### 1.5. Transport, Lagerung und Haltbarmachung der Proben

Die Tankmilchproben wurden beim Milchprüfing Bayern e.V. im Kühlraum zur Abholung bereitgestellt.

Diese wurden im Zeitraum von 01.10.2015 bis 20.10.2015 täglich abgeholt und direkt zum Labor der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und

Bestandsbetreuung der LMU München in Oberschleißheim transportiert.

Die Tankmilchproben wurden hier bei 10 °C mit 3000g für 5 min. zentrifugiert, sodass anschließend der Magermilchanteil entnommen werden konnte. Es wurde von jeder Probe je ein Milliliter Magermilch als Hauptprobe in ein Eppendorf Reaktionsgefäß sowie ein Milliliter als Rückstellprobe in ein Micronic Röhrchen pipettiert. Nach Beschriftung der befüllten Gefäße wurden diese bei -25 °C bis zur Auswertung per ELISA gelagert.

### **1.6. Auswertung per ELISA**

Die Auswertung der Proben per ELISA erfolgte von 12.10.2015 bis 20.01.2016 .

Zur Auswertung der Tankmilchproben wurde der Ak-ELISA Fasciolosis Verification Test der Firma IDEXX verwendet.

Vor dem Einsetzen der Proben in den ELISA wurden die eingefrorenen Magermilchproben im Wasserbad bei 37 °C homogenisiert. Der ELISA wurde nach Herstellerangaben der Firma IDEXX durchgeführt.

Die optische Dichte der Proben wurde bei 450 nm durch den Mikroplattenreader CLARIOstar der Firma BMG LABTECH gemessen.

Die Ak-Level der Milchproben wurden in 4 Kategorien eingeteilt:

- Kategorie 1: Nicht oder sehr schwach infiziert (ODR bis 30 %)
- Kategorie 2: Schwach infiziert (ODR > 30 % - 60 %)
- Kategorie 3: Infiziert (ODR > 60 % - 80 %)
- Kategorie 4: Stark infiziert (ODR > 80 %)

### **1.7. Statistische Auswertung**

Zur Berechnung der Prävalenz wurden die Kategorien `Schwach infiziert`, `Infiziert` sowie `Stark infiziert` als Fasciolose-positive Betriebe zusammengefasst. Die Betriebe der Kategorie 1 (`Nicht oder sehr schwach infiziert`) wurden als Fasciolose-negative Betriebe gehandhabt. Die Prävalenz wurde sowohl für die ökologisch wirtschaftenden Betriebe als auch für die konventionellen Betriebe separat berechnet.

Für den statistischen Vergleich der Prävalenz der ökologisch wirtschaftenden Betriebe mit der Prävalenz der konventionellen Betriebe wurde der Chi-Quadrat-

Test angewandt. Es wurde ein Signifikanzniveau von  $p = 0,05$  festgelegt.

## **2. Risikofaktorenstudie**

### **2.1. Erstellung des Fragebogens**

Der Fragebogen bestand aus einem Allgemeinen Teil und einem Speziellen Teil.

Der Allgemeine Fragebogenteil wurde vom Forschungsinstitut für biologischen Landbau Frick CH (FiBL) erstellt.

Der Spezielle Fragebogenteil wurde vom Doktoranden selbst erstellt, wobei das Hauptaugenmerk auf Management- sowie Weidefaktoren gelegt wurde.

Der Fragebogen bestand aus 37 Fragen (Anhang 1).

### **2.2. Teilnehmende Betriebe**

Rinderbetriebe sowohl aus Bayern als auch aus Baden-Württemberg wurden in diesen Studienteil aufgenommen. Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war Weidegang aller Tiere oder von Tiergruppen.

Flyer und Veröffentlichungen des Projektvorhabens wurden dazu verwendet, Rinderbetriebe auf diese Studie aufmerksam zu machen. Dies erfolgte über verschiedene Plattformen. Dazu zählten die Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), der Bayerische Bauernverband, Vertreter ökologischer Verbände, das Rote Heft des bundesverbandes praktizierender tierärzte e.v. (bpt Bayern), die Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der LMU München sowie einige Hoftierärzte.

Insgesamt nahmen 70 Rinderbetriebe an der Fragebogenstudie teil, davon 25 konventionell wirtschaftende sowie 45 ökologisch produzierende Rinderbetriebe.

95,71 % (67 Betriebe) der Rinderbetriebe waren in Bayern angesiedelt, 4,29 % (3 Betriebe) stammten aus Baden-Württemberg.

Unter den 70 teilnehmenden Rinderbetrieben befanden sich 66 Milchviehbetriebe sowie 4 Mastbetriebe.

### **2.3. Besprechung des Fragebogens**

An der Studie interessierte Betriebsinhaber konnten sich beim Doktoranden per

Mail oder telefonisch über den Studienablauf informieren.

Mit jedem teilnehmenden Rinderbetrieb wurde ein Termin vereinbart, an dem der Fragebogen telefonisch besprochen wurde. Der Fragebogen wurde den Betriebsinhabern nicht zugesandt, sodass keine Vorbereitungen möglich waren, um möglichst einheitliche Voraussetzungen zu gewährleisten. Lediglich der Doktorand selbst hatte den Fragebogen vorliegen und leitete damit das Gespräch.

Die telefonische Befragung dauerte im Durchschnitt 30 Minuten.

#### **2.4. Versand der Probenröhrchen, Probenlagerung**

Nach Besprechung des Fragebogens wurde für jeden teilnehmenden Betrieb der Infektions-/serologische Status ermittelt. Dazu wurde den Milchviehbetrieben je ein Milchprobenröhrchen mit `oranger Vorbelegung` zugesandt (Probenröhrchen des Milchprüfring Bayern e.V. mit den Zusatzstoffen Chloramphenicol, Ethanol 96 %ig, Natriumazid, Citronensäure TriNatrium Salz Dihydrat 99 %, E 110 ERKA Typ S 2020 gelb-orange, demineralisiertes Wasser), das vom Betriebsinhaber mit Tankmilch befüllt wurde. Den Mastbetrieben wurden 1-3 Kotprobenröhrchen für Sammelkotproben zugesandt, um je nach Wunsch des Betriebsinhabers auch Einzeltiergruppen zu betesten.

Die Betriebsinhaber sendeten die Proben ungekühlt an das Labor der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der LMU München zurück.

Die Tankmilchproben wurden zur Haltbarmachung bis zur Durchführung des ELISAs direkt nach Ankunft bei -20 °C eingefroren.

Die Kotproben wurden nach Ankunft bis zur koproskopischen Auswertung für 1-4 Tage bei +7 °C gelagert.

#### **2.5. Auswertung der Tankmilch- und Kotproben**

Die gefrorenen Tankmilchproben wurden für 10-15 Min. bei 37 °C im Wasserbad erwärmt. Anschließend wurden sie bei 10 °C mit 3000g für 5 min. zentrifugiert, sodass der Magermilchanteil entnommen werden konnte. Es wurde von jeder Probe je ein Milliliter Magermilch als Hauptprobe in ein Eppendorf Reaktionsgefäß sowie ein Milliliter als Rückstellprobe in ein Micronic Röhrchen pipettiert.

Die Hauptprobe aus dem Eppendorf Reaktionsgefäß wurde direkt für die Auswertung im ELISA verwendet, der nach Anleitung der Firma IDEXX

durchgeführt wurde. Die Probe im Micronic Röhrchen wurde als Rückstellprobe bei -25 °C gelagert.

Die Kotproben wurden mittels Sedimentationsverfahren ausgewertet. Jede Kotprobe wurde im Mörser mit Wasser zu einer homogenen Suspension verrührt, anschließend durch ein Sieb mit Maschenweite 250-300 µm in ein Becherglas gegeben. Der Siebinhalt wurde bis zur Füllung des Becherglases mit Wasser durchspült und am Ende mit dem Pistill ausgedrückt. Nach einer Standzeit von 15 min. wurde das Wasser dekantiert, sodass ein Bodensatz von etwa 2 Zentimetern zurückblieb. Dieser Vorgang wurde nochmals zweimalig wiederholt, um die gröberen Kotpartikel und Kotfarbstoffe vom Sediment zu entfernen. Das Sediment wurde in eine Petrischale gegossen und mit einigen Tropfen 1 %iger Methylenblaulösung versetzt. Unter dem Lichtmikroskop wurde es mit einem Objektiv mit 5-facher Vergrößerung zur groben Übersicht beurteilt und anschließend mit einem Objektiv 10-facher Vergrößerung ausgewertet.

## **2.6. Rückmeldung der Ergebnisse**

Nach Auswertung der Tankmilch- und Kotproben wurden die Ergebnisse an die Betriebsinhaber sowie auf Wunsch auch an die Bestandstierärzte weitergeleitet.

## **2.7. Statistische Auswertung der Fragebögen**

Die Daten der Fragebögen wurden in einer Excel-Tabelle (Microsoft Excel 2013) gesammelt und anschließend mit Hilfe des Programms `IBM SPSS Statistics 23` ausgewertet. Die univariate Analyse (deskriptive Statistik) erfolgte per Kreuztabellen. Die Faktoren wurden nach dem Exakten Test nach Fisher auf exakte Signifikanz (2-seitig) getestet. Jede Frage des Fragebogens wurde auf ihre Auswirkung auf die ELISA-Ergebnisse der teilnehmenden Betriebe untersucht. Mit Hilfe der binär-logistischen Regression wurden in verschiedenen Modellen die Risikofaktoren, die sich als bedeutsam für den Fasciolosestatus der Betriebe erwiesen, kombiniert ausgewertet.

Für die gesamte statistische Auswertung wurde ein Signifikanzniveau von 0,05 festgelegt.

## **IV. ERGEBNISSE**

### **1. Ergebnisse der Prävalenzstudie**

#### **1.1. Prävalenz der ökologisch produzierenden Betriebe bayernweit**

Es wurden in diesem Studienteil 366 Tankmilchproben ökologisch produzierender Milchviehbetriebe untersucht. Davon wiesen 172 Milchproben ein positives Ergebnis auf Antikörper gegen *Fasciola hepatica* auf. Dies entspricht einer Prävalenz von 46,99 %. Gemäß 95 %-Konfidenzintervall liegt die untere Grenze bei 41,88 %, die obere Grenze bei 52,10 %.

#### **1.2. Prävalenz der konventionell produzierenden Betriebe bayernweit**

Von den insgesamt 366 Tankmilchproben konventionell produzierender Milchviehbetriebe, die in diesem Studienteil untersucht wurden, wiesen 131 Milchproben ein positives Ergebnis auf Antikörper gegen *Fasciola hepatica* auf. Dies entspricht einer Prävalenz von 35,79 %. Gemäß 95 %-Konfidenzintervall liegt die untere Grenze bei 30,88 %, die obere Grenze bei 40,70 %.

#### **1.3. Vergleich zwischen konventionell und ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben**

Die Prävalenz der ökologisch produzierenden Betriebe und die Prävalenz der konventionell produzierenden Betriebe wurden mittels Chi-Quadrat-Test miteinander verglichen. Es ergab sich ein Wert von  $p = 0,0021$ . Somit erwies sich der Unterschied der beiden Prävalenzen als statistisch signifikant.

