

Aus dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Optimierung der Parasitenbekämpfung bei
Weidehaltung von Rindern**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jana Fahrenkrog
Tierärztin aus Henstedt-Ulzburg

Berlin 2013
Journal-Nr.: 3465

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Prof. Dr. Janina Demeler
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenbiel
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Nikolaus Osterrieder

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

cattle, cows, anthelmintics, resistance, Nematoda, pastures, treatment,
selective application, target groups, weight

Tag der Promotion: 23. August 2013

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-369-1

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2013

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2013

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VII
Abbildungsverzeichnis	IX
1 Einleitung	1
2 Literaturteil	3
2.1 Magen-Darm-Strongyliden des Rindes	3
2.1.1 Erreger	3
2.1.1.1 <i>Cooperia</i>	3
2.1.1.2 <i>Ostertagia</i>	4
2.1.2 Entwicklungszyklus	4
2.2 Krankheiten	5
2.2.1 Cooperiose	5
2.2.2 Ostertagiose	5
2.3 Epidemiologie	6
2.4 Anthelminthika	6
2.4.1 Benzimidazole	7
2.4.2 Makrozyklische Laktone	8
2.5 Therapie und Bekämpfung	9
2.5.1 Chemotherapeutika	10
2.5.2 Weidemanagement	11
2.5.3 Planmäßige Bekämpfung	12
2.5.4 Targeted Selective Treatment (gezielte selektive Behandlung)	13
2.5.5 Targeted Treatment (gezielte Gruppenbehandlung)	17

2.6 Anthelminthika-Resistenzen	19
2.6.1 Definition Resistenz	19
2.6.2 Verbreitung von AR	19
2.7 Resistenzdetektion	20
2.7.1 <i>In vivo</i> –Verfahren	20
2.7.1.1 Kontrollierter Test	20
2.7.1.2 Eizahlreduktionstest (EZRT)	20
2.7.2 <i>In vitro</i> – Verfahren	21
2.7.2.1 Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA)	21
2.7.2.2 Larvenschlupfhemmtest (LSHT)	21
2.7.2.3 Larval-Development-Assay (LDA)	22
2.8 Molekularbiologische Gattungs-Differenzierung	22
3 Material und Methoden	24
3.1 Material	24
3.1.1 Anthelminthika	24
3.1.2 Chemikalien	24
3.1.3 Kits	26
3.1.4 Primer und Marker	26
3.1.5 Puffer und Lösungen	26
3.1.6 Einwegartikel	28
3.1.7 Mehrwegartikel	29
3.1.8 Technische Geräte	31
3.1.9 Software	32

3.2 Methoden.....	33
3.2.1 Parasitologische Kotuntersuchungsverfahren.....	33
3.2.1.1 Modifiziertes McMaster-Verfahren.....	33
3.2.1.2 Sedimentationsverfahren.....	33
3.2.1.3 Kotkultur.....	34
3.2.1.4 Trichterauswanderungsverfahren nach <i>Baermann-Wetzel</i>	34
3.2.2 Serologische Untersuchungsverfahren.....	35
3.2.2.1 Detektion von AK gegen <i>Fasciola hepatica</i>	35
3.2.2.2 Detektion von AK gegen <i>Dictyocaulus viviparus</i>	36
3.2.3 Genusdifferenzierung mittels quantitativer Polymerasekettenreaktion.....	37
3.2.3.1 DNA-Isolation aus dritten Larven (L ₃).....	37
3.2.3.2 Qualitative Speziesbestimmung.....	38
3.2.4 Weideversuch.....	39
3.2.4.1 Versuchstiere.....	39
3.2.4.2 Versuchsaufbau.....	39
3.2.4.3 Beprobung der Versuchsgruppen.....	41
3.2.4.4 Statistische Auswertung des Weideversuches.....	41
3.2.5 Verfahren zur Detektion von Anthelminthika-Resistenzen.....	42
3.2.5.1 Eizahlreduktionstest (EZRT).....	42
3.2.5.2 Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA).....	43
4 Ergebnisse.....	46
4.1 Parasitologische Kotuntersuchungsverfahren.....	46
4.2 Serologische Untersuchungsverfahren.....	46
4.3 Genusdifferenzierung mittels quantitativer Polymerasekettenreaktion.....	47
4.4 Weideversuch.....	48

4.5 Verfahren zur Detektion von Anthelminthika-Resistenzen.....	62
4.5.1 Eizahlreduktionstest (EZRT).....	62
4.5.2 Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA).....	66
4.5.3 Qualitative Polymerasekettenreaktion im Anschluß an die Larven-Migrations- Inhibitions-Assays (LMIA).....	67
5 Diskussion.....	69
6 Zusammenfassung.....	79
7 Summary.....	81
8 Literaturverzeichnis.....	83
9 Anhang.....	107
10 Publikationsverzeichnis.....	118
11 Danksagung.....	119
12 Selbständigkeitserklärung.....	121

Abkürzungsverzeichnis

ABZ	Albendazol
AR	Anthelminthika-Resistenz
BCS	Body Condition Score
BZ	Benzimidazole
CI	Konfidenzintervall
dest.	lat.: destilata
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DWG	tägliche Lebendgewichtszunahme
EC ₅₀	mittlere effektive Dosis
ELISA	Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay
EpG	Eiausscheidung pro Gramm Kot
et al.	lat.: et alia
EZR	Eizahlreduktion
EZRT	Eizahlreduktionstest
g	Gramm
HCl	Salzsäure
Inc.	engl.: incorporation
IVM	Ivermectin
ITS	interne transkripiierende Spacer
k	Kilo
KGW	Körpergewicht
L ₃	dritte Larven
L ₄	vierte Larven

LMIA	Larven-Migrations-Inhibitions-Assay
LSHT	Larvenschlupfhemmtest
m	milli
max.	Maximum
MDS	Magen-Darm-Strongyliden
ML	Makrozyklische Laktone
mm	Millimeter
n	Nano
NaCl	Natriumchlorid
PCR	Polymerase Chain Reaktion
®	engl.: registered trademark
s.c.	lat.: sub cutanum
spp.	Subspezies
U	Umdrehung
W.A.A.V.P.	World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Für das Rind zugelassene Anthelminthika zur Bekämpfung von Trichostrongyloiden-Infektionen	10
Tabelle 2:	Vom Hersteller empfohlene Dosierungen für die im Eizahlreduktionstest eingesetzten Anthelminthika	42
Tabelle 3:	Konzentrationen von Ivermectin für den Einsatz im Larven-Migrations-Inhibitions-Assay	44
Tabelle 4:	Auflistung der Versuchstiere mit positivem <i>D. viviparus</i> - ELISA Ergebnis	46
Tabelle 5:	Ergebnisse des Welch Two Sample t-Test	55
Tabelle 6:	Ergebnisse des Levene's Test	55
Tabelle 7a:	Ergebnisse des großen Modells für die Weidesaison 2010	56
Tabelle 7b:	Ergebnisse des großen Modells für die Weidesaison 2011	57
Tabelle 8a:	Ergebnisse der ANOVA (Analysis of Variance) und des Likelihood-Quotienten-Tests (L-Q-Test) der Modelle 1 und 2 für die Weidesaison 2010	57
Tabelle 8b:	Ergebnisse der ANOVA (Analysis of Variance) und des Likelihood-Quotienten-Tests (L-Q-Test) der Modelle 1 und 2 für die Weidesaison 2011	58
Tabelle 9a:	Ergebnisse des modifizierten Modells für die Weidesaison 2010	58
Tabelle 9b:	Ergebnisse des modifizierten Modells für die Weidesaison 2011	59
Tabelle 10:	EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Ivermectin (Ivomec®, Merial)	63
Tabelle 11:	EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Albendazol (Valbazen®, Elcano Animal Health)	63
Tabelle 12:	EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Moxidectin (Cydectin 1%®, Pfizer)	64
Tabelle 13:	EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Fenbendazol (Panacur10%®, Intervet)	65
Tabelle 14:	Übersicht Ergebnisse der EZRT	65
Tabelle 15:	Mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) von Ivermectin (IVM), 95%-Konfidenzintervallen (95% CI), Determinationskoeffizient (R^2) und Signifikanzwert (p-Wert) für den Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA) der Weidesaison 2010 und 2011	66

Tabelle 16a:	Gruppeneinteilung 2010	108
Tabelle 16b:	Gruppeneinteilung 2011	109
Tabelle 17a:	Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (Kontrollgruppe; n=11)	110
Tabelle 17b:	Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (TST-Gruppe; n=11)	110
Tabelle 17c:	Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (Kontrollgruppe; n=7)	110
Tabelle 17d:	Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (TST-Gruppe; n=9)	111
Tabelle 17e:	Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (TT-Gruppe; n=9)	111
Tabelle 18a:	Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (Kontrollgruppe; n=11)	111
Tabelle 18b:	Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (TST-Gruppe; n=11)	112
Tabelle 18c:	Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (Kontrollgruppe; n=7)	112
Tabelle 18d:	Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (TST-Gruppe; n=9)	112
Tabelle 18e:	Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (TT-Gruppe; n=9)	112
Tabelle 19a:	Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (Kontrollgruppe; n=11)	113
Tabelle 19b:	Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (TST-Gruppe; n=11)	113
Tabelle 19c:	Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (Kontrollgruppe; n=7)	113
Tabelle 19d:	Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (TST-Gruppe; n=9)	114
Tabelle 19e:	Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (TT-Gruppe; n=9)	114

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Entwicklungszyklus der Trichostrongyriden	4
Abbildung 2:	Strukturformeln einiger beim Rind zugelassener Benzimidazole	8
Abbildung 3:	Die Strukturformel von Ivermectin	9
Abbildung 4a:	Qualitative PCR: Probe 31-60 (2011); C.o.-Primerpaar	47
Abbildung 4b:	Qualitative PCR: Probe 31-60 (2011); O.o.-Primerpaar	48
Abbildung 5:	Gruppenmittelwerte der Gewichtsentwicklung und des EpG-Verlaufes mit Standardabweichung in der Weidesaison 2010	49
Abbildung 6:	Verlauf der BCS-Entwicklung und der EpGs des behandlungswürdigen Tieres "15538"	50
Abbildung 7:	Gruppenmittelwerte der Gewichtsentwicklung und des EpG-Verlaufes mit Standardabweichung in der Weidesaison 2011	51
Abbildung 8:	Verlauf der BCS-Entwicklung und der EpGs des behandlungswürdigen Tieres "16083"	52
Abbildung 9:	Verlauf der BCS-Entwicklung und der EpGs des behandlungswürdigen Tieres "16076"	52
Abbildung 10a:	Korrelation zwischen Gewicht und Body Condition Score 2010	53
Abbildung 10b:	Korrelation zwischen Gewicht und Body Condition Score 2011	53
Abbildung 11a:	Korrelation zwischen Gewicht und der Eizahl pro Gramm Kot 2010	54
Abbildung 11b:	Korrelation zwischen Gewicht und der Eizahl pro Gramm Kot 2010	54
Abbildung 12a:	Korrelation zwischen BCS und der Eizahl pro Gramm Kot 2010	54

Abbildung 12b:	Korrelation zwischen BCS und der Eizahl pro Gramm Kot 2011	54
Abbildung 13:	Gewichtsentwicklung der Einzeltiere beider Gruppen während der Weidesaison 2010	59
Abbildung 14:	Gewichtsentwicklung der Einzeltiere der drei Gruppen während der Weidesaison 2011	60
Abbildung 15a:	Verteilung der Residuen 2010	61
Abbildung 15b:	Verteilung der Residuen 2011	61
Abbildung 16a:	Standartabweichung der Residuen 2010	61
Abbildung 16b:	Standartabweichung der Residuen 2011	61
Abbildung 17a:	QQ-Plot der Residuen 2010	62
Abbildung 17b:	QQ-Plot der Residuen 2011	62
Abbildung 18a:	Dosis-Wirkungskurve des Larven-Migrations-Inhibitions-Tests der Weidesaison 2010	66
Abbildung 18b:	Dosis-Wirkungskurve des Larven-Migrations-Inhibitions-Tests der Weidesaison 2011	67
Abbildung 19a:	Qualitative PCR: Proben 59-77 (2010); C.o.-Primerpaar	67
Abbildung 19b:	Qualitative PCR: Proben 59-77 (2010); O.o.-Primerpaar	67
Abbildung 20a:	Qualitative PCR: Proben 61-82 (2011); C.o.-Primerpaar	68
Abbildung 20b:	Qualitative PCR: Proben 61-82 (2011); O.o.-Primerpaar	68
Abbildung 21:	Diagramm zur Beurteilung des Body Condition Score nach EDMONSON et al.(1989), übersetzt und modifiziert nach METZNER et al. (1993)	107

