

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie
der Ludwig-Maximilians-Universität in München
(Vorstand: Prof. Dr. K. Pfister)

Untersuchungen zur Verbreitung von
***Fasciola hepatica* im bayerischen**
Milchviehbestand

INAUGURALE-DISSERTATION
zur Erlangung des akademischen Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität in München
(Dr. med. vet.)

Vorgelegt der tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Sandra Koch
aus Ottweiler an der Saar

München 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: Univ.-Prof. Dr. K. Pfister
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. S. Reese

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Historisches zu <i>F. hepatica</i>	3
2.2	Systematische Einteilung von <i>F. hepatica</i>	3
2.3	Ätiologie und Entwicklungszyklus des Parasiten	4
2.3.1	Entwicklungszyklus.....	4
2.3.2	Der Zwischenwirt <i>Lymnaea truncatula</i>	4
2.3.3	Eier von <i>F. hepatica</i>	5
2.3.4	Mirazidien von <i>F. hepatica</i>	5
2.3.5	Zerkarien von <i>F. hepatica</i>	6
2.3.6	Metazerkarien von <i>F. hepatica</i>	6
2.4	Pathogenese und Pathologie	7
2.5	Klinik	8
2.6	Diagnostik	10
2.6.1	Intravitaldiagnostik.....	10
2.6.2	Postmortaldiagnostik	12
2.7	Immunreaktionen	13
2.8	Epidemiologie	13
2.9	Verbreitung	14
2.9.1	Deutschland	14
2.9.2	Europa.....	16
2.10	Wirtschaftliche Bedeutung	17
2.11	Bekämpfung	18
2.11.1	Medikamentelle Bekämpfung.....	18
2.11.1.1	Benzimidazole.....	18
2.11.1.1.1	Triclabendazol.....	18

2.11.1.1.2	Albendazol	19
2.11.1.2	Salizylsäureanilide	20
2.11.1.2.1	Closantel	20
2.11.1.2.2	Oxyclozanid	21
2.11.1.3	Übersicht der Fasziolizide inklusiv Wirksamkeit	22
2.11.1.4	Strategischer Einsatz der Fasziolizide	23
2.11.1.4.1	Behandlungszeiten und Tiergruppen	23
2.11.1.4.2	Behandlung laktierender Rinder	24
2.11.2	Prophylaxe	24
2.11.2.1	Begrenzung der Aufnahme von Metazerkarien (Ansteckungsprophylaxe)	24
2.11.2.2	Ausschaltung des Zwischenwirtes	24
2.11.2.3	Weidetiere	25
3	MATERIAL UND METHODEN	26
3.1	Durchführung der Studie	26
3.1.1	Untersuchungsgebiet/Rindviehbestand Bayerns	26
3.1.2	Selektion der Betriebe einzelner Landkreise	26
3.1.3	Probenziehung	29
3.1.3.1	Ablauf der Probenziehung	29
3.1.3.2	Sicherung der Probenidentität	29
3.2	Untersuchungstechniken	30
3.2.1	ELISA-Methode	30
3.2.1.1	Testaufbau	31
3.2.2	Validierung des ELISA	31
3.3	Auswertung der ermittelten Daten	32
4	ERGEBNISSE	35
4.1	Zeitlicher Verlauf	35
4.2	Auswertung der Tankmilchproben	35
4.2.1	Ergebnisse der ELISA-Untersuchung auf <i>F. hepatica</i> -AK für Gesamtbayern	36
4.2.2	Seroprävalenz von <i>F. hepatica</i> in Gesamtbayern	37

4.2.3	Ergebnisse der Tankmilchuntersuchung auf <i>F. hepatica</i> -AK der Regierungsbezirke	38
4.2.3.1	Unterfranken	38
4.2.3.2	Oberfranken	40
4.2.3.3	Mittelfranken	41
4.2.3.4	Oberpfalz	44
4.2.3.5	Schwaben	45
4.2.3.6	Niederbayern	46
4.2.3.7	Oberbayern	48
4.2.4	Seroprävalenz von <i>F. hepatica</i> in den einzelnen Regierungsbezirken	49
4.2.4.1	Unterfranken	49
4.2.4.2	Oberfranken	50
4.2.4.3	Mittelfranken	50
4.2.4.4	Oberpfalz	50
4.2.4.5	Schwaben	50
4.2.4.6	Niederbayern	50
4.2.4.7	Oberbayern	51
4.2.5	Vergleich der Seroprävalenz der einzelnen Regierungsbezirke mit Gesamtbayern	51
4.2.6	Seroprävalenz von <i>F. hepatica</i> in den verschiedenen Landkreisen	52
4.2.7	Vergleich der S/P%-Werte innerhalb eines Regierungsbezirkes	57
4.2.7.1	Unterfranken	57
4.2.7.2	Oberfranken	58
4.2.7.3	Mittelfranken	59
4.2.7.4	Oberpfalz	60
4.2.7.5	Schwaben	61
4.2.7.6	Niederbayern	62
4.2.7.7	Oberbayern	63
5	DISKUSSION	64
6	ANHANG	71
6.1	Materialliste	71
6.1.1	Rohmaterialien ELISA-Testkit Pourquoi/Montpellier/Frankreich	71

6.1.2	Konservierungsmittel.....	71
6.1.3	Statistik der Anforderungslisten	72
6.2	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen für die verschiedenen Landkreise....	73
6.3	Abkürzungen	75
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	77
8	SUMMARY	79
9	LITERATURVERZEICHNIS	81
10	DANKSAGUNG	89

1 Einleitung

Infektionen von Rinderbeständen mit dem Großen Leberegel *Fasciola hepatica* stellen in vielen Weidengebieten Westeuropas, Australiens und Neuseelands trotz teilweise intensiver Bekämpfungsmaßnahmen ein großes Problem dar (Malone et al. 2004, Hutchinson und Macarthur 2003, Schweizer et al. 2003, Cornelissen et al. 2001, Sánchez-Andrade et al. 2000).

Auch aus neueren Schlachthofbefunden der Schweiz geht hervor, dass die durchschnittliche Befallshäufigkeit dort bei geschlachteten Kühen zwischen 8,4% und 13,8%, stellenweise sogar bei 19% liegt (Schweizer et al. 2003, Ducommun und Pfister 1991). Schweizer et al. (2004) schätzen die Schäden für die Schweiz im Rahmen einer Hochrechnung auf ca. 376 € pro infiziertem Tier. Die letzte Untersuchung zum Leberegelbefall des Milchviehbestandes in zwei Landkreisen Bayerns wurden von Schmitt et al. (1994) durchgeführt.

Der Rinderbestand in Gesamtdeutschland beläuft sich derzeit auf 13,2 Mio. Tiere (Statistisches Bundesamt Deutschland, Stand Mai 2004), von denen ca. 3,76 Mio. in Bayern gehalten werden. Davon werden etwa 1,33 Mio. Tiere in der Milchproduktion in 74.685 Beständen gehalten (Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten 2004). Jedoch variieren Haltungsform und -art, bedingt durch die jeweilige geographische Lage, das Klima und die Bodenbeschaffenheit sehr stark. Im Voralpengebiet werden Jungtiere traditionsgemäß über die Sommermonate auf Almen ausgetrieben, wo sie einem weitaus höheren Risiko ausgesetzt sind an Fasziole zu erkranken.

Die Angaben über die Verbreitung der Fasziole in Deutschland variieren regional sehr stark. Aus den norddeutschen Gebieten sind lokale Prävalenzen von 2,4% bis >30% bekannt (Berning 2002, Funk 1984). Die Gründe für die regional nach wie vor relativ hohen Prävalenzen sind vielschichtig. Häufig trägt die beim Rind vorkommende subklinische Form der Fasziole sowie die Schwierigkeit der Diagnose mittels der koproskopischen Untersuchung maßgeblich dazu bei. Darüber hinaus sind in Deutschland derzeit für laktierende Rinder keine Fasziole mehr zugelassen. Daher stellt somit diese Tierkategorie ein Reservoir für *F. hepatica* dar.

Bisher gibt es in Bayern nur punktuelle Untersuchungen über das serologische Vorkommen von *F. hepatica* (Schmitt et al. 1994).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist daher, die Seroprävalenz von *F. hepatica* im gesamten bayerischen Milchviehbestand anhand von Tankmilchproben zu ermitteln und im Hinblick auf gezielte Bekämpfungsmaßnahmen aufzuzeigen.

2 Literaturübersicht

2.1 Historisches zu *F. hepatica*

Im Jahr 1999 wurde durch einen palaeoparasitologischen Befund aus Karsdorf, Sachsen-Anhalt belegt, dass es in Deutschland schon vor 4.500 Jahren Infektionen mit *F. hepatica* gegeben haben muss. Durch die Untersuchung von sowohl menschlichen als auch tierischen Koprolithen und Sedimentproben wurden einige gut erhaltene Eier von *F. hepatica* und *Capillaria spp.* zutage gebracht (Dittmar und Teegen 2003).

Im Jahre 1831 stellte ein Inspektor aus dem Altmühltal infolge einer Überschwemmung fest, dass „... der Nachteil, den schlechtes, kothiges, riechendes Futter auf die Gesundheit des Viehbestandes äußert, solchen sogar Seuchen periodisch hinwegrafft und den Landmann in die bedenklichste Lage, wohl auch in drückende Armuth versetzt“ (Anonymus). Mit dem Begriff „Seuche“ wird auf die sog. Leberegelseuche angespielt. Noch um die 19. Jahrhundertwende wurde in manchen Gemeinden, die an der Altmühl zwischen Pappenheim und Dietfurt in der Oberpfalz liegen, ein Drittel des Viehbestandes durch die „Seuche“ vernichtet.

2.2 Systematische Einteilung von *F. hepatica*

Fasciola hepatica gehört zum Stamm der Plathelminthes, Klasse der Trematoda (Saugwürmer), Unterklasse Digenea, Familie der Faszioleidae. Er ist ein zwittriger, lorbeerblattförmiger Egel von ca. 1,5 - 3 cm Länge und ca. 0,4 - 1,3 cm Breite. Als Zwischenwirt fungiert in Deutschland die Zwergschlamm Schnecke *Lymnaea truncatula*. Die Endwirte sind Herbivoren wie Rind, Schaf, Pferd und Wildwiederkäuer sowie das Schwein und auch der Mensch (Schnieder 2000). Die durchschnittliche Lebensdauer der Parasiten beträgt beim Rind nach einer Erstinfektion 9 bis 26 Monate (Eckert et al. 2005).

2.3 Ätiologie und Entwicklungszyklus des Parasiten

2.3.1 Entwicklungszyklus

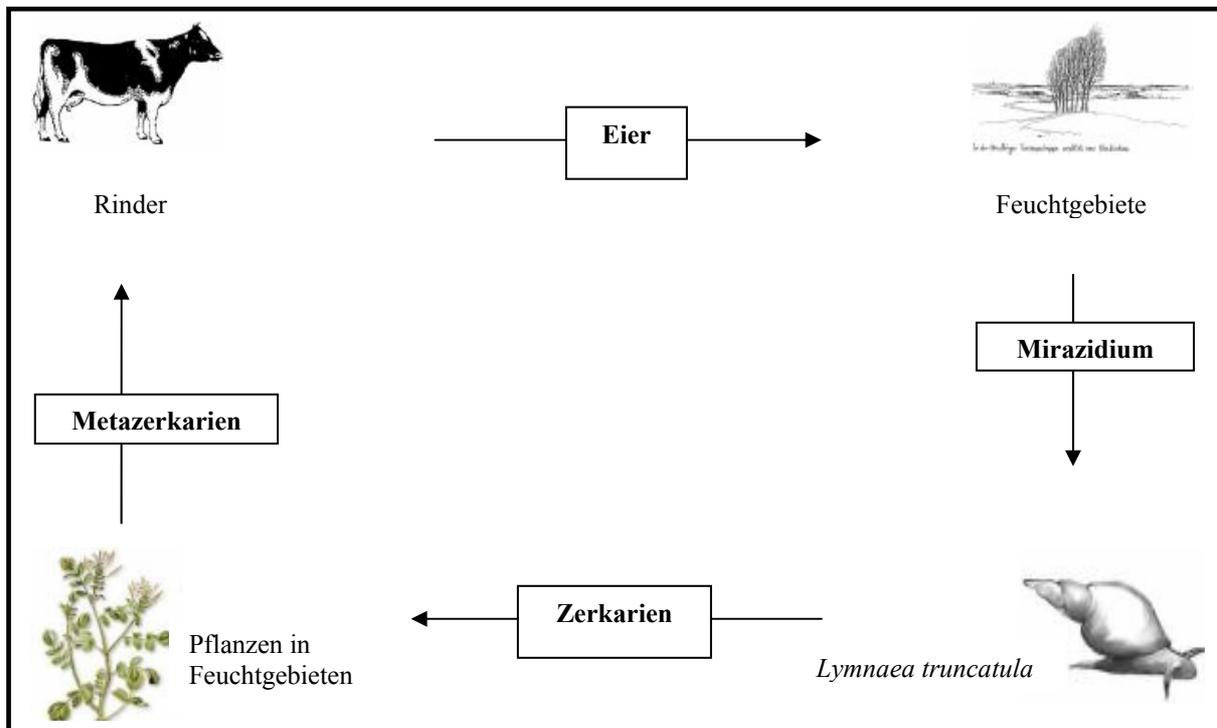


Abbildung 1: Entwicklungszyklus und Überträger der Entwicklungsstadien von *F. hepatica*.

2.3.2 Der Zwischenwirt *Lymnaea truncatula*

Als Zwischenwirt für *F. hepatica* dient in Europa die amphibisch lebende Zwergschlammschnecke *Lymnaea truncatula*. Sie ist eine zu den Lungenschnecken gehörende Süßwasserschnecke mit einem rechts gewundenen, 7 - 12 mm großen Gehäuse. Die Zwergschlammschnecke ist in Europa weit verbreitet und kommt sowohl im Flachland als auch in Berggebieten vor. Man findet sie vorwiegend in seichten, undurchlässigen Böden (Süßwasseransammlungen), alkalihaltigen, ständig feuchten, z.T. überfluteten Randzonen von Bächen, Quellen und Flüssen (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Vorübergehende Austrocknung des Habitats können die Schnecken dadurch überstehen, dass sie sich in Erdspalten verkriechen oder die Mündung des Gehäuses auf den Untergrund pressen und so größere Flüssigkeitsverluste vermeiden (Eckert et al. 2005).

Unter den klimatischen Bedingungen in Mitteleuropa entwickelt sich i. d. R. nur eine Schneckengeneration pro Jahr. Überwinterter Altschnecken legen von März bis April Eier, aus denen gegen Mai die ersten Jungschnecken schlüpfen. In der Folgezeit kommt es zu einer weiteren Vermehrung und einem Anstieg der Schneckenanzahl mit einem Maximum im August (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

2.3.3 Eier von *F. hepatica*

Die Eier des Großen Leberegels haben eine Größe von ca. 80 x 140 µm mit einer charakteristischen „gelblichen“ Färbung sowie einem deutlich sichtbarem Operkulum (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Die geschlechtsreifen Egel können pro Tag bis zu 20.000 Eier ablegen, die im Fluss der Galle über die Gallenblase und den Darm mit dem Kot an die Außenwelt gelangen. Ein Persistieren der Eier in der Gallenblase bis zu 16 Wochen und eine schubweise Abgabe ist möglich (Eckert et al. 2005). Die Embryonalentwicklung bis zum Mirazidium findet nur im wässrigen Milieu bei Temperaturen über +10°C und ausreichender Sauerstoffzufuhr statt (Luzon-Pena et al. 1995). In Mitteleuropa dauert die Entwicklung vom Ei zum Mirazidium bei günstigen Temperaturen ca. drei bis vier Wochen (Eckert et al. 2005). Unter +10°C stagniert die Weiterentwicklung. Im Stalpmist können die Eier 10 Tage überdauern, in Heu und Silage bis zu einem Monat, in der Gülle sogar bis zu acht Wochen im Sommer bzw. 11 Wochen im Winter (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

2.3.4 Mirazidien von *F. hepatica*

Durch Lichtreize stimuliert schlüpft das im Ei gebildete reife Mirazidium (Länge ca. 130 µm) im Wasser. Die Glykogenvorräte der Wimperlarven ermöglichen ihnen nur eine Überlebensdauer außerhalb des Zwischenwirtes von ca. 20 - 30 Stunden.

Sie führen zunächst ungerichtete, schnelle Schwimmbewegungen aus, streben dann aber in Richtung Licht zur Wasseroberfläche und gelangen so zu den Habitaten des Zwischenwirtes (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000). Chemotaktisch durch die Glykokonjugate der Schnecke angelockt dringt das Mirazidium mit Hilfe proteolytischer Enzyme in die Schnecke ein. Dieser Prozess findet nicht unter +5°C statt und verläuft bei +15 - 26°C optimal (Eckert et al. 2005).

2.3.5 Zerkarien von *F. hepatica*

Nach dem Eindringen in die Schnecke verliert die Wimperlarve ihre Zilien und wandert als junge Sporozyste in die Verdauungsdrüsen des Zwischenwirtes. Hier entwickeln sich aus den vorhandenen Keimzellen in der Sporozyste Redien der I. Generation (Mutterredien) aus der sich weitere Redien bilden (II. und III. Generation) oder Zerkarien (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000). Die ovalen Zerkarien (Schwanzlarven) verlassen frühestens sieben Wochen post infectionem die Schnecke. Die Schnecken geben wochen- bis monatelang Zerkarien frei. Aus einem Mirazidium entwickeln sich einige hundert Zerkarien. Bei geringen Außentemperaturen wird der Entwicklungszyklus im Zwischenwirt unterbrochen und bei steigenden Temperaturen wieder fortgesetzt (Eckert et al. 2005).

2.3.6 Metazerkarien von *F. hepatica*

Nach dem Schlüpfen aus der Schnecke schwimmen die Schwanzlarven im Wasser umher und heften sich binnen weniger Minuten an Pflanzenteile oder anderen Unterlagen fest (Schnieder 2000). Durch Abwerfen des Schwanzes und einer Zystenwandbildung entstehen die weißlich-gelblichen, kugeligen Metazerkarien (etwa 250 µm groß). Sie stellen die infektiöse Form dar (Eckert et al. 2005).

Die Überlebensdauer im Heu beträgt bei +20°C mindestens 12 Tage; bei +40°C ca. sieben Tage. Temperaturen unter -19°C und über +43°C überstehen die Metazerkarien keine 24 Stunden (Schnieder 2000). Das Überleben unter europäischen Winterbedingungen ist somit durchaus möglich.

Ungefähr eine Stunde nach oraler Aufnahme (mit Grünfutter oder Tränke aus Oberflächenwasser) beginnen die Metazerkarien zu exzystieren. Ausgelöst wird dieser Prozess durch den Temperaturanstieg und den erhöhten CO₂-Partialdruck sowie durch die Gallenflüssigkeit im Duodenum. Der Jungegel, auch Praeimago genannt, wandern durch die Darmwand und gelangt innerhalb von etwa 24 Stunden in die freie Bauchhöhle. Nach 48 Stunden durchdringen die Jungegel die Leberkapsel. Die Mehrzahl hat nach sechs Tagen das Leberparenchym erreicht. In der Leber wandern sie für fünf bis sechs Wochen und ernähren sich vom Leberparenchym. Innerhalb von etwa acht Wochen wachsen die Egel von ca. 4 auf 23 mm an (Schnieder 2000). Nach der Parenchymwanderung treten sie in die großen Gallengänge über, wo sie die Geschlechtsreife erreichen, Eier ablegen und bis zum Absterben verbleiben. Die Eiablage beginnt beim Rind nach ca. 10 - 12 Wochen nach Aufnahme der Metazerkarien, was vom Alter der Rinder und deren Immunabwehr abhängig ist (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Dies ergibt eine Zyklusdauer von 20 - 23 Wochen (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

2.4 Pathogenese und Pathologie

Die Krankheitssymptome der Fasziole sind vorwiegend auf die Aktivität der Parasiten in der Leber und die dadurch entstandenen Läsionen und pathophysiologischen Störungen zurückzuführen.

Durch die Wanderung der juvenilen Stadien vom Dünndarm in die Peritonealhöhle kommt es in der Darmwand zu lokalen, fibrinösen Auflagerungen, die jedoch i. d. R. unproblematisch abklingen. Bei einem massiven Befall kann es zu einer Peritonitis mit serösen Exsudationen kommen. Die darauf folgende Migration der Jungegel durch die Leberkapsel kann zu einer Ruptur derselbigen führen. In Folge dessen kommt es zu einem Einbluten in die Körperhöhle; die Tiere können plötzlich verenden.

Die Wanderung der juvenilen Egel durch das Leberparenchym vollzieht sich durch Zerstörung von Wirtszellen. Aufgrund dessen kommt es zu einer Freisetzung der Leberenzyme Glutamatdehydrogenase (GLDH), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Aspartataminotransferase (AST) und deren Anstieg sowie zu einer Stimulation der eosinophilen Granulozyten (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000, Kraft et al. 1999).

Makroskopisch sind in der Leber geschlängelte, dunkelbraun-rote Streifen sichtbar. Dabei handelt es sich um die Wandergänge der Egel, die mit Zelltrümmern und Blut angefüllt sind. Das gleichzeitige Auftreten frischer und vernarbter Wandergänge führt zu einer Marmorierung der Leber. Das Organ kann vergrößert und stellenweise mit Fibrinauflagerungen bedeckt sein. Die Leberlymphknoten sind meistens vergrößert und schwarz-braun pigmentiert (Eckert et al. 2005, Hermanns 1999).

Infolge der Einwanderung und Etablierung der Egel in die Gallengänge kommt es zu einer chronischen Entzündung der Gallengangswand (Eckert et al. 2005). Der adulte Leberegel sezerniert Prolin in hohen Konzentrationen, was zu Bindegewebszubildungen führt. Häufig wird eine hämorrhagische Anämie aufgrund einer Zerstörung des Leberparenchyms beobachtet. Der Hämoglobinwert kann ebenfalls erniedrigt sein. Durch die Lockerung der Zellverbände kann es zu einem Serumaustritt in die Gallengänge kommen. Dies kann zu einer Hypalbuminämie führen (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000, Herrmanns 1999).

Makroskopisch fallen die bis zu fingerdicken, weißen Gallengänge auf. Sie sind angefüllt mit Parasiten, schwarz-braunem Konkrement und Schleim.

2.5 Klinik

Bei einem stärkeren Befall des Rindes mit *F. hepatica* lassen sich drei Formen der Fasziolose unterscheiden, während bei einer geringeren Befallsstärke i. d. R. alle Phasen einer Infektion lediglich asymptomatisch verlaufen.

Die akute Fasziolose tritt beim Rind äußerst selten auf (Schnieder 2000). Sie kommt durch eine Masseninvasion und Penetration der juvenilen Stadien durch die Darmwand in die Peritonealhöhle zustande und tritt unter natürlichen Bedingungen gelegentlich nur in den sog. „Leberegeln“ nach einer Masseninvasion in den Spätsommer- und Herbstmonaten auf (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Es können Symptome wie Schwäche, Inappetenz, Apathie, Abdominalschmerzen, Anämie und plötzliche Todesfälle beobachtet werden. Experimentell konnte beim Rind eine akute Form mit 10.000 Metazerkarien je Tier ausgelöst werden (Gründer 1978).

Bei der subakuten Form, die durch wandernde Jungegel und adulte Egel in der Leber sowie juvenilen Stadien in der freien Bauchhöhle ausgelöst wird, kommt es zu Symptomen wie Inappetenz, Peritonitis, Hepatitis, Leberdystrophie und Anämie mit plötzlichem Verenden der Tiere (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000, Rosenberger et al. 1995).

Die chronische Fasziolose ist die beim Rind am häufigsten beobachtete Form. Sie ist auf die Besiedelung der Gallengänge mit adulten Egel zurückzuführen (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000, Gründer 1978). Das Krankheitsbild tritt meist während der Stallperiode im Winter bei Tieren auf, die im vorangegangenen Sommer auf der Weide gehalten wurden. Je nach Region kann die chronische Fasziolose bei Milchkühen seltener als bei Jungrindern beobachtet werden, da die Weiden von Milchkühen meist in einem besseren Zustand sind als die der Jungviehweiden (Schnieder 2000). Das Krankheitsbild ist geprägt von verminderter Futteraufnahme, Abmagerung, Anämie, Apathie, Leistungsminderung (vor allem der Milchleistung), Lebersymptome, Fruchtbarkeits- und sogar Abortprobleme, die i. d. R. im Laufe des Winters stark zunehmen können. Selten kann man Abweichungen der Körpertemperatur nach oben bzw. unten beobachten. Die Leber kann vergrößert und schmerzhaft sein (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000). Nicht oft wird ein Ikterus hervorgerufen (Rosenberger et al. 1995). Tierverluste sind selten (Schnieder 2000).

Bei einer Blutuntersuchung lassen sich eine Hypoalbuminämie, erhöhte GGT-Werte und eine Eosinophilie feststellen (Schnieder 2000, Rosenberger et al. 1995). Der Anstieg der GGT-Konzentration ist spezifisch für eine Erkrankung der Leber- und Gallengänge (Kraft et al. 1999). Je nachdem lassen sich mittels der koproskopischen Methode Eier nachweisen; eine Untersuchung ist sicherlich angezeigt.

