

3 Eigene Untersuchungen

Die Untersuchungen zur Verbreitung der Echinokokkose im Kosova wurde sowohl an Hunden als Endwirt, als auch an Zwischenwirten wie Rindern und Schafen durchgeführt. Zusätzlich wurde eine Befragung von Personen zu Interaktionen zwischen Mensch, Hund und Nutztieren durchgeführt sowie eine Erhebung über chirurgische Echinokokkenpatienten im Zentralkrankenhaus von Prishtina.

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Koproskopische Untersuchungen zum Taenien/Echinokokken-Befall von Hunden im Kosova

3.1.1.1 Probenauswahl und Entnahme

Für die Untersuchung zur Prävalenz der kaninen Echinokokkose wurden in der Zeit von März 2003 bis Februar 2004 insgesamt 305 Kotproben von Hunden entnommen. Diese stammten aus 4 Regionen des Kosova, nämlich Gjilan (137 Proben), Gore-Opoje (60), Vushtrri (53) und Therande (55). Die Proben stammten von Hunden, die als Haushunde gehalten wurden, oder von Hüte- und Jagdhunden, sowie von Streunerhunden. Die Tiere waren in einem Alter zwischen 3 Monaten und 10 Jahren. Die meisten Hunde waren Mischlinge, gefolgt von den lokalen Rassen Qen i Sharrit, Deutscher Schäferhund (DSH), dreifarbiger Jagdhund, Dalmatiner, Rottweiler und Boxer.

Im Kosova wird einmal jährlich eine Impfung gegen Tollwut und eine Entwurmung mit Praziquantel vom Veterinärdienst gefördert. Die Impfung und die Praziquantelgabe findet sowohl in den Dörfern, nach einer Voranmeldung (im Haus des Hundebesitzers oder auf einem bestimmten Platz), als auch in den Tierarztpraxen statt und wird von lokalen Tierärzten ausgeführt. Mit diesen wurden telefonisch Termine zur Probenziehung vereinbart, so konnten zumeist mehrere Proben innerhalb eines Umkreises am gleichen Tag gezogen werden. Neben der Probenziehung wurde eine Befragung der Hunde-Besitzer über Kenntnisse zu vorkommenden Zoonosen durchgeführt. Die Kotproben wurden mit einem sterilen

Einmalhandschuh in einer Menge von ca. 3-5 g, sowohl rektal als auch von spontan abgesetztem Kot vom Boden entnommen.

Von Streunerhunden wurden Kotproben vom Boden aufgesammelt. Bevorzugte Plätze lagen in der Nähe von Schlachthöfen, KFOR-Checkpoints oder in der Peripherie eines Dorfes oder einer Stadt. Der Kot wurde anhand der Form, Konsistenz, des Geruches und des Vorhandenseins von Haaren als vom Hund stammend identifiziert. Die Verteilung der untersuchten Hunde und ihre Herkunft ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tab.6: Anzahl der Kotproben von Hunden und ihre Herkunft

Regionen	„Haushunde“	Hütehunde	Jagdhunde	Streunerhunde	Insgesamt
Gjilan	62	5	14	56	137
Gore-Opoje	26	20	7	7	60
Therande	27	3	10	15	55
Vushtri	21	5	23	4	53
Insgesamt	136	33	54	82	305

3.1.2.1 Kotuntersuchung mit dem Flotationsverfahren

Die Untersuchung der Kotproben erfolgte am Entnahmetag oder am nachfolgenden Tag. Bis zur Untersuchung wurden die Proben im Kühlschrank gelagert. Die Flotationslösung wurde mit 8 l Wasser, 2.880 g NaCl und 1.600 g Zucker hergestellt, um eine spezifische Dichte von 1,25 zu erreichen. Etwa 2 g Kot wurden im Ovassay-Gefäß (Janssen®) verrührt, bis zur Hälfte mit der Flotationslösung aufgefüllt und danach mit Hilfe eines Rührstabes gut vermischt. Nach dem Einschieben der Siebscheibe wurde die Flotationsflüssigkeit bis zur Bildung eines konvexen Meniskus am oberen Rand des Ovassayzylinders aufgefüllt. Nach Auflegen eines Deckglases (24 x 32 mm) unter Vermeidung von Blasenbildung blieb der Ansatz mindestens 30 min stehen. Durch vorsichtiges Abheben des Deckglases mit einer Pinzette wurde die anhaftende Flüssigkeit auf einen Objektträger zur mikroskopischen Untersuchung überführt und bei mittlerer Vergrößerung (10 x 6,3 und 40 x 6,3) durchgemustert. Es erfolgte eine semiquantitative Erfassung aller in der Kotprobe vorkommenden Eier nach folgender Einteilung:

- „vereinzelt“ (ein Ei pro Deckglas)
- „gering-mittelgradig“ (2 bis 10 Eier pro Deckglas)
- „hochgradig“ (11 bis 20 Eier pro Deckglas) und
- „massenhaft“ (über 20 Eier pro Deckglas)

Von den insgesamt 305 Kotproben wurden 144 separiert und jeweils in 2 ml Probenbehälter (Nalgene[®], rpicorp, USA) gefüllt, für 48 Stunden in flüssigen Stickstoff (-196°C) überführt und anschließend im Tiefkühlschrank bei -20°C eingelagert. Alle Kotproben von Welpen und von Hunden, die regelmäßig entwurmt waren, wurden für die weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

3.1.2.2 Koproantigenuntersuchungen mittels Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (CA-ELISA)

Diese Untersuchungen wurden am Institut für Parasitologie der veterinärmedizinischen Fakultät in Zürich durchgeführt.

Die wie oben angeführt separierten 144 Kotproben von Hunden wurden mittels eines Sandwich CA-ELISA auf *E. granulosus* und *E. multilocularis* nach der am Institut entwickelten Methode untersucht (DEPLAZES et al., 1999).

Das Prinzip des Tests basiert auf einer spezifischen Bindung von polyklonalen Antikörpern gegen exkretorisch/sekretorische-Antigene von *E. granulosus* (Eg) und *E. multilocularis* (Em) an Mikrotiterplatten. Als Antigen dient ein Koteluat mit Puffer 2 (PBS, Tween 20, NaN₃, bovines Haemoglobin). Danach erfolgt Anlagerung von sekundären, spezifischen Anti-Eg/Em Antikörpern. Der Antigen-Antikörper-Komplex wird danach mit einem Peroxidase konjugiertem Antiserum der zuletzt verwendeten Spenderart inkubiert. Im positiven Fall findet eine Verfärbung des Chromogens statt, die im UV-Licht bei 405 nm gemessen wird.

Für die Durchführung wurden folgende Reagenzien, Chemikalien, Geräte, Antikörper, Konjugat und Kontrollen eingesetzt:

Reagenzien, Chemikalien:

ELISA-Mikrotiterplatten (Nunc[®], Roskilde, Dänemark)

ELISA Puffer 1 (0.1 M NaHCO₃, 0.1 M Na₂CO₃, NaN₃)

ELISA Puffer 2 (PBS, Tween 20, NaN₃, bovines Haemoglobin)

ELISA Puffer 3 (0.1 M NaHCO₃, 0.1 M Na₂CO₃, Aqua dest., 1M MgCl₂)

ELISA-Waschlösung (NaCl, Tween 20, Aqua dest.)

ELISA-Stopplösung (NaOH, Aqua dest.)

FCS (foetales Kälberserum)

Abdeckfolie

Geräte:

ELISA-Reader Multiskan (Thermo Labystems[®], Finnland)

Inkubator, 37°C

Antikörper (Herstellung vom Institut):

Die Herstellung der polyklonalen Antikörper erfolgte durch Verabreichung von exkretorisch-sekretorischen-Antigenen von *E. granulosus* (Eg) und *E. multilocularis* (Em) an Kaninchen. Sekundäre Antikörper wurden aus Hühnereiern 1-2 Monate nach der Verabreichung des Antigens von *E. granulosus* (Eg) und *E. multilocularis* (Em) gewonnen.