Abbildung 22a:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Schwarzbunt in der Weidesaison 2010	114
Abbildung 22b:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Rotbunt in der Weidesaison 2010	114
Abbildung 22c:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absetzverfahren Kontakt zum Muttertier in der Weidesaison 2010	115
Abbildung 22d:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absetzverfahren Automatentränke in der Weidesaison 2010	115
Abbildung 22e:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und keine Angabe zum Absetzverfahren in der Weidesaison 2010	115
Abbildung 23a:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Schwarzbunt in der Weidesaison 2011	116
Abbildung 23b:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Rotbunt in der Weidesaison 2011	116
Abbildung 23c:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absetzverfahren Kontakt zum Muttertier in der Weidesaison 2011	116
Abbildung 23d:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absetzverfahren Automatentränke in der Weidesaison 2011	116
Abbildung 23e:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Geschlecht weibliche Tiere in der Weidesaison 2011	117
Abbildung 23f:	QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Geschlecht männliche Tiere in der Weidesaison 2011	117

1. Einleitung

Infektionen mit Endoparasiten, insbesondere mit Magen-Darm-Strongyliden (MDS), sind ein limitierender Faktor in der Entwicklung und Produktivität von erstsömmrigen Rindern. Die bisher weitverbreitet durchgeführte strategische Entwurmung ganzer Herden wird von Experten nicht als nachhaltig angesehen, da weltweit die Problematik durch Verbreitung von Anthelminthika-Resistenzen (AR) zunimmt. Vor allem bei der wirtschaftlichen Nutzung von kleinen Wiederkäuern sind AR ein großes Problem (Jackson and Coop 2000; Kaplan 2004; Wolstenholme, Fairweather et al. 2004), allerdings gewinnt diese Thematik auch im Rinderbereich zunehmend an Bedeutung. In England, Neuseeland und Südamerika wurden bereits Resistenzen in Rinderherden beschrieben (Stafford and Coles 1999; Pomroy 2006; Soutello, Seno et al. 2007; Suarez and Cristel 2007). In den Jahren 2006 und 2007 wurde auch für Deutschland erstmalig eine reduzierte Wirksamkeit von Anthelminthika (AM) bei erstsömmrigen Rindern beschrieben (Demeler, Kuttler et al. 2010)

Aus diesem Grund sollte die strategische Herdenbehandlung durch alternative Bekämpfungsstrategien ersetzt werden. Landwirte müssen lernen "mit Würmern zu leben" (Coles 2002). Es müssen neue Behandlungs- bzw. Bekämpfungsstrategien entwickelt werden. Ein Ansatz hierfür ist das "Targeted Selective Treatment" (TST), wobei eine gezielte Einzeltierbehandlung von mit Endoparasiten befallenen Tieren durchgeführt wird. Eine andere Alternative ist das "Targeted Treatment" (TT); hier wird nur bei Bedarf eine gezielte Gruppenbehandlung durchgeführt. Ein wichtiges Kriterium für den Einsatz von TST und TT ist die Identifizierung von behandlungswürdigen Tieren. Es müssen Entscheidungsparameter gefunden werden, die zugleich sensitiv, kostengünstig und einfach in der Anwendung sind. Ziel dieser alternativen Bekämpfungsstrategien (TST, TT) ist es, die Wirksamkeit derzeit vorhandener Anthelminthika zu verlängern. Der Ansatz beruht auf dem Versuch ein Refugium zu erhalten, welches die genetische Vielfalt in der Wurmpopulation sichern soll. Ein Refugium setzt sich aus der Intrapopulation (unbehandelte Stadien im Wirt) und der Suprapopulation (Stadien auf der Weide und im Stall) zusammen, die nicht von den Anthelminthika-Behandlungen erfasst werden, ihren Lebenszyklus beenden können und somit empfindliche Gene an die nächste Generation weitergeben (Kenyon, Greer et al. 2009).

In den vergangenen Jahren wurden bereits einige Forschungsarbeiten bzgl. des Ansatzes der TST- bzw. TT- Strategie angefertigt. Bisher wurde der Schwerpunkt jedoch auf Forschungsprojekte bei kleinen Wiederkäuern gelegt, da in diesem Bereich AR verbreiteter und wirtschaftlich bedrohlicher sind (Gallidis, Papadopoulos et al. 2009; Kenyon, Greer et al. 2009; Gaba, Cabaret et al. 2010; Morgan and Coles 2010). Zudem sind hier Forschungsarbeiten aufgrund der höheren Tierzahlen und des einfacheren Handlings der Tiere besser durchzuführen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden für bereits entwickelte Parameter Schwellenwerte für die Anwendung von TST und TT bei erstsömmrigen Rindern

erprobt. Vorrangiges Ziel ist hierbei ein verringerter Einsatz von Anthelminthika ohne Verluste in der Produktivität der Rinder zu erleiden.

2 Literaturteil

2.1 Magen-Darm-Strongyliden des Rindes

MDS sind in der gemäßigten Klimazone sowie weltweit verbreitete Nematoden des Rindes. Sie besiedeln den Labmagen sowie den Dünndarm der Tiere und kommen in der Regel bei allen Rindern mit Weidegang vor (Borgsteede, Tibben et al. 2000). Die am häufigsten vorkommenden Spezies *Cooperia oncophora* und *Ostertagia ostertagi* sind von ökonomischer Bedeutung, da sie Leistungseinbußen verursachen (Gross, Ryan et al. 1999; Sanchez, Dohoo et al. 2004; Charlier, Hoglund et al. 2009; Perri, Mejia et al. 2011). Die folgende Beschreibung der Erreger, der von ihnen hervorgerufenen Krankheiten sowie der Epidemiologie basiert auf den Lehrbüchern der Parasitologie von Mehlhorn et al. (1993; 2002), Eckert et al. (2005) und Schnieder et al. (2006).

2.1.1 Erreger

Die Gattungen *C. oncophora* und *O. ostertagia* gehören zur Familie der Trichostrongylidae. Die häufigste bei Rindern in Mitteleuropa vorkommende *Cooperia*-Art ist *C. oncophora*, es können aber auch Infektionen mit *C. punctata*, *C. pectinata* und *C. curticei* auftreten. Bei den *Ostertagia*-Arten wird die am weitesten verbreitete vorkommende Art *O. ostertagi* nur gelegentlich von den Arten *O. leptospicularis* und *Teladorsagia circumcincta* begleitet. Die folgenden Abschnitte beschränken sich auf die Arten *C. oncophora* und *O. ostertagia*, da diese eindeutig die wichtigsten Erreger der parasitären Gastroenteritis beim Rind in den gemäßigten Klimazonen Mitteleuropas sind.

2.1.1.1 *Cooperia oncophora*

C. oncophora sind Nematoden, die im Dünndarm des Rindes, selten auch bei Pferden, parasitieren. Sie sind relativ klein: die weiblichen Würmer erreichen eine Länge von 6-11 mm, während die männlichen Individuen nur 5-8 mm lang werden. Das Vorderende von *C. oncophora* ist kolbenförmig durch eine kleine Mundhöhle erweitert. Querringel befinden sich oral und aboral auf dem Vorderende und 5 Längsgrate sind dorsal und ventral zu sehen. Zu diesen Längsgraten kommen lateral wenig niedrige Grate hinzu. Die männlichen *C. oncophora* besitzen eine Bursa mit einer großen, nach kranial abgelenkten posteroventralen Rippe. Die Spikula mit glatter Mediankamm ist leicht geschwungen und 240-300 µm lang. Ein Gubernakulum ist nicht vorhanden. Die Weibchen besitzen im hinteren Körperviertel eine Vulva in Form eines Querschlitzes ohne Klappe. Die Präpatenz von *C. oncophora* beträgt 17-22 Tage.

2.1.1.2 *Ostertagia ostertagi*

Im Labmagen vom Rind, gelegentlich auch bei Schaf und Ziege, tritt der braune Magenwurm *O. ostertagi* auf. Die weiblichen Würmer erreichen eine Länge von 8-12 mm; die männlichen Individuen werden 6-8 mm lang. Das verjüngte Kopfende hat eine kleine, flache Mundkapsel und im Nackenbereich sind seitlich zwei kleine Papillen zu finden. Auf der Kutikulaoberfläche sind zahlreiche, gleichhohe Längsgrate vorhanden. Die männlichen *O. ostertagi* besitzen eine Bursa mit akzessorischen Lappen. Die Rippen ergeben eine 2-1-2 Anordnung. Die Spikula ist 200-280 μm lang und kräftig; das Gubernakulum ist blattförmig. Die Weibchen besitzen eine Vulva, die mit lappenförmigen Vorderlippen bedeckt ist. Die Präpatenz von *O. ostertagi* beträgt 17-22 Tage.

2.1.2 Entwicklungszyklus

C. oncophora und *O. ostertagi* haben einen monoxen Lebenszyklus, welcher aus einem Eistadium, vier Larvenstadien sowie einem adulten Stadium besteht. Die Erreger sind getrennt geschlechtlich; die Eier werden vom adulten Weibchen gelegt und mit dem Kot des Wirtes in die Umgebung ausgeschieden. Dort schlüpft die erste Larve und entwickelt sich bei optimalen Umgebungstemperaturen (20-25°C) innerhalb von ca. 1-2 Wochen über zwei Häutungen zur infektiösen dritten Larve, welche dann von dem grasenden Wirt aufgenommen wird. Durch das saure Milieu des Verdauungstraktes verliert die dritte Larve ihre Scheide und wird zur parasitischen L₃; diese entwickelt sich in den Krypten der Magendrüsen oder in der Schleimhaut des Dünndarms über je eine weitere Häutung zur L₄ und zum adulten Stadium. Insgesamt dauert die Entwicklung der Erreger im Wirt ca. 3 Wochen (Abbildung 1).

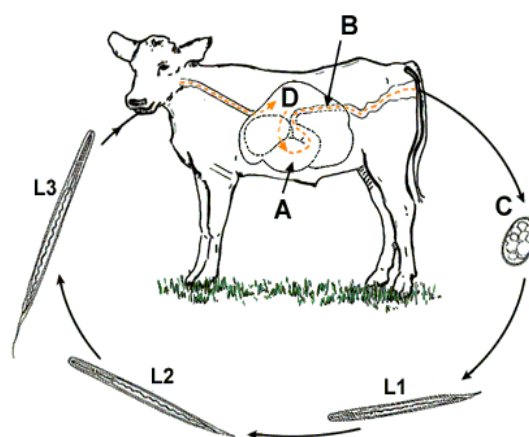


Abbildung 1: Entwicklungszyklus der Trichostrongyloiden

2.2 Krankheiten

2.2.1 Cooperiose

C. oncophora ist verhältnismäßig wenig pathogen, tritt aber meist als Mischinfektion mit *O. ostertagi* auf, wodurch sich die Pathogenität beider Spezies wechselseitig verstärkt. Der Erreger besiedelt vor allem die proximalen Abschnitte des Dünndarms, kann aber bei sehr starker Infektion auch Teile des distalen Dünndarmbereiches befallen. Die Würmer penetrieren die Schleimhaut und verändern die Struktur der Dünndarmzotten; eine Infektion bewirkt lokale Hyperämie, Ödeme, Verdickungen der Schleimhaut und kann eine Enteritis hervorrufen. Die Tiere, meist sind erstsömmrige Rinder betroffen, können klinisch Diarrhoe, Inappetenz und eine verminderte Gewichtszunahme bis hin zu Gewichtsverlust zeigen. Bei ausreichend starker Infektion wird von befallenen Tieren innerhalb von 8-10 Wochen eine Immunität ausgebildet, welche das Rind bei erneutem *Cooperia*-Befall vor starken klinischen Auswirkungen schützt. Die Immunität verhindert nicht den Befall mit dem Erreger an sich, sondern bedingt eine verzögerte Entwicklung der Larven und verringert die Anzahl von etablierten adulten Würmern und somit auch der ausgeschiedenen Eier (Gasbarre, Leighton et al. 2001).