#### **1.4. Prävalenz der ökologisch produzierenden Betriebe auf Landkreisebene**

Die Anzahl der untersuchten Milchviehbetriebe je Landkreis sowie die Prävalenz der Landkreise sind in Tabelle 3 dargestellt. Abbildung 1 veranschaulicht in einer geographischen Karte des Bundeslandes Bayern die Prävalenz der ökologisch wirtschaftenden Rinderbetriebe auf Landkreisebene. Zu sehen ist, dass sich die serologisch positiven Betriebe vorwiegend im Süden des Bundeslandes befinden.

Tabelle 3: Anzahl der untersuchten ökologisch produzierenden Milchviehbetriebe sowie *Fasciola hepatica* Herdenprävalenz je bayerischem Landkreis

Landkreis	Gesamtprobenzahl je Landkreis	Positiv getestete Betriebe je Landkreis	Negativ getestete Betriebe je Landkreis	Prävalenz je Landkreis (%)
Altötting	4	2	2	50,00
Berchtesgadener Land	11	8	3	72,73
Bad Tölz/Wolfratshausen	14	10	4	71,43
Ebersberg	6	5	1	83,33
Eichstätt	3	0	3	0,00
Erding	5	1	4	20,00
Freising	3	0	3	0,00
Garmisch-Partenkirchen	6	6	0	100,00
Landsberg/Lech	7	3	4	42,86
Miesbach	25	17	8	68,00
Mühldorf	5	2	3	40,00
München	4	2	2	50,00
Neuburg-Schrobenhausen	3	1	2	33,33
Pfaffenhofen-Ilm	3	1	2	33,33
Rosenheim	24	17	7	70,83
Starnberg	5	4	1	80,00
Traunstein	23	13	10	56,52
Weilheim/Schongau	16	15	1	93,75
Freyung-Grafenau	3	0	3	0,00
Landshut	3	0	3	0,00
Passau	5	0	5	0,00
Regen	3	0	3	0,00
Rottal/Inn	4	1	3	25,00
Amberg-Weizsach	5	0	5	0,00
Cham	4	0	4	0,00
Neumarkt/Opf.	5	0	5	0,00
Neustadt/Waldnaab	4	0	4	0,00
Regensburg	3	0	3	0,00
Schwandorf	4	0	4	0,00
Tirschenreuth	4	0	4	0,00
Bamberg	3	0	3	0,00
Bayreuth	4	0	4	0,00
Coburg	3	0	3	0,00
Hof	4	0	4	0,00
Kronach	3	0	3	0,00
Kulmbach	3	0	3	0,00
Wunsiedel/Fichtelgebirge	3	0	3	0,00
Ansbach	6	0	6	0,00
Erlangen-Höchstadt	3	0	3	0,00



Neustadt-Bad Windsheim	4	0	4	0,00
Roth	4	0	4	0,00
Bad Kissingen	4	0	4	0,00
Haßberge	3	0	3	0,00
Kempten	4	2	2	50,00
Aichach-Friedberg	3	0	3	0,00
Augsburg	5	2	3	40,00
Günzburg	5	2	3	40,00
Lindau-Bodensee	10	7	3	70,00
Ostallgäu	29	20	9	68,97
Unterallgäu	16	10	6	62,50
Donau-Ries	3	0	3	0,00
Oberallgäu	30	21	9	70,00

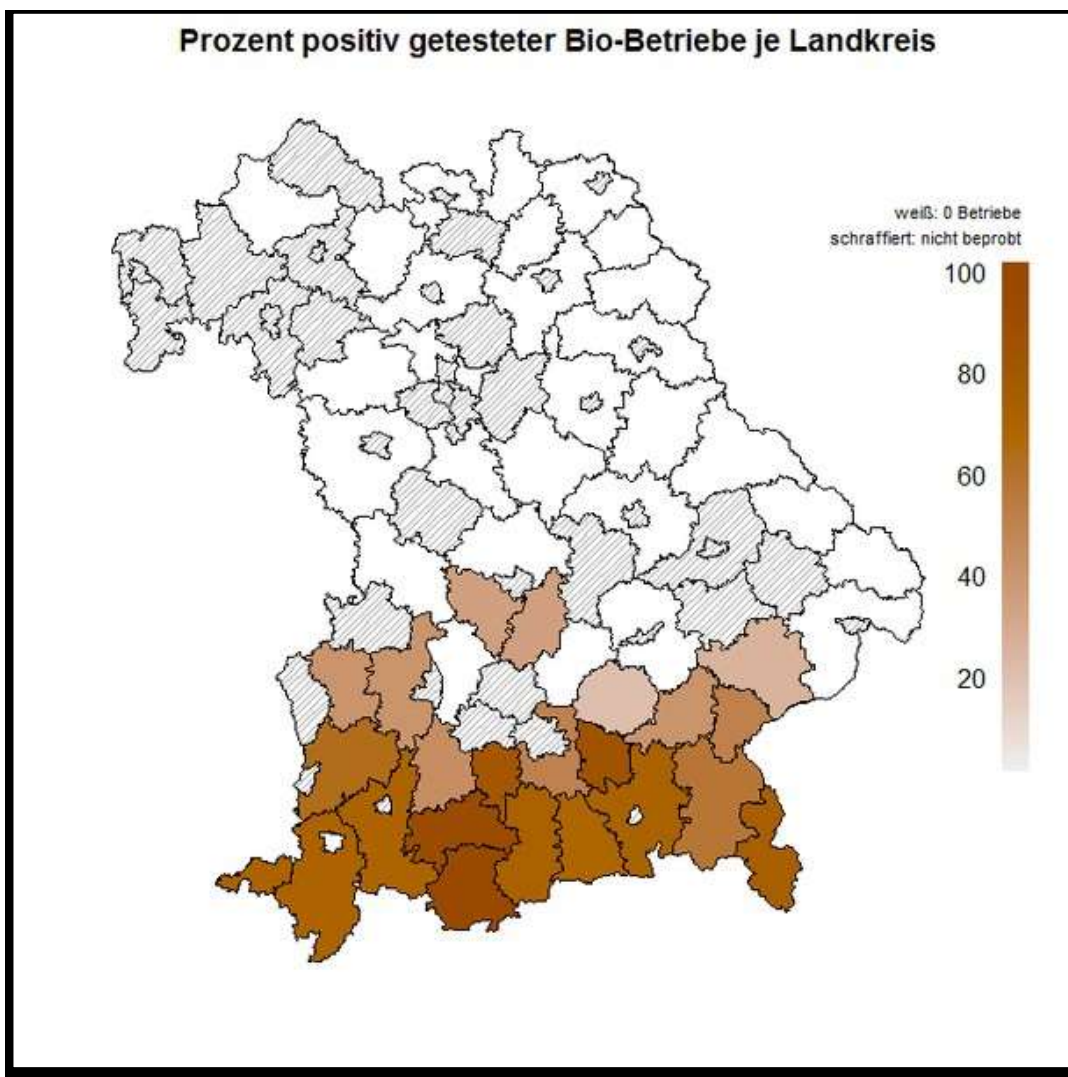


Abb. 1: *Fasciola hepatica* Herdenprävalenz (%) der ökologisch produzierenden Milchviehbetriebe je Landkreis

### 1.5. Prävalenz der konventionell produzierenden Betriebe auf Landkreisebene

Die Anzahl der untersuchten konventionellen Milchviehbetriebe je Landkreis sowie die Prävalenz der Landkreise sind in Tabelle 4 dargestellt. Abbildung 2 veranschaulicht in einer geographischen Karte des Bundeslandes Bayern die Prävalenz der konventionell wirtschaftenden Rinderbetriebe auf Landkreisebene. Diese Abbildung zeigt auf, dass sich die serologisch positiven Betriebe überwiegend auf den Süden Bayerns konzentrieren.

Tabelle 4: Anzahl der untersuchten konventionell produzierenden Milchviehbetriebe sowie *Fasciola hepatica* Herdenprävalenz je bayerischem Landkreis

Landkreis	Gesamtprobenzahl je Landkreis	Positiv getestete Betriebe je Landkreis	Negativ getestete Betriebe je Landkreis	Prävalenz je Landkreis (%)
Altötting	4	1	3	25,00
Berchtesgadener Land	11	6	5	54,55
Bad Tölz/Wolfratshausen	14	10	4	71,43
Ebersberg	6	0	6	0,00
Eichstätt	3	0	3	0,00
Erding	5	0	5	0,00
Freising	3	1	2	33,33
Garmisch-Partenkirchen	6	5	1	83,33
Landsberg/Lech	7	0	7	0,00
Miesbach	25	20	5	80,00
Mühlendorf	5	0	5	0,00
München	4	0	4	0,00
Neuburg-Schrobenhausen	3	0	3	0,00
Pfaffenhofen-Ilm	3	0	3	0,00
Rosenheim	24	10	14	41,67
Starnberg	5	2	3	40,00
Traunstein	23	5	18	21,74
Weilheim/Schongau	16	10	6	62,50
Freyung-Grafenau	3	0	3	0,00
Landshut	3	0	3	0,00
Passau	5	0	5	0,00
Regen	3	0	3	0,00
Rottal/Inn	4	0	4	0,00

Amberg-Sulzbach	5	0	5	0,00
Cham	4	0	4	0,00
Neumarkt/Opf.	5	0	5	0,00
Neustadt/Waldnaab	4	0	4	0,00
Regensburg	3	0	3	0,00
Schwandorf	4	0	4	0,00
Tirschenreuth	4	0	4	0,00
Bamberg	3	0	3	0,00
Bayreuth	4	0	4	0,00
Coburg	3	0	3	0,00
Hof	4	0	4	0,00
Kronach	3	0	3	0,00
Kulmbach	3	0	3	0,00
Wunsiedel/Fichtelgebirge	3	0	3	0,00
Ansbach	6	0	6	0,00
Erlangen-Höchstadt	3	0	3	0,00
Neustadt-Bad Windsheim	4	0	4	0,00
Roth	4	0	4	0,00
Bad Kissingen	4	1	3	25,00
Haßberge	3	0	3	0,00
Kempten	4	3	1	75,00
Aichach-Friedberg	3	0	3	0,00
Augsburg	5	0	5	0,00
Günzburg	5	0	5	0,00
Lindau-Bodensee	10	7	3	70,00
Ostallgäu	29	20	9	68,97
Unterallgäu	16	5	11	31,25
Donau-Ries	3	0	3	0,00
Oberallgäu	30	25	5	83,33