Tabelle 1: Klinische Formen der Fasziole des Rindes nach Eckert et al. (2005)

Formen der Fasziole			
	akut	subakut	chronisch
Vorkommen	äußerst selten	selten	häufigste Form
Bevorzugtes Auftreten in Mitteleuropa	September - November	Oktober - Dezember	Dezember - April
Symptome	Schwäche, Inappetenz, Apathie, Abdominalschmerzen, Anämie, plötzliche Todesfälle	Inappetenz, Leistungsminderung, Abort, Anämie, Abmagerung	Inappetenz, Leistungsminderung, Abort, Anämie, Abmagerung, Aszites, Kümern
Krankheitsdauer	wenige Tage	einige Wochen	Wochen - Monate
Pathologie der Leber	Wandergänge im Parenchym, Blutungen, Fibrinauflagerungen, Peritonitis	Wandergänge im Parenchym, verdickte Gallengänge, Fibrose	Fibrose und Zirrhose, verdickte Gallengänge mit mineralischen Einlagerungen
Eier im Kot	nein	z. T. vorhanden	vorhanden

2.6 Diagnostik

Die Fasziole-Bekämpfung erfordert die Anwendung einfacher, verlässlicher und spezifischer Diagnostikmethoden.

2.6.1 Intravitaldiagnostik

Der koproskopische Nachweis von *F. hepatica* Eiern im Kot stellt heute immer noch das meist genutzte und einfachste Verfahren dar. Durch das Sedimentationsverfahren können Eier während der Patenz im Wiederkäuerkot nachgewiesen werden (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Nachteilig dabei ist jedoch die geringe Sensitivität beim Einzeltier die bei etwa 40 - 60% liegt. (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000, Boray 1969) Daher ist es von Vorteil immer mehrere Tiere eines Bestandes (ca. 10%, jedoch mindestens fünf Tiere) zu untersuchen, um eine genauere Aussage in Bezug auf die Herdensituation zu erhalten (Eckert et al. 2005). Conceição et al. (2004) geben an, dass durch die Modifikation der Sedimentationsmethode nach McMaster die Sensitivität auf 83,3% erhöht werden konnte.

Durch die Schwankungen der Eiausscheidung von Tag zu Tag und im Verlauf eines Tages sowie die schubweise Entleerung der Gallenblase können Tiere trotz einer *F. hepatica* Infektion negative Probenergebnisse in der koproskopischen Untersuchung aufweisen (Braun et al. 1995).

Die Punktion der Gallenblase zur Gewinnung von Galle wurde ebenfalls beschrieben; sie findet unter Ultraschallkontrolle statt. Die Untersuchung der Gallenflüssigkeit durch Gallensedimentation stellt mit einer Sensitivität von 98% ein weiteres Verfahren zur *F. hepatica* Diagnostik dar (Braun et al. 1995). Dieses invasive Verfahren der Gallenblasenpunktion wird jedoch eher auf eine Einzelfalldiagnose in der Klinik beschränkt bleiben (Eckert et al. 2005).

Da koproskopische Untersuchungen i. d. R. einen zu geringen Prozentsatz der tatsächlich infizierten Tiere widerspiegeln, sind sie für die epidemiologische Überwachung der Fasziose von begrenzter Bedeutung (Pourquier et al. 1996). Sie werden in zunehmendem Maße durch immundiagnostische Testverfahren ersetzt.

Für die Fasziose-Diagnostik auf Herdenbasis eignen sich besonders immundiagnostische Verfahren (Eckert et al. 2005). Einen auf monoklonalen Antikörper basierenden Sandwich-ELISA entwickelten Duménigo et al. (1996) zum Nachweis von *F. hepatica* Antigenen im Kot. Bei allen experimentell infizierten Rindern konnte das mAB-Antigen nachgewiesen werden. Die Autoren halten den Sandwich-ELISA mit einer Spezifität von 100% für eine einfache und schnelle Methode um einen aktiven Leberegelbefall beim Rind zu diagnostizieren. Des Weiteren weisen Koproantigen-ELISA-Verfahren eine höhere Spezifität auf als der Antikörpernachweis (Schnieder 2000).

Farrell et al. (1981) verglichen einen sog. freshly collected fluke antigen-ELISA (FFA-ELISA) und lyophilized fluke antigen-ELISA (LFA-ELISA) mittels experimentell und natürlich infizierter Rinder. Mit dem FFA-ELISA konnten bei Kälbern bereits vier Wochen p. i. *F. hepatica*-AK nachgewiesen werden; mit dem LFA-ELISA erst nach 9 - 10 Wochen p. i.. Cornelissen et al. (2001, 1999) entwickelten einen indirekten ELISA mit dem gereinigten L-Like cathepsin. Sie konnten im Serum von Rindern und Schafen fünf bis sieben Wochen p. i. Antikörper gegen *F. hepatica* nachweisen.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde der von Pourquier et al. (1995) entwickelte ELISA mit einem spezifischen aus exkretorischen/sekretorischen Produkten von *F. hepatica* gewonnenen, gereinigten »f2«-Antigen eingesetzt. Der ELISA-Test korreliert mit dem passiven Hämagglutinations-Test nach Levieux et al. (1992) und weist nach Angaben des Herstellers aufgrund einer externen Prüfung eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 99% auf (Reichel 2002). Der Test ist insbesondere für gepoolte Serum- und Milchproben geeignet und erlaubt somit eine Aussage über die momentane Herdensituation. Pourquier et al. (1996) halten dieses Testverfahren für ein geeignetes Mittel, um epidemiologische Studien durchzuführen und Risikogebiete aufzuzeigen.

2.6.2 Postmortaldiagnostik

Die Beurteilung der Leberveränderungen post mortal bei der Schlachtung ist die einfachste Methode einen Befall mit *F. hepatica* nachzuweisen. Durch den Anschnitt des Organs können juvenile Wanderstadien im Leberparenchym und adulte Leberegel in den Gallengängen nachgewiesen werden (Eckert et al. 2005).

Eine weitere post-mortem-Untersuchungsmethode ist der Nachweis von *F. hepatica* Eiern im Sediment der Galle (Eckert et al. 2005, Braun et al. 1995).

2.7 Immunreaktionen

Nach Schnieder (2000) bildet sich beim Rind keine protektive Immunität aus. Jedoch können sich die Rinder nach einigen Monaten der Wurmbürde entledigen.

Als Hauptursachen der sog. Selbstreinigung, die nur bei Rindern beobachtet werden kann, ist vermutlich die ausgeprägte Fibrose in der Leber und eine Gallengangsepithel-Hyperplasie verantwortlich (Eckert et al. 2005). *Fasciola hepatica*-Infektionen rufen eine humorale und zelluläre Immunreaktion hervor. Die Leberegel-Wirt-Interaktionen werden im Wesentlichen durch die vom Egel abgegebenen exkretorischen und sekretorischen Antigene sowie durch die Oberflächen-Antigene bestimmt (Schnieder 2000).

Die eosinophilen Granulozyten und der IgG-Serumspiegel sowie die Anzahl der IgA- und IgM-sezierenden Zellen in der Leber sind erhöht. Die Egel bilden im Endwirt verschiedene Sekretionsgranula, die stadienspezifische Antigene exprimieren. So sind T0-Granula spezifisch für Metazerkarien und exzystierte Jungegel, T1-Granula für die in der Leber wandernden Egel und T2-Granula für adulte Egel. Es kommt zu einer Adhärenz von neutrophilen Granulozyten an den Egel und einer Antigen-Antikörper-Komplexbildung. Letztere tragen dazu bei, den Leberegel vor Wirtsreaktionen zu schützen (Schnieder 2000).

2.8 Epidemiologie

Unter den klimatischen Bedingungen in Mitteleuropa entwickelt sich i. d. R. nur eine Schneckengeneration pro Jahr (siehe Kapitel 2.3.2).

Beim Ein-Jahres-Zyklus erfolgt die Infektion der Schnecken mit Mirazidien vor allem im Frühsommer, so dass im Spätsommer und Herbst zahlreiche Zerkarien frei werden und sich zu Metazerkarien enzystieren können. Somit besteht ab dem Spätsommer bis zum Ende der Weideperiode ein erhöhtes Infektionsrisiko für den Endwirt (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Beim seltener auftretenden Zwei-Jahres-Zyklus, der eher in höheren Berglagen Mitteleuropas vorkommt, infizieren sich die Schnecken mit Mirazidien im Herbst. Die Entwicklung der Zerkarien ist über den Winter hinweg gehemmt und wird erst wieder bei steigenden Temperaturen abgeschlossen.

Ab dem Frühjahr verlassen dann die Zerkarien die Schnecken. Der Endwirt kann sich somit daher schon im Frühsommer mit Metazerkarien infizieren (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Ein erhöhtes Ansteckungsrisiko liegt in Mitteleuropa in den Spätsommer- und Herbstmonaten vor. Im Frühsommer hingegen besteht eher ein geringes Risiko.

2.9 Verbreitung

Die Fasziole kommt in allen gemäßigten Klimazonen zumeist lokal, dort jedoch endemisch vor. Voraussetzung für die Verbreitung sind neben den entsprechenden Umweltbedingungen eine Koexistenz von Zwischenwirt, Wirt und Parasit (siehe Kapitel 2.1).

2.9.1 Deutschland

Die Angaben zur Fasziole in Deutschland variieren regional sehr stark.

In den Gebieten der ehemaligen DDR waren in den Jahren 1960 bis 1970 durchschnittlich etwa 50% der Rinder mit *F. hepatica* befallen (Gräfner 1992; 1989). Durch Bekämpfungsmaßnahmen fiel die Prävalenz 1976 auf 6,24% und bis im Jahr 1981 auf 1,5% (Gräfner 1992; 1989). Hiepe (1984) stellt mit 2,8% ein ähnliches Ergebnis fest.

Für die Weidegebiete in Schleswig-Holstein wurden in den 70-iger und 80-iger Jahren sehr hohe Prävalenzen von 55% - 85% erhoben (Runge 1992, Messerer 1985, Funk 1980, 1976, 1973). Diese Autoren berichten, dass die Prävalenz aufgrund von Bekämpfungsmaßnahmen in den Folgejahren auf 5% gesenkt werden konnte. Seit 1981 ist sie jedoch wieder ansteigend, was nach Meinung von Messerer (1985) auf nachlassende Bekämpfungsmaßnahmen zurückzuführen ist. In den Jahren 1986 und 1987 waren 2,5% aller geschlachteten Rinder am Schlachthof Husum mit *F. hepatica* befallen (Berning 2002). In Nordfriesland konnte seit 1972 bis 1980 ein Rückgang der beanstandeten Schlachtungen anlässlich eines Leberegelbefalls von 10% auf unter 1% beobachtet werden (Funk, 1984).

In Nord-Niedersachsen konnte anhand von Schlachtbefunden eine Prävalenz von 1,09% festgestellt werden (Berning 2002).

Das Chemische- und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg stellte im Jahr 2000 bei 380 untersuchten Kotproben eine Leberegel-Prävalenz von 8,7% für den Regierungsbezirk Freiburg fest. Im Jahr 2003 lag die Prävalenz hier bei 5,5% (285 untersuchte Kotproben). Die entsprechenden Jahresberichte enthielten nur Informationen über den gesamten Leberegelbefall, eine Unterscheidung zwischen einem Befall mit *F. hepatica* und *Dicrocoelium dentriticum* wurde nicht vorgenommen (Jahresberichte des Chemische- und Veterinäruntersuchungsamtes Freiburg 2000, 2003). 2004 wurden von insgesamt 396 Kotproben sechs positiv gewertet (persönliche Mitteilung Dr. Huwer, Chemische- und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg, 2005).

In Bayern variiert die Befallshäufigkeit sehr stark.

Der Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. (TGD) stellte anhand von koproskopischen und serologischen Untersuchungen 1993 bis 1994 in zwei Landkreisen im Voralpenraum Befallshäufigkeiten auf Herdenebene von bis zu 73% fest. In den betroffenen Gemeinden betrug der Anteil infizierter Herden 22% – 100% (Schmitt et al. 1994). Dies bestätigen auch die Zahlen von Pfister und Koch (2004). Hier wurden bei Untersuchungen in den Jahren 2003 bis 2004 insbesondere im Voralpenraum Befallsfrequenzen von bis zu 70% nachgewiesen.

Das Bayerische Landesamt für Gesundheit- und Lebensmittelsicherheit (LGL, Dienststelle Oberschleißheim) untersuchte in den Jahren 2000 bis 2004 insgesamt 24.273 Kotproben aus Gesamtbayern. 2.705 (11%) dieser Kotproben enthielten Eier von *F. hepatica*. Bei der Zahl der Proben ist jedoch zu beachten, dass sie Kälber im Alter ab sechs Wochen beinhaltet, welche noch keine Eier ausscheiden können, d. h. der Prozentsatz dürfte somit höher sein. Die Dienststelle Erlangen konnte in den nördlichen Regionen Bayerns in Kotproben nur vereinzelt Leberegleier nachweisen (persönliche Mitteilung Dr. Raith, 2005).

Am Schlachthof Traunstein wurde bei einer Stichprobenkontrolle im März 2005 16,8% der untersuchten Rinderlebern wegen Leberegelbefalls verworfen (persönliche Mitteilung Dr. Hoffmann, Schlachthof Traunstein, 2005).

2.9.2 Europa

Eckert et al. (1975) untersuchten an zwei Schlachthöfen in der Schweiz die Galle von Rindern auf Eier von *F. hepatica*. Die Prävalenz der 1.496 untersuchten Tiere lag bei 15%. Anfang der 90-er Jahre untersuchten Ducommun und Pfister (1991) in einer Studie die Lebern und Gallenblasen von 2.033 Schlachtrindern aus der gesamten Schweiz. Der Große Leberegel wurde bei 2,2% der männlichen Mastbullen und 16,4% der weiblichen Tiere nachgewiesen. Die durchschnittliche Prävalenz betrug 10,9%.

Hertzberg et al. (2003) stellten bei einer Untersuchung von Rinderweidemastbetrieben in der Ostschweiz anhand von Kotanalysen einen Befall mit *F. hepatica* von 19% fest. Die Tiere stammten aus einer Biovermarktung und wurden eher extensiv in den voralpinen und alpinen Regionen gehalten. An einem Schlachthof in der Ostschweiz wurden in einer Studie 3.276 Lebern von Schlachtrindern auf Leberegel kontrolliert und konnten bei 8,4% der Tiere nachgewiesen werden (Schweizer et al. 2003). Aufgrund dieser Ergebnisse scheint die Prävalenz in den letzten Jahren in der Schweiz tendenziell leicht gesunken zu sein. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die frühere Untersuchung auf dem Nachweis von Leberegeln in der Leber und Leberegeleiern in der Gallenblase beruhten, während bei den aktuelleren Ergebnissen keine Untersuchung der Gallenblase vorgenommen wurde. Braun et al. (1995) beschreiben, dass der Leberegel-Nachweis durch Eier in der Galle um ca. 13% höher ist als der in der Leberuntersuchung.

Für das mitteleuropäische Festland macht Hoffmann (1984) Angaben über die Niederlande. Abhängig von der Bodenbeschaffenheit liegt hier die Prävalenz für *F. hepatica* zwischen 15,4% und 20%. Entsprechend konnte in Zentral-Frankreich mittels koproskopischer Untersuchungen in den Jahren 1990 bis 1993 ein Anstieg der Prävalenzen von 13,6% auf 25,2% beobachtet werden. Diese konnte bis 1999 infolge konsequenter Bekämpfungsmaßnahmen auf einen Wert von 12,6% reduziert werden (Mage et al. 2002). In Belgien sind seit Anfang der 1960-er bis 1997 die serologische Prävalenzen gleich bleibend. Sie lagen in diesem Zeitraum zwischen 10,2% und 19,2% (Lonneux et al. 2000).

1997 untersuchten Sánchez-Andrade et al. (2000) vier Regionen Galiziens (Spanien) mit fünf verschiedenen Klimabedingungen und konnte bei 85,1% der Tiere Antikörper gegen *F. hepatica* mittels eines indirekten ELISA's nachweisen. In einer weiteren Studie in Galizien konnten diese Zahlen bestätigt werden. Die festgestellte Prävalenz lag bei 84,3% (Sánchez-Andrade et al. 2000).

In Portugal wurden in der Region Vagos mittels eines ELISA-Verfahrens Prävalenzen zwischen 11% und 48% nachgewiesen, wobei die Frequenzen je nach Jahreszeit variieren (Conceição et al. 2004). Bei einer Untersuchung in der Provinz Novara in Italien waren im Jahr 1978 28,4% der geschlachteten Rinder in der Region mit *F. hepatica* infiziert (Balbo et al. 1978). Mittels einer koprologischen Studie in der südlichen Region des Apennines in Italien konnten im Jahre 1999-2000 bei 11,1% der untersuchten Rinder Eier von *F. hepatica* nachgewiesen werden (Cringoli et al. 2002).

An Schlachthöfen in Irland wurden in den Jahren 1983 und 1989 45% bzw. 40% der Rinderlebern aufgrund eines Befalls mit *F. hepatica* verworfen (McIlroy et al. 1990, Taylor 1989).

Froyd (1975) untersuchte im Zeitraum von 15 Monaten 213.082 Lebern von Rindern in Großbritannien. 21% der Rinder waren mit *F. hepatica* infiziert, während Taylor (1989) eine Prävalenz von 10% angibt.

2.10 Wirtschaftliche Bedeutung

Die meist chronisch verlaufende Fasziole verursacht hohe wirtschaftliche Schäden durch eine verminderte Futtermittelverwertung, verminderte Mastleistung, geringere Gewichtszunahme bei laktierenden Kühen, ein erhöhtes Erstkalbalter und eine verminderte Milchleistung von bis zu 450 Liter/Jahr (Ilchmann et al. 2002, Simmank 1987).

Auch der Wegfall von Lebern ist bedeutsam, mussten doch im Jahr 1983 in der ehemaligen DDR ca. 160.000 kg Rinderlebern vernichtet werden. 1987 waren es sogar 270.000 kg (Gräfner 1992).

Schweizer et al. (2004) schätzen die Schäden für die Schweiz im Rahmen einer Hochrechnung auf ca. 376 € pro infiziertem Tier.

2.11 Bekämpfung

Die planmäßige Bekämpfung der Fasziose beim Rind sollte

- (a) auf dem strategischen Einsatz von Faszioziden nach vorheriger diagnostischer Erfassung, zumindest auf Bestandesebene sowie
- (b) auf begleitenden Maßnahmen zur Infektionsprophylaxe beruhen (Hertzberg et al. 2002).

2.11.1 Medikamentelle Bekämpfung

In Deutschland stehen nach der 11. Novelle (November 2002) des Arzneimittelgesetzes (AMG) z. Zt. nur die in Tab. 2 genannten Fasziozide zur Bekämpfung der Fasziose beim Rind zur Verfügung.

Tabelle 2: In Deutschland zur Anwendung bei WDK zugelassene, gegen *F. hepatica* wirkende Anthelmintika nach Hertzberg et al. (2002).

Wirkstoffgruppe	Wirkstoffe
1. Benzimidazole	Triclabendazol
	Albendazol
2. Salizylsäureanilide	Closantel
	(Oxyclozanid (nur mit Ausnahmegenehmigung))

2.11.1.1 Benzimidazole

2.11.1.1.1 Triclabendazol

Triclabendazol gehört zu der Gruppe der Benzimidazol-Anthelmintika, die oral verabreicht werden kann und ist ausschließlich gegen Trematoden wirksam.

Triclabendazol zeigt eine hohe Wirkung gegen die juvenilen und die adulten Egel (Fairweather und Boray 1999, Richards et al. 1990).

Sein Wirkungsmechanismus ist noch nicht genau bekannt, es hemmt die Kolchizinbindung und die Freisetzung proteolytischer Enzyme in den Leberegeln (Fairweather und Boray 1999). Triclabendazol ist unter dem Namen Fasinex[®] 10% (Novartis Tiergesundheit GmbH) in einer 10%-igen Suspension für Rinder und Schafe sowie als Triclaben[®] 10% (PHARMONOVO GmbH, medistar Arzneimittel-Vertrieb GmbH) auf dem Markt. Die Indikation ist für alle drei klinischen Formen (akute, subakute, chronische) der Fasziole gegeben.

Triclabendazol ist beim Rind in einer Dosis von 12 mg/kg KGW wirksam (VETIDATA 2005, Hertzberg et al. 2002).

Die Behandlung besteht aus einer einmaligen oralen Verabreichung. Der Sicherheitsindex (SI: Index für die Verträglichkeit = maximal tolerierte einmalige Dosis dividiert durch einmalige therapeutische Dosis) liegt bei 15.

Bei starker Sonnenbestrahlung können nach einer Behandlung gelegentlich bei Rindern Entzündungen an unpigmentierter Haut beobachtet werden.

Es besteht ein Anwendungsverbot bei milchliefernden Tieren deren Milch für den menschlichen Verzehr gewonnen wird, auch während deren Trockenstehzeiten. Wegen der Abort auslösenden Wirkung sollte Triclabendazol nicht bei trächtigen Färsen in den letzten zwei Monaten vor dem Geburtstermin angewendet werden (VETIDATA 2005, Hertzberg et al. 2002).

Die Wartezeit für essbares Gewebe liegt je nach Präparat zwischen 50 und 56 Tagen, genauere Hinweise sollten dem Beipackzettel entnommen werden (VETIDATA 2005, Hertzberg et al. 2002).

Triclabendazolresistenzen konnten in Holland, England, Irland und Australien nachgewiesen werden (Borgsteede 2005, Bauer 2004, Moll et al. 2000, Fairweather und Boray 1999).

2.11.1.1.2 Albendazol

Albendazol hemmt die Polymerisation von Mikrotubuli durch spezifische Bindung an beta-Tubulin. Es hat eine wesentlich höhere Bindungsaffinität für das parasitäre beta-Tubulin als für das tierische Analog. Deshalb besteht eine selektive Toxizität für die Parasiten, welche allmählich absterben und ausgeschieden werden (Scholtysik und Kaufmann 1996). Albendazol befindet sich unter der Bezeichnung Valbazen[®] 10% (Pfizer GmbH Karlsruhe), Albendazol[®] 10%ige Suspension (aniMedica GmbH) und Vermitan[®] 2,5% (Ceva Tiergesundheit GmbH) im Verkehr (VETIDATA 2005).

Albendazol kann in einer Dosis von 10 mg/kg KGW gegen den Großen Leberegel und in einer Dosis von 7,5 mg/kg KGW gegen Nematoden eingesetzt werden (VETIDATA 2005, Hertzberg et al. 2002).

Der Wirkstoff kann zur Bekämpfung der chronischen Fasziolose verwendet werden; jedoch besteht nur eine Teilwirkung gegen adulte *F. hepatica*, keine gegen die juvenile Form (Fairweather und Boray 1999, Richards et al. 1990).

Wegen der evtl. teratogenen Wirkung ist eine Anwendung im ersten Trächtigkeitsmonat nicht gegeben. Der SI liegt beim Rind zwischen 7,5 - 10 (Hertzberg et al. 2002).

Die Wartezeiten beim Rind betragen für essbares Gewebe je nach Präparat 14 bis 28 Tage; für die Milch beträgt sie 5 Tage. Vermitan[®] darf nicht bei Tieren angewendet werden, deren Milch für den menschlichen Verzehr gewonnen wird (VETIDATA 2005, Hertzberg et al. 2002).

2.11.1.2 Salizylsäureanilide

2.11.1.2.1 Closantel

Der Wirkungsmechanismus beruht auf der Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung des Parasiten (Scholtysik und Kaufmann 1996).

Closantel ist in Deutschland als 5%-ige Suspension für Rinder und Schafe unter dem Namen Flukiver[®] (Janssen-Cilag GmbH) zugelassen.

Die Indikation ist für die Behandlung der chronischen Fasziolose gegeben (Richards et al. 1990). Adulte Leberegel werden bei einer Dosis von 10 mg/kg KGW zuverlässig bekämpft (VETIDATA 2005, Hertzberg et al. 2002). Die Applikation erfolgt oral. Der SI liegt beim Rind bei 6. Die Wartezeit beträgt für das Rind bei essbarem Gewebe 28 Tage. Es besteht ein Anwendungsverbot bei Tieren deren Milch für den menschlichen Verzehr gewonnen wird (Hertzberg et al. 2002). Resistenzen von *F. hepatica* gegen den Wirkstoff Closantel konnten in Rinder- und Schafherden Australiens, West Englands und in Wales beobachtet werden (Fairweather und Boray 1999).

2.11.1.2.2 Oxyclozanid

In Deutschland sind derzeit keine Tierarzneimittel mit dem wirksamen Bestandteil Oxyclozanid auf dem Markt (VETIDATA 2005). Durch die 11. AMG-Novelle ist bei der Behandlung der akuten und subakuten Fasziole eine Therapielücke bei laktierenden Kühen, deren Milch für den menschlichen Verzehr gewonnen wird, entstanden (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin).

Daher besteht nach Auskunft des Bayerischen Staatsministeriums für Gesundheit, Ernährung und Verbraucherschutz die Möglichkeit, nach Genehmigung durch die zuständige Behörde, Arzneimittel einzusetzen, die in anderen Mitgliedstaaten zur Behandlung der Fasziole zugelassen sind.

Der entsprechende Antrag zur Genehmigung einer Ausnahme vom Verbringungsverbot nach § 73 Abs. 2 AMG ist bei der Kreisverwaltungsbehörde zu stellen.