Kaninchen-anti-Eg/Em: Kann+, 1.0 mg/ml (primärer spezifischer Antikörper)

Kaninchen negativ: Kann-, 1.0 mg/ml (IgG von nicht immunisierten Kaninchen)

Huhn-anti-Eg/Em: Ei+ (sekundärer spezifischer Antikörper)

Huhn-negativ: Ei – (IgG von Eiern)

Konjugat:

Goat-anti-chicken (SIGMA 1043)

Kontrollen:

Vom Institut nachgewiesene positive Proben (Proben 69 und 51)

Vom Institut nachgewiesene negative Proben (Proben 47 und 44)

Der CA-ELISA wurde gemäss Arbeitsprotokoll wie folgt durchgeführt:

- Beschickung der Mikrotiterplatten im Doppelansatz mit 100 µl spezifischen Antikörpern (1µg/ml, 1:50) und mit 100 µl IgG (Kaninchen-Kontrolle) in Puffer 1 (10 µg/ml, 1:100), die als Kontrolle dienten. Die beschichteten Platten wurden mit Folie abgedeckt und die Inkubation erfolgte über Nacht in einer feuchten Kammer bei 4°C, nachfolgend 3 x Waschen mit Waschlösung 1.
- Absättigung der Mikrotiterplatten mit 300 µl verdünntem Kaninchenserum in Puffer 2 (1:200) und Inkubation bei 37°C für 30 min.
- Beschickung der Kontroll- und Koteluate mit 100 µl/Vertiefung. Dazu wurden die tiefgefrorenen Kotproben aufgetaut, mit Hilfe eines Spatels wurden 1-3 g Kot in vorher markierte 15 ml Zentrifugenröhrchen (Sarstedt®, Nümbrecht, Deutschland) überführt und mit Puffer 2 verdünnt (1:4). Die Proben wurden bei 3000 g für 10 min zentrifugiert.
- Inkubation bei 37°C für 90 min.
- Absaugen der Überstände 3 mal sorgfältig, anschließend 3 x Waschen und Ausklopfen.
- Beschickung der Mikrotiterplattenvertiefungen mit jeweils 100 µl sekundären, spezifischen Antikörpern und IgG (Huhn-Kontrolle), Inkubation bei 37°C für 90 min, 6 x Waschen und Ausklopfen.
- Beschickung mit jeweils 100 µl Konjugat-Verdünnung, Inkubation bei 37°C für 90 min, 6 x Waschen und Ausklopfen.
- Beschickung mit jeweils 100 µl Substratlösung, Inkubation bei 37°C für 30-35 min.
- Beschickung mit jeweils 100 µl Stopplösung und letztendlich Ablesen (OD, 405 nm) in einem ELISA-Reader Multiskan.

Die photometrische Auswertung erfolgte bei 405 nm:

>0.25 = positiv für *E. granulosus* und *E. multilocularis*

0.20-0.25 = fraglich

<0.20 = negativ

3.1.2.3 Gewinnung von Taeniiden-Eiern zur molekularbiologischen Identifizierung

Taeniiden-Eier wurden aus dem Kot isoliert und zur Gewinnung der DNA anschließend alkalisch lysiert. Im Anschluss erfolgte eine DNA-Amplifikation mit Primern spezifisch für den *E. granulosus*-„Schafstamm“ bzw. *E. multilocularis* mittels Polymerasekettenreaktion (PCR). Es wurden 46 Proben untersucht, in denen im Flotationsverfahren Taeniiden-Eier nachgewiesen werden konnten, weiterhin untersucht wurden alle Proben von Hütehunden und Proben, die im CA-ELISA positiv reagierten.

3.1.2.3.1 Isolierung von Taeniiden-Eiern

Nach der Verwendung des für den CA-ELISA genutzten Koteluats wurde das verbliebene Sediment (1 bis 3 g Kot) mit 8 bis 10 ml Flotationslösung (ges. $ZnCl_2$, spezifisches Gewicht 1,45) aufgeschwemmt. Nach Zentrifugation bei 1000 g für 30 min wurde der Überstand zuerst durch ein Sieb (Scrynel[®], Lanz-Anliker, Rohrbach, Switzerland) mit einer Maschenweite von 31 μm gesiebt. Das gewonnene Eluat wurde anschließend in ein zweites Sieb mit einer Maschenweite von 20 μm geleitet. Die aufgrund ihrer Größe (ca. 30 μm) im zweiten Sieb enthaltenen Taeniiden-Eier wurden in ein 10 ml großes, seitlich abgeflachtes Kulturröhrchen (Nunclon[®], Nunc, Dänemark) überführt, in dem das zweite Sieb umgekehrt, d.h. retrograd mit einem kräftigen Wasserstrahl durchgespült wurde.

Die mikroskopische Untersuchung der Spülflüssigkeit auf Taeniiden-Eiern erfolgte mittels eines Umkehrmikroskops (Okular 10x; Objektiv 10x und 20x).