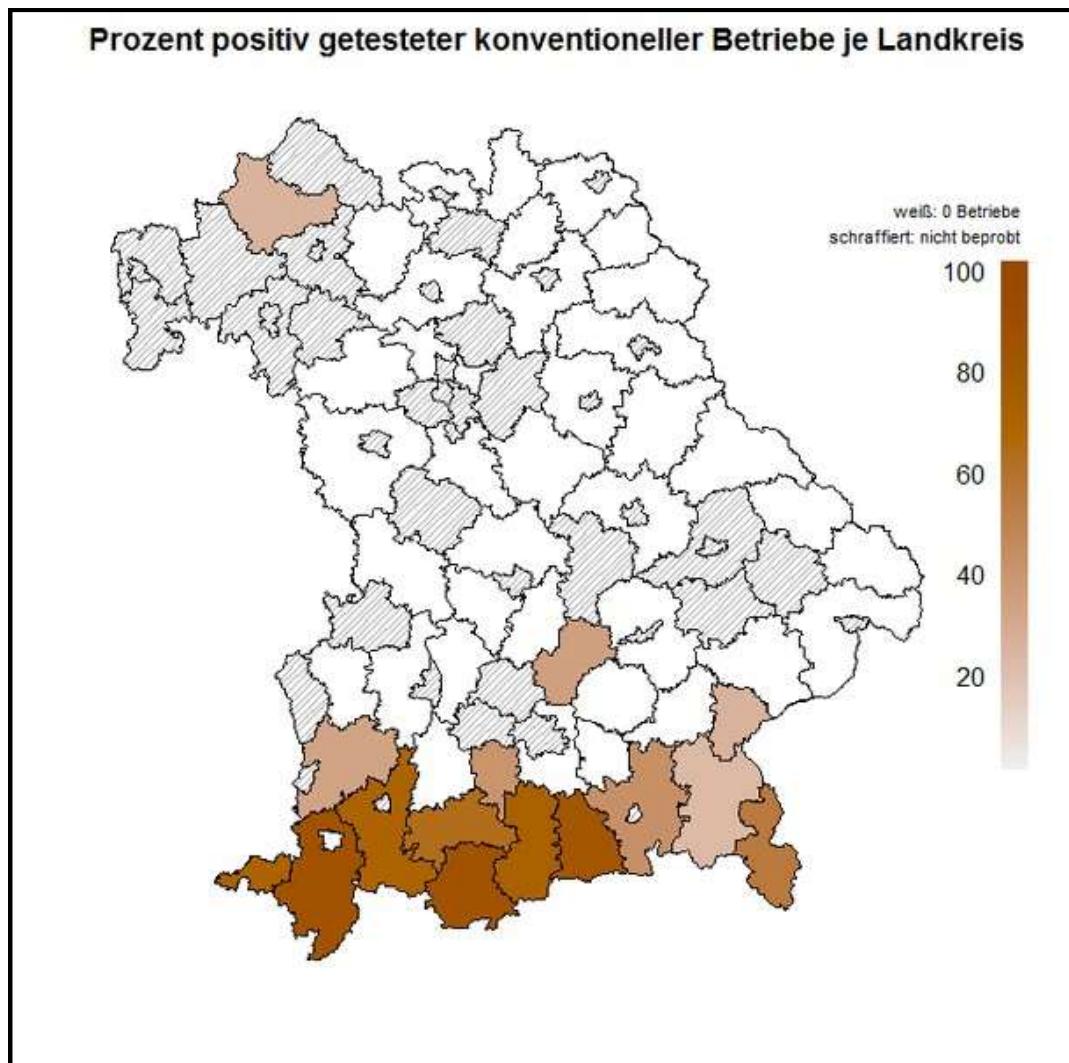


Abb. 2: *Fasciola hepatica* Herdenprävalenz (%) der konventionell produzierenden Milchviehbetriebe je Landkreis

## 2. Ergebnisse der Risikofaktorenstudie

Von den insgesamt 45 involvierten ökologisch wirtschaftenden Rinderbetrieben wurden 17 Betriebe als Fasciolose-negativ getestet (13 serologisch negativ, 4 koproskopisch negativ). 28 ökologisch produzierende Milchviehbetriebe wurden als serologisch positiv getestet.

Innerhalb der 25 involvierten konventionell wirtschaftenden Rinderbetriebe erwiesen sich 11 Milchviehbetriebe als Fasciolose-negativ (alle serologisch getestet), 14 Betriebe wurden als serologisch positiv getestet.

## 2.1. Deskriptive Statistik

Die Fragebögen dieses Studienteils wurden in Bezug zum Infektions- bzw. serologischen Status der Betriebe durch den Exakten Test nach Fisher ausgewertet.

Die Rinderrasse zeigte eine statistisch signifikante Auswirkung ( $p = 0,049$ ) auf den Infektions-/serologischen Status der Rinderbetriebe. Von den Betrieben, die eine reine Fleckviehherde hielten, waren 28 von 43 (65,1 %) Fasciolose-positiv. Alle (100 %; 3 von 3) beteiligten Betriebe, die eine reinrassige Schwarzbuntherde hielten, waren Fasciolose-negativ. Unter den Braunviehherden waren 6 von 7 (85,7 %) Fasciolose-positiv. Wurden die konventionellen Betriebe separat ausgewertet, zeigte sich in diesem Faktor ebenfalls eine statistische Signifikanz ( $p = 0,036$ ). Dagegen war bei separater Auswertung der ökologisch geführten Betriebe keine statistische Signifikanz zu erkennen ( $p = 0,498$ ).

Welche Tiergruppen zusammen weideten hatte starken Einfluss auf den Infektions-/serologischen Status der Betriebe ( $p = 0,010$ ). Wurden laktierende Rinder mit den Trockenstehern zusammen geweidet, waren 65,6 % der Betriebe (21 von 32 Betrieben) Fasciolose-positiv. Wurden die Laktierenden mit der Nachzucht zusammen geweidet, waren 66,6 % der Betriebe (4 von 6 Betrieben) Fasciolose-negativ. Wurden die Trockensteher zusammen mit der Nachzucht geweidet, waren 100 % der Betriebe (5 von 5 Betrieben) Fasciolose-negativ. Wurden die ökologisch geführten Betriebe separat ausgewertet, zeigte sich auch hier eine statistische Signifikanz ( $p = 0,034$ ), bei den konventionellen Betrieben war diese dagegen nicht erkennbar ( $p = 0,419$ ).

Wurden die ökologisch geführten Betriebe separat ausgewertet, konnte hinsichtlich der Frage, ob die Rinder witterungsabhängig Zugang zur Weide bekamen, ein Zusammenhang zum Infektions-/serologischen Status der Betriebe erkannt werden ( $p = 0,007$ ). 100 % der Betriebe, die ihre Rinder witterungsabhängig austrieben, waren Fasciolose-positiv. Dem entgegen waren 51,4 % der ökologisch geführten Betriebe, die ihre Rinder täglich, unabhängig der Witterung austrieben, Fasciolose-positiv. Bei gemeinsamer ( $p = 0,424$ ) sowie separater Auswertung der konventionellen Betriebe ( $p = 0,115$ ) konnte keine Signifikanz erkannt werden.

Eine statistische Auswirkung auf den Infektions-/serologischen Status der Betriebe hatte der Feuchtgebieteanteil der Weideflächen in Form von Bächen, Entwässerungsgräben oder auch ganzjährig bestehenden Wasseransammlungen

(Quellwasser;  $p = 0,037$ ). Alle Betriebe, bei denen 50-75 % der Weideflächen solche Feuchtgebiete aufwiesen, waren Fasciolose-positiv. 72,7 % der Betriebe, bei denen 25-50 % der Weideflächen derartige ständig bestehende Feuchtgebiete aufwiesen, waren ebenfalls Fasciolose-positiv. Dem entgegen zeigten 51,2 % der Betriebe, bei denen weniger als 25 % der Weideflächen über solche Feuchtgebiete verfügten, einen negativen Infektionsstatus. Auch das Weiden auf Moorböden war ein statistisch signifikanter Risikofaktor ( $p = 0,035$ ). Von den 14 Betrieben, die Moorböden beweideten, waren 12 Betriebe Fasciolose-positiv.

Alle Betriebe ( $n = 5$ ), die auf ihren Weiden Rinder zusammen mit Ziegen hielten, wurden als Fasciolose-positiv getestet ( $p=0,078$ ). Bei getrennter Auswertung der ökologisch geführten Betriebe ( $p = 1,000$ ) und der konventionellen Betrieben ( $p = 0,105$ ) ergab sich keine statistische Signifikanz.

Gemäß statistischer Auswertung waren 100 % der Betriebe (2 der insgesamt 70 Betriebe), deren Rinder zusammen mit Schafen weideten, Fasciolose-positiv ( $p = 0,513$ ). Beide Betriebe waren konventionell geführte Betriebe, somit ergab sich bei separater Auswertung der konventionellen Betriebe ein p-Wert von  $p = 0,487$ .

Die Betriebe wurden zudem gefragt, ob ein Teil ihrer Weiden Landschaftsschutz-/Naturschutzrichtlinien unterlag bzw. aus naturbelassenen Landschaften bestand. 75 % der Betriebe ( $n = 21$ ), die solche Weideflächen aufwiesen, waren Fasciolose-positiv ( $p = 0,048$ ). 13 von den insgesamt 25 teilnehmenden konventionellen Betrieben (52,0 %) hatten derartige naturbelassene Weideflächen, davon waren 9 Betriebe Fasciolose-positiv ( $p = 0,238$ ). Unter den ökologisch geführten Betrieben zeigten 15 von den insgesamt 45 Rinderbetrieben (33,3 %) solche Weideflächen auf (davon 12 Betriebe Fasciolose-positiv) ( $p = 0,110$ ).

Von den Betrieben, die Sömmerung betrieben, waren 71,43 % ( $n = 20$ ) Fasciolose-positiv ( $p = 0,139$ ). 56 % der konventionellen Betriebe gaben an, Sömmerung zu betreiben. Unter den ökologisch produzierenden Betrieben lag diese Quote bei 31,1 %. Bei separater Auswertung der konventionellen Betriebe lag der p-Wert bei  $p = 0,435$ , bei den ökologisch produzierenden Betrieben bei  $p = 0,188$ .

Die durchschnittliche Qualität der Landdrainage aller Weiden und Wiesen zeigte keine signifikante Auswirkung auf den Infektions- bzw. serologischen Status der Betriebe ( $p = 0,195$ ). 54,5 % der Betriebe mit guter Landdrainage waren Fasciolose-negativ. 73,7 % der Betriebe mit geringer Landdrainage zeigten einen positiven

Fasciolosestatus. Bei getrennter Auswertung der ökologisch produzierenden Rinderbetriebe ( $p = 0,505$ ) sowie der konventionellen Betriebe ( $p = 0,277$ ) zeigte sich ebenfalls keine statistische Signifikanz.

## 2.2. Binär-logistische Regression

Die logistische Regression wurde per Wald-Statistik (Rückwärts-Selektion) durchgeführt.

### 2.2.1. Modell zur Auswertung der Risikofaktoren der Literaturquellen aus Kapitel II.7.

Mit Hilfe der binär-logistischen Regression wurden die Einflüsse der Risikofaktoren, die in den einbezogenen Studien (Kapitel II.7.) für den Infektions-/serologischen Status der Rinderbetriebe von Bedeutung waren, auf das ELISA-Ergebnis getestet. In diese Analyse wurden die Faktoren Rinderrasse, Besatzdichte, Mähen der Weiden, Landdschaftsstruktur, Landdrainage, die Beweidung mit anderen Tierarten, die Weidefrequenz sowie die Art der Tränkestelle miteinbezogen. Die statistische Auswertung erfolgte anhand des SPSS-Datensatzes, der aus der Risikofaktorenstudie (Fragebogen, Anhang I) zur Verfügung stand. In Tabelle 6 sind die Risikofaktoren dargestellt, die hierbei den bedeutendsten Einfluss auf das ELISA-Ergebnis aufzeigten. Als einflussreichste Faktoren ergaben sich sowohl die Rinderrasse als auch die Frage, welcher Anteil der Weiden vor bzw. während der Weidesaison gemäht wurden.