Der Wirkungsmechanismus von Oxyclozanid beruht auf denselben Mechanismen wie der von Closantel (s. o.) (Fairweather und Boray 1999).

Der Wirkstoff ist in Frankreich unter dem Namen Zanil[®] (Schering-Plough Animal Health) für milchliefernde Tiere zugelassen. Oxyclozanid ist in einer Dosierung von 10 mg/kg KGW per os zur Bekämpfung der chronischen Fasziole beim Rind geeignet (Richards et al. 1990). Über 10 Wochen alte *F. hepatica* werden wirksam eliminiert. Der relativ niedrige SI liegt bei 2. Tiere mit einem schlechten Allgemeinzustand sollten nicht behandelt werden. Als Nebenwirkungen treten ein Rückgang der Milchleistung für einige Tage, Koterweichung und Durchfall auf (Hertzberg et al. 2002).

Die Wartezeit beträgt für essbares Gewebe 14 Tage; für Milch 0 Tage (Emmerich und Ungemach 2004).

2.11.1.3 Übersicht der Faszioleuzide inklusiv Wirksamkeit

Tabelle 3: In Deutschland einsetzbare Faszioleuzide zur Anwendung beim Rind, modifiziert nach VETIDATA (2005), Hertzberg et al. (2002)

Präparat	Wirkstoff	Wirksamkeit gegen <i>F. hepatica</i>	Zulassung für milchliefernde Tiere	Dosierung Orale Applikation
Fasinex® 10%	Triclabendazol	frühe, ältere juvenile Stadien und adulte Stadien	nein	12 mg/kg KGW
Triclaben® 10%				
Valbazen® 10%	Albendazol	nur in erhöhter Dosis gegen adulte Stadien (chron. Faszioleuzose)	ja	10 mg/kg KGW
Albendazol 10% Suspension®			ja	
Vermitan® 2,5%			nein	10 mg/kg KGW
Flukiver®	Closantel	adulte Stadien	nein	10 mg/kg KGW
Zanil®	Oxyclozanid	> 10 Wochen alte Stadien	mit Ausnahme-genehmigung* nach vorheriger Diagnosestellung	10 mg/kg KGW

*Derzeit in Deutschland kein Tierarzneimittel verfügbar, in denen Oxyclozanid als wirksamer Bestandteil enthalten ist. In diesem Fall besteht die Möglichkeit nach §56a Abs. (2) Nr. 2 bzw. Nr. 3 AMG im sog. Therapienotstand u.a. ein Oxyclozanid-haltiges humanmedizinisches Fertigarzneimittel umzuwidmen. Bei Lebensmittel liefernden Tieren ist die Anwendung nur möglich, wenn der Stoff in Anhang I, II oder III der VO 2377/90 (EWG) enthalten ist (VETIDATA Stand 29.03.2005).

2.11.1.4 Strategischer Einsatz der Fasziole

2.11.1.4.1 Behandlungszeiten und Tiergruppen

Hertzberg et al. (2002) empfehlen bei der strategischen Bekämpfung der Fasziole der Rinder möglichst großzügig alle potentiellen *F. hepatica*-Träger ab einem Alter von drei Monaten zu behandeln, auch Schafe und Ziegen wenn sie auf den selben Weiden grasen. Folgende Zeitpunkte werden als geeignet angegeben:

- im Oktober bis Mitte Dezember
- im März

Nach diesen Autoren müssten bei einem Einsatz mit adultiziden Präparaten die Tiere in den ersten zwei bis drei Jahren einer Bekämpfungsaktion zwei anthelmintischen Behandlungen während der Stallungszeit (nach Aufstallung) unterzogen werden. In den folgenden Jahren kann dann durch eine einmalige Behandlung ca. zwei bis drei Monate nach dem Aufstallern im Herbst eine wesentliche Reduktion der Befallshäufigkeit und –stärke erreicht werden (Hertzberg et al. 2002, Bauer et al. 1996). Hertzberg et al. (2002) geben aber auch an, dass heutzutage – schon aus wirtschaftlicher Sicht – eine einmalige Behandlung mit einem Fasziole (Triclabendazol), welches gegen juvenile und adulte *F. hepatica* Stadien wirksam ist, indiziert ist. Durch eine Aufstallungsbehandlung können wirtschaftliche Schäden durch die Fasziole gemindert werden. In Problembeständen kann die Herbstbehandlung durch eine zweite Behandlung im Sommer ergänzt werden, um durch Abtötung der Jungegel eine geringere Weidekontamination zu erreichen (Bauer et al. 1996).

Parr und Gray (2000) beschreiben bei chronischer Fasziole in Irland ein Behandlungsschema in dem die Tiere in den ersten zwei Jahren drei Mal im Abstand von acht Wochen, beginnend im März, mit Triclabendazol behandelt wurden. Eine 4. Behandlung wurde dann beim Aufstallern durchgeführt. In den Folgejahren wurde die Behandlungsintensität gesenkt.

Durch dieses Behandlungsschema konnte der Infektionsdruck auf den Bestand gesenkt werden; es traten keine Symptome einer chronischen Fasziole auf.

2.11.1.4.2 Behandlung laktierender Rinder

Ein besonderes Problem besteht bei der Fasziolesebehandlung von Tieren, von denen Milch für den menschlichen Verzehr gewonnen wird (Hertzberg et al. 2002).

Da Fasziolezid-Rückstände auch in der Milch ausgeschieden werden, erfordert dies Wartezeiten (Eckert et al. 2005). Somit können laktierende Kühe einmal nur während der Trockenperiode behandelt werden. Dies bedeutet, dass nicht alle Tiere eines Bestandes gleichzeitig einer Behandlung unterzogen werden können, sondern die Behandlung im Bestand fraktioniert vorgenommen werden muss (Hertzberg et al. 2002). Sollen alle Tiere eines Bestandes zum gleichen Zeitpunkt behandelt werden, so kann ein Fasziolezid mit möglichst geringer Wartezeit eingesetzt werden und während der Wartezeit die Milch verworfen oder an Kälber und andere Tiere verfüttert werden (Eckert et al. 2005).

2.11.2 Prophylaxe

2.11.2.1 Begrenzung der Aufnahme von Metazerkarien (Ansteckungsprophylaxe)

Durch Auszäunen der Habitate (Primär- & Sekundärhabitate) des Zwischenwirtes (Zwergschlamm Schnecke) kann die Aufnahme von Metazerkarien stark gemindert werden (Mehlhorn et al. 1993). Des Weiteren sollte keine Wasserentnahme aus natürlichen Gewässern erfolgen. Die Tiere sollten nicht Wiesen beweiden oder mit Gras (Stall) gefüttert werden, welches von kontaminierten Flächen stammt. Zusätzlich sollten auf Weideflächen die Selbsttränken an erhöhten Stellen gebaut werden (Eckert et al. 2005, Hertzberg et al. 2002).

2.11.2.2 Ausschaltung des Zwischenwirtes

Molluskizide sind aus Umweltschutzbedingungen heute nicht mehr angebracht.

2.11.2.3 Weidetiere

Eine sehr wichtige Prophylaxe ist kein unkontrollierter Zukauf aus endemischen Gebieten, sofern Habitate für den Zwischenwirt vorhanden sind (Schnieder 2000).

3 Material und Methoden

3.1 Durchführung der Studie

3.1.1 Untersuchungsgebiet/Rindviehbestand Bayerns

Das Untersuchungsgebiet der Studie umfasst ganz Bayern (Abb. 2). Die Gesamtfläche erstreckt sich auf 70.549 km², davon sind 51,6% landwirtschaftliche Nutzfläche und 34,6 % Waldfläche (Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft in Bayern 2004). Von den 3,76 Mio. Rindern Bayerns sind ca. 49.000 Rinder in den Sommermonaten auf insgesamt 1.388 Almen aufgetrieben. Im Jahre 2003 wurden 1,33 Mio. Milchkühe gezählt, wobei der Durchschnittsbestand bei 23,4 Kühen pro Halter lag (Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft in Bayern 2004).

3.1.2 Selektion der Betriebe einzelner Landkreise

Die zum jeweiligen Selektionszeitpunkt anstehenden Betriebe wurden nach Landkreisen ausgewählt, die ein Minimum von 150 Betrieben pro Landkreis aufweisen sollten.

Für die selektierten Betriebe mit den zugehörigen Informationen Laborinformationssystemnummer (LIMSNR), zentrale Betriebsnummer (BALISNR), Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. Nummer (LKVNR) und Milchprüfnummer (MPRNR), Landkreisnummer (LKNR) wurde unter Heranziehung des ORACLE-Zufallszahlengenerators eine Variable Zufall (ZUF) erzeugt. Diese Hilfstabelle wurde anschließend innerhalb der Landkreise absteigend nach ZUF sortiert. Die Ausgangstabelle zur Erzeugung der Variablen ZUF war unsortiert.

In einem zweiten Schritt wurde eine Comma Separated Values-Datei (CSV) erzeugt, die zur weiteren Verwendung als Excel-Datei aufbereitet wurde. Je Landkreis wurden die ersten 80 Betriebe ausgewählt, d. h. innerhalb des Landkreises nach absteigender Reihenfolge der Variablen ZUF. Das Structured Query Language-Statement (SQL) zur Erzeugung der Zufallszahl befindet sich in dem gleichnamigen Kapitel im Anhang 6.1.3.

Die Auflistung der berücksichtigten Landkreise befindet sich im Anhang Kapitel 6.2.

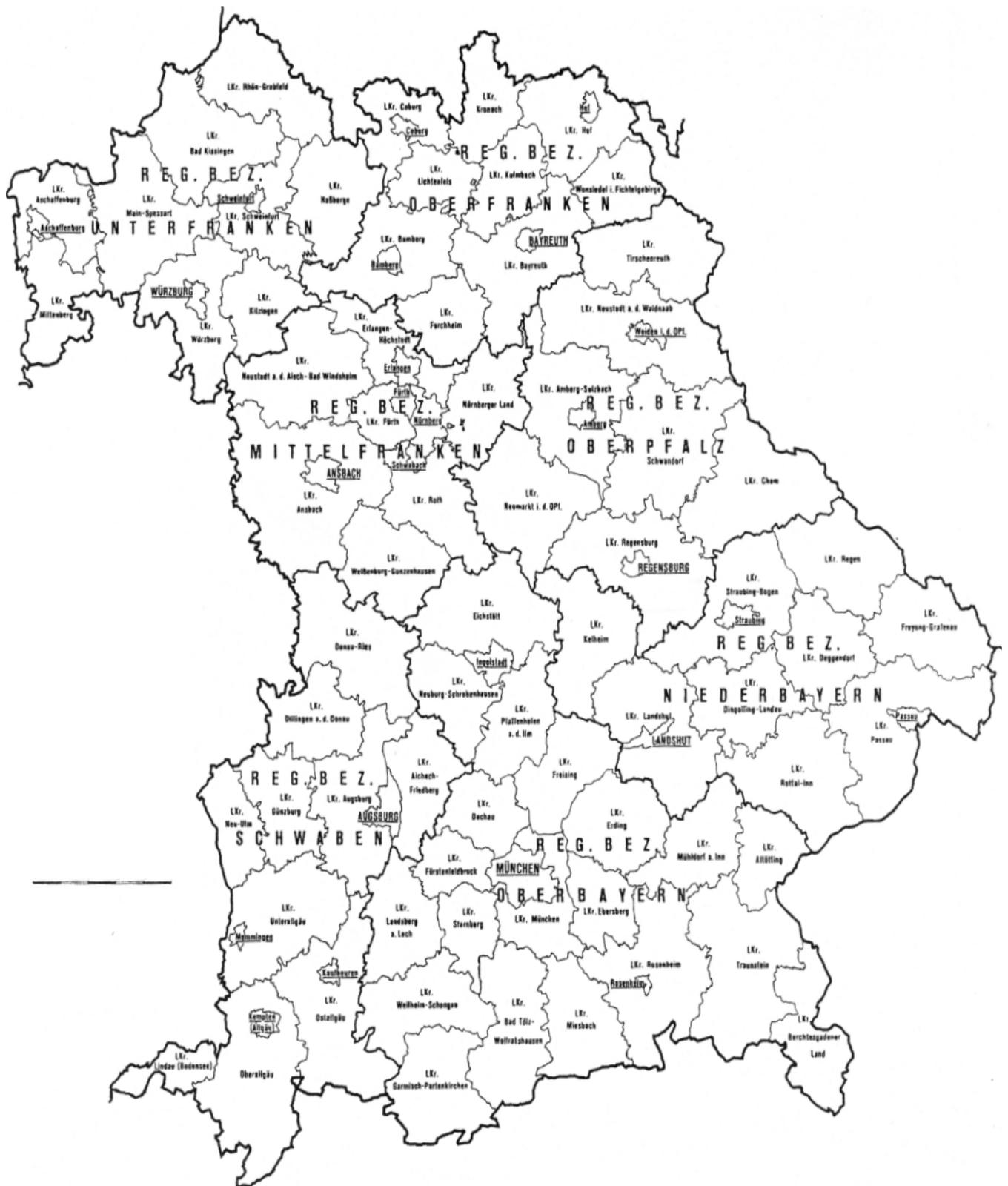


Abbildung 2: Karte von Bayern mit Landkreisen

3.1.3 Probenziehung

3.1.3.1 Ablauf der Probenziehung

Die in der Studie untersuchten Tankmilchproben wurden im Rahmen des offiziellen BHV-1 Eradikationsprogramms automatisiert über den Milchtankwagen gezogen und dem Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V. (TGD) zugeleitet. Dies ist eine Pflichtuntersuchung in Bayern, der sich jeder Milchbetrieb zweimal pro Jahr unterziehen muss. Der Untersuchungszeitraum wurde dem Entwicklungszyklus von *F. hepatica* angepasst. Anhand von Anforderungsprotokollen wurden die Proben im Zeitraum von Februar bis Mai 2003, November 2003 bis März 2004 sowie November 2004 bis März 2005 in den Dienststellen des TGD (Günzburg, Kempten, Traunstein, Schwandorf und Grub) durch die Laborangestellten per Hand aussortiert. Der relativ späte Untersuchungsbeginn der Studie konnte aufgrund von organisatorischen Gegebenheiten nicht anders gelöst werden. Die Proben wurden in 50 ml Probengefäße verbracht, mit Natriumazidtabletten von je 0,1 g (i.e. ~ 8 mg Na-Azid) auf 50 ml Milch haltbar gemacht, entrahmt und auf 7°C gekühlt. Die Kühlung auf dem Transportweg wurde durch beigelegte Kühlakkus gewährleistet. Im Labor des TGD in Grub/Poing wurden alle Tankmilchproben aus Datenschutzgründen verblindet und anschließend von der Verfasserin untersucht. Daten über Betriebsstandort, -größe und -struktur lagen somit zur Auswertung in dieser Arbeit nicht vor.

3.1.3.2 Sicherung der Probenidentität

Die Probenidentität wurde durch die Barcodenummer und die dazugehörige LIMS NR gesichert. Die Probengefäße wurden mit der sog. LIMS NR und der dreistelligen Landkreisnummer (LKNR) wasserfest beschriftet.

3.2 Untersuchungstechniken

3.2.1 ELISA-Methode

Alle Milchserum-Proben wurden im Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V. Grub/Poing mittels einem für Milchproben entwickelten Enzyme-linked immunosorbent assay-Testsystems der Firma Pourquier/Montpellier/Frankreich untersucht.

Alle Testkits hatten die Chargenbezeichnung 246 und sind von der BGVV zugelassen (Zulassungsnummer: BGVV-B 196).

Als Antigen dient das spezifische aus exkretorischen/sekretorischen Produkten von *F. hepatica* gewonnene und gereinigte »f2«-Antigen (Pourquier et al. 1995). Das Testverfahren wurde anhand eines früheren für die Fasziose-Diagnostik etablierten Hämagglutinationstests kalibriert (Pourquier et al. 1995) und extern validiert (Hutchinson und Macarthur 2003).

Um die Variation der Werte innerhalb der verschiedenen ELISA-Platten zu korrigieren, werden die Ergebnisse in eine Korrelation mit dem Absorptionswert der „Probe“ und dem der „Positiv“-Kontrolle gesetzt (Reichel 2002).

Inhalt des ELISA-Testkits (Firma Pourquier/Montpellier/Frankreich) zum Nachweis von AK gegen *F. hepatica* in Serum- und Milchproben:

- Mikrotiterplatte, alternierend mit inaktiviertem »f2«-Antigen und Kontrollantigen beschichtet
- Waschlösung 20-fach konzentriert (Ein Liter enthält: 160 g NaCl, 4 g KCl, 18,3 g Na₂HPO₄, 0,2 g Merthiolat und 1,5 ml Tween 20)
- Verdünnungspuffer Nr. 2 für Proben *
- Verdünnungspuffer Nr. 1 für Konjugat*
- Positiv- und Negativkontrolle
- Anti-Wiederkäuer IgG Peroxidase-Konjugat
- TMB-Substrat Nr. 3 (3,3',5'5'-Tetramethylbenzidine)
- Stopplösung (H₂SO₄, 0,5M)

(*Die exakte chemische Zusammensetzung wird nicht veröffentlicht, da es sich hierbei um vertrauliche Informationen der Firma Pourquier handelt.)

3.2.1.1 Testaufbau

Das spezifische »f2«-Antigen ist in den Vertiefungen der Mikrotiterplatten fixiert. Die Vertiefungen sind alternierend mit inaktiviertem Antigen und Kontrollantigen beschichtet.

Es werden 50 µl der Milchprobe mit 150 µl Verdünnungspuffer 2 verdünnt, im Doppelansatz auf die ELISA-Platten überführt und für eine Stunde im Wärmeschrank bei 37°C inkubiert. Befinden sich in einer Probe gegen das »f2«-Antigen gerichtete Antikörper, so bilden sich Antigen-Antikörperkomplexe. Nach einem dreimaligen Waschvorgang mit der Waschlösung werden 100 µl Enzym gekoppeltes Anti-Wiederkäuer IgG Peroxidase-Konjugat (in einer 1:100-Verdünnung mit Verdünnungspuffer 1) hinzugefügt und nochmals für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Dieses Konjugat bindet an den Immunkomplex. Nach einem weiteren dreimaligen Waschvorgang werden 100 µl des Enzymsubstrat TMB zugesetzt. Die Platten werden im Dunkeln bei Raumtemperatur (ca. 20°C) 20 Minuten inkubiert. Durch enzymatische Reaktion färbt sich das gebundene Konjugat blau. Die Reaktion wird mittels 100 µl Stopplösung beendet, eine Gelbfärbung tritt ein.

Die Optische Dichte (OD) wird mittels eines Photometers (Sunrise remote; Tecan Deutschland GmbH) bei 450 nm gemessen (OD 450).

3.2.2 Validierung des ELISA

Die Reaktion ist gültig, wenn ein Verhältnis von mindesten 3,5:1 zwischen dem OD 450-Nettowert der positiven Kontrollprobe und dem OD 450-Nettowert der negativen Kontrolle besteht.

Da es weder ein nationales noch internationales Standard-Serum gibt, wird das ELISA-Reagenz der Firma Pourquier mittels der passive Hämagglutination (PHA) nach der von LEVIUEX entwickelten Methode eingestellt (Pourquier et al. 1996).

Das Testkit enthält (gemäß den Angaben des Herstellers) ein Kontroll-Serum:

- Die positive Kontrolle entspricht einem Serum, das ca. 150 HA Einheiten nach dem Levieux-System enthält (150 HAU)

Für jede Probe wird der Prozentsatz zwischen OD der Probe (S) und OD der positiven Kontrolle (P) berechnet:

$$S/P \% = (\text{Netto OD 450 der Probe} / \text{Netto OD 450 der positiven Kontrolle}) * 100$$

Dies ergibt für Milchproben folgende Interpretation der Ergebnisse in Hinsicht auf die Befallsintensität:

Tabelle 4: Interpretationsschema der S/P Ergebnisse in Hinsicht auf die Befallsintensität eines Betriebes (nach Angaben der Firma Pourquoi /Montpellier /Frankreich).

% S/P der Probe	Interpretation der Ergebnisse in Hinsicht auf die Befallsintensität	
S/P > 80%	starker Befall (> 50% der untersuchten Tiere eines Betriebes sind befallen)	stark positiv
30 % < S/P ≤ 80%	mittelstarker Befall (zwischen 20% und 50% der untersuchten Tiere eines Betriebes sind befallen)	positiv
20 % < S/P ≤ 30%	schwacher Befall (unter 20% der untersuchten Tiere sind befallen)	schwach positiv
S/P ≤ 20%	kein Befall	negativ

3.3 Auswertung der ermittelten Daten

Die Befundung erfolgte automatisch durch die Magellan Software (Version 2.2). Nach Durchsicht und Wertung wurden die Resultate in das Laborinformations- und Management-System eingegeben. Die weitere Verarbeitung der gewonnenen Daten sowie deren grafische Darstellung erfolgten mit Microsoft Excel[®] XP. Hierbei wurden die Ergebnisse auf vier Dezimalstellen gerundet.

Konfidenzintervalle, d. h. die Intervalle, in dem sich der wahre Wert der Prävalenz um den zuvor errechneten Prozentwert bewegt, wurden mit Hilfe von Microsoft Excel[®]XP unter Zugrundelegung der Binomialverteilung bei einem Vertrauensbereich von 95% errechnet. Konfidenzintervalle wurden bei grafischen Darstellungen um den Prävalenzwert jeweils mit helleren Farbtönen dargestellt.

Zum Vergleich von Prävalenzen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet und der Wert der Wahrscheinlichkeit (p), dass zwei Gruppen identisch sind, über Microsoft Excel[®]XP berechnet.

Der erhaltene Wert wurde folgendermaßen interpretiert: ein p-Wert von $p > 0,05$ zeigt, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden untersuchten Klassen existiert, $p \leq 0,05$ bezeichnet einen signifikanten Unterschied. Ist der Wert $p < 0,01$ besagt dies, dass ein hochsignifikanter Unterschied besteht.

Tabelle 5: p-Wert mit angegebenen Signifikanzen inklusive Legende.

p-Wert	Signifikanz	Legende
$> 0,05$	kein signifikanter Unterschied	*
$\leq 0,05$	signifikanter Unterschied	**
$< 0,01$	hoch signifikanter Unterschied	***

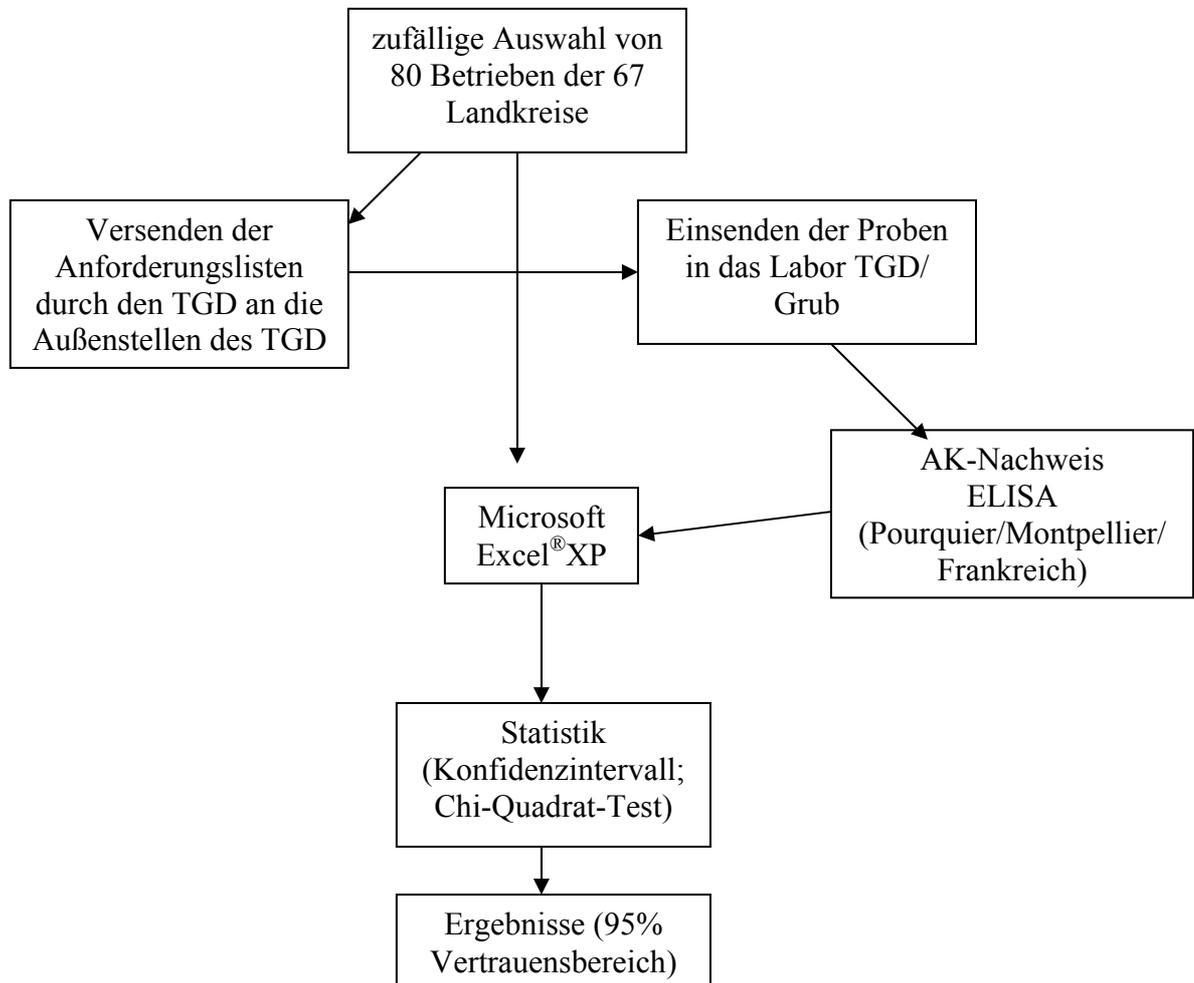
Fasciola hepatica-Prävalenzstudie in Tankmilchproben

Abbildung 3: Flussdiagramm über den Ablauf der Studie

4 Ergebnisse

4.1 Zeitlicher Verlauf

Der Beobachtungszeitraum erstreckt sich über den Zeitraum von Februar bis Mai 2003, November 2003 bis März 2004 und November 2004 bis März 2005. Im Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V. wurden in dieser Zeit insgesamt 5.278 Tankmilchproben auf *F. hepatica* untersucht.