3.1.2.3.2 Alkalische Lyse von Taeniiden-Eiern zur DNA-Gewinnung

Die Spülflüssigkeit in den Kulturröhrchen wurde erneut bei 1.000 g für 1 min zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Sediment in 300 μl Aqua dest. aufgenommen und in 1,5 ml Reaktionsgefäße überführt. Danach erfolgte eine alkalische Lyse der Eier unter Zugabe von 25 μl 1M KOH und 7 μl 1M DTT (Dithiotreitol) bei 65°C für 15 min im Wasserbad. Danach wurden die Proben durch Zugabe von 60 μl 2M Tris-HCl, pH 8,4 und 2 μl 10M HCl

neutralisiert. Anschließend wurden die Proben erneut gemischt und kurz abzentrifugiert. Eine weitere Lysis erfolgte nach Angaben des Herstellers (Qiamp DNA mini kit[®], Qiagen, Hilden, Deutschland) durch Zugabe von 200 µl Lysis-Puffer AL und 20 µl Proteinase K bei 56°C für 10 min im Wasserbad. Um PCR-Inhibitoren zu binden, wurden die Proben anschließend mit 50 µl Chelex 50% (Bio-Rad Laboratories[®], Hercules, München, Deutschland) versetzt und für 30 min bei Raumtemperatur auf einem Drehrad inkubiert. Nach erneuter kurzer Zentrifugation wurden 400 µl einer Probe in neue Reaktionsgefäße überführt und mit 200 µl Ethanol 100% versetzt. 600 µl der Proben wurden auf die Säulen gegeben. Die Säulen wurden bei 5.700 g für 1 min zentrifugiert und das Eluat in einem Reaktionsgefäß aufgefangen. Danach erfolgte eine zweimalige Waschung der Säulen mit 300 µl Wasch-Puffer AW₁ und AW₂ (Qiagen[®], Hilden, Deutschland) unter erneuter Zentrifugation bei 15.000 g für 3 min. Zur Elution der an den Säulen gebundenen DNA wurde 100 µl Elutions-Puffer eingesetzt. Das gewonnene Eluat wurde anschließend bei -20°C im Tiefkühlschrank gelagert.

3.1.2.3.3 Primer

Angaben zu den Primersequenzen zur Amplifikation mitochondrialer Gensequenzen von *E. granulosus*-, „Schafstamm“ finden sich bei STEFANIC et al. (2004). Zum Nachweis mitochondrialer DNA von *E. multilocularis* wurden spezifische Primer nach STIEGER et al. (2002) eingesetzt (Tabelle 7).

Tab.7: Primerpaare zur Amplifikation von Teilen der mitochondrialen DNA von *E. granulosus*-, „Schafstamm“ und *E. multilocularis*

<i>Echinococcus</i> spp.	Primer Name	Länge (bp)	DNA-Sequenz	Produkte (bp)	Referenz
<i>granulosus</i>	Eglf	23	5'-CAT TAA TGT ATT TTG TAA AGT TG-3'	255	STEFANIC et al. (2004)
	Eglr	22	5'-CAC ATC ATC TTA CAA TAA CAC C-3'		
<i>multilocularis</i>	EM-H15	24	5'-CCA TAT TAC AAC AAT ATT CCT ATC-3'	337	STIEGER et al. (2002)
	EM-H17	24	5'-GTG AGT GAT TCT TGT TAG GGG AAG-3'		

bp= Basenpaaren

3.1.2.3.4 DNA-Amplifikation

Die PCR erfolgte in einem 100 µl Ansatz in 0.2 ml PCR-Reaktionsgefäßen (Sarstedt[®], Nümbrecht, Deutschland). Pro zu untersuchender Probe wurden 3 Reaktionsgefäße bereitgestellt, plus 2 Reaktionsgefäße für die negative und positive Kontrolle (Wasser und Kontrollfragment). Für jede Probenuntersuchung wurden 3 Ansätze gewählt:

1. mit 25 µl DNA-Extrakt der Probe
2. mit 2 µl DNA-Extrakt der Probe
3. mit 2 µl DNA-Extrakt der Probe plus interner DNA-Kontrolle

Die benötigte Menge „Mastermix“ bestand aus PCR-Puffer (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.4, 2.5 mM MgCl₂, 0.5% Tween 20), 200 µM von je dNTP (dATP, dCTP, dGTP und anstelle dTTP wurde dUTP angewandt), 1µM Primer 1 und 2, 0.5µl (0.5 U) Uracil-DNA-Glykosylase (UDG; Gibco BRL/Life Technologies[®]).