Tabelle 6: Fasciolose-Risikofaktoren, die in einem binär-logistischen Regressionsmodell den größten Einfluss auf das ELISA-Ergebnis aufwiesen

Frage des Fragebogens	Einfluss/Risikofaktor	Regressionskoeffizient	Exp(B) [Odds Ratio]	Signifikanz
Frage 12	Rasse Fleckvieh (FL)	1,063	2,896	0,103
	Rasse Schwarzbunt [Referenz FL]	-21,189	0	0,999
	Rasse Braunvieh [Referenz FL]	2,477	11,91	0,05
Frage 18a	Mähen von 50-100 % der Weiden	0,921	2,511	0,24
	Mähen von < 50 % der Weiden	-0,957	0,384	0,169
	Intercept	-0,182	0,834	0,78

### 2.2.2. Modell zur Auswertung der Risikofaktoren der deskriptiven Statistik (Kapitel IV.2.1.)

Anhand der binär-logistischen Regression wurden die Einflüsse der Risikofaktoren, die in der deskriptiven Statistik einen signifikanten Einfluss auf das ELISA-Ergebnis aufwiesen, ausgewertet. In diese Analyse wurden die Faktoren Rinderrasse, Beweidung verschiedener Tiergruppen, Prozentzahl der Feuchtgebiete, Beweidung mit anderen Tierarten, Beweidung von Landschaftsschutzgebieten, die Sömmerung, Beweidung von Mooregebieten sowie die Weidefrequenz miteinbezogen. Wie in Tabelle 7 dargestellt, war ein einflussreicher Faktor die Tatsache, ob ein Teil der genutzten Weiden dem Landschaftsschutz/Naturschutz unterlag, bzw. naturbelassene Landschaften beweidet wurden. Ebenso wies die Rinderrasse einen Einfluss auf das ELISA-Ergebnis auf.

Tabelle 7: Fasciolose-Risikofaktoren eines binär-logistischen Regressionsmodells, die den größten Einfluss auf das ELISA-Ergebnis aufwiesen

Frage des Fragebogens	Einfluss/Risikofaktor	Regressionskoeffizient	Exp(B) [Odds Ratio]	Signifikanz
Frage 26	Landschaftsschutz: Ja	1,362	3,906	0,027
Frage 12	Rinderrasse Fleckvieh (FL)	1,109	3,031	0,087
	Rasse Schwarzbunt [Referenz FL]	-20,952	0	0,999
	Rasse Braunvieh [Referenz FL]	2,032	7,633	0,099
	Intercept	-0,856	0,425	0,166

### 2.2.3. Kombiniertes Modell der Faktoren der Literaturquellen und der deskriptiven Statistik

Die Risikofaktoren der Studien aus Kapitel II.7. sowie der deskriptiven Statistik wurden der binär-logistischen Regression kombiniert unterzogen. In diese Analyse wurden die Faktoren Rinderrasse, Besatzdichte, Mähen der Weiden, Landschaftsstruktur, Landdrainage, Beweidung verschiedener Tiergruppen,



Prozentzahl der Feuchtgebiete, die Beweidung mit anderen Tierarten, Beweidung von Landschaftsschutzgebieten, die Sömmerung, Beweidung von Mooregebieten, die Weidefrequenz sowie die Art der Tränkestelle miteinbezogen. Als einflussreicher Faktor war das Mähverhalten der Landwirte zu erkennen, und zwar dahingehend, welcher Anteil der Weiden vor bzw. während der Weidesaison gemäht wurde. Die Prozentzahl der Weideflächen mit Feuchtgebieten hatte ebenfalls eine große Bedeutung für die Fascioloseprävalenz. Auch die Frage, ob ein Teil der Weiden aus naturbelassenen Landschaften bestand oder Landschaftsschutz- bzw. Naturschutzrichtlinien unterlag, erwies sich in der binär-logistischen Regression als bedeutsam (Tabelle 8).

Tabelle 8: Fasciolose-Risikofaktoren, die in einem binär-logistischen Regressionsmodell den größten Einfluss auf das ELISA-Ergebnis aufwiesen

<b>Frage des Fragebogens</b>	<b>Einfluss/Risikofaktor</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>Exp(B) [Odds Ratio]</b>	<b>Signifikanz</b>
Frage 18a	Häufigkeit Mähen 50 - 100 %	1,048	2,851	0,172
	Häufigkeit Mähen < 50 %	-0,937	0,392	0,191
Frage 23	Prozentzahl Feuchtgebiete < 25 %	-21,286	0	0,999
	Prozentzahl Feuchtgebiete 25 - 50 %	-19,765	0	0,999
Frage 26	Landschaftsschutz: Ja	1,048	2,851	0,08
	Intercept	20,802	1081442103	0,999



## V. DISKUSSION

Ziel dieser Studie war, eine aktuelle Prävalenzermittlung des bovinen Parasiten *Fasciola hepatica* sowohl auf Ebene des Bundeslandes Bayern als auch auf bayerischer Landkreisebene durchzuführen. Im Speziellen sollte die Prävalenz von Milchviehbetrieben getrennt für die ökologische Produktionsart und die konventionellen Rinderbetriebe erfasst werden, um diese anschließend miteinander vergleichen zu können. Daher wurde versucht, eine statistisch relevante Anzahl an Milchviehbetrieben in diesen Studienteil aufzunehmen, um einen möglichen Prävalenzunterschied zwischen den beiden Produktionsarten, falls vorhanden, aufdecken zu können. Eine derartige Prävalenzuntersuchung, getrennt für ökologisch wirtschaftende und konventionell produzierende Rinderbetriebe, wurde bisher in Deutschland noch nicht durchgeführt. Anhand dieser Untersuchung sollte allen an der Nutztierhaltung Interessierten, speziell den Landwirten und den Bestandstierärzten, eine Einschätzung des aktuellen Status der bovinen Fasciolose sowie dessen regionale Verteilung im Bundesland Bayern ermöglicht werden.

Des Weiteren sollten durch diese Studie Risikofaktoren der Übertragung von *Fasciola hepatica* aufgezeigt werden. Das Ziel war es, Risikofaktoren zu ermitteln, die vor allem innerhalb der ökologischen Produktionsweise eine signifikante Rolle spielen. Vor dem Hintergrund der eingeschränkten Möglichkeit des Medikamenteneinsatzes sollte den ökologisch wirtschaftenden Rinderbetrieben geholfen werden, die Fasciolose präventiv durch Erkennung und Beseitigung von spezifischen Risikofaktoren einzudämmen.

### 1. Diagnostische Verfahren

Die einmalige koproskopische Untersuchung von Rinderkot durch das angewandte Sedimentationsverfahren weist gemäß RAPSCH et al. (2006) eine Sensitivität von 69,0 % auf. Dadurch sind dieser Untersuchungsmethode gewisse Grenzen gesetzt.

Der Ak-ELISA Fasciolosis Verification Test der Firma IDEXX weist bei der Untersuchung von Milchproben eine Sensitivität von 88 % und eine Spezifität von 84 % auf (DEPLAZES et al., 2012). Nach einer erfolgreichen anthelminthischen Leberegeltherapie können die Antikörper persistieren und bis zu 8 Monate im Rind

nachweisbar sein (DEPLAZES et al., 2012). Somit könnte auch noch eine geraume Zeit nach einer Infektion durch den Erreger *Fasciola hepatica* ein serologisch positives Ergebnis nachgewiesen werden, also lange nach Remission der Erkrankung. Nicht ganz sicher auszuschließen ist, dass die in dieser Studie erzielten ELISA-Ergebnisse durch die in den Milchprobenröhrchen des MPR Bayern enthaltenen Zusatzstoffe in geringem Maße beeinflusst wurden. Angesichts der bei der diesbezüglich durchgeführten Recherche beim ELISA-Hersteller erhaltenen Auskunft einerseits und die zur Absicherung der Ergebnisse durchgeführten Testreihe andererseits, konnte eine statistisch signifikante Beeinflussung der ELISA-Ergebnisse durch die Zusatzstoffe jedoch weitestgehend ausgeschlossen werden.

## **2. Prävalenzstudie**

### **2.1. Fallzahlplanung**

Bayernweit wurden in dieser Studie 732 Tankmilchproben serologisch untersucht. Der statistischen Fallzahlplanung lagen die Studien KOCH (2005) sowie KUERPICK et al. (2013) zugrunde. Zur Ermittlung der benötigten Betriebszahl wurde angenommen, dass die Prävalenz in den ökologisch wirtschaftenden Betrieben höher liegt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p = 0,05$  gesetzt. Zur Bestimmung der Stichprobengröße wurde der Chi-Quadrat-Test auf Unabhängigkeit zweier dichotomer Merkmale ohne Stetigkeitskorrektur für kleine Stichproben zugrunde gelegt. Es wurde die Unabhängigkeit von Betriebsart (ökologisch/konventionell) und Vorkommen der Fasciolose in der Herde (ja/nein) betrachtet. Um einen erwarteten Mindestunterschied von 10 % in einem zweiseitigen Test mit einem Fehler 1. Art von  $p = 0,05$  und einer Power von  $1 - \beta = 0,80$  bei einem Verhältnis von 1:1 der konventionellen zu den ökologisch wirtschaftenden Betrieben nachweisen zu können, waren, laut Berechnung mit den Daten der Studie von KOCH (2005), je 366 Betriebe zur Auswertung notwendig, laut Berechnung mit den Daten der Publikation von KUERPICK et al. (2013) werden 278 Rinderbetriebe benötigt. Somit wurde eine Stichprobenzahl von 366 Milchproben je Betriebsart (ökologisch/konventionell) festgelegt.

## 2.2. Prävalenzen verschiedener deutscher Studien

In der vorliegenden Studie wurden bayernweit sowohl 366 Milchproben ökologisch wirtschaftender Betriebe als auch 366 Milchproben konventioneller Rinderbetriebe serologisch ausgewertet. Unter den ökologisch wirtschaftenden Rinderbetrieben ergab sich eine Prävalenz von 46,99 %, die Prävalenz der konventionellen Rinderbetriebe lag bei 35,79 %. Im Vergleich dazu wurde in der Studie von KOCH (2005) mittels Auswertung von 5278 Tankmilchproben bayernweit eine Prävalenz von 32,42 % ermittelt. In der Studie von KUERPICK et al. (2013) wurden bayernweit 877 Tankmilchproben untersucht, wobei sich eine Prävalenz von 17,7 % für das Bundesland Bayern ergab. Die vergleichsweise hohen Prävalenzwerte, die sich in dieser Studie aufzeigten, spiegeln die aktuelle Bedeutsamkeit der bovinen Erkrankung Fasciolose wieder. Oftmals kann diese parasitäre Erkrankung vom Landwirt klinisch nicht erkannt werden. Trotz alledem scheint sie sehr weit verbreitet zu sein, sodass eine bessere und bedeutend höhere Aufklärungsrate notwendig ist, um in den Rinderbetrieben gezielt gegen den Erreger vorgehen zu können. Welche Faktoren dazu beitragen, dass die ermittelte Prävalenz der bovinen Fasciolose, auf einer Zeitachse betrachtet, in den Studien von KOCH (2005) über KUERPICK et al. (2013) bis hin zu der hier vorliegenden Studie ständig zunahm, bedarf einer weiteren Abklärung in nachfolgenden Untersuchungen. Nach Aussagen von Inhabern einiger Rinderbetriebe, die an der Risikofaktorenstudie teilgenommen haben, scheinen unter anderem eine unzufriedenstellende Möglichkeit der medikamentösen Therapiemöglichkeiten, u. a. aufgrund von verhältnismäßig langen posttherapeutischen Wartezeiten hinsichtlich der Milch- und Fleischvermarktung, als auch aufgrund von Einschränkungen bzgl. des Einsatzes der Medikamente bei verschiedenen Alters-/Produktionsstufen des Rindes, eine Bekämpfung der bovinen Fasciolose sehr schwierig zu gestalten.