4.2 Auswertung der Tankmilchproben

Die Anzahl der auswertbaren Tankmilchproben beläuft sich auf 5.278. Ein Teil der Proben konnte wegen Betriebsaufgabe nicht gezogen werden. Des Weiteren mussten einige Proben auf Grund von zu wenig Material oder Verderbnis aus der Studie ausgeschlossen werden. Im darauf folgenden Turnus wurden erneut Anforderungslisten zusammengestellt, so dass die erreichte Mindestzahl von 76 Proben/LK erreicht wurde.

4.2.1 Ergebnisse der ELISA-Untersuchung auf *F. hepatica*-AK für Gesamtbayern

Für Gesamtbayern wurden insgesamt 5.278 Milchbetriebe untersucht.

Die ELISA-Auswertung ergab bei 1.073 (20,33%) Proben ein schwach positives, bei 369 (6,99%) ein positives und bei 269 (5,10%) ein stark positives Ergebnis. 3.567 (67,58%) der Proben waren negativ (siehe Abb. 4).

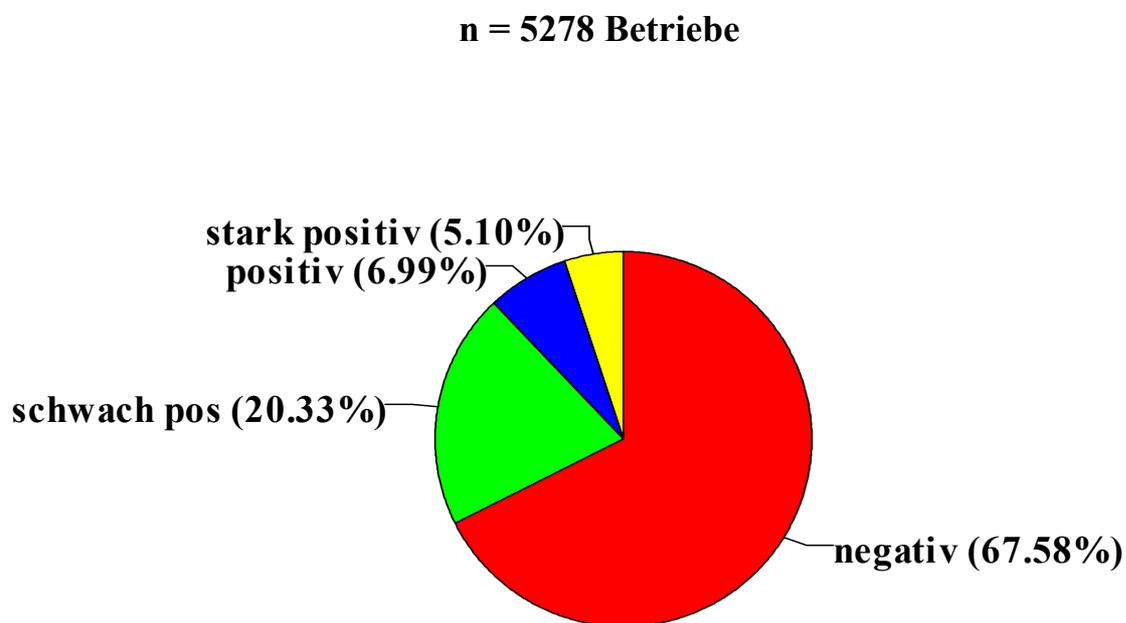


Abbildung 4: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in allen untersuchten Tankmilchproben Bayerns.

4.2.2 Seroprävalenz von *F. hepatica* in Gesamtbayern

Zur Ermittlung der Seroprävalenz von *F. hepatica* in Bayern wurden insgesamt 5.278 Milchbetriebe herangezogen. Zur Prävalenzberechnung wurden alle Betriebe mit einem schwach positiven, positiven und stark positiven Ergebnis zusammengefasst und als „positiv“ bezeichnet. Insgesamt waren somit 1711 Betriebe positiv und 3567 Betriebe negativ. Daraus ergibt sich eine Prävalenz von *F. hepatica*-Antikörpern in der Tankmilch bei bayerischen Betrieben von 32,42% (31,07% - 33,77%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) (siehe Abb. 5).

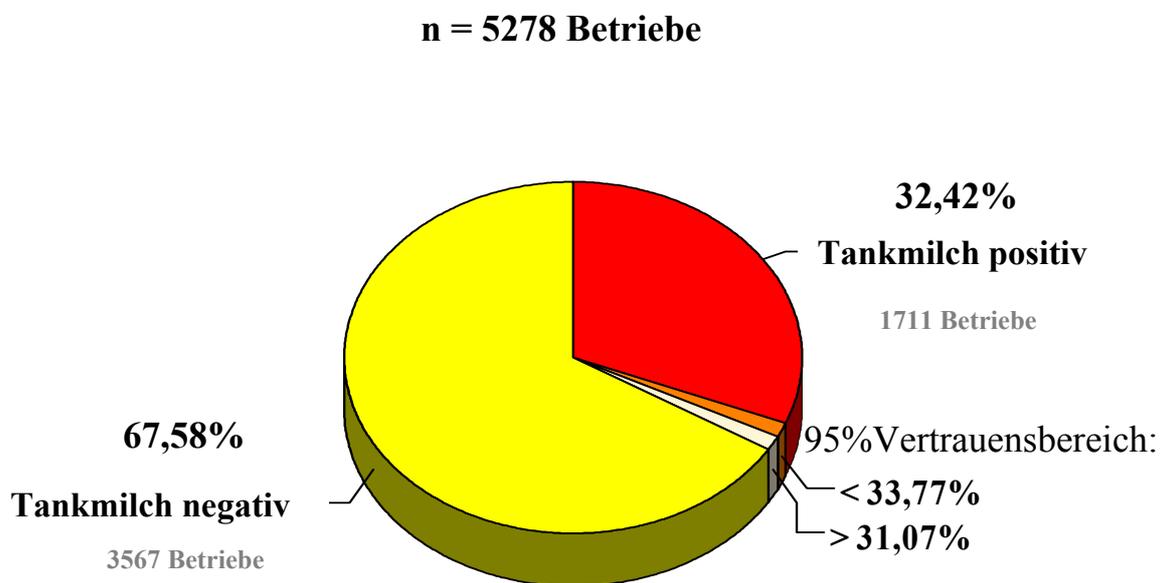


Abbildung 5: Seroprävalenz für *F. hepatica* in Gesamtbayern (Tankmilchproben).

4.2.3 Ergebnisse der Tankmilchuntersuchung auf *F. hepatica*-AK der Regierungsbezirke

Die Auflistung der Landkreise zu den im Folgenden angegebenen Landkreisnummern sind im Anhang vermerkt (siehe Kapitel 6.2).

4.2.3.1 Unterfranken

In Unterfranken wurden aus sechs Landkreisen insgesamt 478 Betriebe beprobt. 457 (95,61%) waren negativ, 16 (3,35%) schwach positiv, vier (0,84%) positiv und ein Betrieb (0,21%) war stark positiv. Das Ergebnis ist grafisch in Abbildung 6 dargestellt.

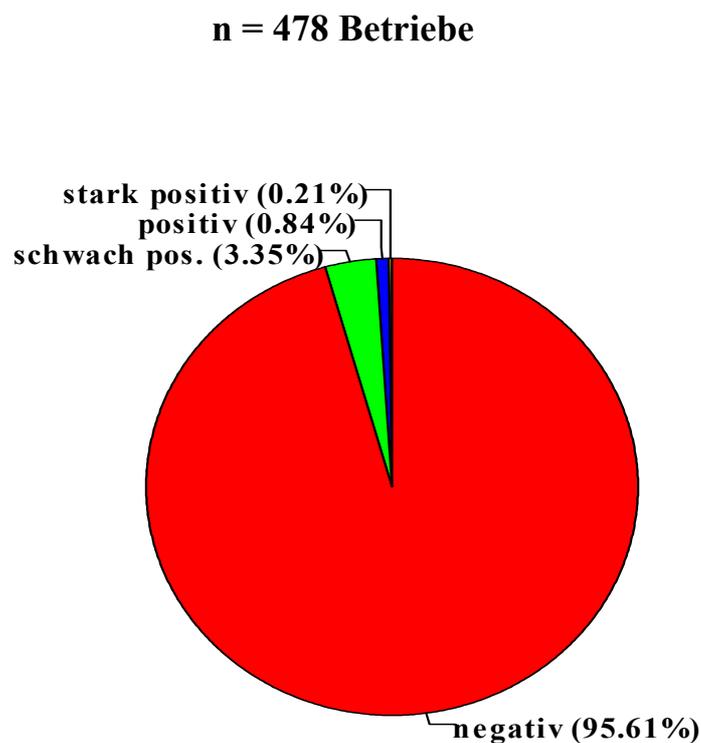


Abbildung 6: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in Unterfranken.

Die Verteilung der Untersuchungsergebnisse auf die einzelnen Landkreise von Unterfranken wird grafisch in Abb. 7 gezeigt.

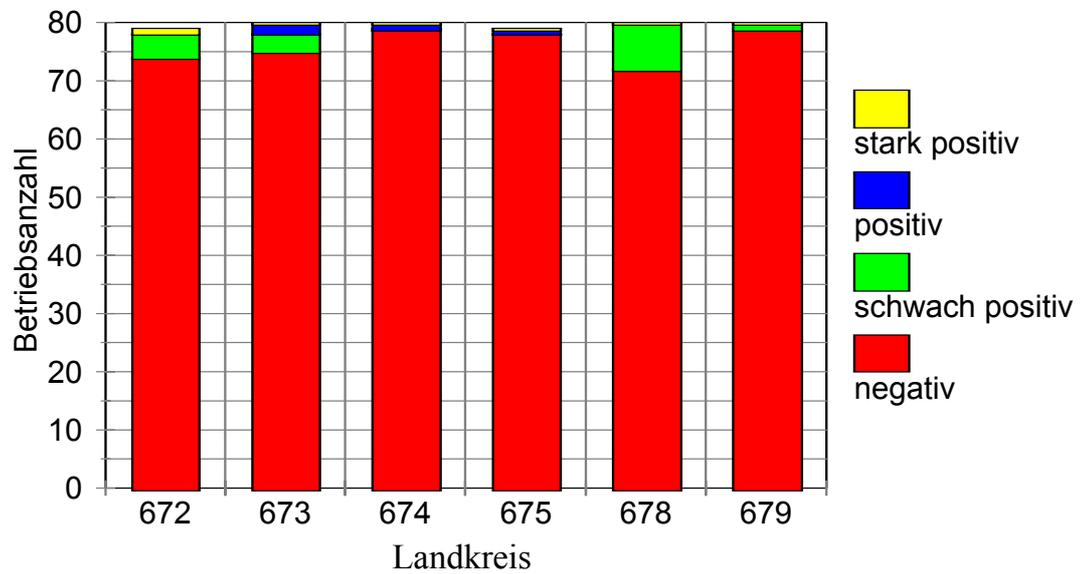


Abbildung 7: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK von Unterfranken.

4.2.3.2 Oberfranken

Die ELISA-Auswertung von 645 Milchproben in Oberfranken ergab bei 208 Betrieben (32,25%) ein schwach positives, bei vier (0,62%) ein positives, bei einem (0,16%) ein stark positives und bei 432 (66,98%) ein negatives Resultat (siehe Abb. 8).

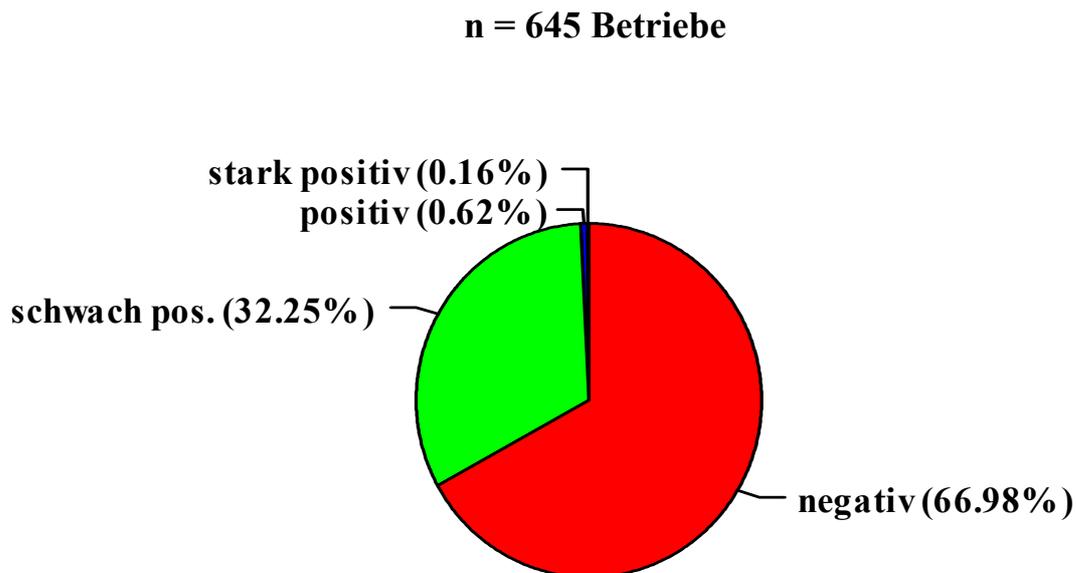


Abbildung 8: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in Oberfranken.

Im Regierungsbezirk Oberfranken konnte der Landkreis Kronach (LK 476) mangels auswertbarer Proben nicht vollständig untersucht werden. Von den acht anderen Landkreisen wurden jeweils 80 Tierbestände untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 9 festgehalten.

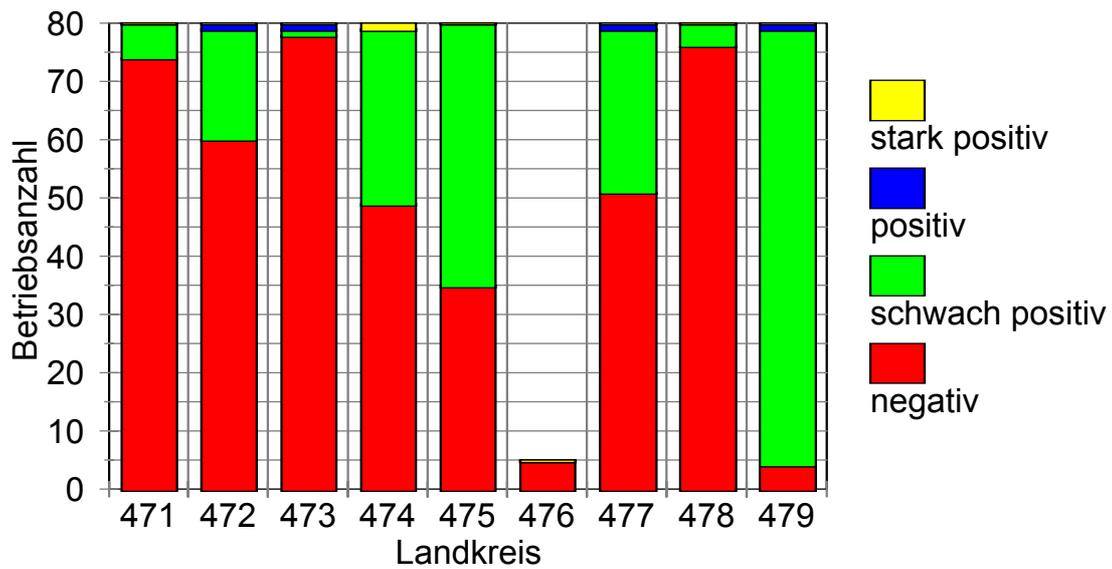


Abbildung 9: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK von Oberfranken.

4.2.3.3 Mittelfranken

Für Mittelfranken wurden Proben von insgesamt 560 Betrieben untersucht. 421 (75,71%) der Proben waren negativ, 134 (23,39%) waren schwach positiv, vier (0,71%) waren positiv und bei einem (0,18%) Betrieb fiel das Ergebnis stark positiv aus (siehe Abb. 10).

n = 560 Betriebe

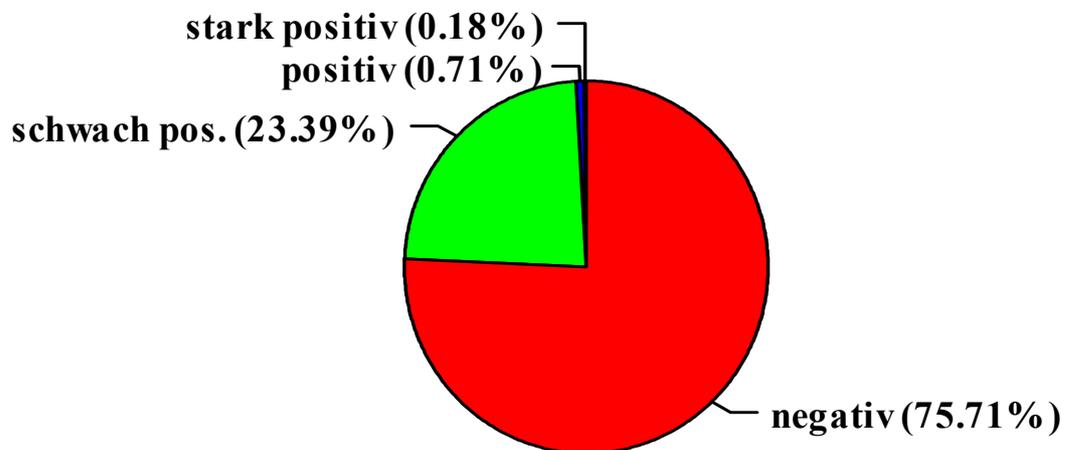


Abbildung 10: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in Mittelfranken.

Im Regierungsbezirk Mittelfranken konnten in Ansbach (LK 571) in keinem der 80 Tierbestände Antikörper in der Tankmilch nachgewiesen werden. Ergebnisse der sieben untersuchten Landkreise sind grafisch in Abb. 11 dargestellt.

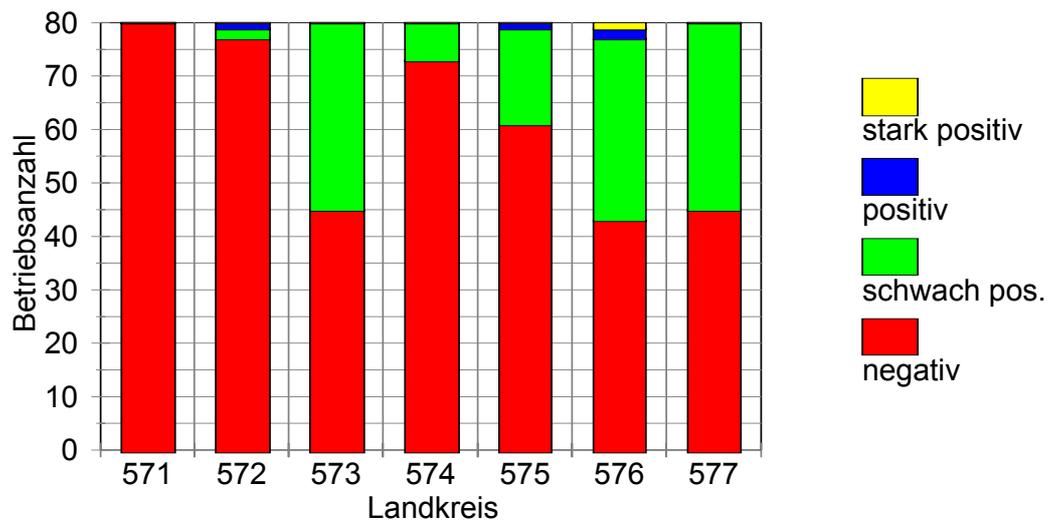


Abbildung 11: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK in Mittelfranken.

4.2.3.4 Oberpfalz

In den sieben Landkreisen der Oberpfalz wurden insgesamt 560 Tankmilchproben auf *F. hepatica*-AK untersucht. Davon waren drei (0,36%) stark positiv, 16 (2,86%) positiv, 83 (14,82%) schwach positiv und 459 (81,96%) negativ (siehe Abb.12).

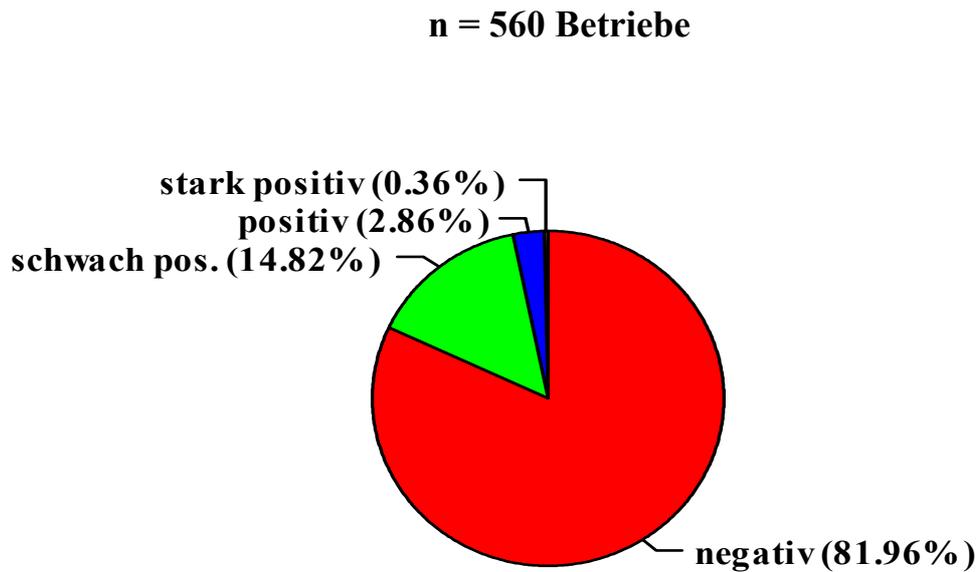


Abbildung 12: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung für die Oberpfalz.

Im Landkreis Amberg Sulzbach konnten mittels der Tankmilchuntersuchung in keinem der untersuchten Tierbestände Antikörper gegen *F. hepatica* nachgewiesen werden. Die einzelnen Ergebnisse zur Tankmilchuntersuchung in den LK sind in Abb. 13 festgehalten.

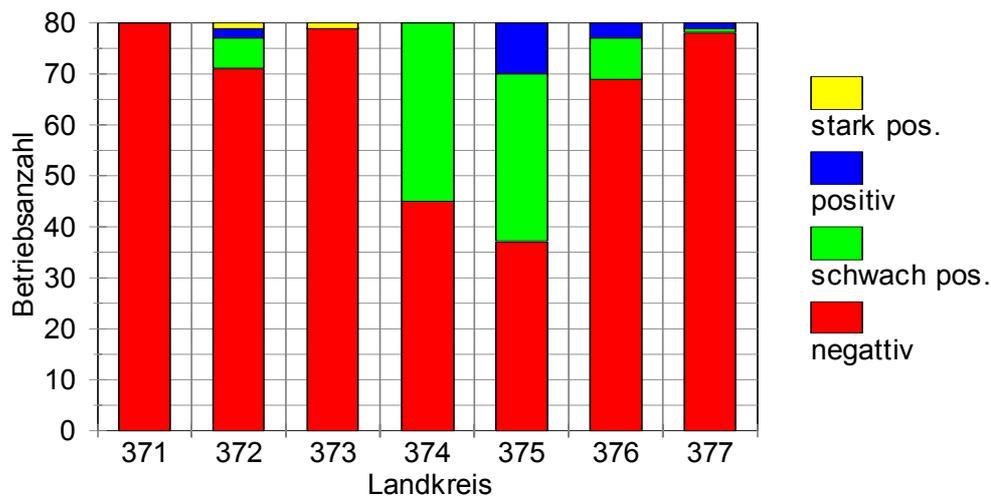


Abbildung 13: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK der Oberpfalz.

4.2.3.5 Schwaben

Von den insgesamt 798 untersuchten Betrieben in Schwaben waren 77 (9,65%) stark positiv, 123 (15,41%) positiv, 69 (8,65%) schwach positiv und 529 (66,29%) negativ (siehe Abb. 14).

