



Parasitologische Koprologie bei Nutztieren

Felix Grimm, Institut für Parasitologie, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
(Vets 2006, GST-Jahreskongress, 28./29. September 2006 - Zusammenfassung des Vortrages)

Einleitung

Die mikroskopische Kotuntersuchung ist auch heute noch das wichtigste Standbein in der parasitologischen Diagnostik bei Nutztieren. Dabei werden die Parasiten bzw. Entwicklungsstadien oder Produkte der Parasiten direkt oder nach Anreicherungsverfahren und/oder Färbungen mikroskopisch nachgewiesen.

Limitierende Faktoren sind: Unregelmässige Parasitenverteilung im Substrat, schwankende Parasitenausscheidung und damit verbunden eine oft tiefe Nachweissensitivität, sowie falsche Entnahme, Lagerung und Versand der Proben.

Die wichtigsten koprologischen Methoden

- **Flotation** oder kombiniertes Sedimentations-Flotationsverfahren: Nachweis von Eiern der meisten **Nematoden** und **Cestoden** und **Oozysten** der meisten **Protozoen** (Prinzip: Eier/Oozysten flotieren auf der Oberfläche einer Lösung mit hoher Dichte)
- **Sedimentation** zum Nachweis von **Trematoden**-Eiern (Prinzip: Schwere Eier sinken ins Sediment)
- **Baermann-Trichter** zum Nachweis von **Lungenwurmlarven** (Prinzip: Aktive Larven wandern aus Kotprobe aus)
- **Ziehl-Neelsen-Färbung** (modifiziert) zum Nachweis von **Cryptosporidien**-Oozysten (Prinzip: Spezifische Rot-/Pinkfärbung der Oozystenoberfläche)
- **Larvenkultur** zur **Larvendifferenzierung** bei Strongyliden (Prinzip: Schlüpfen und Entwicklung von Larven, Auswandern der Larven aus dem Kot)
- **McMaster-Verfahren** zum **quantitativen Nachweis von Nematodeneiern und Protozoenoozysten** (Prinzip: Flotationsverfahren mit bekannten Mengen und Volumina zur Berechnung der Anzahl Eier oder Oozysten pro Gramm Kot).
- **Resistenzprüfung** zur Erfassung einer eventuellen Medikamentenresistenz von Strongyliden (Prinzip: McMaster-Verfahren vor und nach Therapie)

Präanalytik

Kotproben rektal entnehmen oder unmittelbar nach dem Absetzen so sammeln, dass eine Kontamination mit Fremdmaterial (z.B. Erde mit frei lebenden Nematoden) vermieden wird. Die Proben in dicht verschliessbaren und bruchfesten Behältern aus Kunststoff aufbewahren und transportieren. Eine Fixierung der Proben ist im Allgemeinen nicht erforderlich. Bei Transportzeiten von mehr als einem Tag und hohen Aussentemperaturen können Kotproben jedoch durch Zusatz 4%iger Formalinlösung im Verhältnis von etwa 1 ml zu 10 g Kot konserviert werden. Der Nachweis lebender Larven durch das Trichterverfahren oder durch Kultivierung ist dann aber nicht mehr möglich.

Ausgeschiedene Parasiten oder verdächtige Gebilde nach Möglichkeit separat sammeln und in physiologischer Kochsalzlösung oder in 70% EtOH einsenden.

Probenmengen

Tierart	Gramm Kot	Standarduntersuchungen
Rind	50 g*	Sedimentation (2 x), Flotation, Baermann
Schaf, Ziege, Schwein	30 g	Sedimentation, Flotation, Baermann
Geflügel	10 g	Flotation

*entspricht einem fast gefüllten Standardkotbecher

Um einen Überblick über die in einem Bestand vorkommenden Parasitenarten zu erhalten, müssen Tiere aller Altersklassen untersucht werden. Bei Sammelproben (bis zu 10 Tiere) ist es absolut wichtig, dass pro Tier jeweils die gleiche Kotmenge (z. B. ein gestrichener Löffel) genommen wird.

Die Proben sind möglichst frisch oder nach Aufbewahrung bei +4°C zu untersuchen, da sich Eier verschiedener Helminthenarten sowie Kokzidienoozysten durch Weiterentwicklung in ihren diagnostischen Merkmalen verändern und bei warmem Wetter Larven von *Strongyloides* spp. innerhalb von 5 Stunden und von Strongyliden in 1-2 Tagen aus den Eihüllen schlüpfen können. Die Vitalität der Larven von *Dictyocaulus viviparus* wird bei Temperaturen von über 20°C negativ beeinflusst, so dass es hier besonders wichtig ist, die Proben vor der Untersuchung vor hohen Aussentemperaturen zu schützen.