Da die Zunahme der Leberegelprävalenz auch aus anderen Ländern bekannt ist, wird in der Literatur ein Zusammenhang mit dem Klimawandel diskutiert (FAIRWEATHER, 2011).

## 2.3. Prävalenzen verschiedener Betriebsarten

Die in dieser Studie ermittelte Prävalenz der ökologisch wirtschaftenden Rinderbetriebe von 46,99 % für das Bundesland Bayern weicht statistisch signifikant ( $p = 0,0021$ ) von der bayernweit ermittelten Prävalenz der konventionell

produzierenden Rinderbetriebe von 35,79 % ab. Es wird davon ausgegangen, dass dieser signifikante Unterschied unter anderem darauf zurückzuführen ist, dass die überwiegende Mehrzahl der ökologisch geführten Rinderbetriebe die Tiere weidet, wohingegen nur ein Teil der konventionellen Rinderbetriebe Weidehaltung betreibt. Ein weiterer Grund könnte darin bestehen, dass ökologisch wirtschaftende Rinderbetriebe infolge von speziellen Auflagen bezüglich des anthelminthischen Medikamenteneinsatzes, vornehmlich der verdoppelten Vermarktungswartekarenzenzeiten, in der Bekämpfung von *Fasciola hepatica* beeinträchtigt sind.

#### **2.4. Prävalenzen auf Landkreisebene**

Es ergab sich innerhalb der ökologischen Produktionsweise auf Landkreisebene eine Spanne der Prävalenzen von 0 % (bei 28 ausgewerteten Landkreisen) bis hin zu 100 % (Garmisch-Partenkirchen). Die konventionelle Produktionsart zeigte auf Landkreisebene eine Spanne der Prävalenzen von 0 % (bei 36 ausgewerteten Landkreisen) bis zu 83,33 % (Oberallgäu; Garmisch-Partenkirchen). Die Landkreise mit hoher Prävalenz waren vorwiegend im Süden des Bundeslandes Bayern angesiedelt, wie es in ähnlicher Weise KOCH (2005) darstellte. Grund hierfür könnte die in diesen Regionen weit verbreitete Weidehaltung sein. Des Weiteren könnten spezielle geographische sowie geologische Gegebenheiten, beispielsweise die weit verbreiteten Mooswiesen, Einfluss auf die Epidemiologie von *Fasciola hepatica* wie auch auf die Lebensweise des Zwischenwirts *Galba truncatula* ausüben (KOCH, 2005; DEPLAZES et al., 2012; SCHNIEDER, 2006). Grenzen dieser Studie könnten sich in der Auswertung auf Landkreisebene bzgl. der untersuchten Probenanzahl pro Landkreis ergeben. Für einige Landkreise wurden lediglich 6 Tankmilchproben (3 ökologische sowie 3 konventionelle) untersucht. Für eine spezifischere Untersuchung der Prävalenz auf Landkreisebene könnte eine erhöhte Probenzahl exaktere Werte liefern.

### **3. Risikofaktorenstudie**

#### **3.1. Teilnehmende Rinderbetriebe**

An diesem Studienteil nahmen 70 Rinderbetriebe teil. Diese wurden in 4 Gruppen eingeteilt: Ökologisch produzierende, Fasciolose-negative Betriebe (n = 17),

ökologisch produzierende, Fasciolose-positive Betriebe ( $n = 28$ ), konventionell wirtschaftende, Fasciolose-negative Betriebe ( $n = 11$ ) sowie konventionell wirtschaftende, Fasciolose-positive Betriebe ( $n = 14$ ). Der Grund, weswegen die Leberegel-positiven Rinderbetriebe derart überrepräsentiert waren, lag vermutlich in der Tatsache, dass Betriebsinhaber, die in der Vergangenheit bereits mit der Thematik Fasciolose konfrontiert waren, vermehrt Interesse an dem Thema aufzeigten.

### **3.2. Der Fragebogen**

Durch die in dieser Studie gewählte Form der telefonischen Besprechung des Fragebogens konnte der Doktorand die Fragen gezielt mit dem Betriebsinhaber besprechen, um so ein unbedacht unsachgemäßes Ausfüllen zu vermeiden. Dies war unter anderem deswegen von hoher Bedeutung für die statistische Auswertung, weil die Anzahl der teilnehmenden Betriebe verhältnismäßig gering war. Durch Verwendung vorwiegend offener Fragen, ohne den teilnehmenden Betriebsinhabern starre Antwortmöglichkeiten vorzugeben, war es möglich, die Verhältnisse der Betriebe sehr detailliert und möglichst realitätsnahe darzustellen. Es konnte somit eine sehr weitreichende statistische Auswertung vorgenommen werden.

### **3.3. Statistische Auswertung**

#### **3.3.1. Faktoren der univariaten Analyse**

Die Rinderrasse zeigte eine statistisch signifikante Auswirkung ( $p = 0,049$ ) auf den Infektionsstatus der Rinderbetriebe. Von den Betrieben, die eine reine Fleckviehherde hielten, waren 28 von 43 (65,1 %) Fasciolose-positiv. Alle (100 %; 3 von 3) beteiligten Betriebe, die eine reinrassige Schwarzbuntherde hielten, waren Fasciolose-negativ. Unter den Braunviehherden waren 6 von 7 (85,7 %) Fasciolose-positiv. Obwohl eine Rasseprädisposition auch von PERRUCCI et al. (2007) beschrieben wurde, könnte der Effekt in der vorliegenden Studie eher durch den geringen Stichprobenumfang als eine echte Rasseprädisposition bedingt sein. Auch die geographische Lage der Rinderbetriebe konnte die Signifikanz dieses Faktors nicht erklären, da auch die teilnehmenden reinrassigen Schwarzbuntbetriebe (alle Fasciolose-negativ) vorwiegend im Süden Bayerns (vorwiegend Fasciolose- positive Landkreisgebiete) angesiedelt waren.

Der Einfluss der Beweidung verschiedener Tiergruppen auf den serologischen Status bzw. Infektionsstatus der Betriebe kann von den Autoren nicht explizit erklärt werden, und sollte durch weiterführende Projekte weiter untersucht werden. Es könnte sein, dass dieses Ergebnis auf eine zu geringe Stichprobenzahl zurückzuführen ist.

Alle ökologisch wirtschaftenden Rinderbetriebe mit witterungsabhängigem Zugang zur Weide waren Fasciolose-positiv. Dem entgegen waren nur 51,4 % der ökologisch geführten Betriebe, die ihre Rinder täglich, unabhängig der Witterung austrieben, Fasciolose-positiv. Es ist naheliegend, dass die Erklärung darin zu suchen ist, dass die Böden der betroffenen Gebiete derartig stark feucht waren, dass zwar zwangsläufig nur das witterungsabhängige Austreiben auf die Weide möglich war, aber trotzdem aufgrund der hohen Feuchtigkeit der Böden, selbst bei der reduzierten Expositionsdauer, ein erhöhtes Risiko der Infektion durch den großen Leberegel bestand.

Eine statistische Auswirkung auf den Infektions-/serologischen Status der Betriebe hatte der Anteil an Weideflächen mit Feuchtgebieten in Form von Bächen, Entwässerungsgräben oder auch ganzjährig bestehenden Wasseransammlungen ( $p=0,037$ ). Auch das Weiden auf Moorboden war ein statistisch signifikanter Risikofaktor ( $p = 0,035$ ). Die beschriebenen Feuchtgebiete sind typische Lebensräume des Zwischenwirts des großen Leberegels, der Zwergschlamm Schnecke *Galba truncatula*. Ebenso sind einige Stadien des Entwicklungszyklus des großen Leberegels auf feuchte Umweltbedingungen angewiesen (DEPLAZES et al., 2012).

100 % der Betriebe (5 Betriebe), die auf ihren Weiden Rinder zusammen mit Ziegen hielten, wurden als Fasciolose-positiv getestet ( $p=0,078$ ). 100 % der Betriebe (2 Betriebe), deren Rinder zusammen mit Schafen weideten, waren Fasciolose-positiv ( $p = 0,513$ ). Auch MARTINS et al. (2014) beschrieben in ihrer Studie das gemeinsame Weiden von Rindern mit kleinen Wiederkäuern als Risikofaktor für die Übertragung von *F. hepatica*. Dies könnte mit der hohen Eiausscheidung durch die kleinen Wiederkäuer erklärt werden. Laut MARTINS et al. (2014) scheint das Schaf ein bedeutender Endwirt zu sein, mit einer Ausscheidung von einer halben Million Eiern pro Tag im Kot bei einer milden, subklinischen Infektion, sowie einer Ausscheidung von 3 Millionen Eiern pro Tag bei moderater Infektion (BORAY, 1969).



75 % der Betriebe ( $n = 21$ ), deren Weideflächen zum Teil oder gänzlich Landschaftsschutz/Naturschutz unterlagen bzw. aus naturbelassenen Landschaften bestanden, waren Fasciolose-positiv ( $p = 0,048$ ). Derartige Landschaften könnten dem Zwischenwirt *Galba truncatula* naturnahe Lebensräume bieten. Da solche Weideflächen i. d. R. seltener gemäht werden als intensiv bewirtschaftete, erklärt sich im Umkehrschluss gemäß Studie von BENNEMA et al. (2011) eine geringere Reduktion der Leberegelier sowie der Mirazidien, Metazerkarien und der Zwergschlammschnecke. Ferner verhindern hohe Weidevegetationen ein Eindringen von UV-reichem Sonnenlicht in tiefere Vegetationsschichten bzw. in Bodennähe. Somit würde der, ähnlich wie in der Studie von VAN DIJK (2009) erläuterte, durch dieses energiereiche Sonnenlicht hervorgerufene letale Effekt auf die freilebenden Parasitenstadien fehlen.

Betriebe, die Sömmerung betreiben, waren zu 71,43 % ( $n = 20$ ) Fasciolose-positiv. Bei der telefonischen Besprechung des Fragebogens mit den Betriebsinhabern fiel auf, dass einige von ihnen den Faktor Sömmerung als möglichen Übertragungsweg des großen Leberegels zwischen Rinderherden verschiedener Besitzer vermuten. Durch den Kontakt von Rinderherden verschiedener Herkunft auf Almen/Alpen könnte von mit *Fasciola hepatica* infizierten Tieren beim Vorherrschen entsprechend günstiger Umweltbedingungen und beim Vorhandensein von *Galba truncatula* eine Übertragung der Fasciolose auf andere Rinder stattfinden.

Die durchschnittliche Qualität der Landdrainage aller Weiden und Wiesen zeigte keine statistisch signifikante Auswirkung auf den Infektions- bzw. serologischen Status der Betriebe ( $p = 0,195$ ). 54,5 % der Betriebe mit guter Landdrainage waren Fasciolose-negativ. 73,7 % der Betriebe mit geringer Landdrainage zeigten einen positiven Fasciolosestatus. Dies legt die Vermutung nahe, dass Böden mit geringer Landdrainage ein erhöhtes Fascioloserisiko bergen. Statistisch signifikant konnte dies in den Studien McCANN et al. (2010) sowie BENNEMA et al. (2011) und CHARLIER et al. (2011) dargelegt werden.