Nach gründlicher Durchmischung der PCR-Reagenzien erfolgte die Überschichtung jeden Ansatzes mit zwei Tropfen Mineralöl (Sigma[®], Steinheim, Deutschland), um in der nachfolgenden Amplifikation Mengenverluste durch Verdunstung zu verhindern. Nach kurzer Zentrifugation wurden die Reaktionsgefäße in einen Thermoblock (Peltier Thermal Cycler, PTC-200[®], USA) überführt. In einem ersten Schritt erfolgte eine Inkubation bei 37°C für 12 min, um die PCR-Reaktionen von eventuellen Kontaminationen zu befreien. Die Uracil-DNA-Glykosylase katalysiert die Hydrolyse uracilhaltiger Nucleinsäuren aus vorausgegangenen PCR-Reaktionen. Zur anschließenden Inaktivierung der Uracil-DNA-Glykosylase erfolgte eine weitere Inkubation bei 95°C für weitere 12 min. Die DNA-Amplifikation erfolgte im „Hotstart“-Verfahren bei 94°C. Hierbei wurden pro Ansatz 0.5 µl Taq Polymerase (Sigma Aldrich[®], Buchs, Schweiz) unter die Ölschicht pipettiert. Das spezifische Programm für *E. granulosus* bestand aus 40 Zyklen: Denaturierung bei 94°C für 30 sec, Anlagerung der Primer („annealing“) bei 50°C für 30 sec und Verlängerung der DNA-Einzelstränge („extension“) bei 72°C für 60 sec. Das Programm für *E. multilocularis* bestand aus 35 Zyklen: Denaturierung bei 94°C für 30 sec, Anlagerung der Primer („annealing“) bei 60°C für 30 sec und Verlängerung der Einzelstränge („extension“) bei 72° C für 45 sec. Eine letzte Verlängerung der Einzelstränge erfolgte bei 72°C für 10 min, bevor das Reaktionsgemisch auf 4°C heruntergekühlt wurde.

3.1.2.3.5 Gel-Elektrophorese

Zur bildlichen Darstellung der in der PCR gewonnenen Amplifikate erfolgte eine Gel-Elektrophorese in einem 2%-igen Agarose-Gel. Hierzu wurden 1,4 g Agarose (Qbiogene[®], Basel, Schweiz) in 70 ml 1x Elektrophorese-Puffer (siehe Rezepturanhang) durch kurzes Aufkochen in der Mikrowelle gelöst. Dazu wurden 1,5 µl Ethidiumbromidlösung (Endkonzentration im Gel: 0.01%) hinzugegeben. Das Gemisch wurde zügig und blasenfrei in einer Agargel-Minikammer (Guest Elchrom Scientific AG, Schweiz) gegossen und es erfolgte die Vorbereitung der 20 Probestaschen durch Einsatz eines Kammes in das noch flüssige Gel. Nach Verfestigung der Agarose bei 4°C wurde der Kamm vorsichtig entfernt und der Einsatz mit dem Gel in die Agargel Minikammer überführt, die zuvor mit 250 ml 1x Elektrophorese-Puffer beschickt worden war. Im nächsten Schritt erfolgte auf einer ELISA-Platte die Zusammenmischung von 2 µl Ladepuffer mit 15 µl Amplifikationsprodukten (aller Ansätze). Die Zusammenmischung wurde dann in die Geltaschen pipettiert. Um die Größe des hergestellten Amplifikats zu ermitteln, muss jeweils eine Tasche im Gel mit einer DNA-Leiter (Referenzbanden) beschickt werden. Für diesen Zweck wurden 5 µl von einer 100 bp DNA-Leiter (Invitrogen life technologies[®], Karlsruhe, Deutschland) verwendet. Die anschließende Elektrophorese wurde bei einer Spannung von 100 V in 30-40 min durchgeführt. Danach wurde das Gel der Kammer entnommen und unter einen UV-Transilluminator mit Kamera (Alpha Innotech Corporation[®], USA) gelegt. Die Anfertigung der elektronischen Aufnahmen erfolgte bei Blende 11 und einer Belichtungszeit von 2 sec.