2.2.2 Ostertagiose

Meist wird eine parasitäre Gastroenteritis durch *O. ostertagi* verursacht. Typischerweise sind erstsömmrige Rinder betroffen, aber auch ältere Tiere können erkranken. Durch das Eindringen der entscheidenden L₃ in das Lumen der Labmagendrüsen werden diese geschädigt und durch undifferenzierte, hyperplastische Zellen ersetzt. Auch die Nachbarzellen werden beeinflusst und auf der Labmagenschleimhaut entstehen makroskopisch sichtbare Knötchen; je nach Befallstärke wird von einem "kopfsteinähnlichen Aussehen" gesprochen. Die Schädigung der Salzsäure-produzierenden Belegzellen bedingt einen Anstieg des pH-Wertes im Labmagen. Dies begünstigt zum einen die Vermehrung von Bakterien, zum anderen kann Pepsinogen nicht zu Pepsin aktiviert werden und somit ist die Eiweißverdauung gestört. Eine weitere Folge der massiven Schleimhautschädigung ist die erhöhte Durchlässigkeit für Plasmaprodukte, welche sich klinisch in einer Hypalbuminämie widerspiegelt. Durch die Abwanderung der Würmer aus den Drüsen entsteht schließlich eine hyperplastische Gastritis mit Durchfall. Der Krankheitsverlauf ist subakut bis chronisch und die klinischen Symptome sind, neben Diarrhoe, Inappetenz, Apathie sowie stumpfes Fell. Bei schweren Infektionen kann es zur Abmagerung und Dehydratation mit verminderter Pansentätigkeit sowie hochgradiger Apathie und letztendlich auch zum Tod des Tieres kommen.

Es werden die Formen der Sommer- und der Winterostertagiose unterschieden. Erstere tritt auf, wenn erstsömmrige Rinder zu Beginn der Weidesaison große Mengen von infektiösen L₃

aufnehmen. In Mitteleuropa zeigen sich klinische Erscheinungen dieser Form witterungsabhängig meist ab Mitte Juli; es sind in der Regel mehrere Tiere der Herde betroffen. Die Winterostertagiose tritt im Winter oder Frühjahr nach der ersten Weidesaison der erstsömmrigen Rinder auf. Im Herbst aufgenommene L₃ unterbrechen als hypobiotische L₄ ihre Entwicklung vorübergehend und bei der Reaktivierung dieser Larven kommt es zum Krankheitsausbruch. Diese Form der Ostertagiose tritt in der Regel als Einzeltierkrankung auf und kommt aufgrund der häufig durchgeführten Aufstellungsbehandlungen mit Anthelminthika nur noch selten vor. Eine Immunität gegenüber *O. ostertagia* entwickelt sich nur langsam und ist meist erst nach der zweiten Weidesaison protektiv. Sie äußert sich in einer verzögerten Entwicklung der Würmer, morphologischen Veränderungen der Larven und einer verringerten Eiproduktion und -ausscheidung der weiblichen Würmer (Gasbarre, Leighton et al. 2001).

2.3 Epidemiologie

Trichostrongylidosen sind in erster Linie Weideinfektionen. In Deutschland sind in der Regel alle (erstsömmrigen) Rinder mit Weidegang mit MDS infiziert; besonders im Sommer und frühem Herbst ist der Infektionsdruck hoch. Die infektiösen Larven, die zum Teil auf der Weide überwintert haben, werden vom Wirt mit dem Gras aufgenommen und es dauert ca. 3 Wochen bis sich diese im Tier zu adulten Stadien entwickelt haben und Eier ausscheiden. Der Zeitpunkt des Schlüpfens der Larven aus den ausgeschiedenen Eiern hängt von den Klimabedingungen ab; in der Regel sind im norddeutschen Flachland die infektiösen L₃ in Abhängigkeit von Temperatur und Niederschlägen ab Mitte Juni auf der Vegetation zu finden. Erst diese Generation von L₃ ist dann so zahlreich, dass nach Aufnahme vom Wirt klinische Erkrankungen hervorgerufen werden können oder subklinische Leistungseinbußen entstehen. Diese Symptome treten bei der Cooperiose ab Mitte Juli auf, während die Auswirkungen der Ostertagiose meist erst ab August/September zum Tragen kommen. Zudem sind aufgenommene *O. ostertagi*-Larven in der Lage, als hypobiotische Stadien im Wirt zu überwintern. Diese werden im folgenden Frühjahr reaktiviert und entwickeln sich dann zu adulten Würmern, welche bei Austrieb die Weide kontaminieren können und somit den Infektionsdruck erhöhen.

2.4 Anthelminthika

Anthelminthika werden eingesetzt, um Nematoden-Infektionen bei Rindern in Weidehaltung zu limitieren bzw. zu behandeln. Sie werden nach ihrer chemischen Struktur und Wirkungsweise eingeteilt. In der durchgeführten Arbeit wurden Präparate mit Wirkstoffen aus

der Gruppe der Benzimidazole (BZ) sowie der Makrozyklischen Laktone (ML) verwendet. Daher wird im Folgenden auch nur auf diese beiden Wirkstoffgruppen eingegangen.

2.4.1 Benzimidazole

Im Jahr 1961 wurde Thiabendazol (TBZ) als erster Wirkstoff aus der Gruppe der BZ auf den Markt gebracht. Anschließend wurden weitere Wirkstoffe der BZ entwickelt; diese werden als Breitspektrum-Anthelminthika eingesetzt, sind wesentlich effizienter und haben eine gute anthelminthische Wirkung gegenüber den meisten Magen-Darm-Nematoden bei einer deutlich verbesserten therapeutischen Sicherheit. Sie können aber auch bei Cestoden- und Trematoden- Infektionen eingesetzt werden und sind gegen intestinale sowie inhibierte Larvenstadien der meisten MDS und Wurmeier wirksam. Die Verabreichung erfolgt per os oder mit dem Futter und es sind keine toxischen Nebenwirkungen bekannt. Für den Rinderbereich sind aktuell Präparate mit den Wirkstoffen Albendazol (ABZ), Febantel, Fenbendazol, Oxfendazol und Triclabendazol in Deutschland zugelassen (Tabelle 1). Zu beachten ist hierbei, dass Triclabendazol gegen Infektionen mit *F. hepatica* eingesetzt wird, gegenüber Rundwürmern aber keine Wirksamkeit hat. Die Strukturformeln der verschiedenen Wirkstoffe aus der Gruppe der BZ sind in Abbildung 2 dargestellt. Der Wirkung der BZ liegt die Verhinderung der Polymerisation von Tubulin zu Mikrotubulin zugrunde (Lacey 1990). Hierdurch kommt es zu einer gestörten Ausbildung des Zytoskelettes, die Aufnahme sowie der intrazelluläre Transport von Nährstoffen und Stoffwechselfsubstraten wird vermindert und auch die Spindelbildung in der Mitose ist blockiert; somit stirbt der Organismus nach Verbrauch der Energiereserven ab (Lacey 1988). Der Wirkungseintritt der BZ erfolgt nach 2-3 Tagen, weshalb eine ausreichend lange Kontaktzeit von Anthelminthikum und Tier erforderlich ist. Der Wirkstoff wird oral verabreicht und im Gastrointestinaltrakt zu weniger als 50 % resorbiert. Da die Substanzen hydrophob sind, ist die Formulierung für die Bioverfügbarkeit, Pharmakodynamik und Effizienz der Wirkung ausschlaggebend. Die Wirksamkeit hängt im hohen Maße von der Kontaktzeit im Magen-Darm-Trakt ab (Lanusse and Prichard 1993). Sanchez et al. (2000) zeigten, dass durch das Fasten der Tiere vor der Verabreichung eines BZ-Präparates die Bioverfügbarkeit deutlich verbessert werden kann. Bei den Wirkstoffen Fenbendazol und Oxfendazol wurden beim Rind nach 24-36 Stunden maximale Plasmakonzentrationen beschrieben (Prichard, Hennessey et al. 1978). Die Metaboliten von BZ sind vorwiegend im Plasma, Gewebe und in den Exkreten zu finden; sie werden biliär sowie renal ausgeschieden.

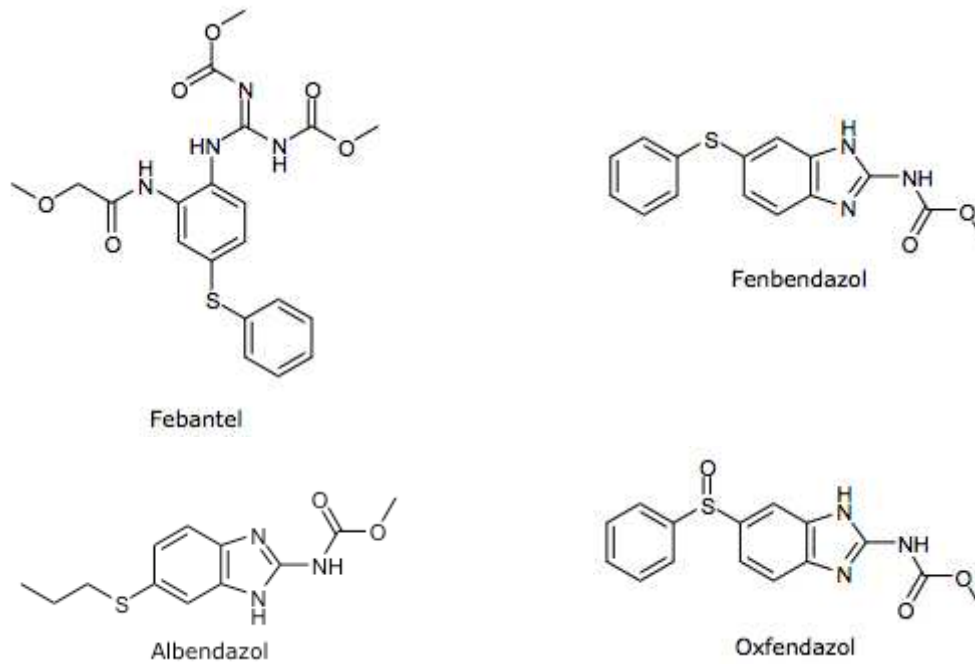


Abbildung 2: Die Strukturformeln ausgesuchter beim Rind zugelassener Benzimidazole

2.4.2 Makrozyklische Laktone (ML)

Die ML werden in Avermectine und chemisch verwandte Verbindungen, hier sind vor allem die Milbemycine von Bedeutung, eingeteilt. Sie wurden im Jahr 1979 entdeckt und 1981 wurde Ivermectin (IVM) von Merck als Anthelminthikum auf den Markt gebracht (Campbell, Fisher et al. 1983). Die Strukturformel dieses Wirkstoffes ist in Abbildung 3 dargestellt. Die ML wirken als Anthelminthika-Gruppe mit großem Wirkungsspektrum gegen Nematoden, Insekten sowie Milben, weshalb sie auch als Endektozide bezeichnet werden. Es werden sowohl adulte Würmer als auch die meisten Larvenstadien (incl. der Wanderlarven sowie durch den Wirkstoff Moxidectin zum Teil auch histotrope und inhierte Formen) von allen MDS und Lungenwürmern erfasst. Antiparasitäre Makrolide haben jedoch keine ovizide Wirkung und sind auch gegen Cestoden sowie Trematoden unwirksam. Der Wirkungsmechanismus ist noch nicht vollständig geklärt. Gesichert ist bisher, dass die Makrolide mit GABA- und Glutamat-gesteuerten Chlorid-Kanälen interagieren und hier den zellwärts-gerichteten Chlorid-Strom stimulieren. Dies verursacht eine Hyperpolarisation, welche eine funktionellen Paralyse der somatischen Muskulatur und der Pharynxmuskulatur bedingt (Boisvenue, Brandt et al. 1983; Gill, Redwin et al. 1991; Martin 1996; Gill and Lacey 1998; Feng, Hayashi et al. 2002). Eine Überdosierung von ML kann ZNS-Depression mit Somnolenz, Ataxie, Tremor, Salivation und Mydriasis verursachen. Die Pharmakokinetik ist abhängig von der Darreichungsform; IVM kann beispielsweise subkutan sowie perkutan

angewendet werden. Die Absorption und die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes ist hierbei unterschiedlich; auch die Formulierung spielt eine entscheidende Rolle (Lo, Fink et al. 1985). Nach subkutaner Injektion des Präparates Ivomec® wird die maximale Plasmakonzentration nach einem Tag erreicht. Die Halbwertszeit beträgt aufgrund der nicht wässrigen Formulierung 8,3 Tage und somit konnten Campbell und Benz (1984) eine Wirksamkeit von 2 Wochen nachweisen. Bei der topischen Anwendung wird IVM rasch durch die Haut resorbiert und bereits wenige Stunden nach der Applikation sind Plasmawerte messbar, die in der ersten Woche auf einem relativ konstanten Niveau bleiben. Hierbei wurden bei einzelnen Tieren unterschiedliche IVM-Plasma-Spiegel beobachtet. Die Mittelwerte für die maximale Plasmakonzentration, welche nach 4-6 Tagen erreicht wurde, liegen in Abhängigkeit des angewandten Präparates bei ca. 15 ng/ml. Eine Verteilung der Wirkstoffe erfolgt in nahezu allen Geweben, besonders hohe Konzentrationen konnten aber in der Leber, im Fettgewebe und in der Galle festgestellt werden (Chiu and Lu 1989). Die Exkretion erfolgt zu 98 % über den Kot und nur zu 2 % mit dem Urin, wobei 50 % des Wirkstoffes unverändert und 50 % als Metabolite ausgeschieden werden (Chiu and Lu 1989).