### **3.3.2. Faktoren der binär-logistischen Regression**

#### **3.3.2.1. Risikofaktoren der Literaturquellen**

Wurden die Risikofaktoren der in der Literaturübersicht verwendeten Literaturquellen (Kapitel II.7.) mittels binär-logistischer Regression ausgewertet, ergaben sich als größte Einflussfaktoren auf den Fasciolosestatus der

Rinderbetriebe sowohl die Rasse als auch das Mähen der Weiden vor bzw. während der Weidesaison.

Gemäß dieser Auswertung ist bei der Rasse Braunvieh das Fascioloserisiko im Vergleich zur Referenzgruppe (Fleckvieh) um das 11,91-fache erhöht mit einer Signifikanz von  $p = 0,05$ . Bei der Rasse Schwarzbunt ist das Fascioloserisiko mit einem Regressionskoeffizienten von -21,19 verringert, wobei der Standardfehler bei 22.147,23 liegt. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen der univariaten Analyse. Die rasseabhängige Varianz des Fascioloserisikos könnte an einer zu geringen Stichprobenzahl liegen, und sollte durch weitere Studien untersucht werden.

Als bedeutender Risikofaktor erwies sich auch das Mähen der Weiden vor bzw. während der Weidesaison, allerdings ohne statistische Signifikanz. Das Mähen von 50 % – 100 % der Weiden erhöhte das Fascioloserisiko um das 2,51-fache, mit einer Signifikanz von  $p = 0,24$ . Eine zu geringe Stichprobenzahl könnte dieses Ergebnis verfälschen. Es steht in Widerspruch zum Ergebnis der Studie von BENNEMA et al. (2011) und sollte deshalb durch weiterführende Studien untersucht werden.

### **3.3.2.2. Risikofaktoren der univariaten Analyse**

Wurden die Risikofaktoren der deskriptiven Statistik (Kapitel IV.2.1.) mittels binär-logistischer Regression ausgewertet, zeigten sich als Faktoren mit bedeutendstem Einfluss auf den Fasciolosestatus der teilnehmenden Betriebe zum einen die Frage, ob ein Teil der Weiden Landschaftsschutz-/Naturschutzbestimmungen unterlag bzw. aus naturbelassenen Landschaften bestand. Zum anderen konnte hier die Rinderrasse als wichtiger Risikofaktor erkannt werden.

75 % der Betriebe, die Weideflächen in Landschaftsschutzgebieten besaßen bzw. naturbelassene Flächen beweideten, waren Fasciolose-positiv. Gemäß der Auswertung per Regression besitzt dieser Risikofaktor eine statistische Signifikanz von  $p = 0,027$ , wobei hier das Fascioloserisiko um das 3,91-fache ( $\text{Exp}(B)$ ) erhöht war. Eine Diskussion zu diesem Risikofaktor wurde bereits in Kapitel V.3.3.1. vollzogen.

In dieser statistischen Auswertung ergab sich zudem die Rinderrasse als wichtiger Risikofaktor, allerdings ohne statistische Signifikanz. Bei der Rasse Schwarzbunt war das Fascioloserisiko um das 20,95-fache verringert, wobei der Standardfehler

des Regressionskoeffizienten sehr hoch war (22.389,27). Für die Rasse Braunvieh war das Fascioloserisiko um das 7,63-fache erhöht ( $p = 0,10$ ). Auch dieser Faktor wurde bereits in Kapitel V.3.3.1. diskutiert.

### 3.3.2.3. Risikofaktoren der kombinierten Auswertung

Bei kombinierter Auswertung der Risikofaktoren der Literaturquellen sowie der univariaten Analyse dieser Studie ergaben sich in der binär-logistischen Regression als Faktoren mit größtem Einfluss sowohl das Mähen der Weiden, als auch der prozentuale Feuchtgebieteanteil der Weideflächen, sowie die Frage, ob die Weiden Landschaftsschutzgebiete umfassten.

Wurden von den Betriebsinhabern 50 – 100 % der Weiden vor oder während der Weidesaison gemäht, war das Fascioloserisiko um das 2,82-fache erhöht ( $p = 0,172$ ). Dieser Faktor zeigt keine statistische Signifikanz, wurde jedoch im Zuge der Variablenselektion als Einflussgröße angezeigt.

Für Rinderbetriebe, deren Weideflächen nur wenige Feuchtgebiete bargen, war das Fascioloserisiko niedriger. Betrug der Feuchtgebietanteil weniger als 25 % der Weideflächen, war das Fascioloserisiko um das -21,29-fache verringert, jedoch bei einem Standardfehler von 16.353,83. Enthielten 25 – 50 % der Weideflächen Feuchtgebiete, war das Fascioloserisiko um das -19,76-fache reduziert, ebenfalls mit einem Standardfehler von 16.353,83. Die Feuchtgebiete sind typische Lebensräume des Zwischenwirts des großen Leberegels, der Zwergschlammschnecke *Galba truncatula*. Ebenso sind einige Stadien des Entwicklungszyklus des großen Leberegels auf feuchte Umweltbedingungen angewiesen (DEPLAZES et al., 2012).

Bestand ein Teil der Weiden aus Landschaftsschutzgebieten bzw. naturbelassenen Landschaften, war das Fascioloserisiko um das 2,85-fache erhöht ( $p = 0,08$ ). Eine Diskussion zu diesem Risikofaktor wurde bereits in Kapitel V.3.3.1. vollzogen.

## 4. Fazit

Durch die Prävalenzstudie wurde in Deutschland erstmalig eine Ermittlung der Prävalenz der bovinen Fasciolyse getrennt für die Produktionszweige ökologisch und konventionell durchgeführt. Diese Analyse fand allerdings nur bayernweit statt.

Die Prävalenz der ökologisch wirtschaftenden Rinderbetriebe von 46,99 % für Gesamtbayern wick statistisch signifikant ( $p = 0,0021$ ) von der Prävalenz der konventionellen Rinderbetriebe mit einer Prävalenz für Gesamtbayern von 35,79 % ab. Diese Prävalenzen sind höher als in vergleichbaren vorhergehenden Studien. KOCH (2005) ermittelte eine Prävalenz von 32,42 % für das Bundesland Bayern. Bei KUERPICK et al. (2013) ergab sich eine bayernweite Prävalenz von 17,7 %. Die vergleichsweise hohen Prävalenzwerte der hier vorgestellten Studie spiegeln die aktuelle Bedeutsamkeit der bovinen Fasciolose wider, indem sie eine ansteigende Erkrankungshäufigkeit vermuten lassen. Die höhere Prävalenz der ökologisch produzierenden Rinderbetriebe, im Vergleich zur konventionellen Prävalenz, könnte unter anderem darauf zurückzuführen sein, dass die überwiegende Mehrzahl der ökologisch geführten Rinderbetriebe die Tiere weidet, wohingegen nur ein Teil der konventionellen Rinderbetriebe Weidehaltung betreibt.

Die Ermittlung von Risikofaktoren für die Übertragung des großen Leberegels, speziell im ökologischen Produktionszweig, sollte besonders diesen Rinderbetrieben helfen, trotz Einschränkungen u.a. beim anthelminthischen Medikamenteneinsatz, diese Krankheit durch gezieltes präventives Management beeinflussen zu können. Es konnten einige Risikofaktoren mittels diesem Studienteil erkannt werden, jedoch weichen diese nicht bedeutend von bekannten Risikofaktoren der Übertragung der Fasciolose bisher durchgeführter Studien ab. Feuchte Weidestellen jeglicher Art, sowie geeignete klimatische Faktoren, die die Ansiedlung des Zwischenwirts *Galba truncatula* sowie den Entwicklungszyklus von *Fasciola hepatica* ermöglichen, scheinen die bedeutenden Faktoren dieser bovinen Krankheit zu sein. Die derzeit eingeschränkte Möglichkeit des Medikamenteneinsatzes, sowohl im ökologischen als auch im konventionellen Produktionszweig, aufgrund von verhältnismäßig hohen Wartezeiten hinsichtlich der Milch- und Fleischvermarktung, sowie die Einschränkungen bzgl. des Einsatzes der Medikamente bei verschiedenen Alters-/Produktionsstufen des Rindes, erschwert die Bekämpfung der Fasciolose in erheblicher Weise. Trotz alledem können Landwirte durch Veränderung bestimmter Parameter, die hier als Risikofaktoren der Übertragung des großen Leberegels erkannt wurden, prophylaktisch versuchen, eine Neuinfektion bzw. Reinfektion ihrer Rinder einzuschränken oder gar zu verhindern.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Prävalenz von *Fasciola hepatica* gezielt für ökologisch geführte Milchviehbetriebe bayernweit zu erheben. Da die Übertragung des großen Leberegels im Wesentlichen über die Weide oder über im Stall verfüttertes Gras stattfindet und dieser Weidegang in ökologisch produzierenden Rinderbetrieben besonders häufig zu finden ist, sind Tiere dieser Betriebe besonders gefährdet sich mit diesem Endoparasiten zu infizieren (Schlemmer et al., 2015). Auf Grund dessen sollte durch eine Fragebogenstudie ermittelt werden, ob in ökologisch produzierenden Betrieben, außer dem Weidegang, weitere Risikofaktoren für die Infektion mit dem großen Leberegel erkannt werden können. Hierdurch könnte es möglich sein, Prophylaxemaßnahmen zu ermitteln, die in ökologisch produzierenden Milchviehbetrieben helfen könnten, den Einsatz von Medikamenten zu reduzieren.

In der Prävalenzstudie wurden bayernweit sowohl 366 ökologisch geführte Milchviehbetriebe als auch 366 konventionelle Rinderbetriebe durch Tankmilchproben per ELISA auf *Fasciola hepatica* serologisch untersucht. Die Prävalenz der ökologisch wirtschaftenden Rinderbetriebe von 46,99 % wick statistisch signifikant ( $p = 0,0021$ ) von der Prävalenz der konventionellen Rinderbetriebe von 35,79 % ab.

Durch die Risikofaktorenstudie sollten mit Hilfe von 70 teilnehmenden Rinderbetrieben durch einen Fragebogen mögliche Risikofaktoren für die Übertragung des großen Leberegels analysiert werden, die speziell in der ökologischen Produktionsweise eine bedeutende Rolle spielen. Es konnten einige Risikofaktoren mittels diesem Studienteil erkannt werden, jedoch wichen diese nicht bedeutend von bekannten Risikofaktoren der Übertragung der Fasciolose bisheriger Publikationen ab. Diese Studie bestärkt die Landwirte in ihrer Bemühung, durch Veränderung bestimmter Parameter, die hier als Risikofaktoren der Übertragung des großen Leberegels erkannt wurden, zu versuchen, eine Neuinfektion bzw. Reinfektion ihrer Rinder einzuschränken oder gar zu verhindern.



## VII. SUMMARY

It was the aim of the study at hand to gather the prevalence of *Fasciola hepatica* specifically for ecological dairy farms all across Bavaria. As the passing on of the common liver fluke mainly occurs on pastures and by means of the grass which is fed in sheds, and due to the fact that pasturing is very common on cattle farms which produce ecologically, animals of such farms are highly endangered to contract this kind of endoparasite. As a result, an empirical study was conducted in order to ascertain whether further risk factors for infections with *Fasciola hepatica* – besides pasturing – can be identified on farms with ecological production. Thus, it could be possible to detect prophylactic measures which could help ecological dairy farms to reduce the usage of medication.