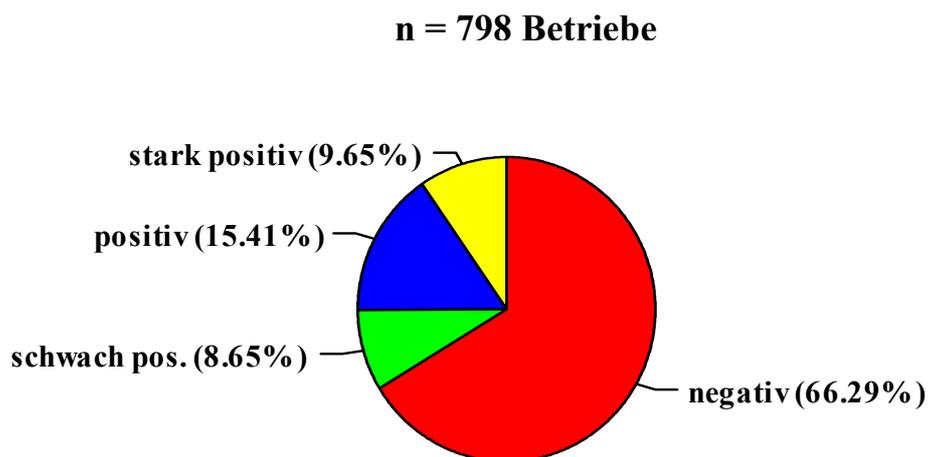


Abbildung 14: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in Schwaben.

Im Landkreis Dillingen (LK 773) konnten keine Antikörper in den Tankmilchproben gegen *F. hepatica* nachgewiesen werden. In Mindelheim/Unterallgäu (LK 778) konnten nur 78 Betriebe beprobt werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen der Landkreise sind in Abb. 15 grafisch dargestellt.

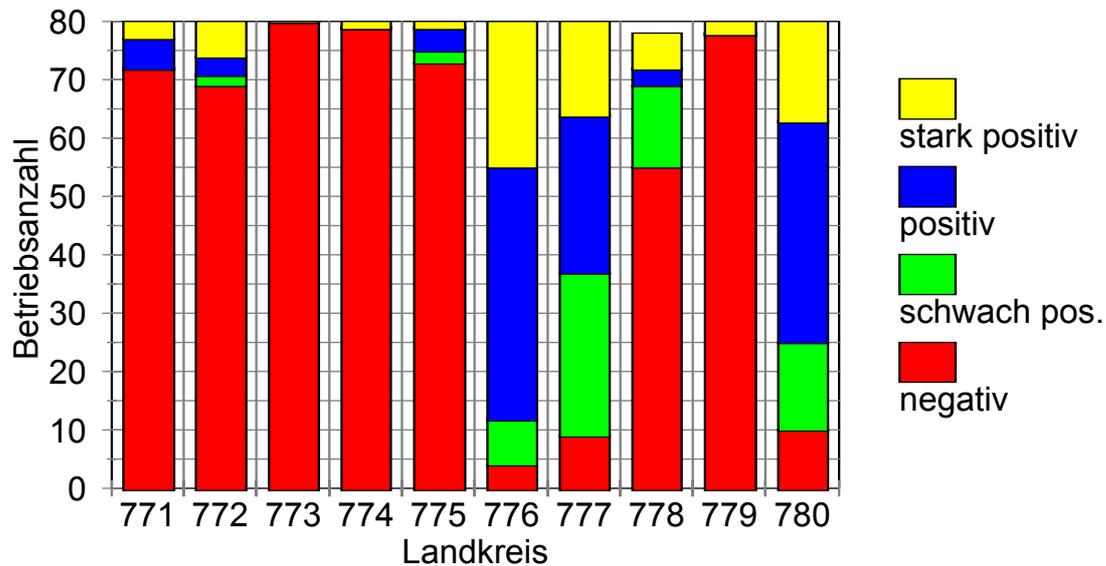


Abbildung 15: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK Schwabens.

4.2.3.6 Niederbayern

Für den Regierungsbezirk Niederbayern konnten insgesamt 719 Tankmilchproben ausgewertet werden. 9 (1,25%) Proben waren stark positiv, 15 (2,09%) positiv, 230 (31,99%) schwach positiv und 465 (64,67%) negativ (siehe Abb.16).

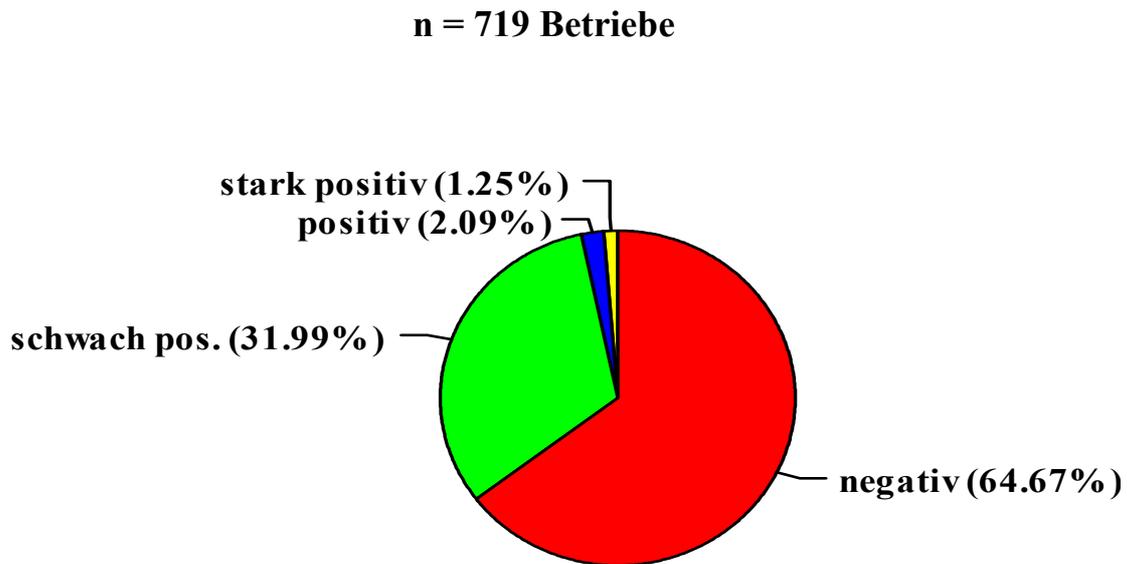


Abbildung 16: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in Niederbayern.

Die Ergebnisse der Tankmilchserologie der einzelnen Landkreise sind in Abb. 17 dargestellt. Für Deggendorf (LK 271) konnten nur 79 Tankmilchproben ausgewertet werden.

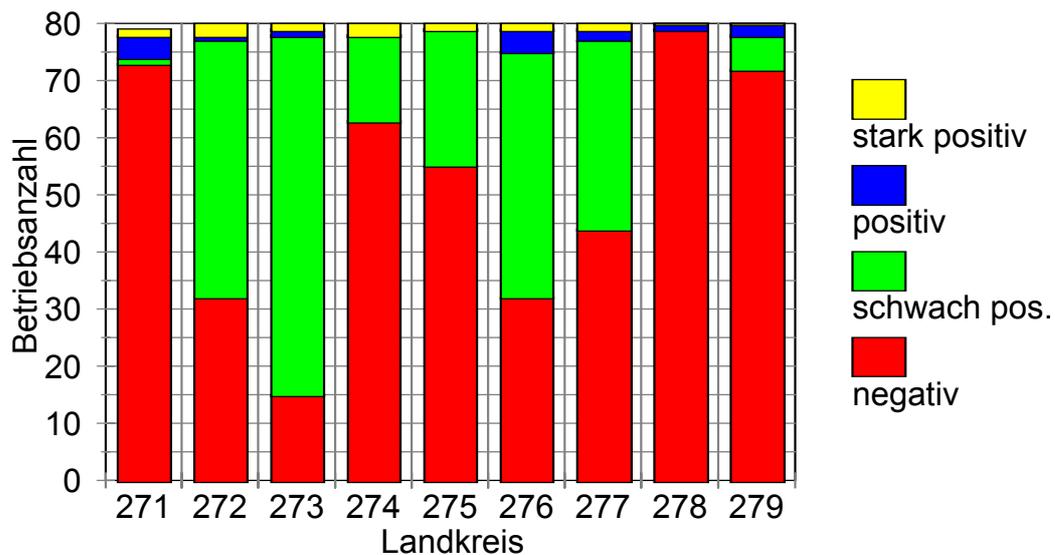


Abbildung 17: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK Niederbayerns.

4.2.3.7 Oberbayern

Im Regierungsbezirk Oberbayern wurden insgesamt 1518 Tierbestände untersucht. 178 (11,73%) dieser Bestände waren stark positiv, 203 (13,37%) positiv, 336 (22,13%) schwach positiv und 801 (52,77%) negativ (siehe Abb. 18).

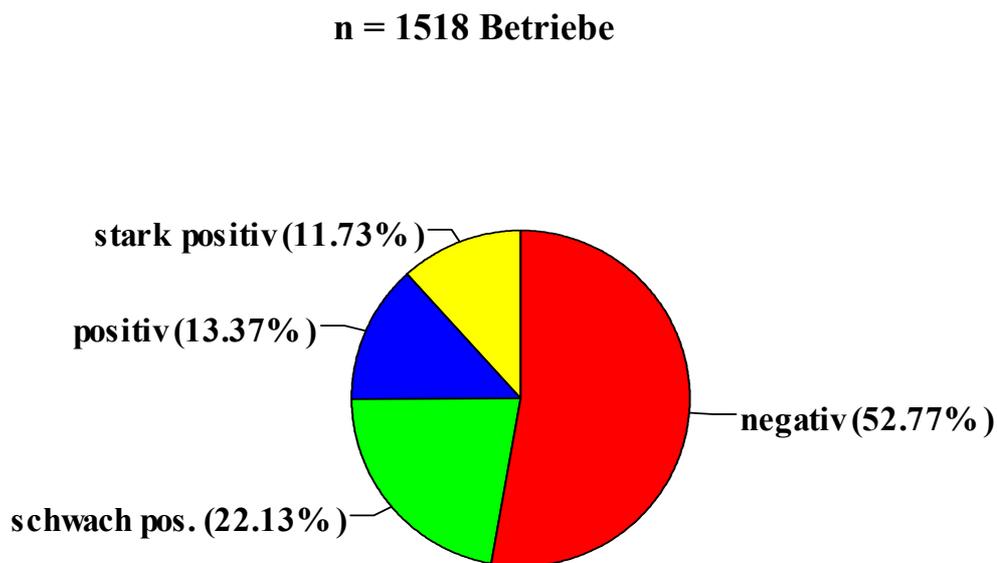


Abbildung 18: Ergebnisse der *F. hepatica*-AK Bestimmung in Oberbayern.

Die Ergebnisse der 19 untersuchten Landkreise sind in Abb.19 dargestellt. Für Traunstein konnten nur 78 Tankmilchproben ausgewertet werden.

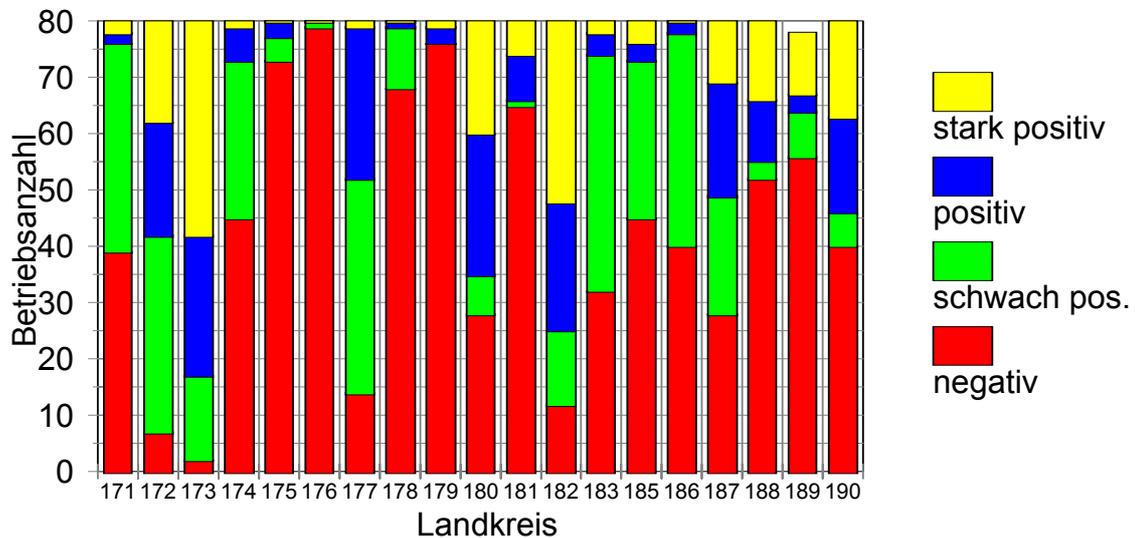


Abbildung 19: Ergebnis der *F. hepatica*-AK Bestimmung in den einzelnen LK Oberbayerns.

4.2.4 Seroprävalenz von *F. hepatica* in den einzelnen Regierungsbezirken

Zur Prävalenzberechnung wurden alle Betriebe mit einem schwach positiven, positiven und stark positiven Ergebnis zusammengefasst und als „positiv“ bezeichnet.

4.2.4.1 Unterfranken

Für Unterfranken wurden insgesamt 478 Betriebe untersucht. 457 waren negativ und 21 positiv. Es konnte eine Prävalenz von 4,39% (2,72% - 6,28%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) festgestellt werden (siehe Abb. 20).

4.2.4.2 Oberfranken

In diesem Regierungsbezirk konnten 645 Proben ausgewertet werden. 432 waren negativ und 213 positiv. Dies ergibt eine Seroprävalenz in Oberfranken von 33,18% (29,61% bis 36,90%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) (siehe Abb. 20).

4.2.4.3 Mittelfranken

In Mittelfranken konnten insgesamt 560 Betriebe untersucht werden. Bei 424 fiel das Ergebnis negativ aus, bei 136 positiv. Daraus ergibt sich für Mittelfranken eine Prävalenz von 24,29% (20,71% - 27,86%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) (siehe Abb. 20).

4.2.4.4 Oberpfalz

Für Schwaben konnten 560 Milchproben untersucht werden, davon waren 459 negativ und 101 positiv. Daraus ergibt sich eine Seroprävalenz 18,04% (14,82% - 21,25%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) (siehe Abb. 20).

4.2.4.5 Schwaben

In Schwaben waren von insgesamt 798 Betrieben 529 negativ und 269 positiv. Daraus ergibt sich für Schwaben eine Seroprävalenz von 33,71% (30,45% - 36,97%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) (siehe Abb. 20).

4.2.4.6 Niederbayern

Es wurden insgesamt 719 Tankmilchproben untersucht, davon waren 465 negativ und 254 positiv. Somit konnte für die untersuchten Landkreise in Niederbayern eine Seroprävalenz von 35,33% (31,85% - 38,8%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) errechnet werden (siehe Abb. 20).

4.2.4.7 Oberbayern

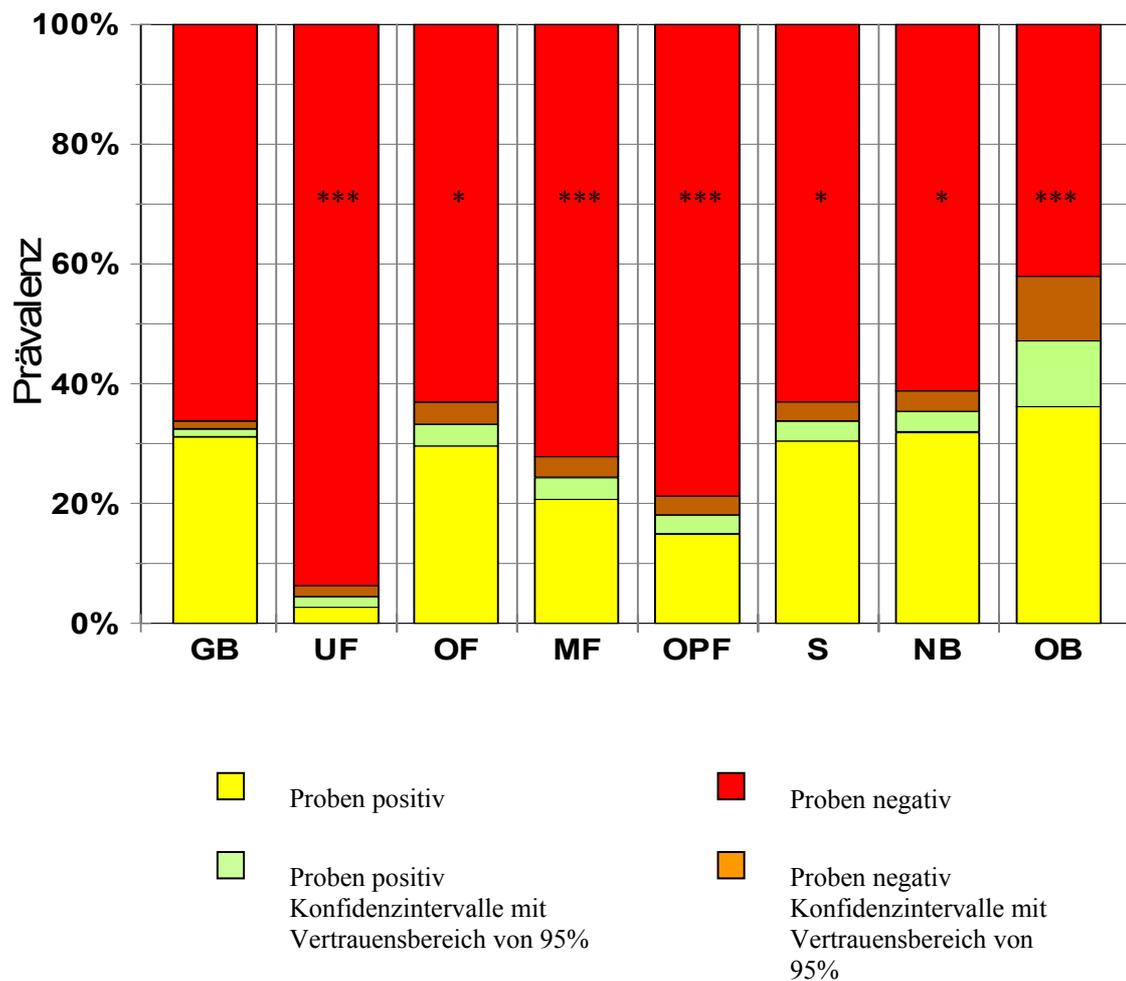
In Oberbayern wurden insgesamt 1518 Betriebe untersucht. 801 Proben waren negativ und 717 positiv, daraus ergibt sich eine Prävalenz von Antikörpern in der Tankmilch von 47,23% (36,2% - 58%; Vertrauensbereich 95%; Binomialverteilung) (siehe Abb. 20).

4.2.5 Vergleich der Seroprävalenz der einzelnen Regierungsbezirke mit Gesamtbayern

Die Unterschiede der einzelnen Prävalenzen der Regierungsbezirke zu der Prävalenz aller bayerischen Betriebe wurden mittels des Chi-Quadrat-Tests ermittelt.

In Oberbayern konnte im Vergleich zu Gesamtbayern eine hochsignifikant höhere Seroprävalenz ($p < 0,01$) festgestellt werden. Hochsignifikant ($p < 0,01$) niedrigere Prävalenzen konnten in den Regierungsbezirken Unterfranken, Mittelfranken und in der Oberpfalz ermittelt werden. In Oberfranken, Schwaben und Niederbayern lag kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) in der Seroprävalenz gegenüber Gesamtbayern vor.

Das Ergebnis wird in grafischer Form in Abb. 20 gezeigt.



GB: Gesamtbayern

OB: Oberbayern

S: Schwaben

*: kein signifikanter Unterschied

NB: Niederbayern

OF: Oberfranken

UF: Unterfranken

** : signifikanter Unterschied

MF: Mittelfranken

OPF: Oberpfalz

***: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 20: Vergleich der Prävalenzen der einzelnen Regierungsbezirke mit Gesamtbayern mittels χ^2 -Test.

4.2.6 Seroprävalenz von *F. hepatica* in den verschiedenen Landkreisen

Die Anzahl der auswertbaren Landkreise beläuft sich auf insgesamt 66. Alle Stadtkreise sowie Landkreise mit einer geringeren Anzahl Milchbetriebe als 150 wurden in der Studie nicht berücksichtigt.

Um die Prävalenz von *F. hepatica*-Antikörpern in den Tankmilchproben jedes Landkreises zu beschreiben wurden alle Betriebe mit einem schwach positiven, positiven und stark positiven Ergebnis zusammengefasst und als „positiv“ bewertet.

In Tab. 6 sind die Ergebnisse der Tankmilchuntersuchung der Landkreise mit Nummer und gemeldeten Milchrinderbetrieben aufgelistet.

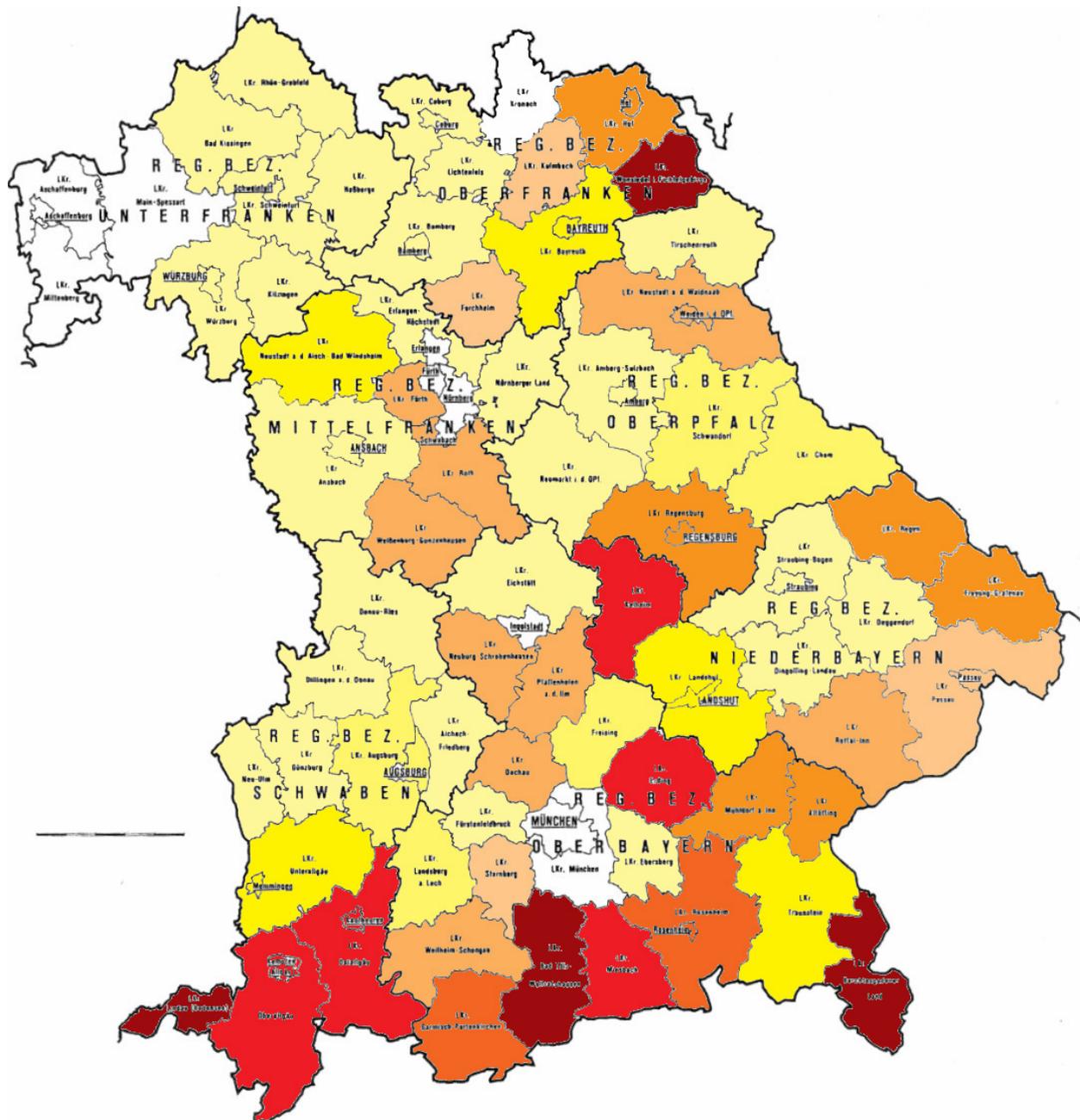
Tabelle 6: Landkreise von Bayern mit gemeldeten Milchbetrieben und Ergebnisse der Prävalenzen von *F. hepatica*-Antikörper in den Tankmilchproben mit Angabe des Konfidenzintervalls bei einem Vertrauensbereich von 95%, Binomialverteilung, und der Signifikanz (p).