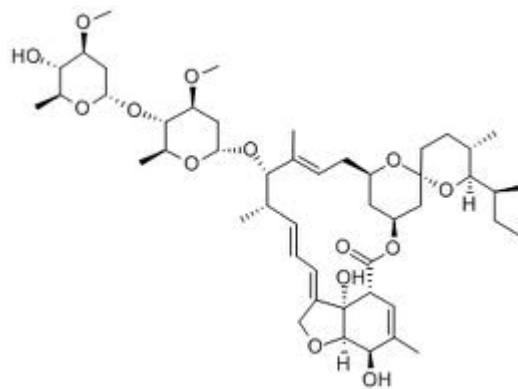


Abbildung 3: Die Strukturformel von Ivermectin

Der Wirkstoff Moxidectin wird nach subkutaner Injektion schnell und vollständig absorbiert, wobei die maximale Blutkonzentration nach 8 bis 12 Stunden erreicht wird. Die Verteilung erfolgt über alle Körpergewebe, wobei aufgrund der Lipophilie von Moxidectin im Fettgewebe 10- bis 20-fache höhere Konzentration erreicht werden. Die Abbauhalbwertszeit im Fett beträgt 23 bis 28 Tage. Moxidectin durchläuft im Körper eine begrenzte Biotransformation mittels Hydroxylierung. Die einzig signifikante Ausscheidung erfolgt über den Kot.

2.5 Therapie und Bekämpfung

Michel (1985) teilt die Bekämpfungsmaßnahmen in 3 Kategorien ein: Die präventiven Strategien haben zum Ziel, die Weidekontamination und somit den Infektionsdruck für die

Rinder möglichst gering zu halten. Dies kann zum Beispiel durch strategischen Anthelminthika-Einsatz und Weidemanagement erfolgen. Die zweite Kategorie der evasiven Strategien soll beispielsweise durch regelmäßige Umweidung eine Aufnahme von großen Mengen an infektiösen Larven verhindern. Als dritte Kategorie werden die Verteilungsstrategien genannt; diese zielen darauf ab, den Infektionsdruck durch Wechselbeweidung von empfindlichen und nicht empfindlichen Tieren zu senken. Generell sollte zur Endoparasitenbekämpfung der Einsatz von Anthelminthika immer mit einem optimierten Weidemanagement kombiniert werden.

2.5.1 Chemotherapeutika

Für Rinder sind Anthelminthika aus den Wirkstoffklassen BZ, Imidazothiazole und ML zur Therapie von Trichostrongyloidosen zugelassen. In Tabelle 1 sind diese Wirkstoffe mit Art der Applikation, Darreichungsform, Beispielen für Präparate und Wirkspektrum aufgelistet. Zudem stehen teilweise auch Kombinationspräparate der einzelnen Wirkstoffgruppen im Handel zur Verfügung.

Tabelle 1: Für das Rind zugelassene Anthelminthika zur Bekämpfung von Trichostrongyloiden-Infektionen
(Quelle: www.vetidata.de)

Wirkstoffgruppe	Applikationsart	Darreichungsform	Wirkspektrum
Wirkstoff		Beispiele für Präparate	
Benzimidazole	per os	Suspension	Magen-Darm-, Lungen- und andere Nematoden
Albendazol		Albendazol 10 % [®]	
Fenbendazol		Valbazen 10 % [®]	
Oxfendazol		Granulat	
Pro-Benzimidazole		Panacur Granulat [®]	
Febantel	Rintal 1,9 % [®]	Bolus	
		Panacur SR Bolus [®]	
		Systamex Intervall Bolus [®]	

Imidazolthiazole Levamisol	per os intramuskulär dermal	Suspension Ripercol Drench [®] Pulver Concurat-L 10 % [®] Pour on Levamisol Spot on [®] Belamisol spot on [®] Injektionslösung Levamisol 10 [®] Nematovet 10 [®]	Magen-Darm-, Lungen- und andere Nematoden
Makrozyklische Laktone Doramectin Eprinomectin Ivermectin Moxidectin	subkutan dermal	Injektionslösung Ivomec [®] Cydectin 1 % [®] Pour on Dectomax Pour-on [®] Ivomec Pour-on [®]	Nematoden und Ektoparasiten

2.5.2 Weidemanagement

Durch gutes Weidemanagement kann das Risiko von Infektionen mit Trichostrongyliden deutlich gesenkt werden. Im Frühjahr befinden sich die aus dem Vorjahr überwinterten infektiösen Larven auf den Weideflächen. Das von ihnen ausgehende Infektionsrisiko kann zum einen durch die Vornutzung der Fläche zur Heu- oder Silageproduktion und zum anderen durch eine Vorbeweidung mit älteren und somit unempfindlicheren Rindern oder anderen, nicht empfänglichen Spezies verringert werden; ein Restinfektionsrisiko besteht aber durch sich im Erdreich befindliche Stadien weiter. Eine weitere Möglichkeit ist es, die erstsömmerigen Rinder später auszutreiben, da die L₃ bei steigenden Temperaturen und Trockenheit im Sommer schneller absterben (Nansen, Jorgensen et al. 1987). Dies ist aber in den meisten Betrieben nicht umzusetzen, da eine längere Aufstellungsperiode arbeits- und kostenintensiver ist. Aus den von infizierten Rindern ausgeschiedenen Eiern entwickelt sich während der Weidesaison eine neue Larvengeneration, so dass der Infektionsdruck im Verlauf des Sommers deutlich zunimmt. Um die Aufnahme dieser L₃ zu reduzieren, wäre es sinnvoll, die Tiere regelmäßig auf eine neue Fläche umzutreiben, welche weniger mit Larven belastet

ist. Da diese Flächenwechsel aufgrund der Präpatenz (ca. 3 Wochen) und der Entwicklungsdauer vom MDS-Ei zur infektiösen Larve sehr häufig stattfinden müssten, ist dieses System aufgrund von limitierten Weideflächen unter Praxisbedingungen oft nicht durchführbar. Auch die Besatzdichte bzw. das Verhältnis von Futterangebot zur Tierzahl hat einen Einfluss auf die Menge an aufgenommenen Larven. Bei hoher Besatzdichte bzw. geringem Futterangebot wird das Gras, insbesondere auch in der Nähe der stark kontaminierten Kotabsatzstellen, bis zur Narbe abgefressen und somit werden alle in der Vegetation sitzenden Larven aufgenommen. Zudem wird die Kontamination der Weidefläche durch eine hohe Besatzdichte verstärkt. Durch Zufütterung von Kraftfutter im ersten Weidejahr kann die Kondition und die Entwicklung der erstsömmrigen Rinder verbessert werden. Da hierdurch auch die Aufnahmemenge von Gras etwas reduziert wird, nehmen die Tiere ebenfalls weniger Larven auf. Larsson et al. (2006) zeigten in ihrer Studie allerdings, dass durch die Zufütterung von Kraft- und Rauhfutter keine infektionsreduzierenden Effekte erzielt werden konnten. In der gleichen Studie wurde nachgewiesen, dass die Vorjahresbeweidung mit älteren (zweitsömmrigen) Rindern zu einer geringeren Belastung der Weideflächen mit L_3 führt (Larsson, Dimander et al. 2006; Larsson, Dimander et al. 2007). Eine gleichzeitige Beweidung von erstsömmrigen und älteren Tieren kann den Infektionsdruck ebenfalls senken (Nansen, Steffan et al. 1990; Sarkunas, Nansen et al. 2000). Die jährlich alternierende Wechselbeweidung der Flächen mit unterschiedlichen Spezies wurde von Barger et al. (1975) und Southcott et al. (1975) als nützlich beschrieben. Bairden et al. (1995) zeigten hingegen, dass die jährliche Wechselbeweidung von Rindern und Schafen die Anzahl der L_3 nicht ausreichend reduziert. Einige Larven konnten auch zwei Winter überleben und in der darauffolgenden Weidesaison die Rinder infizieren.

2.5.3 Planmäßige Bekämpfung

Bei der strategischen Behandlung steht neben der Therapie von Trichostrongyloiden-Infektionen auch die Pro- und Metaphylaxe im Vordergrund. Es gibt verschiedene Formen des planmäßigen Einsatzes von Anthelminthika. Bei den wiederholten anthelminthischen Behandlungen ab Beginn der Weidesaison ist es das Ziel, die Weidekontamination möglichst gering zu halten, indem diese nicht zusätzlich durch dritte Larven aus patenten Infektionen belastet wird. Zum einen können hier kurzwirksame Anthelminthika, z.B. BZ, eingesetzt werden und die erstsömmrigen Rinder nach dem "Glasgower Modell" in der 3., 6. und 9. Woche nach Austrieb behandelt werden. Bei Anwendung von ML werden die Behandlungsintervalle aufgrund der längeren Wirkdauer größer gewählt. Sarkunas et al. (1999) empfehlen eine Behandlung in der 3., 8. und 13. Woche nach Austrieb, während Eysker et al. (1998) sowie Epe et al. (1999) eine Behandlung zum Zeitpunkt des Austriebs und 6-8 Wochen nach Beginn der Weidesaison empfehlen. Nachteile dieser

Behandlungsstrategien sind zum einen der relativ hohe Kosten- und Zeitaufwand und zum anderen die potentielle Resistenzselektion bei relativ kleinem Refugium. Weitverbreitet ist auch der Einsatz von Anthelminthika in Form von Boli. Dieser wird den Tieren vor Austrieb verabreicht und wirkt durch die langsame Freisetzung des Wirkstoffes über ca. die Hälfte der Weidesaison. Die Weide wird kaum mit infektiösen dritten Larven belastet und aufgrund des resultierenden geringen Infektionsdrucks sind auch in der zweiten Hälfte der Weidesaison, in der die Tiere dann keinen Infektionsschutz mehr durch den Bolus haben, keine bedeutenden Infektionen zu erwarten (Schnieder, Epe et al. 1996). In dieser zweiten Weidehälfte ist es den Tieren jedoch möglich, durch Erregerkontakt eine Immunität aufzubauen. Das "Dose and Move-Prinzip" wurde von Michel et al. (1969) entwickelt, um die Weidekontamination zu verringern. Es beruht auf der Kombination von einer anthelminthischen Behandlung mit einem gleichzeitig stattfindenden Umtrieb der Tiere auf eine andere Weidefläche. Problematisch hierbei ist, dass auf der neuen Weide nur noch resistente Larven ausgeschieden werden und durch diese Form der planmäßigen Bekämpfung eine Selektion in Richtung AR erfolgt (Michel 1985; van Wyk 2001). Eine Aufstallungsbehandlung der Rinder im Herbst wird bei einem hohen Infektionsdruck am Ende der Weidesaison empfohlen. Hier sollte bevorzugt Moxidectin eingesetzt werden, da dieser Wirkstoff auch die hypobiotischen Larven erreicht.

2.5.4 Targeted Selective Treatment (gezielte selektive Behandlung)

Da AR zunehmend an Bedeutung gewinnen (Condi, Soutello et al. 2009; Demeler, Van Zeveren et al. 2009; Edmonds, Johnson et al. 2010; Lyndal-Murphy, Rogers et al. 2010; von Samson-Himmelstjerna 2012; Wolstenholme and Kaplan 2012), sollte die strategische Herdenbehandlung durch alternative Bekämpfungsstrategien ersetzt werden. Landwirte müssen lernen "mit Würmern zu leben" (Coles 2002). Ziel des Targeted Selective Treatment (TST) ist es, den Einsatz von Anthelminthika zu verringern und die Wirksamkeit derzeit vorhandener Anthelminthika zu verlängern, indem nur „behandlungswürdige“ Tiere erfaßt werden. Der Ansatz beruht auf dem Versuch ein Refugium zu erhalten, welches die genetische Vielfalt in der Wurmpopulation sichern soll. Ein Refugium setzt sich aus der Intrapopulation (unbehandelte Stadien im Wirt) und der Suprapopulation (Stadien auf der Weide und im Stall) zusammen, die nicht von den Anthelminthika-Behandlungen erfasst werden, ihren Lebenszyklus beenden können und somit Empfindlichkeits-assoziierte Allele an die nächste Generation weitergeben (Kenyon, Greer et al. 2009).