In the prevalence study both 366 ecological dairy farms and 366 conventional cattle farms across Bavaria were serologically tested for *Fasciola hepatica* by taking bulk milk samples via ELISA. The prevalence of 46.99 % of the ecological cattle farms significantly differed from the prevalence of 35.79 % of conventional cattle farms ( $p = 0,0021$ ).

The risk factor study aimed at detecting possible risk factors for passing on *Fasciola hepatica*, which play a major role in ecological production, by analysing survey data of 70 cattle farms. With the help of this part of the study, some risk factors could be found, however, they did not significantly differ from known risk factors for passing on Fasciolosis mentioned in previous published work. This study encourages farmers in their effort to reduce or even prevent new infections or reinfections of their bovines by changing certain parameters – which have now been examined as risk factors for passing on the common liver fluke.





## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Bennema S.C., Vercruyse J., Claerebout E., Schnieder T., Strube C., Ducheyne E., Hendrickx G., Charlier J. (2009): The use of bulk-tank milk ELISAs to assess the spatial distribution of *Fasciola hepatica*, *Ostertagia ostertagi* and *Dictyocaulus viviparus* in dairy cattle in Flanders (Belgium). *Vet. Parasitol.* 165: 51–57.

Bennema S.C., 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. *Vet. Parasitol.* 173: 247-254.

Bennema S.C., Ducheyne E., Vercruyse J., Claerebout E., Hendrickx G., Charlier J. (2011): Relative importance of management, meteorological and environmental factors in the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in a temperate climate zone. *Int J Parasitol.* 41: 225-233.

Boray J.C., Happich F.A. (1969): Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis. 2. The estimation of daily total egg production of *Fasciola hepatica* and the number of adult flukes in sheep by faecal egg counts. *Aust Vet J.* 45: 329-31.

Charlier J., Bennema S.C., Caron Y., Counotte M., Ducheyne E., Hendrickx G., Vercruyse J. (2011): Towards assessing fine-scale indicators for the spatial transmission risk of *Fasciola hepatica* in cattle. *Geospat Health.* 5: 239-45.

Deplazes P., Eckert J., Zahner H. Helminthen. In: *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*, 3rd edn. Stuttgart: Enke 2012: 152-492.

Fairweather I. (2011): Reducing the future threat from (liver) fluke: realistic prospect or quixotic fantasy? *Vet Parasitol.* 180: 133-43.

Höglund J., Dahlström F., Engström A., Hesse A., Jakubek E.B., 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. *Vet Parasitol.* 171: 293-9.

Kendall S.B., McCullough F.S. (1951): The emergence of cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. J Helminthol. 25: 77-92.

Knubben-Schweizer G., Scheuerle M., Pfister K. (2011): Die Bekämpfung des großen Leberegels beim Rind. Tierärztliche Praxis Großtiere. 39: 179-85.

Koch S. (2005): Untersuchungen zur Verbreitung von *Fasciola hepatica* im bayerischen Milchviehbestand. Diss. med. vet. Universität München.

Kuerpick B., Fiedor C., von Samson-Himmelstjerna G., Schnieder T., Strube C. (2012): Bulk milk-estimated seroprevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds and collecting of risk factor data in East Frisia, northern Germany. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 125: 345-50.

Kuerpick B., Conraths F.J., Staubach C., Froehlich A., Schnieder T., Strube C. (2013): Seroprevalence and GIS-supported risk factor analysis of *Fasciola hepatica* infections in dairy herds in Germany. Parasitology. 140: 1051-1060.

Luzon-Pena M., Rojo-Vazques F.A., Gomez-Bautista M. (1995): Seasonal availability of *Fasciola hepatica* metacercariae in a temperate mediterranean area (Spain, Madrid). J Vet Med B. 42: 577-85.

Malone J.B. (2005): Biology-based mapping of vector-borne parasites by geographic information systems and remote sensing. Parasitologia. 47: 27-50.

Martins I.V.F., Avelar B.R. de, Bernardo C., Leão A.C. de, Salim M.J. (2014): Distribution of bovine fasciolosis and associated factors in south Espírito Santo, Brazil: an update. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. 23: 23-29.

McCann C.M., Baylis M., Williams D.J. (2010): The development of linear regression models using environmental variables to explain the spatial distribution of *Fasciola hepatica* infection in dairy herds in England and Wales. Int J Parasitol. 40: 1021-8.

Novobilsky A., Sollenberg S., Höglund J. (2015): Distribution of *Fasciola hepatica* in Swedish dairy cattle and associations with pasture management factors. *Geospat Health*. 9: 293-300.

Perrucci S., Pinello E., Fichi G., Ciardi E., Bärberi P., Moonen C., Ragolini G., Bibbiani C. (2007): Parasitic infections in an organic grazing cattle herd in Tuscany using geographic information systems to determine risk factors. *Veterinaria italiana*. 43: 415-424.

Rapsch C., Schweizer G., Grimm F., Kohler L., Bauer C., Deplazes P., Braun U., Torgerson P.R. (2006): Estimating the true prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle slaughtered in Switzerland in the absence of an absolute diagnostic test. *Int J Parasitol*. 36: 1153-8.

Ross J.G. (1968): The life span of *Fasciola hepatica* in cattle. *Vet Rec*. 82: 587–589.

Schlemmer I., Sauter-Louis C., Martin R., Schmaußer M., Aichinger C., Scharlach A., Mansfeld R., Pfister K., Knubben-Schweizer G. (2015): Endoparasitenprävalenz bei Rindern in Abhängigkeit von Haltung und Fütterung. *Tierärztl Umschau*. 70: 72-76.

Schnieder T. (2006): Helminthosen der Wiederkäuer. In: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Schnieder T, ed. Stuttgart: Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG. 166-234.

Schweizer G., Braun U., Deplazes P., Torgerson P.R. (2005): Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. *The Veterinary record*. 157: 188-93.

Selemetas N., Phelan P., O'Kiely P., de Waal T. (2015): The effects of farm management practices on liver fluke prevalence and the current internal parasite control measures employed on Irish dairy farms. *Vet Parasitol*. 207: 228-40.

Svensson C., Hesse A., Höglund J. (2000): Parasite control methods in organic and conventional dairy herds in Sweden. *Livest Prod Sci.* 66: 57-69.

Van Dijk J., de Louw M.D., Kalis L.P., Morgan E.R. (2009): Ultraviolet light increases mortality of nematode larvae and can explain patterns of larval availability at pasture. *Int. J. Parasitol.* 39: 1151–1156.

## IX. ANHANG

## Anhang 1: Fragebogen der Risikofaktorenstudie

<b>A Allgemeiner Teil:</b>						
<b>1 Wie wird der Betrieb bewirtschaftet?</b>						
<i>Bitte die zutreffende Zelle mit "1" markieren.</i>						
Konventionell						
Biologisch						
In Umstellung						
<i>Wenn biologisch, seit wie vielen Jahren?</i>						
<b>2 Welche Nutztierarten mit wirtschaftlicher Relevanz halten Sie auf ihrem Betrieb?</b>						
Ungefähre Anzahl			Ungefähre Anzahl			
Milchkühe			Mutter(Fleisch)kühe			
Nachzucht (Milch) > 1 Jahr			Mastrinder > 1 Jahr			
Nachzucht (Milch) < 1 Jahr			Mastrinder < 1 Jahr			
Ungefähre Anzahl			Ungefähre Anzahl			
Ziegen oder Schafe		Andere (bitte angeben)				
Lämmer/Gitzi		Andere (bitte angeben)				
<b>3 Wie gross ist ihre Betriebsfläche, bitte unterscheiden Sie –</b>						
ungefähre Fläche (ha)						
Dauergrünland						
Acker- und Permakulturen (z.B. Mais, Weizen)						
Ackerfutterbau (z.B. Klee-Grassmischungen, Luzerne)						
Andere (bitte angeben)						
<i>Gesamtfläche</i>						
Zusätzliche zweitweise Nutzung (z. B. Sömmerung)						
					<i>1=Ja, 2=Nein, 3=Weiss nicht/unsicher</i>	
<b>4 Bitte geben Sie die typische Weidedauer im Sommer und im Winter an. Bitte unterscheiden Sie dabei Kühe und Nachzucht bzw. Mast.</b>						
		Milchkühe	Fleisch/ Mutterkühe	Nachzucht /Masttiere (Erste Weidesais	Nachzucht /Masttiere (Zweite Weidesais	Trockenst eher
Sommer	12 - 24 h					
	1 - 12 h					
	Eingestallt					
Winter	12 - 24 h					
	1 - 12 h					
	Eingestallt					

<b>5 Im Folgenden nenne ich Weidemaßnahmen mit denen Magen-Darm-Würmer bzw. grosse Leberegel kontrolliert werden können.</b>					
		Davon gehört	selbst versucht	wird angewendet	
		<i>1=Ja, 2=Nein, 3=Weiss nicht/unsicher</i>			
<b>a) Würmer</b>	Geringere Besatzdichte				
	Jungtiere beweidet Gebiete mit geringerem Infektionsrisiko (e.g. Weide nach Schnittnutzung, siehe				
	Andere (bitte angeben)				
		Davon gehört	selbst versucht	wird angewendet	
		<i>1=Ja, 2=Nein, 3=Weiss nicht/unsicher</i>			
<b>b) Leberegel</b>	Weidedrainage				
	Auszäunen von natürlichen Wasserläufen und Teichen bzw.				
	Weiderotation von infektiösen zu nicht-infektiösen Weiden während Weidesaison (Boraj)*				
	Andere (bitte angeben)				
*Die Möglichkeit der Weiderotation bedeutet das Beweiden der Tiere von natzen (und daher möglicherweise infektiösen) Weiden hin zu trockenem Weiden während der Weidesaison					
Ist Leberegel ein festgestelltes (z. B. Tierarzt, Schlachthof) Problem auf Ihrem Betrieb?					
					<i>1=Ja, 2=Nein, 3=Weiss nicht/unsicher</i>
<b>6 Bitte geben Sie 3 Hauptmethoden an mit denen Sie Magen-Darm-Würmer bzw. Leberegel überwachen.</b>					
		Magen-Darm-Würmer	Leberegel		
<i>Bitte je Spalte bis zu 3 Zellen mit "1" markieren</i>					
	Warnungen über Medien				
	Empfehlungen vom Tierarzt				
	Eigene, frühere Erfahrungen				
	Kotproben				
	Rückmeldungen vom Schlachthof (Leberkonfiskate)				
	Durchfall				
	Stumpfes, unregelmäßige Haarkleid				
	Anämie				
	Gewichtsverlust/schlechte(r) Zustand/Milchleistung				
	Antikörpertest über Milch				
	Andere (bitte angeben)				