Für die Praxis. Die wichtige Punkte kurz zusammengefasst:

Probenentnahme

- rektal oder
- unmittelbar nach dem Absetzen, ohne Kontamination mit Fremdmaterial
- Ausgeschiedene Parasiten separat sammeln (in phys. NaCl, oder 70% EtOH)

Probengefäße

- dicht verschliessbar und bruchfest
- mit Tieridentifikation

Fixierung

- im Allgemeinen nicht nötig

Transport

- A-Post
- Transportzeiten > 1 Tage + hohe Aussentemperaturen: Kotproben mit Formalin (4%, 1 ml zu 10 g Kot) konservieren (Nachweis lebender Larven nicht mehr möglich)

Lagerung

- Proben möglichst frisch untersuchen
- +4°C

Untersuchungsantrag

- vollständig (Idealfall)
- Tierart und Tieridentifikation, Adressen Antragsteller/Besitzer (Mindestangaben)
- Klinische Angaben sind hilfreich

Qualitative versus quantitative Untersuchungen

Im Gegensatz zur Situation bei Heimtieren, wird bei Nutztieren nicht primär die völlige Parasitenfreiheit von Einzeltieren oder Beständen angestrebt. Ziel ist es vielmehr, die Parasitenlast durch ein angepasstes Management auf einem tiefen, klinisch nicht relevanten Level zu kontrollieren. Dazu sind quantitative Informationen natürlich Voraussetzung. Wir empfehlen deshalb, für Monitoringprogramme primär quantitative Analysen (McMaster-Verfahren) einzusetzen. Die Schwellenwerte werden für jede Tierart separat definiert und sind nur eines von mehreren Kriterien für Behandlungsempfehlungen.

Im Fokus: *Fasciola* beim Rind

Die Fasciolose des Rindes ist in der Schweiz relativ weit verbreitet. 1331 Rinder aus zwei Schlachthöfen im Raum Zürich wurden mit verschiedenen Methoden auf Infektionen mit *Fasciola hepatica* untersucht: Fleischschau, Koproscopie (Sedimentationsmethode zum Nachweis von *Fasciola*-Eiern in Kotproben von je 10g), Serologie (Nachweis spezifischer Antikörper im Serum, *Fasciola*-ELISA, Institut Pourquier, Montpellier), und Nachweis von Eiern im Gallensaft (Proben von 10 ml, Sedimentationsmethode).

Mit Hilfe von mathematischen Simulationstechniken wurden die diagnostischen Parameter der Nachweismethoden bestimmt und die wahre Prävalenz der Fasciolose geschätzt.

Die diagnostischen Sensitivitäten von Koproscopie, Untersuchung von Gallensaft, Antikörpernachweis und Fleischschau wurden auf 69.6% (50.2-81.4%), 93.7% (85.6-97.3%), 88.2% (80.5-92.6%) und 64.0% (53.5-70.8%) geschätzt. Die diagnostische Spezifität des Antikörpernachweises betrug 93.2% (90.0-94.9%). Werden für die koproscopische Untersuchung 2-3 Ansätze von je 10 Gramm Kot aus der gleichen Probe untersucht, kann die Sensitivität dieses Nachweises auf über 90% gesteigert werden und ist damit ähnlich effizient wie der Antikörpernachweis, bei allerdings deutlich höherer Spezifität.

Auf Grund der vorliegenden Daten wurde die wahre Prävalenz der Fasciolose auf 18.2% geschätzt (95% CI: 15.0-20.0%).

Für die Praxis empfehlen wir die Untersuchung von mindestens 2 Ansätzen mit je 10 Gramm Kot. Als Alternative steht der Antikörpernachweis aus Serum, Serumpools oder Tankmilchproben zur Verfügung.

Im Fokus: Resistenzprüfungen

Die Kontrolle von Helminthen bei Weidetieren wird seit einigen Jahren durch das Auftreten von Resistenzen gegen die eingesetzten Wirkstoffe erheblich erschwert. Im Fokus stehen dabei die Magen-Darm-Strongyliden von Schafen und Ziegen sowie die kleinen Strongyliden der Pferde. Aktuelle Untersuchungen an unserem Institut zeigen, dass in der Schweiz mehr als 80% der Schaf- und Ziegenherden und etwa 50% der Pferdebestände von einer Benzimidazol-Resistenz betroffen sind. Kürzlich wurden auch in Ziegen- und Schafherden erstmals Avermectin-Resistenzen festgestellt. Das immer enger werdende Spektrum wirksamer Entwurmungsmittel verlangt von Ihnen als Praktiker einen besonders sorgfältigen Umgang mit diesen Wirkstoffen. Die Kenntnis der Resistenzsituation in den von Ihnen betreuten Betrieben und Beständen ist dabei ein wichtiger Faktor.

Für die zuverlässige Prüfung der Resistenzlage am Einzeltier oder in einer Tiergruppe steht der international standardisierte Eizahlreduktionstest zur Verfügung. Bei dieser Untersuchung wird die Anzahl unterschiedlicher Strongyliden-Eier pro Gramm Kot (EpG) unmittelbar vor und 10 Tage nach dem Einsatz des zu prüfenden Anthelminthikums verglichen (McMaster-Methode). Eine Reduktion der Eiausscheidung von weniger als 95% spricht für eine nicht mehr ausreichende Wirksamkeit (die Aussagekraft des Tests ist bei prätherapeutisch hohen EpGs stärker als bei tiefen Werten). In diesem Fall sollte die Behandlungsstrategie angepasst werden. Bei als wirksam erkannten Anthelminthika sollte die Untersuchung alle ein bis zwei Jahre wiederholt werden.

Weiter Infos und Merkblätter auf der Diagnostik-Seite unserer Homepage (www.paras.unizh.ch).