In den vergangenen Jahren wurden bereits einige Forschungsarbeiten bezüglich des Ansatzes der TST-Strategie angefertigt; insbesondere Teilnehmer des EU-Projektes PARASOL (PARASite SOLutions) haben sich mit dem Thema beschäftigt; seit Februar 2006 forschten 12 wissenschaftliche Einrichtungen und 5 Unternehmen aus 10 Ländern an der Entwicklung

nachhaltiger Strategien zur Kontrolle von Endoparasiten bei Wiederkäuern. Bisher wurde der Schwerpunkt auf Forschungsprojekte bei kleinen Wiederkäuern gelegt, da in diesem Bereich AR verbreiteter und wirtschaftlich bedrohlicher sind (Gallidis, Papadopoulos et al. 2009; Kenyon, Greer et al. 2009; Gaba, Cabaret et al. 2010; Morgan and Coles 2010; Leathwick, Waghorn et al. 2012). Zudem sind hier Forschungsarbeiten aufgrund der höheren Tierzahlen und des einfacheren Handlings der Tiere besser durchzuführen.

Die Identifizierung behandlungswürdiger Tiere ist beim Ansatz des TST eine der größten Schwierigkeiten. Ein idealer Parameter sollte kostengünstig, einfach in der Umsetzung und von Laien anzuwenden sein. Die Entscheidung einer eventuell notwendigen Behandlung muss jeder Landwirt sofort selbständig fällen können. Bisher wurden verschiedene Kriterien erprobt: Blutsaugende Parasiten, insbesondere Infektionen mit *Haemonchus contortus*, verursachen bei Tieren Anämie (Blutarmut). Mit Hilfe des FAAffaMAAlanCHArts (FAMACHA) können die befallenen Tiere in verschiedene Kategorien, je nach Schweregrad der Anämie eingeordnet werden. Hierbei wird die Farbe der Bindehaut der Augen beurteilt und mit den Illustrationen auf einer Karte verglichen. Auf dieser Karte werden fünf verschiedene Stadien der Anämie anhand skaliertes farbiger Abbildungen von Schafaugen dargestellt. Tiere, die in Kategorie drei, vier oder fünf eingeteilt werden, benötigen eine Behandlung (Vatta, Letty et al. 2001; van Wyk and Bath 2002; Besier 2008). Mit Hilfe dieses Parameters können behandlungswürdige Tiere identifiziert und die Anzahl der Anthelminthika-Gaben gesenkt werden. Die Produktivität der Herden wird durch diese Strategie der Endoparasiten-Bekämpfung nicht beeinträchtigt (Vatta, Letty et al. 2001). Das FAMACHA-System wurde in Südafrika entwickelt und erprobt; hier ist *H. contortus* mit einer Prävalenz von zum Teil über 90 % die Hauptproblemspezies. Für unsere Regionen ist jedoch problematisch, dass nur blutsaugende Endoparasiten durch das FAMACHA System erfasst werden. In Europa liegt beispielsweise die Prävalenz der Gattung *Teladorsagia* deutlich über der von *Haemonchus*. Zudem ist die Durchführung des Testes relativ arbeitsintensiv und die Anwendung bleibt auf den Bereich der kleinen Wiederkäuer beschränkt (Koopmann, Holst et al. 2006).

Ein anderer Parameter, welcher als Entscheidungshilfe fungieren könnte, ist der Dag-Score. Dieser beruht auf der Annahme, dass bei Lämmern ein Zusammenhang zwischen der Verschmutzung des Hinterteils und dem Befall mit Endoparasiten, insbesondere der Spezies *Teladorsagia* und *Trichostrongylus*, besteht. Es wurde versucht, den Verschmutzungsgrad mit Hilfe eines Dag-Scores einzuteilen und diesen Parameter als Entscheidungshilfe für Entwurmungen zu nutzen. In verschiedenen Studien wurde jedoch festgestellt, dass der Dag-Score kein geeigneter Parameter ist. Auf der einen Seite gibt es keine Korrelation zwischen der Wurmbürde bzw. dem Verschmutzungsgrad und der Eiausscheidung der jeweiligen Tiere (Broughan and Wall 2007), auf der anderen Seite sind zum Beobachtungszeitpunkt einer Verschmutzung des Hinterteils bereits Produktionseinbußen eingetreten (Besier 2008).

Die regelmäßige Überwachung der Wurmeiausscheidung mit dem Kot der Tiere ist ein weiterer Parameter, mit dessen Hilfe behandlungswürdige Tiere identifiziert werden können. Hierzu wurden bereits Versuche durchgeführt. Cringoli et al. (2009) erprobten den TST-Ansatz bei Schafen unter der Verwendung von verschiedenen Entscheidungskriterien. Bei einer Versuchsgruppe wurden einmal monatlich Kotproben untersucht und die Eiausscheidung pro Gramm Kot (EpG) bestimmt. Mit Hilfe dieser Ergebnisse wurde dann die Behandlungsentscheidung gefällt; alle Tiere, deren EpG über dem Gruppendurchschnitt lag, wurden entwurmt. Im Vergleich zu der Kontrollgruppe (keine Behandlung) war die Eiausscheidung dieser TST-Gruppe während des gesamten Studienzeitraumes deutlich niedriger ($p < 0.05$). Auch die Produktivität, gemessen anhand der Milchleistung, der gezielt behandelten Gruppe war um 13 % höher als die der unbehandelten Kontrollgruppe. In einer anderen Studie verglichen Gallidis et al. (2009) den TST-Ansatz, ebenfalls basierend auf einer vom EpG-abhängigen Entwurmungs-Entscheidung (Anthelminthika-Gabe bei einer EpG > 300), mit der systemischen Behandlung bei 38 Milchschaafen und -ziegen in Griechenland. Die Anzahl der anthelminthischen Behandlungen konnte reduziert werden, wobei der mittlere FEC in der Gruppe, welche nach dem TST-Ansatz behandelt wurde, signifikant geringer war ($p < 0.05$). Auch in dieser Studie mussten keine Einbußen im Hinblick auf die Produktivität der Tiere hingenommen werden.

Nachteile der EpG sind der relativ große Aufwand bei der Umsetzung und die hohen Kosten. Der Landwirt hat vor Ort keine Möglichkeit sofort eine Behandlungsentscheidung zu treffen, da die Kotproben erst im Labor untersucht werden können. Zudem ist speziesabhängig nicht unbedingt eine Korrelation zwischen Eiausscheidung und Wurmbürde im Tier gegeben (Jackson and Christie 1979; Coles, Tritschler et al. 1986) und auch das Festlegen von Schwellenwerten gestaltet sich schwierig. Für die verschiedenen Nematodenarten müssten jeweils andere Cut-Off-Level verwendet werden; dies ist in der Praxis nur schwer umzusetzen. Ein weiterer Parameter, der als Entscheidungshilfe für eine Entwurmung erprobt wurde, ist die Milchleistung. Milchziegen in der Erstlaktation und Ziegen mit hoher Milchleistung haben häufig höhere FEC als andere Tiere (Hoste, Le Frileux et al. 2002). In einem Versuch wurden von Hoste et al. (2002) diese beiden scheinbar anfälligeren Gruppen über zwei Jahre gezielt entwurmt. Hierbei konnte eine deutliche Reduktion des Anthelminthika-Einsatzes erreicht werden (48 % im ersten Jahr und 66 % im zweiten Jahr), wobei weder Einbußen in der Milchproduktivität noch verstärkte Wurmeiausscheidungen der Tiere festzustellen waren. Auch in dem von Cringoli et al. (2009) durchgeführten Versuch wurde eine Gruppe von Milchschaafen nach dem TST-Ansatz behandelt, wobei die Milchleistung als Entscheidungsparameter diente. Nur Tiere, die im April mit ihrer Milchleistungen über dem Gruppendurchschnitt lagen, wurden im April und im Juni behandelt. Aus praktischer Sicht ist die Milchleistung ein relativ sicherer und vor allem anwenderfreundlicher Parameter im Bereich der kleinen Wiederkäuer.

Die Lebendgewichtszunahme wurde ebenfalls als möglicher Parameter getestet. Vor allem bei Infektionen mit gastrointestinalen Nematoden (GIN) scheint diese ein potentiell sensitiver Parameter für die Identifikation behandlungswürdiger Tiere zu sein (Coop, Sykes et al. 1977; Hubert, Kerboeuf et al. 1979; Coop, Jackson et al. 1988). Eine Reduktion der Gewichtszunahme tritt bereits vor dem Auftritt klinischer Erkrankungszeichen ein (Coop, Sykes et al. 1977) und somit ist die Infektion mit GIN anhand dieses Parameters frühzeitig festzustellen. Leathwick et al. (2006; 2006) haben verschiedene Versuche bei kleinen Wiederkäuern durchgeführt um die Lebendgewichtszunahme als Entscheidungsparameter zu erproben. In einer in Neuseeland durchgeführten Studie blieben zu jedem Behandlungszeitpunkt die schwersten 15 % der Tiere unbehandelt. In einer anderen Studie wurden die schwersten 10 % der Herde nicht mit in die Anthelminthika-Behandlung einbezogen. Im Vergleich zu einer strategisch behandelten Kontrollgruppe konnten durch diese gezielte Anwendung bzw. Einsparung von Anthelminthika keine Verluste bzgl. der Lebendgewichtszunahme festgestellt werden.

Im Gegensatz zu bereits erprobten oder untersuchten Parametern bei kleinen Wiederkäuern ist im Bereich der Rinder noch verhältnismäßig wenig untersucht worden. Hier stand bislang die Untersuchung des Einflusses von Infektionen mit Endoparasiten auf die Milchleistung im Vordergrund (Gross, Ryan et al. 1999; Sanchez, Dohoo et al. 2004). Da hier bisher nur Studien, die auf dem Ansatz des Targeted Treatment (TT) beruhen, durchgeführt wurden, wird dieser Zusammenhang in Kapitel 2.1.5.5. beschrieben. Als Entscheidungsparameter für den Einsatz von Anthelminthika wurde in den meisten Studien die Konzentration von *O. ostertagi*-Antikörpern in der Milch verwendet.

Des Weiteren wurden auch im Bereich der großen Wiederkäuer Versuche durchgeführt, um die Lebendgewichtszunahme als Parameter zu erproben. Höglund et al. (2009) haben mit Hilfe von Daten aus den Jahren 1997-2004 in einer retrospektiven Studie den Zusammenhang zwischen EpG und der Lebendgewichtszunahme bei erstsömmrigen Rindern untersucht. Hierfür wurden in jeder Weidesaison Gruppen von je 10 Tieren ausgetrieben und regelmäßig beprobt. Die tägliche Lebendgewichtszunahme (DWG) korrelierte hierbei in der Mitte der Weidesaison (6-8 Wochen nach Austrieb) gut mit dem Gewicht zum Zeitpunkt der Aufstallung. Zudem wurde die DWG negativ von der EpG beeinflusst; Höglund et al. empfehlen aufgrund ihrer Untersuchungen Tiere, welche in der mittleren Weidesaison eine Lebendgewichtszunahme $< 0,75$ kg/Tag haben, anthelminthisch zu behandeln. In einer weiteren Studie erprobten Höglund et al. (2013) den auf Gewichtszunahmen basierenden TST-Ansatz bei Infektionen mit MDS von erstsömmrigen Rindern. Hierbei wurden über drei Jahre erstsömmrige Rinder beprobt, welche nach verschiedenen Behandlungsansätzen in drei Gruppen aufgeteilt wurden. Die erste Gruppe erhielt zu keinem Zeitpunkt ein Anthelminthikum, die zweite Gruppe wurde regelmäßig mit Doramectin behandelt und die dritte Gruppe wurde nach dem Prinzip des TST auf Einzeltierbasis behandelt, sobald die

Tagesgewichtszunahme eines Tieres geringer als die Zunahmen der schlechteren 50 % der regelmäßig behandelten Gruppe war. Es stellte sich heraus, dass die Tageszunahmen der nach dem TST-Prinzip behandelten Gruppe signifikant geringer waren als die Tageszunahmen der Tiere, welche eine regelmäßige AM-Gabe erhielten. Allerdings waren die Zunahmen der TST-Gruppe signifikant besser als die der unbehandelten Kontrollgruppe. Der Anthelminthikaverbrauch wurde in der TST-Gruppe im Vergleich zur behandelten Kontrollgruppe hierbei um 92 % reduziert.