7 Nutzen Sie üblicherweise (über die letzten 5 Jahre) konventionelle Tiermedizinische Produkte (Entwurmungsmittel) zur Kontrolle von MD-Würmern und Leberegeln? Im Folgenden nenne ich ihnen je Tierkategorie mögliche Optionen:										
	Leberegel					Magen-Darm-Würmer				
	Milchkühe	Fleisch/ Mutterkühe	Nachzucht/ Masttiere (Erste Weidesaison)	Nachzucht/ Masttiere (Zweite Weidesaison)	Trockenst eher	Milchkühe	Fleisch/ Mutterkühe	Nachzucht/ Masttiere (Erste Weidesaison)	Nachzucht/ Masttiere (Zweite Weidesaison)	Trockenst eher
Keine Behandlungen für diese Tiere werden in der Regel individuell behandelt										
Tiere werden in der Regel als Gruppe behandelt										
Durchschnittliche Anzahl Behandlungen je Tier und Jahr										
8 Falls Sie kommerzielle Entwurmungsmittel (Anthelminthika) benutzen, zu welchen Zeitpunkten wenden Sie diese normalerweise an?										
	Magen-Darm-Würmer				Leberegel					
	Milchkühe	Fleisch/ Mutterkühe	Nachzucht/ Masttiere (Erste Weidesaison)	Nachzucht/ Masttiere (Zweite Weidesaison)	Milchkühe	Fleisch/ Mutterkühe	Nachzucht/ Masttiere (Erste Weidesaison)	Nachzucht/ Masttiere (Zweite Weidesaison)		
Vor dem Kalben/während Trockenstehen										
Nach dem Kalben										
Bei Beginn der Weidesaison										
Bei Beginn oder während der Stallhaltungsperiode										
Vor dem Umtrieb auf eine neue (saubere) Weide										
Beim Absetzen										
Andere (bitte angeben)										
9 Häufiges Entwurmen der ganzen Herde kann zu resistenten Magen-Darm-Würmern bzw. Leberegeln führen. Bitte geben Sie vor diesem Hintergrund an, ob sie die folgenden Aussagen ablehnen oder ihnen zustimmen:										
	Starke Ablehnung	Ablehnung	Nicht sicher	Zustimmung	Starke Zustimmung					
<i>Bitte Zellen mit "1" markieren (nur eine 1 je Zeile)</i>										
a Die unwirksamkeit von Entwurmungsmitteln nimmt zu										
b Um zukünftige Resistenzen zu vermeiden, müssten etwas geringere Leistungen der Tiere durch weniger häufige Behandlungen in Kauf genommen werden										
c Die Pharmaindustrie wird rechtzeitig neue Medikamente oder Impfstoffe bereitstellen										
d Ich würde alternative Kontrollmethoden akzeptieren die mit höheren Kosten einhergehen (Überwachung, Produkte evtl. neue Investitionen)										
e Ich würde alternative Kontrollmethoden akzeptieren die mit einem höhere Arbeitsaufwand einhergehen (z.B. Proben nehmen, Tierbeobachtung)										
f Ein gesteigerter Schwerpunkt auf Überwachung und der Behandlung individueller Tiere könnte eine machbare										
10 Gibt es auf ihrem Betrieb eine bestätigte Resistenz von Würmern oder Leberegeln gegen kommerzielle Entwurmungsmittel?										
	<i>1=Ja, 2=Nein, 3=Weiss nicht/unsicher</i>				<i>1=Ja, 2=Nein, 3=Weiss nicht/unsicher</i>					
Magen-Darm-Würmer					Leberegel					
Wenn ja, gegen welchen Wirkstoff:				Ja=1						
Würmer	Benzinidazole									
	Levamisol									
Leberegel	Macrozyklische Lactone									
	Thiabendazol									
	Albendazol									
	Closantel									
	Clorsulon									
11 Haben sie ein abschliessendes Kommentar zu dieser Umfrage?										

<b>B Spezieller Teil Fasciolose:</b>	
<b>12 Rinder-Rasse(n):</b>	
<b>13 durchschnittliche Milchleistung pro Kuh (305-Tage-Leistung):</b>	kg
<b>14 Besatzdichte in Tiere pro Hektar Weide:</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
weniger als 5	
zwischen 5 und 8	
mehr als 8	
Unsicher	
<b>15 Werden Laktierende, Trockensteher, Färsen, Kälber, Bullen zusammen oder separat geweidet?:</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
Getrennte Beweidung	
Zusammen	
Falls kombinierte Beweidung stattfindet, welche Gruppen weiden zusammen?:	
<b>16 Wie werden die Tiere geweidet:</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
Ganze Weideperiode	
Witterungsabhängig	
Unterbrochene Zeiträume	
Andere Modelle:	
<b>17 Weideten bereits im vergangenen Jahr Wiederkäuer oder Pferde auf den Weiden, die in diesem Jahr von Rindern beweidet werden?:</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
Ja, auf allen	
Ja, auf einem Teil der Weiden	
Nein	
Ungewiss/Nicht bekannt	
<b>18 Wurde/Werden die Weiden gemäht vor oder während der Weidesaison?</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
Ja, alle oder die meisten werden gemäht (50-100%)	
Ja, zum Teil (<50%)	
Nein	
Falls Ja, Häufigkeit und Zeitpunkt(e) des Mähens:	
<b>19 Welches Weidesystem wird hauptsächlich verwendet?</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
Standweide	
Portionenweide	
Umtriebsweide	
anderes Weidesystem (Bitte angeben):	
<b>20 Art der Tränkestelle, die hauptsächlich verwendet wird:</b>	
Nippeltränke	
Tränkschale	
Kübeltränke	
Bach	
Teich	
andere (Bitte angeben):	
<b>21 Qualität der Landdrainage (aller Weiden und Wiesen im Durchschnitt):</b>	
Gut (niemals Feuchtigkeitsansammlung, auch nicht an nassen Wintertagen)	
Moderat (Feuchtigkeitsansammlung an nassen Tagen, aber Abtrocknung an ersten trockenen Folgetagen)	
Gering	
<b>22 Angaben zur Erdbeschaffenheit: (Bei mehreren Weiden mit unterschiedlicher Zusammensetzung sind Mehrfachantworten möglich)</b>	
	Bitte zutreffende Zelle mit "1" markieren
Lehm	
Sand	
Torf	
Moor	
Steinig	
andere Bodenqualität (Bitte angeben):	

<b>23</b>	<b>Prozentzahl der Weideflächen mit Feuchtgebieten (Flüsse, Teiche, Dämme, Seen, Entwässerungsgräben, überflutete Stellen, ständig-bestehende Wasserpfützen, etc.) in Kategorien:</b>		
	<25%		
	25-50%		
	50-75%		
	>75%		
<b>24</b>	<b>Werden Feuchtgebiete ausgezäunt? Falls ja, wie weit vom Feuchtgebiet entfernt wird der Zaun angebracht?:</b>		
	Nein, wird nicht ausgezäunt		
	< 1m Entfernung		
	1-2m Entfernung		
	> 2m Entfernung		
<b>25</b>	<b>Weiden die Rinder mit anderen Tierarten zusammen?: (Mehrfachantworten möglich)</b>		
	Nein		
	mit Pferden		
	mit Ziegen		
	mit Schafen		
	mit Bisons		
	mit anderer Tierart (Bitte angeben):		
<b>26</b>	<b>Unterliegt ein Teil der Weiden Landschaftsschutz/Naturschutz? Werden auch naturbelassene/ungepflegte/eingegraste Landschaften beweidet?:</b>		
	Ja		
	Nein		
	Ungewiss/Nicht sicher		
<b>27</b>	<b>Hat der Weidegang Effekte auf die Milchproduktion?</b>		
	Reduktion während den ersten 2 Wochen auf der Weide		
	Reduktion in der Mitte der Weidesaison		
	Reduktion zum Ende der Weidesaison		
	keine Reduktion		
	andere (Bitte angeben):		
	Nicht bekannt		
<b>28</b>	<b>Höhenmeter der Weiden über Meeresspiegel (Durchschnittswert):</b>		
<b>29</b>	<b>Hauptsächliche Landschaftsstruktur der Weiden:</b>		
	Ebenes Gelände		
	Hügellandschaft/Hanglagen/Steigung		
	Tal		
	andere (Bitte angeben):		
<b>30</b>	<b>Werden die Wiesen, die zur Gewinnung von Frischgras/Heu/Emd/Silage genutzt werden, mit Wiederkäuer- oder Pferdekot gedüngt?:</b>		
	Ja		
	Nein		Falls Nein, alternative Düngungsform:
	Unsicher/Ungewiss		
<b>31</b>	<b>Wie wird das Heu/Emd gelagert?:</b>		
	keine Nutzung von Heu/Emd:		
	locker liegend		
	in Ballen gepresst		
	andere Lagerungsform (Bitte angeben):		
und zwar	trocken gelagert		
	der Witterung/Feuchtigkeit ausgesetzt		
	andere (Bitte angeben):		
<b>32</b>	<b>Wie lange wird das Heu/Emd mindestens konserviert vor seiner Verfütterung?:</b>		
	weniger als 50 Tage		
	zwischen 50 Tage und 4 Monaten		
	mindestens 4 Monate		
	mindestens 6 Monate		
	Unterschiedlich		
	keine Angabe		
<b>33</b>	<b>Lagerzeit der Grassilage im Silo vor der Verfütterung:</b>		
	mindestens 12 Tage		
	weniger als 12 Tage		
	unterschiedlich		
	keine Angabe		
	keine Nutzung von Grassilage		
<b>34</b>	<b>Werden die Weiden und Wiesen mit Kalkstickstoff behandelt?</b>		
	Ja alle Weiden und Wiesen		
	Ja, ein Teil der Weiden und Wiesen		
	Lediglich die Weiden		
	Lediglich die Wiesen		
	Nein		
	andere (Bitte angeben):		
	Falls Ja, wie oft?:		
<b>35</b>	<b>Kommentare/Anmerkungen zum Speziellen Teil der Umfrage:</b>		
<b>36</b>	<b>Name des BioVerbandes:</b>		
<b>37</b>	<b>Name und Adresse des Hoftierarztes:</b>		



## **X. DANKSAGUNG**

Diese Studie wurde ermöglicht dank Unterstützung durch das FP7 ERA-net project, CORE Organic Plus. Dafür möchte ich mich sehr bedanken.

Ich möchte mich ganz besonders bei Frau Prof. Dr. Gabriela Knubben-Schweizer bedanken, einerseits für die Überlassung des Themas, andererseits für die überaus gute und stets nette Betreuung und Unterstützung.

Ein Dank geht ebenso an Frau Anna Rieger, die mich bei der statistischen Planung und Auswertung hervorragend unterstützte.

Ich danke allen Rinderbetrieben, die an dieser Studie teilgenommen haben. Durch ihre Mitarbeit wurde die Durchführung dieser Studie ermöglicht.

Ferner möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Milchprüfring Bayern e. V. für die große Hilfe bei der Planung der Probenahme sowie der Überlassung der Milchproben für die Prävalenzstudie bedanken.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, des Bayerischen Bauernverbands, der ökologischen Verbände, des Bundesverbands praktizierender Tierärzte e. V., sowie bei einigen Hoftierärzten, die mich bei der Durchführung meines Projektes unterstützten.

Mein Dank geht außerdem an alle Mitarbeiter der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der LMU München, die mir stets hilfreich zur Seite standen.

Ich danke meiner ehemaligen Schulkameradin Carolin Fischer, die mir mit ihren exzellenten englischen Sprachkenntnissen behilflich war.

Ganz herzlich danke ich meinen Eltern Beate und Emil Schäffer für ihre unermüdliche Unterstützung, die tiefgreifenden Ratschläge sowie das Korrekturlesen des Manuskriptes.