Landkreis Nr.	Landkreis	gemeldete Milchbetriebe+	Probenanzahl n=	Prävalenz %	Konfidenzintervall in %		p
					von	bis	
171	Altötting	619	80	51,25	40	62,5	***
172	Bad Reichenhall (Berchtesgadener Land)	836	80	91,25	85	96,25	***
173	Bad Tölz (Wolfratshausen)	795	80	97,5	93,75	100	***
174	Dachau	331	80	43,75	32,5	55	**
175	Ebersberg	456	80	8,75	3,75	15	***
176	Eichstätt	457	80	1,25	0	3,75	***
177	Erding	734	80	82,5	73,75	90	***
178	Freising	331	80	15	7,5	23,75	***
179	Fürstenfeldbruck	110	80	5	1,25	10	***
180	Garmisch-Partenkirchen	340	80	65	55	75	***
181	Landsberg am Lech	534	80	18,75	10	27,5	**
182	Miesbach	783	80	85	76,25	92,5	***
183	Mühldorf a. d. Inn	1108	80	60	48,75	70	***
185	Neuburg a. d. Donau	460	80	43,75	32,5	55	**
186	Pfaffenhofen	391	80	50	38,75	61,25	***

Landkreis Nr.	Landkreis	gemeldete Milchbetriebe+	Proben- anzahl n=	Prävalenz %	Konfidenzintervall in %		p
					von	bis	
187	Rosenheim (BadAibling)	157	80	65	55	75	***
188	Starnberg	157	80	35	25	45	*
189	Traunstein	1750	78	28,21	17,95	38,46	*
190	Weilheim-Schongau	1146	80	50	38,75	61,25	***
271	Deggendorf	498	79	7,59	2,53	13,92	***
272	Freyung-Grafenau	783	80	60	48,75	70	***
273	Kehlheim	303	80	81,25	72,5	90	***
274	Landshut	760	80	21,25	12,5	30	**
275	Passau	1255	80	31,25	21,25	41,25	*
276	Regen	736	80	60	48,75	70	***
277	Pfarrkirchen (Rottal-Inn)	1258	80	45	33,75	56,25	**
278	Straubing-Bogen	751	80	1,25	0	3,75	***
279	Dingolfing-Landau	222	80	10	3,75	17,5	***
371	Amberg-Sulzbach	764	80	0	0	0	***
372	Cham	1887	80	11,25	5	18,75	***
373	Neumarkt i. d. Oberpfalz	911	80	1,25	0	3,75	***
374	Neustadt a. d. Waldnaab	949	80	43,75	32,5	55	**
375	Regensburg	615	80	53,75	42,5	65	***
376	Schwandorf	1134	80	13,75	6,25	21,25	***
377	Tirschenreuth	833	80	2,5	0	6,25	***
471	Bamberg	594	80	7,5	2,5	13,75	***
472	Bayreuth	827	79	25	16,25	35	*
473	Coburg	328	80	2,5	0	6,25	***
474	Forchheim	348	80	38,75	28,75	50	*
475	Hof	590	80	56,25	45	67,5	***
476	Kronach	285	5	nicht mögl.			
477	Kulmbach	382	80	36,25	26,25	47,5	*
478	Lichtenfels	304	80	5	1,25	10	***

Landkreis Nr.	Landkreis	gemeldete Milchbetriebe+	Proben- anzahl n=	Prävalenz %	Konfidenzintervall in %		p
					von	bis	
479	Wunsiedel im Fichtelgebirge	327	80	95	90	98,75	***
571	Ansbach	1398	80	0	0	0	***
572	Erlangen Höchstädt.	226	80	3,75	0	8,75	***
573	Fürth	217	80	43,75	32,5	55	**
574	Nürnberger Land	340	80	8,75	3,75	15	***
575	Neustadt a .d. Aich	827	80	23,75	15	33,75	*
576	Roth	614	80	46,25	35	57,5	**
577	Weißenburg-Gunzenhausen	707	80	43,75	32,5	55	**
672	Bad Kissingen	180	79	6,33	1,27	12,66	***
673	Bad Neustadt a. d. Saale (Röhne-Grabfeld)	200	80	6,25	1,25	12,5	***
674	Haßfurt (Haßberg)	318	80	1,25	0		***
675	Kitzingen	279	79	1,27	0		***
678	Schweinfurt	155	80	10	3,75	17,5	***
679	Würzburg	143	80	1,25	0	3,75	***
771	Aichach	417	80	10	3,75	17,5	***
772	Gersthofen (Augsburg)	307	80	13,75	6,25	21,25	***
773	Dillingen a. d. Donau	300	80	0	0	0	***
774	Günzburg	428	80	1,25	0	3,75	***
775	Neu-Ulm	173	80	8,75	3,75	15	***
776	Lindau am Bodensee	565	80	95	90	98,75	***
777	Marktoberdorf (Ostallgäu)	2067	80	88,75	81,25	95	***
778	Mindelheim (Unterallgäu)	462	78	29,49	19,23	39,74	*
779	Donauwörth (Donau-Ries)	335	80	2,5	0	6,25	***
780	Sonthofen (Oberallgäu)	1801	80	87,5	80	93,75	***

+ Stand 2004, * kein signifikanter Unterschied, ** signifikanter Unterschied, *** hochsignifikanter Unterschied



nicht untersucht	
0%-10%	
10%-20%	
20%-30%	
30%-40%	
40%-50%	

50%-60%	
60%-70%	
70%-80%	
80%-90%	
90%-100%	

Abbildung 21: Seroprävalenz (auf Grund von Tankmilchuntersuchungen) von *F. hepatica* in Bayern.

4.2.7 Vergleich der S/P%-Werte innerhalb eines Regierungsbezirkes

Die optische Dichte der ELISA-Platten wurde mittels eines Photometers bei 450 nm gemessen.

Anhand der Validierungsvorgaben des Herstellers wurden sie automatisch in die S/P %-Werte umgerechnet (siehe Tab.4 im Kapitel 3.2.2).

Im Folgenden sind die S/P%-Werte der einzelnen Landkreise für jeden Regierungsbezirk vergleichen dargestellt.

4.2.7.1 Unterfranken

Im Landkreis Bad Kissing (672) fiel nur ein Betrieb stark positiv auf mit einem S/P%-Wert von 248, dargestellt als senkrecht verlaufende Linie in Abbildung (22).

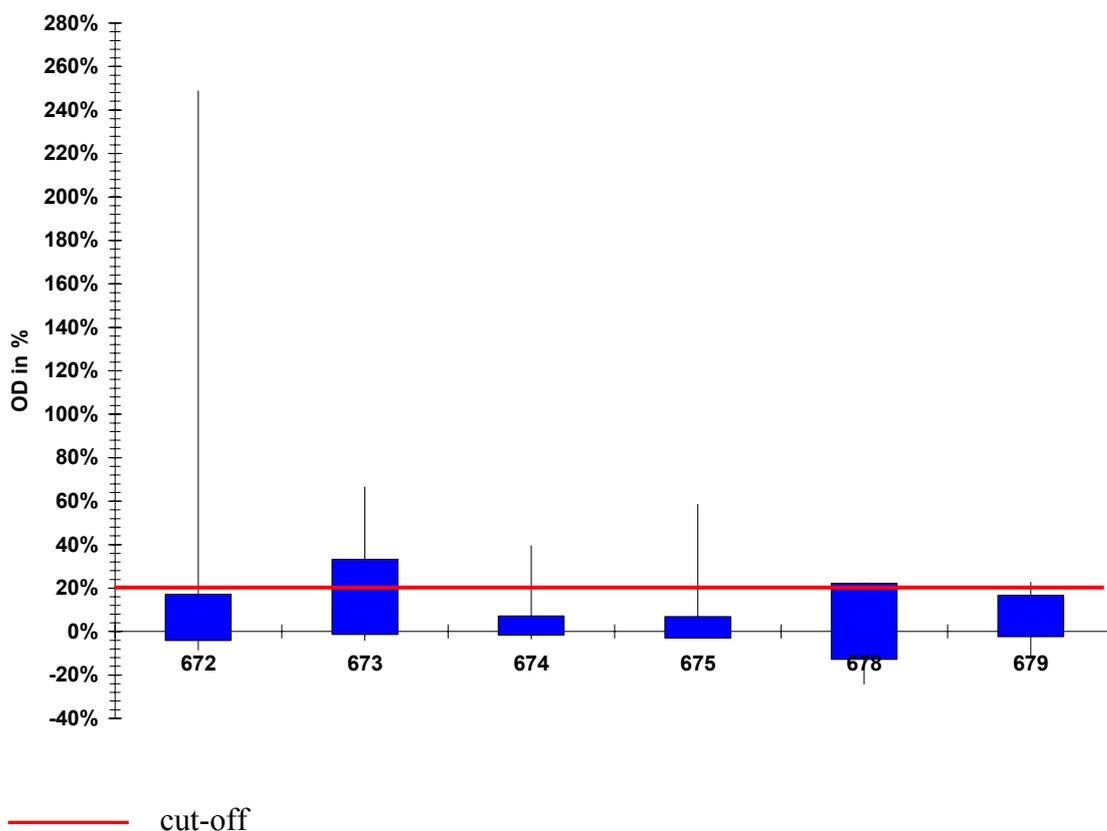


Abbildung 22: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Unterfranken. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

4.2.7.2 Oberfranken

Die S/P%-Werte für Oberfranken sind in Abb. 23 dargestellt. Die Variationsbreite der S/P%-Werte in Hof (475) ist gegenüber den anderen Landkreisen sehr auffällig. Lediglich in Lichtenfels (478) und Bamberg (471) liegen die Werte nahe beieinander.

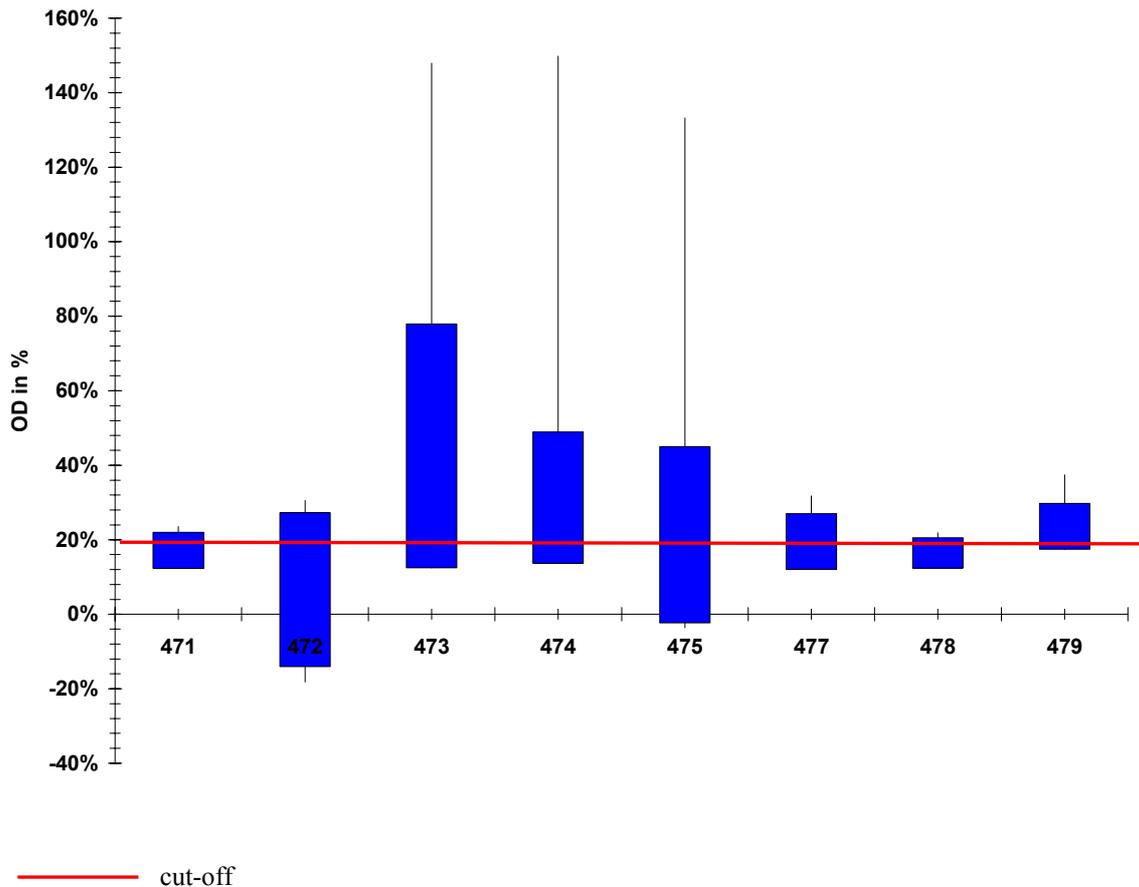


Abbildung 23: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Oberfranken. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

4.2.7.3 Mittelfranken

Die S/P%-Werte für Mittelfranken sind in Abb. 24 dargestellt. In den Landkreise Ansbach (571), Erlangen Höchststadt (572) und Fürth (573) liegen die Werte sehr nahe beieinander. Einen Ausreisser-Wert zeigt sich in Roth (576).

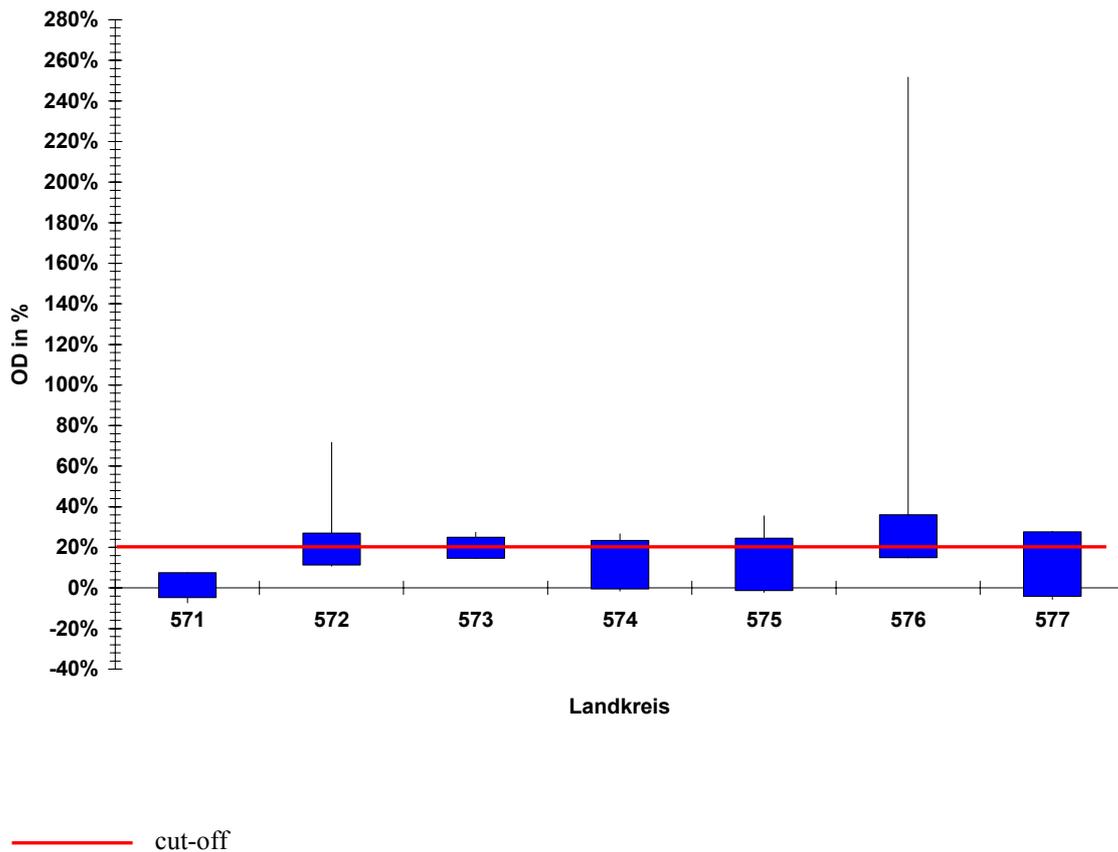


Abbildung 24: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Mittelfranken. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

4.2.7.4 Oberpfalz

Die S/P%-Werte für Oberpfalz sind in Abb. 25 dargestellt. Die geringste Spannbreite der S/P%-Werte zeigte sich in Neustadt a. d. Waldnaab. Die Größte Spannbreite konnte in Cham (372) beobachtet werden.

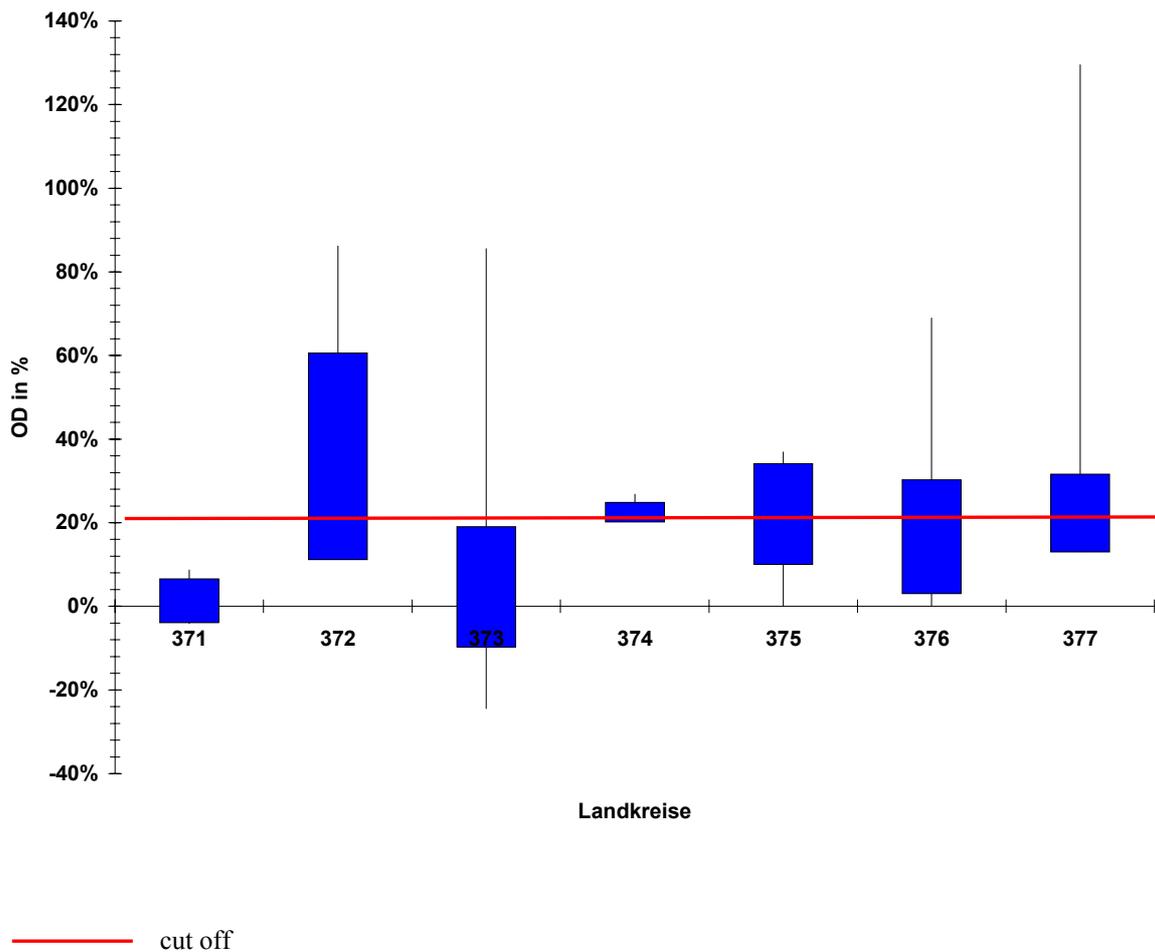


Abbildung 25: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Oberpfalz. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

4.2.7.5 Schwaben

Die S/P%-Werte für Oberfranken sind in Abb. 26 dargestellt. Die auffallendste Spannbreite von S/P%-Werten konnten in Lindau am Bodensee (776), im Ostallgäu (777) und im Oberallgäu (780) beobachtet werden. In Dillingen in der Donau lagen alle S/P%-Werte nahe beieinander.

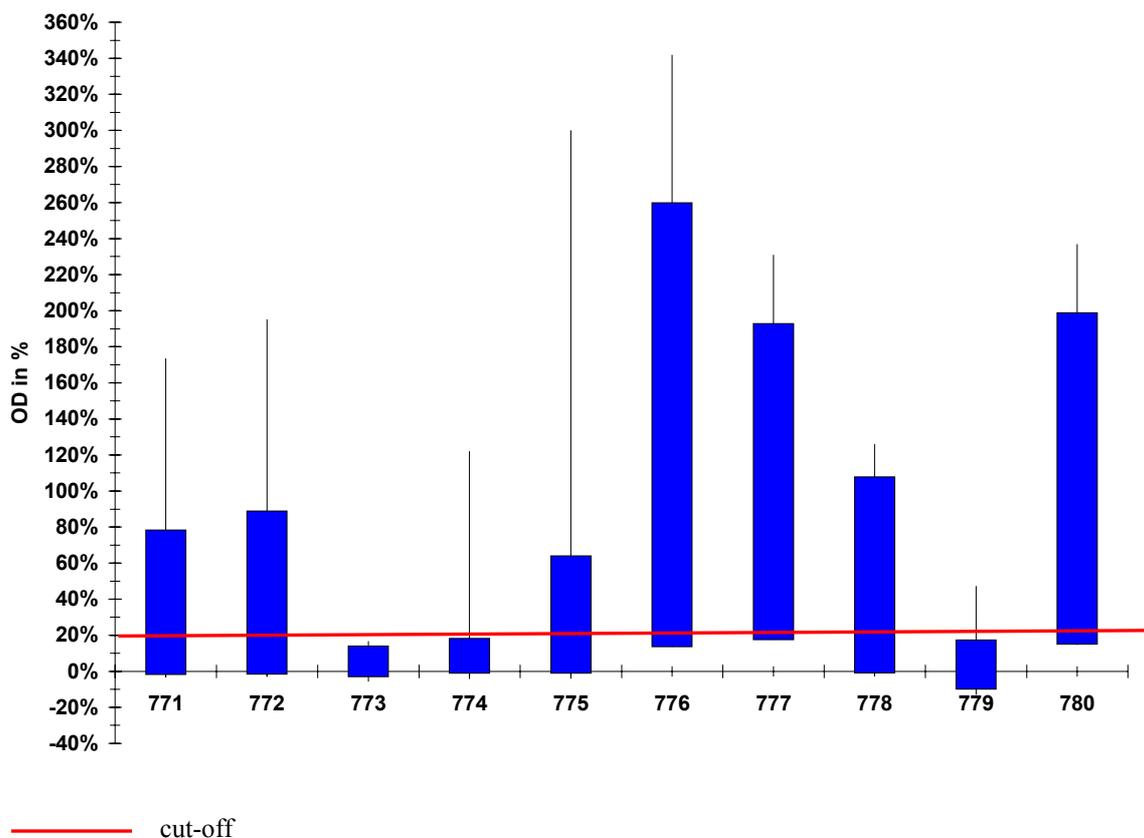


Abbildung 26: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Schwaben. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

4.2.7.6 Niederbayern

Die S/P%-Werte für Oberfranken sind in Abb. 27 dargestellt. In 8 Landkreisen konnten jeweils Ausreißer-Werte festgestellt werden. Einzig Dingolfing-Landau (279) zeigte keinen.

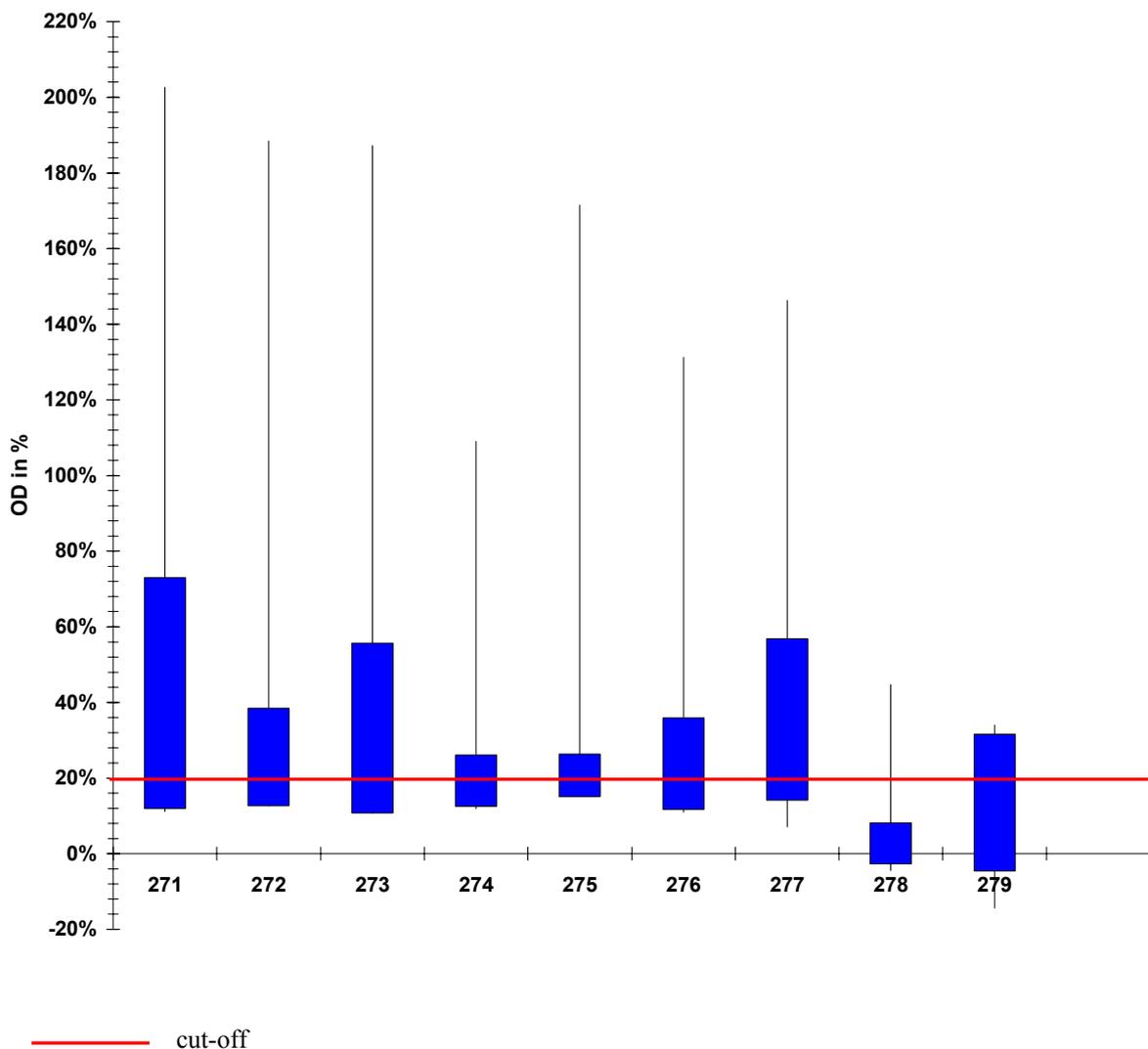


Abbildung 27: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Niederbayern. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

4.2.7.7 Oberbayern

Die S/P%-Werte für Oberfranken sind in Abb. 28 dargestellt. Alle Landkreise außer Eichstätt (176) zeigten Ausreißer-Werte. In Miesbach zeigte sich die höchste Variationsbreite der S/P%-Werte.