3.2 Untersuchungen über die Verbreitung des Echinokokkenbefalles bei Schlachtrindern- und Schafen

3.2.1 Echinokokkenbefall bei Schlachtrindern

Die Untersuchungen über die Häufigkeit von zystischer Echinokokkose bei Schlachtrindern wurden am Schlachthof in Gjilan durchgeführt. Im Zeitraum von Oktober 2003 bis Februar 2004 wurden 365 Schlachttiere im Alter von mehr als 3,5 Jahren untersucht. Sie stammten aus der dem Kosova benachbarten Regionen. Bei der Fleischuntersuchung wurde ein besonderes Augenmerk auf die Adspektion und Palpation von Lunge und Leber gelegt. Diese Organe wurden auch angeschnitten, um gleichzeitig zu klären, ob in den tieferen Gewebsschichten Hydatiden vorhanden waren. Es erfolgte eine semiquantitative Erfassung aller in den Organen vorkommenden Echinokokkenzysten, wie folgend:

- „geringgradig“ (1-5 Zysten pro Organ)
- „mittelgradig“ (6-10 Zysten pro Organ)
- „hochgradig“ (11-20 Zysten pro Organ)
- „massenhaft“ (über 20 Zysten pro Organ)

Die Zysten von befallenen Organen wurden dann auf Fertilität, d.h. auf erkennbare Kopfanlagen (Protoskolizes) untersucht. Es wurde zwischen fertilen, sterilen und degenerierten Zysten unter dem Lichtmikroskop unterschieden, wobei diesen Begriffen folgende Definitionen zugrunde gelegt wurden: fertil (Protoskolizes oder Brutkapseln vorhanden), steril (keine Protoskolizes oder Brutkapseln feststellbar), degeneriert (geringer Turgor der Hydatide oder gar keine Flüssigkeit, verkäste Zysten).

3.2.2 Echinokokkenbefall bei Schlachtschafen

Anfang Februar 2004, während eines religiösen muslimischen Festes, wurden 147 Schafe geschlachtet und auf zystische Echinokokkose untersucht. Alle Schafe stammten aus dem Kosova. Die Tiere waren meist älter als 3 Jahre. Laut Angaben der Schafzüchter wurden die älteren Schafe wegen verminderter Reproduktionsfähigkeit verkauft. Es wurden Leber und Lunge aber auch andere Organe durch Adspektion und Palpation untersucht.

3.3 Fragebogen über kanine Echinokokkose und Hydatidose

Bei insgesamt 77 Personen, darunter Schaf- und Rinderhalter, sowie bei Metzgern und Hundebesitzern wurde folgende Befragung durchgeführt:

1. Wie viele und welche Tiere werden pro Jahr insgesamt geschlachtet (Rinder, Schafe, andere Tiere)?
2. Welches ist das Durchschnittsalter (<1,5=jung; 1,5-4,5=mittel; >4,5=alt)?
3. Findet eine Fleischuntersuchung statt (ja; nein)?
4. Besitzen Sie Hunde (ja; nein)?
5. Wenn ja: wie viele Hunde (1, 2, 3, 4 und >4)?
6. Was ist der Zweck der Hundehaltung (Wachhund, Hütehund, Jagdhund, andere)?
7. Wer füttert den Hund (Frau, Mann, Kinder und andere)?
8. Werden Schlachtabfällen als Hundefutter verwendet (ja; nein)?
9. Wenn ja, aus welcher Quelle (Metzgereien, Hausschlachtungen, andere)?
10. Welche Innereien wurden verwendet (Lunge, Leber, andere)?
11. Werden die Innereien vorher abgekocht (ja; nein)?
12. Wird der Hund entwurmt (ja; nein)?
13. Wenn ja, wie oft pro Jahr wurde der Hund entwurmt (1, 2, 3, 4 und >4)?
14. Von wem wird der Hundekot beseitigt (Frau, Mann, Kinder, andere)?

3.4 Recherche über humane Hydatidose-Fälle im Zentralen Krankenhaus Prishtina

Im zentralen Universitäts-Krankenhaus Prishtina, Abteilung Innere Chirurgie, wurden mittels der Krankenberichte von Juni 1999 bis Juni 2002 alle Fälle von operierten Personen mit zystischer Echinokokkose recherchiert. Von den operierten Personen wurden Geschlecht, Alter, Beruf und Wohnort (Dorf, Stadt) festgestellt und ausgewertet.