Eine Alternative zum Parameter der Lebendgewichtszunahme stellt der Body Condition Score (BCS) nach Edmonson et al. (1989) dar. Hier werden bestimmte prominente Knochenpunkte der Lenden- und Beckengegend des Tieres (BCS 1 bis 8) beurteilt und je nach Ansatz von subkutanem Fettgewebe die Kondition des Tieres mit Hilfe einer Skala von 1 bis 5 bewertet. Die Note 1 steht hierbei für hochgradig kachektisch während die Note 5 auf eine hochgradige Verfettung des Tieres hinweist; jede Note ist zusätzlich weiter in eine Vierpunkteskala unterteilt (Edmonson, Lean et al. 1989; Metzner, Heuwieser et al. 1993; Heuwieser and Bergmann 1996). Ergänzend zu diesem Schema beziehen Raschke et al. (2007) bei der Bewertung des BCS von Kälbern die seitliche Brustwand als weiteres Kriterium (BCS 9) durch Palpation der Rippen als neunten Bewertungspunkt mit ein. Die Bewertung erfolgte hierbei nach dem Punktesystem, welches auch in dem Schema nach Edmonson et al. beschrieben ist und auch die Einteilung wurde in Anlehnung an das System von Edmonson et al. vorgenommen. Die Methode der Beurteilung des BCS beruht auf der subjektiven Beurteilung vorgeschriebener Knochenpunkte; in unterschiedlichen Studien wurde die Reproduzierbarkeit des BCS untersucht: Während Evans et al. (1978) eine deutliche Subjektivität der Methode feststellten, zeigten andere Studien keine bedeutenden Abweichungen zwischen erfahrenen und unerfahrenen Untersuchern (Edmonson, Lean et al. 1989; Kleiboehmer, Heuwieser et al. 1998). Auch bei verschiedenen Untersuchern wurden nur geringe Unterschiede festgestellt (Ferguson, Galligan et al. 1994). Bei regelmäßiger Beurteilung des BCS können Änderungen der Kondition des Tieres erkannt werden und somit individuelle, unausgeglichene Energiebilanzen festgestellt werden (Croxtton and Stollard 1976; Heuwieser and Bergmann 1996). Dieser Parameter ist für die Konditionsbeurteilung von auf der Weide gehaltenen Rindern gut geeignet, da er leicht erlernbar und sehr einfach in der Anwendung ist.

2.5.5 Targeted Treatment (gezielte Gruppenbehandlung)

Ein anderer Behandlungs-Ansatz, um das Refugium zu vergrößern und somit die Wirksamkeit der Anthelminthika zu erhalten, ist das Targeted Treatment (TT), bei dem, wenn notwendig, gezielt die ganze Herde behandelt wird. Diese alternative Behandlungsstrategie wurde von Leathwick et al. (2006) im Bereich der kleinen Wiederkäuer erprobt, indem sie eine

strategisch behandelte Gruppe mit einer Gruppe, die nach dem TT-Ansatz behandelt wurde, verglichen. Die Tiere der gezielt behandelten Gruppen wurden entwurmt, wenn im Gruppenmittel 500 Eier pro Gramm Kot überschritten waren. Sowohl in der Behandlungsfrequenz als auch in der Lebendgewichtszunahme oder in der Vliesmenge waren keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Auch Kenyon et al. (2012) beschrieben eine auf dem Guppenmittelwert der EpGs basierende Behandlungsentscheidung.

Bei den großen Wiederkäuern wurde u.a. die Serum-Pepsinogen-Konzentration als möglicher Entscheidungsparameter erprobt. Berghen et al. (1993) sowie Dorny et al. (1999) fanden heraus, dass die Serum-Pepsinogen-Konzentration gut mit der Befallsstärke eines Rindes mit der u. a. für Produktionsverluste verantwortlich gemachten Spezies *O. ostertagi* korreliert. Betriebe, von denen gepoolte Herden-Serumproben untersucht wurden, wurden je nach Serum-Pepsinogen-Konzentration in drei Kategorien eingeteilt. Die erste Kategorie hatte eine Serum-Pepsinogen-Konzentration von < 1 U Tyrosin; in diesem Fall wurde aufgrund der geringen Befallsintensität empfohlen, die Tiere des Betriebes weniger anthelminthisch zu behandeln. Die zweite Kategorie hatte eine Serum-Pepsinogen-Konzentration von 1-3 U Tyrosin und wurde angewiesen das aktuell Entwurmungsregime des Betriebes beizubehalten. Die dritte Kategorie hatte eine Serum-Pepsinogen-Konzentration > 3 U Tyrosin und diesen Betrieben wurde empfohlen die anthelminthische Behandlung der Tiere zu optimieren bzw. durchzuführen. Von 82 untersuchten Betrieben wurde 39 % empfohlen, den Anthelminthika-Einsatz zu reduzieren. Davon folgten 48 % der Betriebe den Empfehlungen und bei Folgeuntersuchungen konnte ein leichter Infektions-Anstieg beobachtet werden, welcher aber so gering ausfiel, dass keine Produktionseinbußen zu erwarten sind (Charlier, Dorny et al. 2011). Bei dem Einsatz dieses Kriteriums ist allerdings zu beachten, dass bereits eine Futterumstellung (sowie andere verdauungsbedingte Erkrankungen) eine Veränderung des Pepsinogen-Wertes bedingen kann.

Ein weiterer Entscheidungsparameter, der bei Rindern erprobt wurde, ist die Konzentration von *O. ostertagi*-Antikörpern in der Milch, welche mittels Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) bestimmt wird. Sanchez et al. (2002) und Charlier et al. (2005) haben diese als Indikator für eine Infektion auf Herdenbasis getestet und für gut befunden. Sanchez et al. (2004) haben einen negativen Einfluss von GIN auf die Milchleistung von Milchkühen in Weidehaltung nachgewiesen. Die durchschnittliche Milchleistungssteigerung nach einer anthelminthischen Behandlung lag bei 1 kg/Kuh am Tag. Auch in einem Versuch in 5 europäischen Ländern (Belgien, Deutschland, Schweden, England, Irland) wurden 3600 Betriebe beprobt und festgestellt, dass Nematoden-Infektionen ein bedeutender Faktor für Produktionsverluste in der Milchviehhaltung sind (Bennema, Vercruyse et al. 2010). Auf den verschiedenen Betrieben wurden aber auch große individuelle Unterschiede der *O. ostertagi*-Antikörper-Konzentrationen in der Milch festgestellt. Aufgrund dessen ist dieser Parameter

ggf. auch für den TST-Behandlungsansatz in Betracht zu ziehen (Charlier, Demeler et al. 2010; Charlier, Vercruysse et al. 2010; Charlier, Dorny et al. 2011).

2.6 Anthelminthika-Resistenzen

2.6.1 Definition Resistenz

Prichard et al. (1980) geben an, dass eine AR vorliegt, wenn eine größere Anzahl von Individuen in einer Parasitenpopulation eine höhere Konzentration eines Wirkstoffes toleriert als in einer sensiblen Population der gleichen Spezies. Wenn nach der Selektion mit einem Wirkstoff auch Resistenzen gegenüber anderen Wirkstoffen der gleichen Wirkstoffgruppe festzustellen sind, wird dies als Parallelresistenz bezeichnet. Als Kreuzresistenz wird das Vorliegen einer Resistenz gegenüber verschiedener Wirkstoffe mit unterschiedlichem Wirkmechanismus angegeben. Treten Resistenzen gegenüber zwei oder mehr Wirkstoffgruppen auf, spricht man von Mehrfachresistenzen (Prichard, Hall et al. 1980).

2.6.2 Verbreitung von AR beim Rind

AR sind v.a. bei der wirtschaftlichen Nutzung von kleinen Wiederkäuern ein großes Problem (Jackson and Coop 2000; Kaplan 2004; Wolstenholme, Fairweather et al. 2004), jedoch gewinnt diese Thematik auch im Rinderbereich zunehmend an Bedeutung. In Argentinien wurden Resistenzen gegenüber BZ sowie ML beschrieben (Anziani, Zimmermann et al. 2001; Fiel, Saumell et al. 2001; Anziani, Suarez et al. 2004; Suarez and Cristel 2007). Soutello et al. (2007) stellten eine verminderte Wirksamkeit von IVM, ABZ und Levamisol in Brasilien fest, während Condi et al. (2009) von einer Resistenz gegenüber dem Wirkstoff Moxidectin berichteten. In Neuseeland detektierten Loveridge et al. (2003) Resistenzen gegenüber ML und auch Jackson et al. (2006) bestätigten das Vorliegen einer verminderten Wirksamkeit von IVM und ABZ. Für die westliche Region der Vereinigten Staaten wurden ebenfalls Resistenzen gegenüber ML beschrieben (Edmonds, Johnson et al. 2010). Coles et al. (2004) beschrieben erstmals Resistenzen von Rindernematoden in England. Demeler et al. (Coles 2004; 2009) führten in Nordeuropa (Belgien, Deutschland und Schweden) eine Studie zur Ermittlung der Wirksamkeit von IVM und ABZ durch und stellten hierbei eine verminderte Wirksamkeit von IVM fest; Resistenzen gegenüber ML wurden in Belgien auch von El-Abdellati et al. (2010) beschrieben.

2.7 Resistenzdetektion

Die Wirksamkeit von Anthelminthika ist eine wichtige Voraussetzung für eine effektive Parasitenkontrolle. Mit Hilfe der Resistenzdetektion kann eine verminderte Wirksamkeit frühzeitig erkannt werden und dann ggf. ein Wirkstoffwechsel vorgenommen werden, um einer weiteren Ausbreitung der Resistenz entgegenzuwirken. Für die Detektion von Resistenzen stehen *in vitro*- und *in vivo*-Verfahren zur Verfügung, welche im Folgenden kurz beschrieben werden.

2.7.1 *In vivo* –Verfahren

2.7.1.1 Kontrollierter Test

Die Richtlinien zur Durchführung dieses Testes sind von der World Association of the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) erstellt worden. Hierbei wird Versuchstieren experimentell eine bestimmte Dosis infektiöser Larven verabreicht. Nach einer angegangenen Infektion werden die Tiere mit der vom Hersteller empfohlenen Dosis des zu testenden Anthelminthikums behandelt, getötet und anschließend die Wurmbürde in einer post mortem Sektion bestimmt. Wenn die Reduktion der Würmer weniger als 90 % beträgt oder mehr als 1000 Würmer die anthelminthische Behandlung überlebt haben, wird von einer Resistenz ausgegangen. Zudem wird vor und nach Entwurmung regelmäßig die EpG bestimmt; hier kann auch der in Kapitel 2.7.1.2 beschriebene Eizahlreduktionstest (EZRT) angewendet werden.

2.7.1.2 Eizahlreduktionstest (EZRT)

Beim EZRT werden die EpGs vor der Behandlung mit denen nach einer Anthelminthika-Gabe verglichen (Boersema 1983). Auch für diesen Test gibt es Empfehlungen der W.A.A.V.P. (Coles, Bauer et al. 1992). Laut W.A.A.V.P. liegt bei Rindern eine Resistenz vor, wenn die Eizahlreduktion (EZR) unter 95 % beträgt und auch die untere Grenze des 95 % Konfidenzintervalls (CI) unter 90 % liegt. Ist nur einer der beiden Parameter innerhalb dieses Bereichs, besteht die Gefahr einer Resistenzentwicklung. Nachteil dieses Testes ist zum einen, dass er relativ kosten- und zeitaufwendig ist. Es müssen mindestens zwei Kotproben entnommen und untersucht werden. Zum anderen ist eine beständige Korrelation von EpG und Wurmbürde nur bei *H. contortus* und *T. colubriformis* beschrieben. Bei anderen Nematoden korreliert die Eiausscheidung nicht sehr gut mit der Wurmbürde im Tier; es können also falsch negative Ergebnisse erzielt werden. Aufgrund der hierdurch verminderten Sensitivität dieses Testes können AR unter 25 % mit dem EZRT nicht sicher detektiert werden (Martin, Anderson et al. 1989).

2.7.2 *In vitro* – Verfahren

2.7.2.1 Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA)

In dem Larven-Migration-Inhibitions-Assay (LMIA) wird über die Beeinflussung der Beweglichkeit von dritten Larven die Wirkungseffizienz von Anthelminthika überprüft. Das erste Verfahren, welches auf dem Prinzip der Einteilung von Paralyse-Stadien beruht, wurde von Martin und Le Jambre (1979) beschrieben. Boersema et al. (1983) wiesen jedoch nach, dass diese Art der Beobachtung subjektiv ist und die Ergebnisse, welche erzielt werden, nicht reproduzierbar sind. Ein objektiverer Versuchsaufbau wurde von Douch et al. (1983) entwickelt; hier wurde die Motilität der Larven bei der Wanderung durch Agar beurteilt. Im Jahr 1994 wurde mit dieser Methode auch der Effekt von verschiedenen Anthelminthika auf die Migrationsfähigkeit von Nematodenlarven aus Schafen untersucht (Douch and Morum 1994). Ein Agar-freies System wurde 1988 von Sangster et al. beschrieben. Hier wurden in Wasser befindliche Siebe genutzt, um eine selektive Migration zu ermöglichen. Die Maschenweite dieser feinen Nylonsiebe wurde hierbei so gewählt, dass nur sich aktiv bewegende Larven hindurch gelangen. In den letzten Jahren wurden viele Methoden beschrieben, um mit Hilfe von Nylonsieben eine selektive Migration und somit die verminderte Wirksamkeit von Anthelminthika nachweisen zu können (Wagland, Jones et al. 1992; Rabel, McGregor et al. 1994). Für Rinder wurden EC_{50} Werte für die Spezies *C. oncophora* und *O. ostertagi* von Demeler et al. (2010) veröffentlicht. Mittlerweile wurde der LMIA auch bereits in Felduntersuchungen eingesetzt, um IVM-Resistenzen in Rinderbeständen im nordeuropäischen Raum zu detektieren (Demeler, Kleinschmidt et al. 2012). Die genaue Durchführung des LMIA wird in Kapitel 3.2.5.2 beschrieben Wichtig ist darauf zu achten, dass den dritten Larven nach Inkubation mit einem Anthelminthikum die Wanderung durch die Siebe für mindestens 14-17 Stunden besser 24 Stunden ermöglicht wird (Wagland, Jones et al. 1992; Rabel, McGregor et al. 1994; Demeler, Kuttler et al. 2010).