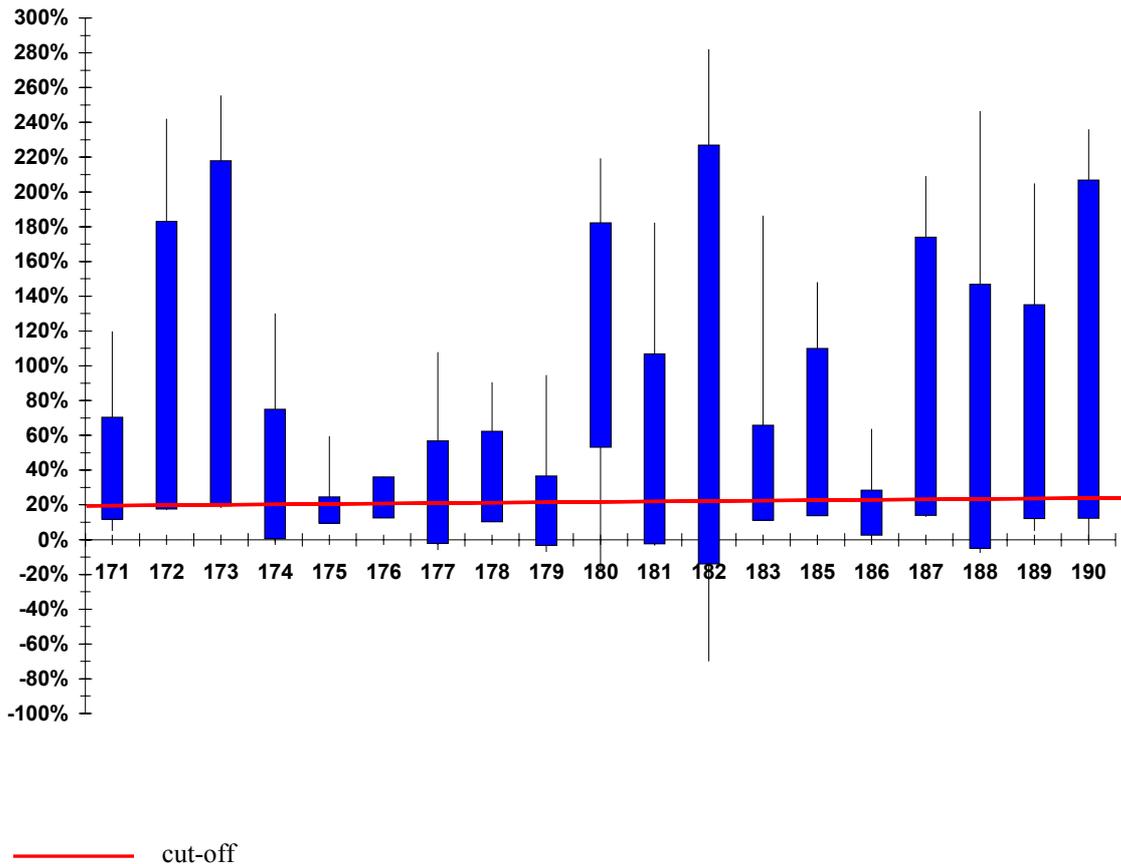


Abbildung 28: Vergleichende Darstellung der S/P%-Werte der einzelnen Landkreise des Regierungsbezirkes Oberbayern. Die Ausreißer-Werte der einzelnen Landkreise sind durch eine senkrechte Linie dargestellt. Der cut-off liegt bei 20%.

5 Diskussion

Die Diagnostik der Fasziole in Milchviehbeständen stellt seit jeher ein schwieriges und unbefriedigendes Problem für den Kliniker dar, eine Verbesserung derselben ist deshalb in klinischer und diagnostischer Hinsicht wünschenswert.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden erstmals Tankmilchproben flächendeckend aus ganz Bayern mittels serologischem Verfahren (ELISA) auf den Großen Leberegel *F. hepatica* untersucht.

In zurückliegenden Studien wurden die Prävalenzen meist anhand von koproskopischen Untersuchungen, Blutserumanalysen oder Schlachthofbefunden bestimmt. Die Milchserologie hat gegenüber den anderen Verfahren gleich mehrere Vorteile: die nichtinvasive Probenentnahme ist einfach und kann durch den Landwirt selbst erfolgen. Beides trifft zwar auch auf die Kotentnahme für die Koproskopie zu, wobei letztere mit einer höheren Fehlerquelle verbunden ist, wenn keine rektale Probenentnahme erfolgt. Mit dem Milchserum-ELISA können im Vergleich zur koprologischen Analyse bereits während der Präpatenzperiode, d. h. einige Wochen früher, Infektionen mit *F. hepatica* nachgewiesen werden. *Fasciola hepatica* Antikörper sind je nach Testverfahren ab ca. 2 –3 Wochen p. i. nachweisbar (Pfister et al. 1984). Ein weiterer Nachteil der koproskopischen Technik gegenüber dem serologischen Verfahren liegt in der geringen Sensitivität (40 – 60%), aufgrund der schubweisen Eiausscheidung mit dem Kot (Eckert 2005, Schnieder 2000, Braun et al. 1995, Boray 1969)

Eine vergleichbare Sensitivität wie der Milchserum-ELISA und die Möglichkeit der Diagnosestellung in der Präpatenzperiode bietet aus den bereits genannten Gründen auch der Blutserum-ELISA (Hutchinson und Macarthur 2003, Pourquier et al. 1996, 1995). Die sog. invasive Probenentnahme ist jedoch einerseits zeitaufwendiger und andererseits auch teurer, weil sie von tiermedizinischem Fachpersonal durchgeführt werden muss. Außerdem können mit der Blutuntersuchung (Einzeltieranalyse) nicht so viele Tiere in derselben Zeit untersucht werden wie mit der Tankmilchuntersuchung. Erstere ist deshalb nicht für die Herdendiagnostik geeignet.

Schlachtbefunde stellen ein sehr sensitives Diagnostikinstrument dar, bilden jedoch wegen ihres rein retrospektiven Charakters für die Intravital-Diagnostik auf Herdenebene ein indirektes Diagnoseverfahren dar, welches wegen oftmals mangelnder Rückmeldung aus den Schlachthöfen nicht oder nur sehr selten angewendet wird, bzw. werden kann.

Insbesondere für Mastvieh, Jungrinder und Mutterkuhherden wäre dies eine adäquate Lösung, da sie aufgrund der Weidebeschaffenheit oft einem hohen Infektionsrisiko ausgesetzt sind. Alternativ könnte in solchen Fällen zur Diagnose auf Herdenbasis der Koproantigen-ELISA verwendet werden, der eine Sensitivität von 100% bei einem Befall von mindestens zwei adulten Großen Leberegel aufweist (Mezo et al. 2004).

Der in dieser Studie verwendete Milchserum-ELISA weist eine Sensitivität von 98% und eine Spezifität von 100% auf und bietet sich insbesondere für die Herdendiagnostik an. (Reichel 2002, Pourquier et al. 1995).

Während der zwei-jährigen Untersuchungszeit konnte jeweils in den Wintermonaten in 1711 von 5278 untersuchten Milchviehbetrieben AK gegen *F. hepatica* nachgewiesen werden. Aus statistischen Gesichtspunkten wurden nur Landkreise mit mehr als 150 Milchbetrieben ausgewählt, um eine korrekte Probenverteilung auf ganz Bayern zu erhalten.

Der Untersuchungszeitraum wurde dem Entwicklungszyklus des Parasiten und des Zwischenwirtes angepasst.

Von den sieben Regierungsbezirken (Unterfranken, Oberfranken, Mittelfranken, Oberpfalz, Schwaben, Niederbayern und Oberbayern), in denen die Seroprävalenz auf Herdenebene von 4,39% bis 47,23% variiert, treten in Oberbayern mit einer Herdenprävalenz von 47,23% signifikant höhere Befallswerte auf. Dies dürfte in erster Linie auf die in diesen Regionen traditionelle und nach wie vor weit verbreitete Weidehaltung zurückzuführen sein. Die speziellen geographischen Strukturen mit ihren klimatischen und geologischen Charakteristika, beispielsweise den ausgedehnten, weit verbreiteten Mooswiesen, die als Weide genutzt werden, bilden ein ideales Habitat für die Zwischenwirtschnecke *Lymnaea truncatula* und erhöhen somit das Infektionsrisiko beträchtlich (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000). Diese Ergebnisse sind konform mit früheren Beobachtungen und bestätigen die bisherigen, vom TGD in diesen Regionen auf der Basis von koprologischen Analysen gemachten Erfahrungen, beträchtlich.

Die für Oberfranken, Schwaben und Niederbayern erhobenen Herdenprävalenzen von 33,18% bis 35,33% decken sich mit den für Gesamtbayern erhobenen und zeigen dadurch mit aller Deutlichkeit, dass das Vorkommen der Fasziole eine sehr weite Verbreitung aufweist.

In Mittelfranken (24,29%), Unterfranken (4,39%) und in der Oberpfalz (18,04%) konnten die bisher vergleichsweise niedrigen, auf koprologischer Basis erhobenen Ergebnisse des Bayerischen Landesamts für Gesundheit- und Lebensmittelsicherheit (LGL) bestätigt werden. Für diese Gebiete konnten in der Zweigstelle Erlangen des LGL im letzten Jahr nur in vereinzelten Kotproben Leberegeleier nachgewiesen werden.

Die Gründe sind nicht klar, unter anderem dürften vermehrt andere Haltungsformen als in den voralpinen Gegenden, aber auch ungünstigere Lebensbedingungen für den Zwischenwirt, für die niedrigere Prävalenz verantwortlich sein. Bei der näheren Betrachtung des Vorkommens und der Verbreitung in den einzelnen LK fallen auch in diesen eher wenig befallenen Regionen vereinzelte Spots mit hoher Herdenprävalenz auf: Im Landkreis Wunsiedel im Fichtelgebirge (Oberfranken) sind bei 95% der untersuchten Betriebe Antikörper gegen

F. hepatica in der Tankmilch nachweisbar. Die Gründe für diese auffällige, signifikant höhere Prävalenz sind im einzelnen nicht klar, sehr wahrscheinlich bildet das Flusssystem im Fichtelgebirge mit seinen zahlreichen Feucht- und Überschwemmungsgebieten gute Lebensbedingungen für die Zwischenwirtschnecken (Eckert et al. 2005). Ein durchaus ähnliches Bild ergibt sich für die drei LK Fürth, Weißenburg-Gunzenhausen und Roth in Mittelfranken. Nach Angaben des Planungsverband Industrieregion Mittelfranken (2005) werden in diesen Gebieten die Extensivierung der Landwirtschaft sowie die Schaffung von Feuchtgebieten, Gewässerschutzzonen und neuen Ökosystemen gefördert, was nachgewiesenermaßen günstige Voraussetzungen für die Zwischenwirtschnecke

L. truncatula bildet (Eckert et al. 2005, Schnieder 2000).

Im bayerischen Voralpenland konnten im Durchschnitt bei 64,48% der untersuchten Betriebe milchserologisch Antikörper nachgewiesen werden. Besonders auffallend waren hier die hohen Prävalenzen von 85% - 97,5% in den Landkreisen Lindau am Bodensee, Oberallgäu, Ostallgäu, Bad Tölz, Miesbach und Bad Reichenhall. Befallzahlen in vergleichbarer Höhe wurden für diese Region in den letzten zehn Jahren nur von Schmitt et al. (1994) mit Befallshäufigkeiten von 73% genannt. Die geradezu idealen Umweltbedingungen, wie feuchte Mooswiesen und ein mildes Klima in den Sommermonaten zusammen mit der glücklicherweise nach wie vor weit verbreiteten Weidehaltung und vor allem auch der Sömmerung auf den Almen und Hochalmen bilden günstige Voraussetzungen für die Entwicklung und Verbreitung der Zwischenwirtschnecke. Ein entscheidender Faktor für die hier beobachtete starke Verbreitung und hohe Prävalenz dürfte außerdem auch die in sämtlichen voralpinen Gebieten stark geförderte Extensivierung der Landwirtschaft und die vermehrt umgesetzte Renaturierung mit der Anlage von Feuchtbiotopen, etc. sein.

Somit lässt sich anhand der Prävalenzen für die Fasziole in Bayern ein Nord-Süd-Gefälle erkennen.

Derartige, heutzutage zweifelsohne nicht nur emotional oder aus touristischen Gründen wünschbare, sondern auch aus Umweltgründen unerlässliche Maßnahmen bringen allerdings nicht nur die Vegetation und ihr Umfeld auf eine umweltverträglichere Ebene, sondern erlauben ebenfalls die Re-Etablierung der damit verbundenen parasitologisch-biologischen Kreisläufe und Wirt-Parasit-Systeme.

Die in dieser Untersuchung gewonnenen Daten erlauben eine genauere Kartierung und Lokalisation der Fasziole-Gebiete und können somit als Grundlage für eine gezielte Bekämpfung des Großen Leberegels in Bayern dienen.

Sehr günstig ist insbesondere auch, dass das Testverfahren selbst bei sehr großen Milchmengen eingesetzt werden kann (Pourquier et al. 1995). Einschränkend ist allerdings festzuhalten, dass die Befunde pro Region oder LK keinesfalls eine generelle Behandlung aller Rinder eines gesamten LK oder der betroffenen Region rechtfertigen. Das hier zur Anwendung gekommene Testsystem erlaubt eine sehr weit gehende, differenzierte Diagnostik des Leberegelbefalls auf Bestands- bzw. Herdenebene (Pourquier et al. 1996), d. h. die Unterschiede betreffend Befallshäufigkeit können bestandsweise problemlos herausgearbeitet werden. Dies geht auch bei LK mit sehr hoher durchschnittlicher Prävalenz deutlich hervor. Auf der Basis dieser Untersuchung sollte daher eine gezieltere Diagnostik der Fasziole in den einzelnen Beständen möglich sein und dadurch zur Verbesserung der klinischen Erfassung der Fasziole beitragen.

Die für das gesamte Gebiet von Bayern durch die Tankmilchuntersuchung festgestellte Seroprävalenz bei laktierenden Kühen von 32,42% (1711 von 5278 untersuchten Milchviehbetrieben) ist als sehr hoch zu beziffern. Ähnlich hohe Prävalenzen konnten in den letzten Jahrzehnten in Deutschland nur in den Weidegebieten Schleswig-Holsteins (Runge 1992, Messerer 1985) und in der ehemaligen DDR (Gräfner 1992, 1989) aufgrund von Schlachtbefunden nachgewiesen werden. Aufgrund von langjährigen Untersuchungen und klinischen Erfahrungen des TGD Bayern spiegeln diese Ergebnisse in gewissem Maße die Befürchtungen, bzw. Erwartungen wider. Die bisher v. a. auf koproskopischen Untersuchungen im Rahmen der landesweiten Leberegelbekämpfung durch den TGD gewonnenen Erkenntnisse ließen den Verdacht auf eine weite, großflächige Verbreitung dieser Parasitose bereits vermuten.

Die tatsächliche Prävalenz der Fasziose in Bayern liegt vermutlich noch um einiges über den hier festgestellten Werten, da insbesondere Jungrinder und Färsen, welche in dieser Studie nicht berücksichtigt wurden, aufgrund ihres in vielen Regionen sehr ausgeprägten Weideganges oft einem höheren Infektionsrisiko ausgesetzt sind als Milchkühe, aber in dieser Untersuchung logischerweise nicht berücksichtigt werden konnten.

Die Interpretation der Test-Ergebnisse des Milchserum-ELISA im Hinblick auf die Prävalenz von *F. hepatica* in einer Herde muss hingegen stets kritisch angegangen werden. Hervorzuheben ist insbesondere, dass die Ergebnisse einer Tankmilchuntersuchung stets nur ein Herdenergebnis darstellen, und dass sie je nach AK-Gehalt von Einzeltieren in nicht erfassbarem Ausmaße beeinflusst werden können, z. B. verfälschen Tiere mit einer hohen Antikörperbildung das Herdenergebnis ganz beträchtlich. Schließlich können bedingt durch die lange Persistenz der Antikörper auch nach einer erfolgreichen Behandlung noch positive Testergebnisse erwartet werden (Pourquier et al. 1995).

Daher dürften insbesondere die für das Testsystem vorgegebenen vier Differenzierungsmöglichkeiten in „kein“, „schwacher“, „mittelstarker“ und „starker Befall“ nicht oder kaum endgültige Aussagen über die Befallsfrequenz in einer Herde wiedergeben. Sind beispielsweise einzelne oder wenige Tiere mit sehr hoher AK-Produktion in der Milchviehherde, kann der Bestand irrtümlicherweise als mittelstark befallen bewertet werden, obwohl tatsächlich nur einzelne Tiere betroffen sind. Ähnlich verhält es sich bei der Interpretationsmöglichkeit „schwacher“ bzw. „starker Befall“. Auch hier können einige starke Reagenten oder schon behandelte Tiere innerhalb einer Herde das Ergebnisbild verzerren.

Der Ausdruck „schwacher Befall“ ist zudem geeignet, den Anschein eines nur „geringgradigen“ Problems in der untersuchten Herde zu erwecken. Beim Landwirt mag dadurch der Eindruck entstehen, eine Behandlung sei des schwachen Befalls wegen nicht notwendig. Aus epidemiologischer Sicht ist indessen auch bei einem schwach positiven Ergebnis unbedingt die Behandlung der ganzen Herde zu empfehlen, da es ja bekanntlich in erster Linie darum geht, den Infektionszyklus möglichst zu unterbrechen.

Aus epidemiologischer Sicht wäre es sicherlich wünschenswert und indiziert, die Ergebniserfassung auf die Unterscheidung in „negativ“ bzw. „positiv“ getestet auf *F. hepatica*-AK zu beschränken und die weitergehenden Entscheidungen aufgrund der klinischen Beurteilung der Absprache des Tierarztes mit dem Tierbesitzer zu überlassen.

Das hier verwendete Testverfahren eignet sich – vorausgesetzt einer eingehenden Bestandsanalyse betr. Infektionsrisiko, etc. – genauso gut für Einzelmilchproben, ist aber primär zur Tankmilchuntersuchung, bzw. für die Herdendiagnostik ausgelegt.

Bisher gibt es in der Literatur keine Angaben darüber, wie viele Proben gemeinsam untersucht werden können, um noch ein aussagekräftiges Ergebnis zu erzielen.

Die einzig verfügbaren Daten hierüber beziehen sich auf den gleichnamigen Blutserum-Test, womit aussagekräftige Ergebnisse noch bei einer Sammelprobe bestehend aus 10 Seren erreicht werden (Pourquier et al. 1995).

Ein großes Problem stellt die Behandlung bzw. Bekämpfung des Leberegels bei Milchkühen dar (siehe Kapitel 2.11.). Es gibt derzeit in Deutschland kein zugelassenes Faszioizid ohne Wartezeitfristen für Rinder, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist. Dies hat zur Folge, dass Milchvieh entweder gar keiner Behandlung unterzogen werden kann oder nur alternierend während der Trockenstehzeiten behandelt werden darf. Im Rahmen der Leberegelbekämpfung durch den TGD wird festgestellt, dass die Mehrzahl der Betriebe infolge der Milchsperrung nur die Jungrinder behandeln lässt. Die Wartezeiten und auch die hohen Medikamentenkosten stehen einer Behandlung der Milchkühe im Wege. Auch die geringen klinisch erkennbaren Anzeichen einer Fasziose bei den Milchkühen halten die Bauern davon ab, ihre Tiere zu behandeln.

Bedenkt man die hohe Prävalenz für ganz Bayern bzw. für einzelne Landkreise der Voralpenregion und betrachtet man in der Folge die wirtschaftlichen Verluste, die mit dem Leberegelbefall verbunden sind, so ist der ökonomische Schaden durch die Fasziose für Bayern immens. Ausgehend von einer Angabe von Schweizer et al. (2004), wonach der Verlust pro Laktation und Tier mit 376 € angegeben wird, und ausgehend von 1,33 Millionen in Bayern gemeldeter Milchrinder lassen sich bei einer Prävalenz von 32,2% 428.260 befallene Rinder bzw. ein wirtschaftlicher Schaden von über 161 Mio. € für Bayern schätzen. Dieser Schätzwert zeigt eindrucksvoll welche ökonomischen Verluste durch den Großen Leberegel entstehen können. Und folglich sind gezielte Bekämpfungsmaßnahmen unerlässlich.

Die Herdendiagnostik ist als Basis für die Bekämpfung in den betroffenen Gebieten essentiell. Das Verfahren bietet Tierärzten und Veterinärbehörden ein gutes Instrumentarium dafür und eignet sich im Rahmen der Bestandsüberwachung für die integrierte tierärztliche Bestandsbetreuung.

Eine flächendeckende Bekämpfung des Großen Leberegels in ganz Bayern erscheint aufgrund der regional unterschiedlichen Prävalenzen wenig sinnvoll.

In stark betroffenen Regionen sollte dafür eine bessere Aufklärungsarbeit, intensivierte Bekämpfungsmaßnahmen sowie eine lückenlose Befunddokumentation inklusive Rückmeldungen positiver Schlachtbefunde an die Landwirte vorangetrieben werden. Letztere erhalten derzeit von den meisten Schlachthöfen keinerlei Information über die Ursachen der Beanstandung von Lebern beim Schlachtprozess.

Mit einem entsprechenden (Rück-) Meldeformular könnte die Leberegelseuche gezielter bekämpft werden sowie eine bessere Therapiekontrolle erfolgen. Nachdem die Anzeichen einer Fasziole (siehe Kapitel 2) für den Landwirt nicht immer deutlich erkennbar sind, obliegt die Überwachung den Tierärzten, Tierärztinnen und Untersuchungsämtern.

In jedem Fall ist aber vor jeglichen Behandlungsmaßnahmen größter Wert auf eine exakte Diagnosestellung auf Herdenbasis zu legen.

6 Anhang

6.1 Materialliste

6.1.1 Rohmaterialien ELISA-Testkit Pourquier/Montpellier/Frankreich

- Verdünnungspuffer: die Hauptbestandteile sind chemisch inerte Substanzen, wie NaCl, NaH₂PO₄, KCL, etc. die exakte chemische Zusammensetzung kann nicht veröffentlicht, da es sich hierbei um vertrauliche Informationen der Firma Pourquier handelt)
- Enzyme Substrate: TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine)
- Anti-Wiederkäuer IgG Peroxidase-Konjugat
- Stopplösung :H₂SO₄, 0,5M
- Konzentrierte Waschlösung (20x): 1Liter enthält:
 - 160g NaCl
 - 4 g KCl
 - 18,3 g Na₂HPO₄
 - 4 g KH₂PO₄
 - 0,2 g Merthiolat
 - 1,5 ml Tween 20

6.1.2 Konservierungsmittel

Natriumazidtabletten für die Milchanalytik Tablettengewicht 0,1g

(1 Tablette enthält etwa 8 mg Natriumazid)

6.1.3 Statistik der Anforderungslisten

SQL-Statement zur Erzeugung der Zufallszahl:

```
create table aaaa_tmssel_2 as
select t.lims,t.balis,t.lkvnr,t.mprnr,t.lkr,
to_number( DBMS_RANDOM.RANDOM() ) zuf
from aaaa_tmssel_1 t
order by lkr,-zuf
```

Oracle-Version: ORACEL 91 Release 9.2.0.4.0

6.2 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen für die verschiedenen Landkreise

171	AÖ	Altötting
172	BGL	Bad Reichenhall (Berchtesgadener Land)
173	TÖL	Bad Tölz (Wolfratshausen)
174	DAH	Dachau
175	EBE	Ebersberg
176	EI	Eichstätt
177	ED	Erding
178	FS	Freising
179	FFB	Fürstenfeldbruck
180	GAP	Garmisch-Partenkirchen
181	LL	Landsberg am Lech
182	MB	Miesbach
183	MÜ	Mühldorf a. d. Inn
185	ND	Neuburg a. d. Donau
186	PAF	Pfaffenhofen
187	RO	Rosenheim (Bad Aibling)
188	STA	Starnberg
189	TS	Traunstein
190	WM	Weilheim-Schongau
271	DEG	Deggendorf
272	FRG	Freyung-Grafenau
273	KEH	Kehlheim
274	LA	Landshut
275	PA	Passau
276	REG	Regen
277	PAN	Pfarrkirchen (Rottal-Inn)
278	SR	Straubing-Bogen
279	DGF	Dingolfing-Landau
371	AS	Amberg-Weizsach
372	CHA	Cham
373	NM	Neumarkt i. d. Oberpfalz
374	NEW	Neustadt a. d. Waldnaab
375	R	Regensburg
376	SAD	Schwandorf
377	TIR	Tirschenreuth

471	BA	Bamberg
472	BT	Bayreuth
473	CO	Coburg
474	FO	Forchheim
475	HO	Hof
476	KC	Kronach
477	KU	Kulmbach
478	LIF	Lichtenfels
479	WUN	Wunsiedel im Fichtelgebirge
571	AN	Ansbach
572	ERH	Erlangen Höchststadt
573	FÜ	Fürth
574	LAU	Nürnberger Land
575	NEA	Neustadt a .d. Aich
576	RH	Roth
577	WUG	Weißenburg-Gunzenhausen
672	KG	Bad Kissingen
673	NES	Bad Neustadt a.d. Saale (Röhne-Grabfeld)
674	HAS	Haßfurt (Haßberg)
675	KT	Kitzingen
678	SW	Schweinfurt
679	WÜ	Würzburg
771	AIC	Aichach
772	A	Gersthofen (Augsburg)
773	DLG	Dillingen a. d. Donau
774	GZ	Günzburg
775	NU	Neu-Ulm
776	LI	Lindau am Bodensee
777	OAL/MOD	Marktoberdorf (Ostallgäu)
778	UA/MN	Mindelheim (Unterallgäu)
779	DO	Donauwörth (Donau-Ries)
780	OA/SF	Sonthofen (Oberallgäu)

6.3 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Ag	Antigen
AK	Antikörper
AMG	Arzneimittelgesetz
AST	Aspartataminotransferase
b. a. W.	bis auf Weiteres
BALISNR	zentrale Betriebsnummer
BfR	Bundesinstiut für Risikobewertung (vormals BgVV)
BGVV	Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin seit 1.11.2002 BfR
BHV-1	<i>Bovines Herpesvirus 1</i>
bzw.	beziehungsweise
CSV	Comma Seperated Values
ect.	et cetera
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
evtl.	eventuell
FFA-ELISA	freshly collected fluke antigen-ELISA
GGT	Gamma Glutamyl Transferase
ggtl.	gelegentlich
GLDH	Glutamatdehydrogenase
HAU	Hämagglutination-Einheitsserum
i. d. R.	in der Regel
KGW	Körpergewicht
LFA-ELISA	lyophilized fluke antigen-ELISA
LGL	Landesamt für Gesundheit- und Lebensmittelsicherheit
LIMSNR	Laborinformationssystemnummer
LK	Landkreis
LKNR	Landkreisnummer
LKVNR	Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. Nummer
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
Mio.	Millionen
mm	Millimeter
MPRNR	Milchprüfringnummer
OD	Optical density
p. i.	post infectionem
p. o.	per os
PHA	passive Hämagglutinationstest
s. o.	siehe oben
SI	Sicherheitsindex
sog.	sogenannte

spp	Subspecies
SQL	Structured Query Language
Tab.	Tabelle
TGD	Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.
TMB	Tetramethylbenzidine
ü. NN	über Normalnull
usw.	und so weiter
WDK	Wiederkäuer
z. B.	zum Beispiel
z. Zt.	zur Zeit
ZUF	Zufall

7 Zusammenfassung

In einer landesweiten, flächendeckenden Untersuchung wurden während drei Zeitperioden - jeweils in den Wintermonaten zwischen Februar 2003 und März 2005 - insgesamt 5.278 nach dem statistischen Zufallsprinzip selektierte Betriebe aus 66 Landkreisen in Bayern auf das Vorkommen von Fasziole getestet. Die Proben wurden als Tankmilchproben entnommen und mittels eines Milchserum-ELISA (Firma Pourquier/Montpellier/Frankreich) auf AK gegen *F. hepatica* untersucht. Die Probenentnahmen erfolgten entsprechend der Entwicklung des Parasiten im Wirtstier während der Wintermonate.

Für das gesamte Gebiet Bayerns konnte eine durchschnittliche Herdenprävalenz von 32,2% ermittelt werden, wobei in den sieben Regierungsbezirken die Werte zwischen 4,39% und 47,23% variieren. Die Verbreitungsgebiete der Fasziole in den 66 Landkreisen weichen auch je nach Landkreis sehr stark voneinander ab. Tendenziell kann man sagen, dass die Gebiete Südbayerns beträchtlich stärker von Fasziole betroffen sind.

Im Vergleich zu den anderen Regierungsbezirken konnte der Große Leberegel in Oberbayern mit einer Prävalenz von 47,23% hochsignifikant häufiger festgestellt werden. In Oberfranken (33,18%), Schwaben (33,71%) und Niederbayern (35,33%) lag kein signifikanter Unterschied in der Seroprävalenz gegenüber Gesamtbayern vor. In Mittelfranken (24,29%), Unterfranken (4,39%) und in der Oberpfalz (18,04%) wurden dagegen vergleichsweise signifikant niedrigere Prävalenzen ermittelt.

Die Prävalenz für das Voralpenland Bayerns beläuft sich auf 64,48%, wobei sich in den LK Lindau am Bodensee, Oberallgäu, Ostallgäu, Bad Tölz, Miesbach und Bad Reichenhall die Herdenprävalenzen sogar auf 85%-97,5% beziffern. Die traditionelle Weidehaltung in diesem Gebiet sowie die geographische Lage mit den vielen voralpinen Feuchtgebieten dürften für diese starke Verbreitung verantwortlich sein.

Eine auffallend hohe Prävalenz von 95% konnte im Landkreis Wunsiedel im Fichtelgebirge (Oberfranken) festgestellt werden, möglicherweise bedingt durch das dort vorkommende Flusssystem mit vielen Feucht- und Überschwemmungsgebieten

Ebenfalls überdurchschnittlich hohe Prävalenzen wiesen die LK Fürth (43,75%), Weißenburg-Gunzenhausen (43,75%) und Roth (46,75%) in Mittelfranken auf.

Diese erste flächendeckende serologische Untersuchung von Tankmilchproben in Bayern spiegelt das Ausmaß der Verbreitung der Fasziole wider und bildet eine ausgezeichnete Grundlage für eine auf einer adäquaten Diagnostik basierenden Bekämpfung. Der hier verwendete »f2«-Antigen-ELISA eignet sich als automatisierbares Screeningverfahren insbesondere für die Herdendiagnostik und Überwachungsprogramme mit großem Probenumfang auf der Basis von Tankmilchproben und sollte dringend in die Bestandesuntersuchung integriert werden.

8 Summary

Investigations on the seroprevalence of *Fasciola hepatica* in Bavarian dairy cattle

On a statewide basis, 5.278 bulk tank milk samples were randomly collected from 66 Bavarian rural districts during three wintertime periods from February 2003 to March 2005. The samples were tested for antibodies against *F. hepatica* by the use of an ELISA (established by Pourquier/Montpellier/France). The period of examination was adapted to the lifecycle of the parasite in the intermediate host in winter time.

An overall prevalence of 32.2% was determined for Bavaria as a whole, while prevalences ranging from 4.39% to 47.23% were found for the 7 Bavarian administrative districts. The underlying 66 rural districts showed huge differences in distribution and prevalence of fasciolosis. Areas in south Bavaria tend to be more affected by fasciolosis.

It is highly significant that the liver fluke was detected more frequently in Oberbayern (47.23%). In Oberfranken (33.18%), Schwaben (33.71%) and Niederbayern (35.33%) similar seroprevalences were detected without significant differences to Bavaria as a whole.

In Mittelfranken (24.29%), Unterfranken (4.39%) and Oberpfalz (18.04%) significant lower prevalences were found than in Bavaria as a whole.

The overall prevalence in the alpine uplands of Bavaria equals 64.48%, whereas the rural districts Lindau am Bodensee, Oberallgäu, Ostallgäu, Bad Tölz, Miesbach and Bad Reichenhall showed seroprevalences ranging from 85% to 97.5%. A reason for this finding could be the traditional housing systems in this area as well as the geographic-location.

A remarkably high prevalence of 95% was found in the rural district Wunsiedel im Fichtelgebirge (Oberfranken), probably due to the prevailing river systems with plenty of wetlands and flood plains.

Also Mittelfranken Fürth (43.75%), Weißenburg-Gunzenhausen (43.75%) and Roth (46.75%) showed statistically significant above-average prevalences.

The serological study presented here, in which bulk tank milk was examined across all of Bavaria for the first time, gives a very good picture of the extent of the disease.

The »f2« antigen detecting ELISA underlying that this study represents a suitable screening method for diagnosis on a herd level and large scale surveillance programs. It is urgently recommended that this screening method be integrated as an automatic feature in stock examinations.

9 Literaturverzeichnis

- Anonymus, Autor o. A.. Die Altmühlregulierung in unserer Region – ein historischer Überblick.-, o.J.,
www.kottingwoerth.de/geschichte/altmuehlregulierung/altmuehlregulierung.PDF
Download: 05.03.2005.
- Balbo T, Lanfranchi P, Gallo MG. Dissemination of *Fasciola hepatica* in cattle of Novara Provine. *Parasitologia* 1978; 20 : 23-28
- Bauer C. Anthelmintika-Resistenzen bei Pferde- und Wiederkäuerhelminthen- praktische Aspekte. *Tierärztl Prax* 2004; 32 (G): 306-11.
- Bauer C, Hermosilla C, Çirak V Y .Wirksamkeit von Closantel gegen *Fasciola hepatica* und *Haemonchus contortus*. *Prakt Tierarzt* 1996; 77: 917-22.
- Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten, Land- und Forstwirtschaft in Bayern Daten und Fakten 2004, Stand August 2004, www.landwirtschaft.bayern.de, www.forts.bayern.de, Download 05.Februar 2005.
- Berning H. Vorkommen und Bedeutung der Rinderfasciolose in Nord-Niedersachsen anhand von Schlachtungsbefunden. Inaugural-Dissertation: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2002.
- Boray JC. Experimental fascioliasis in Australia. *Adv Parasit* 1969; 7: 95-210.
- Borgsteede FH, Moll L, Vellema P, Gaasenbeek CP. Lack of reversion in triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*. *Vet Rec* 2005; 156: 350-1.
- Braun U, Wolfensberger R, Hertzberg H. Diagnosis of liver flukes in cows- a comparison of the finding in the liver, in the feces, and in the bile. *Schweiz Arch Tierheilk* 1995; 137: 438-44.

- Conceição MAP, Duraõ RMB, Costa IMH, Castro A, Louza AC, Costa JC. Herd-level seroprevalence of fasciolosis in cattle in north central Portugal. *Vet Parasitol* 2004; 123: 93-103.
- Cornelissen JBWJ, Gaasenbeek CPH, Boersma W, Borgsteede FHM, van Milligen FJ. Use of a pre-selected epitope of cathepsin-L₁ a highly specific peptide-based immunoassay for the diagnosis of *Fasciola hepatica* infections in cattle. *Int J for Parasitol* 1999; 29: 685-96.
- Cornelissen JBWJ, Gaasenbeek CPH, Borgsteede FHM, Holland WG, Harmsen MM, Boersma WJA. Early immunodiagnosis of fasciolosis in ruminants using recombinant *Fasciola hepatica* cathepsin L-like protease. *Int J for Parasitol* 2001; 31: 728-37.
- Cringoli G, Rinaldi L, Veneziano V, Capelli G, Malone JB. A cross-sectional coprological survey of liver flukes in cattle and sheep from an area of the southern Italian Apennines. *Vet Parasitol* 2002; 108: 137-43.
- Dittmar K, Teegen WR. The Presence of *Fasciola hepatica* (Liver-fluke) in Humans and Cattle from a 4,500 Year Old Archaeological Site in the Saale-Unstrut Valley Germany. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; Rio de Janeiro; 98 141-3.
- Ducommun D, Pfister K. Prevalence and distribution of *D. dentriticum* and *F. hepatica* infections in cattle in Switzerland. *Parasitol Res* 1991; 77: 364-6.
- Duménigo BE, Espino AM, Finlay CM. Detection of *Fasciola hepatica* antigen in cattle faeces by a monoclonal antibody-based sandwich immunoassay. *Res In Vet Sc* 1996; 60: 278-9.
- Eckert J, Friedhoff KT, Zahner H, Deplazes P. Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Enke Verlag Stuttgart 2005: 134-45.
- Eckert J, Sauerländer R, Wolff K. Frequency and geographical distribution of *Fasciola hepatica* in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 1975; 117: 173-84.

- Emmerich IU, Ungemach TR. Zulassung von Tierarzneimitteln nach dem 30. Juni 2003; DTB 4/2003.
- Fairweather I, Boray JC. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management. *The Vet J* 1999; 158: 81-112.
- Farrel CJ, MS; Shen DT, Wescott RB, Lang BZ. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of *Fasciola hepatica* Infection in Cattle. *Am J Vet Res* 1981; 42: 237-40.
- Froyd G. Liver fluke in Great Britain: a survey of affected livers. *Vet Rec* 1975; 97: 492-495.
- Funk H. Leberegelbekämpfung in Nordfriesland seit 1969. *Tierärztl Umsch* 1984; 39: 318-23.
- Funk H. 10 Jahre Leberegelbekämpfung in Nordfriesland. 1980; zit. Nach Runge C (1992).
- Funk H. Wiederbefall mit Leberegeln (*F. hepatica*) beim Rind nach zweijähriger Aussetzung der großflächigen Bekämpfung im Gebiet des ehemaligen Kreises Südtondern. 1976, zit. nach Runge C; (1992).
- Funk H. Organisation, Entwicklung und Stand der Leberegelbekämpfung in Schleswig-Holstein. 1973; zit. nach Runge C (1992).
- Gräfner G. Fasziole-Befall beim Rind in den neuen Bundesländern in: Tagung der Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“. Husum 1992; 40-5.
- Gräfner G. Zur derzeitigen Verbreitung, Bedeutung und Bekämpfung der Weideparasitosen des Rindes in der DDR. *Mh Vet-Med* 1989; 44: 435-7.
- Gründer H D. Leberegelkrankheiten (Fasziolose, Hepatitis et cholangitis fasciolosa) in: G Rosenberger (Hrsg.): *Krankheiten des Rindes*, 2. Aufl., 1978, Verlag Parey, Berlin und Hamburg 937-46.

- Hermanns W. Leber und Gallenwege, in: Dahme, E, Weiss, E, (Hrsg.): Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 1999, 5. Aufl., Verlag Enke, Stuttgart, 228-32.
- Hertzberg H, Ochs H, Ebeid M, Bauer C. Merkblätter zur Parasitenbekämpfung, Rind, Schaf, Ziege. Institut für Parasitologie Gießen 2002; 3. Auflage.
- Hertzberg H, Figi R, Heckendorn F. Parasitenproblematik in Rinder-Weidemast-Betrieben in der Schweiz. DVG-Tagung: Epidemiologie und Bekämpfung von Parasiten in Leipzig, 20.-21. März 2003.
- Hiepe T. Weideparasiten - ein aktuelles Problem in der Jundrinderaufzucht. Tierzucht 1984; 38: 182-4.
- Hoffmann J. Derde jaarverslag van de stichting Gezondheidsdienst voor Dieren in Noord-Nederland, 1 januari 1983 – 1 januari 1984 (Third annual report of Health Service for Animals in North Netzerlands, January – December 1983, Drachten Niederlande
- Hutchinson GW, Macarthur E. Validation of French Antibody ELISA for Liver Fluke, On farm, Meat and Livestock Australia July 2003, Locked Bag 991, North Sydney NSW 2059, ISBN 0 7347 15102.
- Ilchmann G, Golze M, Krippner S. Betriebswirtschaftliche Aspekte des Parasitenbefalls bei Rindern. Tierärztl Prax 2002; 30: 273-6.
- Kraft W, Dürr UM, Bosted H, Heinritzi K. Leber in : Kraft W u. Dürr U M, (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 5.Auflage 1999; Verlag Schattauer, Stuttgart, New York: 112-33.
- Levieux D, Levieux A, Mage Ch, Garel J-P. Immunological detection of chemotherapeutic succes in bovine fasciolosis usinge the specifig antigen f2. Vet Parasitol 1992a; 45: 81-8.

- Levieux D, Levieux A, Mage Ch, Venien A. Early immunodiagnosis of bovine fascioliasis using the specific antigen f2 in a passiv hemagglutination test. *Vet Parasitol* 1992b; 44: 77-86.
- Lonneux JF, Boelaert F, Vandergheynst D, Biront P, Meulemans G. *Fasciola hepatica* in Belgium: survey of the disease's prevalence and comparisons with previous simulations. *Epidemiol. Networks and Interactions* 2000. Theme 6: 56-7.
- Luzon-Pena M, Rojo-Vazques FA, Gomez-Bautista M. Seasonal availability of *Fasciola hepatica* metacercariae in a temperate mediterranean area (Spain, Madrid). *J Vet Med B* 1995; 42: 577-85.
- Mage C, Bourgne H, Toullieu J-M, Rondelaud D, Dreyfuss G. *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. *Vet Res* 2002; 33: 439-47.
- Malone JB, McNally KL, McCarroll JC, Corbett JD, Mkoji G. Modeling the biocoenose of parasitic diseases using remote sensing and geographic information systems. *Parasitologia* 2004, 46: 59-61.
- McIlroy SG, Godall EA, Stewart EA, Taylor SM, Mc Crackeen RM. A computerised system for the forecasting of the annual prevalence of fasciolosis. *Prev vet med* 1990; 9: 27-35.
- Mehlhorn H, Piekarski G. Grundriß der Parasitenkunde, Parasiten des Menschen und der Nutztiere. 5. Auflage 1998; Verlag Fischer, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm.
- Messerer J. 1969-1983: 14 Jahre praktische Feststellung des Leberegelbefalls im Fleischbeschaubezirk Gettorf I und seine Folgerungen. *Tierärztl Umsch* 1985, 40: 123-24.

- Mezo M, González-Warleta M, Carro C, Ubeira FM. An ultrasensitive capture ELISA for detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in sheep and cattle using a new monoclonal antibody (MM3). J Parasitol 2004; 90: 845-52.
- Moll L, Gaasenbeek CPH, Vellema P, Borgsteede FHM. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. Vet Parasitol 2000; 91: 153-8.
- Planungsverband Industrieregion Mittelfranken,
www.industrieregion-mittelfranken.de, Download: 27.03.05.
- Parr SL, Gray JS. A strategic dosing scheme for the control of fasciolosis in cattle and sheep in Ireland. Vet Parasitol 2000; 88: 187-97.
- Pfister K, Daveau Ch, Ambroise-Thomas P. Partial purification of somatic and excretory-secretory products of adult *Fasciola hepatica* and their application for the serodiagnosis of experimental and natural fascioliasis using an ELISA. Res In Vet Science 1984; 37: 39-43.
- Pfister K, Koch S. Vorläufige Ergebnisse von Tankmilch-Untersuchungen zum *Fasciola hepatica* Befall in bayerischen Milchviehherden. Tierärztl Prax 2004; 32: 316-9.
- Pourquier Ph, Caquineau L, Galaup M, Glevarec M, Le Moal Y, Martain L, Salingardes F, Turmel R. Serologische Kontrolle des chemotherapeutischen Erfolges bei boviner Fasciolose mittels eine ELISAS auf der Grundlage des spezifischen Antigens F2. Tierärztl. Umschau 1996; 51: 730-3.
- Pourquier P, Caquineau L, Galaup M, Le Moal T, Martain, Salingardes F, Turmel R. Serological Control of Chemotherapeutic success in bovine Fascioliasis measured by an ELISA-Test using the Specific Antigen »f2«. Traduction of: "Extrait Bulletin de la Société Vétérinaire pratique de France"; 1995; 79, Juni Juillet.

- Reichel MP. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in sheep. *Vet Parasitol* 2002; 107: 65-72.
- Richards RJ, Bowen FL, Essenwein F, Steiger RF, Buscher G. The efficacy of triclabendazol and other anthelmintics against *Fasciola hepatica* in controlled studies in cattle. *Vet Rec* 1990; 126: 213-6.
- Rosenberger G, Meermann A, Liebisch A, Frerking H. Parasitäre Krankheiten, in: Assmus G, Frerking H, Geyer K, Liebisch A, Meermann A, Rosenberger G. *Buiatrik* 1995, 5. Aufl., Achaper Verlag, Hannover, Bd.II: Rinderkrankheiten: 93-110.
- Runge C. Leberegelbefall bei Schlachtrindern in Nordfriesland, Deutsche Vetmed Gesellschaft e.V., Tagung der Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“, Husum 1992, Teil1: 47-8.
- Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A, Suárez JL, Panadero R, Díez-Banos P, Morrondo P, Use of a sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay (SEA) for the diagnosis of natural *Fasciola hepatica* infection in cattle from Galicia (NW Spain). *Vet Parasitol* 2000; 93: 39-46.
- Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A, Suárez JL, Panadero R, Pedreira J, López C, Díez-Banos P, Morrondo P. Influence of Age and Breed on Natural Bovine Fasciolosis in an Endemic Area (Galicia, NM Spain). *Vet Res Comm* 2002; 26: 361-70.
- Schmitt D, Wittkowski G, Witzigmann G. Untersuchung zur Diagnostik und Epidemiologie der Fasciolose des Rindes mittels Milch-Antikörper-ELISA, Proc. 18th World Buiatrics Congress 1994, 26th of the Italian Association of Buiatrics, Bologna, Italy, August 29- September 2; 1994.
- Schnieder T. Helminthosen der Wiederkäuer, in: Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T, (Hrsg.). *Veterinärmedizinische Parasitologie* 2000, 5. Aufl., Verlag Parey, Berlin, Hamburg: 192-295.

- Scholtysik G, Kaufmann J. Im Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für Veterinärmedizin, Herausgeber Frey HH, Löscher W. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1996.
- Schweizer G, Braun U, Deplazes P, Torgerson P. Fasziole des Rindes: Wirtschaftliche Auswirkung in der Schweiz, Tagung der DVG-Fachgruppe »Parasitologie und parasitäre Krankheiten« Aktuelles zur Diagnostik, Epidemiologie und Bekämpfung von Parasitosen bei Nutz-, Haus- & Heimtieren, München- Starnberg, 9-11. Juni 2004; Vortrag Wiederkäuer-Helminthen.
- Schweizer G, Plebani GF, Braun U. Prävalenz von *Fasciola hepatica* und *Dicrocoelium dentriticum* beim Rind: Untersuchung in einem Ostschweizer Schlachthof, Schweiz Arch Tierheilk 2003; 4: 177-9.
- Simman W. Der große Leberegel (*Fasciola hepatica*) aus fleischhygienischer Sicht. Rundsch Fleischhyg Lebensmittelüberw 1987; 39: 5-6.
- Statistisches Bundesamt Deutschland, Viehbestand betrieben mit Rindern und Rinderbestand, Stand 2004. www.destatis.de, Download: 22. Februar 2005.
- Taylor SM. A majmeteleykor elleni vedekezés a Brit-szigeteken (Control of fasciolosis in the British Isles). Magy allatorv Lapja 1989; 44: 651-5.
- VETIDATA, Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht, <http://www.vetidata.de/>, Download: 28.02.2005

10 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Pfister für die Überlassung des Dissertationsthemas, die Korrektur der Arbeit und seine stets sehr freundliche Anteilnahme und sehr motivierende Unterstützung.

Herrn Dr. J. Böttcher vom Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. möchte ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und –materials danken. Frau A. Pflieger und Herrn Dr. A. Gangl bin ich sehr dankbar für die nette Betreuung und Unterstützung während der Laborarbeit. Mein besonderes Dankgefühl geht an alle Laborangestellten vom TGD, die mir bei der Probenbeschaffung sehr behilflich waren.

Auch möchte ich ein Dankeswort an die Firma Novartis für die finanzielle Unterstützung richten. Ohne sie wäre für mich diese Arbeit erst gar nicht möglich gewesen.

Bei Frau Dr. Y. Gall und Herrn Dr. H. Tenhumberg möchte ich mich ganz herzlich für die stets freundlichen, konstruktiven Bemerkungen und Anregungen die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben bedanken.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Osterkorn, Dr. J. Fußeder und Dr. T. Brendel möchte ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung danken.

Franz Thoma, Jan Vogt und Glenn Carlson gilt mein besonderer Dank für ihre große Hilfsbereitschaft.

Ein besonderer Dank gilt zudem allen Mitarbeiterinnen des Institutes für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie für die Kollegialität und das äußerst angenehme Arbeitsklima.

Für ständige Unterstützung, Ratschläge und Aufmunterungen in allen Situationen danke ich ganz besonders meiner Familie, Mildred Behn, Sarah Leonhard, Alexandra Godat und allen die mich in der nicht ganz einfachen Zeit des Studiums und der Promotion unterstützt haben.