2.7.2.2 Larvenschlupfhemmtest (LSHT)

Im Larvenschlupfhemmtest (LSHT) wird die ovizide Wirkung von Anthelminthika überprüft. 1976 detektierte Le Jambre mit Hilfe dieses Tests BZ-Resistenzen in Schafen (Le Jambre 1976). Leicht modifizierte Methoden zur Untersuchung der oviziden Wirksamkeit von verschiedenen anthelminthischen Wirkstoffen wurden auch von anderen Autoren beschrieben (Coles and Simpkin 1977; Hall, Campbell et al. 1978; Donald, Waller et al. 1980; Whitlock, Sangster et al. 1980). Der LSHT kann für verschiedene Wirkstoffklassen angewandt werden, ist aber beispielsweise für die Detektion von Resistenzen gegenüber ML ungeeignet (Prichard 1994). Im Rahmen eines Ringtestes, bei dem in verschiedenen europäischen Einrichtungen das gleiche Protokoll für die Untersuchung von empfindlichen und resistenten *H. contortus*

Isolaten verwendet wurde, konnte der LSHT standardisiert werden (von Samson-Himmelstjerna, Coles et al. 2009). Das Prinzip des LSHT beruht auf der unterschiedlichen Entwicklung von Nematodeneiern bei Inkubation in verschiedenen Anthelminthika-Konzentrationen. Anhand der Schlupfrate wird die EC₅₀ bestimmt. Ein EC₅₀-Wert > 0.1 µg/ml TBZ ist nach W.A.A.V.P.-Vorgaben der Grenzwert für das Vorliegen von einer BZ-Resistenz (Coles, Bauer et al. 1992).

2.7.2.3 Larval-Development-Assay (LDA)

Coles et al. (1988) beschrieben die Anwendung von einem der ersten Larvenentwicklungstest zur Detektion von AR. Dieser Test basiert auf der Entwicklung von Eiern zu der dritten infektiösen Larve unter kontrollierten Bedingungen. Im Gegensatz zum LSHT hat das Alter der in diesem Test eingesetzten Eier keinen bzw. geringen Einfluss auf die Ergebnisse (Coles, Jackson et al. 2006). Der LDA kann zur Detektion von Resistenzen gegenüber BZ, Levamisol und ML eingesetzt werden (Gill, Redwin et al. 1995). Mit Drenchrite® LDA (Microbial Screening Technologies, Smithfield, Australien) steht ein kommerziell verfügbarer Test zur Verfügung. Demeler et al. (2010) publizierten ein Protokoll, mit welchem AR der bovinen MDS *C. oncophora* und *O. ostertagi* nachgewiesen werden konnten.

2.8 Molekularbiologische Gattungs-Differenzierung

Die von Bürger und Stoyer (1968) beschriebene Methode der mikroskopischen Gattungsbestimmung von in Kotkulturen gewonnen L₃ erfordert viel Erfahrung des Untersuchers. Mit Hilfe der molekularbiologischen Methoden sollen schnellere und sicherere Artdiagnosen gestellt werden können. Christensen et al. (1994) führten für *H. placei*, *C. oncophora*, *O. ostertagi* und *O. radiatum* die ersten Charakterisierungen von artspezifischen Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Sequenzen durch. Hierbei wurde genomische DNA dieser Spezies mit radioaktiv markierter DNA im Southern Blot und Dot Blot verglichen. Gasser et al. (1994) beschrieb eine artspezifische Differenzierung mit Hilfe von Polymerasekettenreaktion (PCR) und Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP). Der jeweils zweite interne transkribierte Spacer (ITS-2) der unterschiedlichen Spezies wurde in der PCR amplifiziert, einem Restriktionsenzym-Verdau unterzogen und die Banden anschließend mit Hilfe einer Gelelektrophorese im Agarosegel aufgetrennt und detektiert. Mit dieser Methode konnten die Arten *C. oncophora*, *H. contortus*, *Trichostrongylus axei*, *T. circumcincta*, *T. colubriformis* und *Trichostrongylus vitrinus* differenziert werden. Es wurden sequenzspezifische Primer für die ITS-2 Regionen entwickelt, welche eine artspezifische Differenzierung der gastrointestinalen Nematoden von Wiederkäuern ermöglichen (Schnieder,

Heise et al. 1999). Eine artspezifische und sensitive real-time PCR zur Detektion von *C. curticei*, *C. oncophora*, *H. contortus*, *O. leptospikularis* und *T. columbriformis* wurde von von Samson-Himmelstjerna et al. (2002) veröffentlicht. Roeber et al. (2011) entwickelten eine PCR für die Diagnose von natürlichen Infektionen mit MDS bei Schafen. Die Sensitivität dieser Methode betrug 98 % während eine Spezifität von 100 % angegeben wurde. Des Weiteren war es mit Hilfe dieser PCR erstmals möglich das Verhältnis der einzelnen Strongylidenarten in Mischinfektionen zu ermitteln.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Anthelminthika

Cydectin 1 %[®]	Pfizer, Berlin
Cydectin 10 % LA[®]	Pfizer, Berlin
Ivomec[®]	Merial, Halbergmoos
Panacur 10 %[®]	Intervet, Unterschleissheim
Valbazen 10 %[®]	Elanco Animal Health, Bad Homburg

3.1.2 Chemikalien

Agarose NEEO Ultra-Qualität	Roth, Karlsruhe
Bacto[™] Agar	BD, Franklin Lakes, NJ USA
Citronensäure	Roth, Karlsruhe
Citronensäure-Monophosphat	Merck, Darmstadt
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat	Merck, Darmstadt
Dinatriumhydrogenphosphat-Heptahydrat	Merck, Darmstadt
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Roth, Karlsruhe
DNA Loading Dye (6x)	Fermentas/Thermo Scientific, <u>Waltham</u> , USA
Eisessig	Roth, Karlsruhe
ES-Antigen (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	zur Verfügung gestellt durch die Abteilung für Virologie, Parasitologie, Immunologie; Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Gent, Belgien
Ethanol, reinst.	≥99,5 %, Ph.Eur.; Roth, Karlsruhe
Ethylendiamin-Tetraessigsäure	Roth, Karlsruhe

GR Green DNA Stain	Exellgen, Monthey, Valais, Schweiz
Ivermectin	Reinsubstanz; Sigma, Steinheim
Kaliumchlorid	Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat	Roth, Karlsruhe
Konjugat (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	multiklonale Kaninchen anti-bovine IgG in Meerrettich-Peroxidase konjugiert; Jackson Immunoresearch, Newmarket, Suffolk, UK
Magnesiumchlorid	Roth, Karlsruhe
Methylenblau	Roth, Karlsruhe
Milchpulver	Blotting grade, pulv., fettarm; Roth, Karlsruhe
Natriumcarbonat	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	Sigma, Steinheim
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	Merck, Darmstadt
Natriumhydrogencarbonat	Merck, Darmstadt
Natriumhypochlorid	Roth, Karlsruhe
Natronlauge 10 mol/L	Merck, Darmstadt
o-Phenylenediamine	200 µM OPD pro Tablette; Sigma, Steinheim
o-Phenylenediamine dihydrochloride	Tabletten, 10 mg Substrat pro Tablette; Sigma, Steinheim
Salzsäure (37 %)	Roth, Karlsruhe
Schwefelsäure (95-97 %)	Merck, Darmstadt
Sheep anti-bovine IgG1, HRP	Serotec, Oxford, UK
Tween®20	Sigma, Steinheim
TRIS-hydrochlorid	Roth, Karlsruhe
Wasserstoffperoxid 30 %	Roth, Karlsruhe

3.1.3 Kits

NucleoSpin® Tissue Kit	Macherey und Nagel, Düren
Phusion® Hot Start II High-Fidelity DNA-Polymerase	Fermentas/ Thermo Scientific, <u>Waltham</u> , USA

3.1.4 Primer und Marker (synthetisiert durch Invitrogen, Darmstadt)

Ost.ost-SH-For (5'-TAACATTGTTAACGTTACTGAATGATACTG-3')

Ost.ost-SH-Rev (5'-ATATAAATGATACATCGAATATAACAATAC-3')

Coop-SH-For2 (5'-ATGGCATTGTCTACATCTGTTT-3')

Coop-SH-Rev2 (5'-AAATGATAACGAATACTACTATCTCCA-3')

100 bp DNA Ladder

3.1.5 Puffer und Lösungen

Agarosegel (1,5 %)	7,5 g Agarose in 500 ml TAE-Puffer aufkochen
Antigen-Solution (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	10 µl ES Antigen in 20 ml Coating-Puffer verdünnen
Bactoagar (1,5 %)	7,5 g Bacto-Agar in 500 ml A. bidest aufkochen; autoklavieren
Blocking-Puffer (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	2 g Milchpulver in 100 ml PBS-Tween lösen
Coating-Puffer (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	0,05 M Carbonat/Bicarbonat Puffer pH 9,6 (12,3 mM Na ₂ CO ₃ ; 37,7 mM NaHCO ₃); 1,31 g Na ₂ CO ₃ + 3,163 g NaHCO ₃ in 950 ml A. bidest lösen; pH-Wert mit 2,5 M HCl bzw. 10 M NaOH auf 9,6 einstellen; mit A. bidest auf 1 Liter auffüllen
Konjugat (<i>D. viviparus</i>-ELISA)	0,57 µl Sheep anti-bovine IgG1, HRP + 10 ml PBS-Tween
Konjugat (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	multiklonale IgG1 1:4000 in Blocking-Puffer

	verdünnen
Kontrollserum (<i>D. viviparus</i>-ELISA)	zur Verfügung gestellt durch das Institut für Parasitologie; Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Kontrollserum (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	zur Verfügung gestellt durch die Abteilung für Virologie, Parasitologie, Immunologie; Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Gent, Belgien
Natriumchlorid-Lösung (gesättigt)	360 g NaCl in 1000 ml Wasser lösen
PBS	80 g NaCl + 2 g KCl + 14,24 g Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O + 2 g KH ₂ PO ₄ ; mit A. bidest auf 1 Liter auffüllen
PBS-Tween (0,05 %)	80 g NaCl + 2 g KCl + 14,24 g Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O + 2 g KH ₂ PO ₄ ; mit A. bidest auf 1 Liter auffüllen und 500 µl Tween hinzugeben (pH 7,2)
Phosphat-Puffer (<i>D. viviparus</i>-ELISA)	28,4 g Na ₂ HPO ₄ in 1 Liter A. bidest lösen
Citrat-Puffer (<i>D. viviparus</i>-ELISA)	19,2 g C ₆ H ₈ O ₇ in 1 Liter A. bidest lösen
Stopplösung (<i>D. viviparus</i>-ELISA)	2,5 M H ₂ SO ₄ (69,6 ml 95-97 %ige H ₂ SO ₄ + 446,9 ml A. bidest)
Stopplösung (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	2,5 M HCl (104 ml 37 %ige HCl + 396 ml A. bidest)
Substrat-Solution (<i>D. viviparus</i>-ELISA)	12,5 ml A. bidest + 6,075 ml Citrat-Puffer + 6,425 ml Phosphat-Puffer + 10 µl H ₂ O ₂ + 1 OPD Tablette (o-Phenylenediamine dihydrochloride Tablet, 10 mg substrate per tablet)
Substrat-Solution (<i>F. hepatica</i>-ELISA)	1 OPD Tablette (o-Phenylenediamine; 200 µM OPD pro Tablette) in 20 ml Zitronensäure-Phosphat-Puffer auflösen; 10 µl H ₂ O ₂ hinzufügen

TRIS-Acetat-EDTA (TAE)-Puffer	50 ml TAE-Stammlösung + 450 ml A. bidest
TRIS-Acetat-EDTA (TAE)-Stammlösung	242 g TRIS-Base (in 500 ml A. bidest gelöst) + 57,1 ml Eisessig + 100 ml 0,5 M EDTA (pH8); mit A. bidest auf 1000 ml auffüllen
Wasch-Puffer (<i>F. hepatica</i>-ELISA/ <i>D. viviparus</i>-ELISA)	siehe PBS-Tween (0,05 %)
Wasser	DEPC-behandelt, steril und autoklaviert; Roth, Karlsruhe
Zitonensäure-Phosphat-Puffer	7,3 g Zitonensäure + 14,87 g NaHPO ₄ · 2H ₂ O in 950 ml A. bidest lösen; pH-Wert mit 2,5 M
(<i>F. hepatica</i>-ELISA)	HCl bzw. 10 M NaOH auf 5,0-5,2 einstellen; mit A. bidest auf 1 Liter auffüllen
3.1.6 Einwegartikel	
ELISA-Platte	Immobilizer™ Amino 96 well plate; Nunc, Roskilde, Dänemark
ELISA-Platte	Nunc MaxiSorp® flat-bottom 96 well plate; Nunc, Roskilde, Dänemark
Falcons	15 ml, 50 ml; Sarstedt, Nürnberg
Filterspitzen	0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl; Biozym, Hessisch Oldendorf
Gaze	20 fädig; Rauscher, Wien, Österreich
Gewebeklebebänder	Westfalia, Hagen
Gleitcreme	Heiland, Gallin
Kanülen	BD Microlance 3 18G; Drogheda, Ireland
Kanülen	Sterican 18G; Braun, Melsungen
Latex-Einmalhandschuhe	Roth, Karlsruhe

Mundspatel	Roth, Karlsruhe
Objektträger	Heiland, Gallin
Parafilm	Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA
Pasteurpipetten	1,5 ml; Roth Karlsruhe
Pasteurpipetten	3,5 ml; Roth, Karlsruhe
Pipettenspitzen	0,5-10 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l, 1000-5000 μ l, 10 ml; Roth, Karlsruhe
Reaktionsgefäße	1,5 ml, 2 ml; Eppendorf, Hamburg
Rektalisierungshandschuhe	Heiland, Gallin
Sägespäne	Altromin GmbH, Lage
Serological Pipette	10 ml, 25 ml; Sarstedt, Nürnberg
Serum-Monovetten®	Sarstedt, Nürnberg
Spritzen	5 ml, 30 ml; Braun, Melsungen
Spritzen	10 ml, 20 ml; Henke-Sass Wolf, Tuttlingen
ThinSeal, Adhesive Sealing Films for Microplates	ExcelScientific; Roth, Karlsruhe
Vorlegeplatte	96 DeepWell™ Platte; Nunc, Roskilde, Dänemark
Zellkulturflaschen	50 ml, 120 ml; Sarstedt, Nürnberg
Zellkulturplatten	24 Well; Costar, Bodenheim
3.1.7 Mehrwegartikel	
Analysesiebe	25 μ m, 150 μ m; Retsch, Haan
Bechergläser	20 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml; Schott-Duran, Mainz
Falconständer	neoLab, Heidelberg

Flexi-Rahmen	Durchmesser 8 cm; Das Handarbeitshaus, Karlsruhe
Glasmesszylinder	Schott-Duran, Mainz
Haushaltssiebe	Fackelmann, Hersbruck
Honiggläser	500 ml; Deutscher Imkerbund e.V.
Kühlakkus	Ezetil, Hungen-Inheiden
Kühlbox	Giostyle, Urgano
Markierungshalsband für Rinder	Westfalia, Hagen
McMaster Zählkammern	3 Chamber „Egg-Acto McMaster Slide“, Focal Point; E. Krecek, RSA
Mehrzweckgefäße mit Schraubverschluß	500 ml; Sarstedt, Nürnberg
Mörser und Pistill	Schott-Duran, Mainz
Nylon-Netzfilter	28 µm; Milipore, Eschborn
Offenmaschiges Monofilamentgewebe	Sefar Nitex 03-25/19 102cm; Sefar AG, Heiden, Schweiz
Peleusball	Deutsch & Neumann, Berlin
PCR-Rack	Roth, Karlsruhe
Petrischalen	Schott-Duran, Mainz
Plastikeimer	5 Liter, OKT Germany, Stemwede
Plastikmesszylinder	100 ml; Roth, Karlsruhe
Plastikspritzenflaschen	250 ml, 500 ml, 1000 ml; Roth, Karlsruhe
Plexiglasplatten für Sedimentuntersuchung	4 cm x 9 cm Kantenlänge, Vertiefung durch 4 mm breite Ränder mit einer Stärke von 4 mm und zentral einfacher Plattenstärke von 2 mm, eingeritztes Zählraster im Abstand von 4 mm; eigene Herstellung
Reaktionsgefäßständer	Roth, Karlsruhe

Schlauchklemme	70 ml Quetschhähne nach Mohr; Landgraf, Langenhagen
Siebe	Artemio 4 Siebkombination; JBL, Neuhofen
Trichter	Roth, Karlsruhe
Zentrifugenröhrchen	100 ml; Schott-Duran, Mainz
3.1.8 Technische Geräte	
C1000TM Thermal Cycler	Bio-Rad, München
G: Box	Syngene, Cambridge, UK
Elektronische Präzisionswaage (Wiegebereich 0,001 – 1000g)	L610 D; Sartorius, Göttingen
Elektronische Präzisionswaage (Wiegebereich 0,0001 – 200g)	1213 MP; Sartorius, Göttingen
Epoch Spektralphotometer	Biotek, Bad Friedrichshall
Gefrierschrank	-80 °C, Forma 900 Series; Thermo Scientific, <u>Waltham</u> , USA
Inkubator	Function Line; Heraeus Instruments/ Thermo Scientific, <u>Waltham</u> , USA
Klimaschrank	Binder, Tuttlingen
Kühlschrank	C. Bomann GmbH, Kempen
Magnetrührer	JKA-Labor Technik; Staufen i. Br.
Mikroskop	Axiostar plus (Okular 10 x, Objektive 40x/0,65; 10/0,25; 5x/0,12); Zeiss, Jena
Multikanalpipette	Research Pro, 8-fach, 20-300 µl; Eppendorf, Hamburg
Multikanalpipette	Research Pro, 12-fach, 20-300 µl; Eppendorf, Hamburg

MX 4000	Stratagene, La Jolla, USA
Pipetten	Research 10 µl, 100 µl, 1000 µl, 5000 µl, 10 ml; Eppendorf, Hamburg
PowerPac Universal	Bio-Rad, München
Schüttelinkubator	GLF, Burgdorf
Stereomikroskop	SteMi 200C; Zeiss, Jena
Sub-Cell® GT Agarose Gel Electrophoresis System	Bio-Rad, München
Synergy 4	Biotek, Bad Friedrichshall
Take3™ Multi-Volume Plate	Biotek, Bad Friedrichshall
Thermomixer	Eppendorf, Hamburg
Thermo Shaker	PST-60HL-4; Kisker, Steinfurt
Tischzentrifuge	415 C; Eppendorf, Hamburg
Viehwaage (Balkenwaage)	Steenbock, Horst
Viehwaage (elektronisch)	Texas Trading, Windach
Vortexer	Heidolph, Schwabach
Zentrifuge	Omnifuge 2.ORS; Heraeus Instruments/ Thermo Scientific, <u>Waltham</u> , USA
Zentrifuge	Multifuge X3R; Thermo Scientific, <u>Waltham</u> , USA
3.1.9 Software	
BootStreat©	J.CABARET (CABARET und ANTOINE, 2008)
GeneSnap	Syngene, Cambridge, UK

Endnote®	Version X4; Thomson Reuters, New York, USA
Gen5®	Biotek, Bad Friedrichshall
GraphPad Prism 5.0®	GraphPad Software, California, USA
Microsoft Excel®	Microsoft Inc.
Microsoft Power Point®	Microsoft Inc
Microsoft Word®	Microsoft Inc.
R®	Version 2.14.0, The R Foundation for Statistical Computing

3.2 Methoden

3.2.1 Parasitologische Untersuchungsverfahren

3.2.1.1 Modifiziertes McMaster-Verfahren

Mithilfe des modifizierten McMaster-Verfahrens (Wetzel 1951) wurde die Eiausscheidung quantitativ bestimmt: 4 g Kot wurden in einen Mörser eingewogen, mit gesättigter Natriumchloridlösung versetzt und mit einem Pistill homogenisiert. Die Kotsuspension wurde über ein Sieb (250-300 µm) in einen Standzylinder überführt, um die größten Partikel zu entfernen. Anschließend wurde der in dem Sieb befindliche Rückstand mit gesättigter Natriumchloridlösung aus einer Plastikspritze durchgespült und der Standzylinder auf 60 ml aufgefüllt. Die Suspension wurde in ein Becherglas überführt und durch Schwenken durchmischt, um eine homogene Verteilung der Eier zu erhalten. Mit einer Pasteurpipette wurden die drei Kammern der Zählkammer gefüllt und nach einer Flotationszeit von 5 Minuten unter dem Mikroskop (40- bis 100-fache Vergrößerung) untersucht. Um die EpG Frischkot zu bestimmen, wurde die Anzahl der detektierten Eier bei der Auszählung von drei Kammern mit dem Faktor 33 multipliziert. Die Sensitivität dieses Verfahrens liegt somit bei 33 Eiern pro Gramm Kot.

3.2.1.2 Sedimentationsverfahren

Das Sedimentationsverfahren wurde durchgeführt, um *Fasciola*-Eier in der Kotprobe nachzuweisen (Schnieder 2006). Hierfür wurden 10 g Kot mit Leitungswasser in einem

Mörser homogenisiert und die Suspension über ein Sieb (250-300 µm) in ein Becherglas (250 ml) gegeben. Der Siebrückstand wurde mit Leitungswasser aus einer Plastikspritze solange gründlich durchgespült bis das Becherglas gefüllt war. Anschließend wurde das Becherglas 3 Minuten stehen gelassen, um den (Trematoden-) Eiern die Möglichkeit zur Sedimentation zu geben. Als nächster Schritt erfolgte das Dekantieren des Überstandes, das erneute Auffüllen des Becherglases mit Leitungswasser und eine weitere Sedimentationszeit von 3 Minuten. Dieser Vorgang wurde je nach Verschmutzungsgrad der Probe 1- bis 2-mal wiederholt. Nach dem letzten Dekantieren wurde das Sediment in eine Plexiglasplatte überführt, mit drei Tropfen einer 1 %igen Methyleneblau-Lösung versetzt und bei 40- bis 100-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop untersucht. Die untere Nachweisgrenze dieses Verfahrens liegt bei etwa drei bis vier *Fasciola*-Eiern pro Gramm Kot.

3.2.1.3 Kotkultur

Kotkulturen wurden zur Anzucht von infektiösen dritten Trichostrongyliden-Larven (L₃) angesetzt (Schnieder 2006). Die gesamte rektal genommene Kotprobe (mindestens 20 g) wurde kultiviert, um eine möglichst hohe Zahl an L₃ zu gewinnen. Hierfür wurden die Kotproben mit sterilisierten Sägespänen zu einer feucht-krümeligen Masse vermengt, um die Proben aufzulockern und ausreichend Sauerstoff für die Larvenentwicklung zur Verfügung zu stellen. Das Kot-Sägespäne-Gemisch wurde in Honiggläser (500 ml) gefüllt, mit einem Deckel lose verschlossen und im Klimaschrank bei 27 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 85 % bebrütet. Nach 7 Tagen wurden die Gläser bis zum Rand mit Leitungswasser gefüllt, mit Petrischalen abgedeckt und umgedreht. Der Raum zwischen dem Glas und der Petrischale wurde mit Leitungswasser aufgefüllt, so dass die Larven in die Flüssigkeit auswandern konnten. Nachdem die gestülpte Kotkultur mindestens 12 Stunden bei Raumtemperatur gestanden hat, wurde die Flüssigkeit, welche die ausgewanderten L₃ beinhaltet, mit einer Pasteurpipette abgenommen. Die gewonnenen L₃ wurden dann mit dem modifizierten Trichter-Auswanderverfahren nach Baermann und Wetzel (siehe Kapitel 3.2.1.4) aufgereinigt und in belüfteten Zellkulturflaschen bei 10 °C flachliegend im Kühlschrank gelagert.

3.2.1.4 Trichter-Auswanderverfahren nach Baermann-Wetzel

Das modifizierte Trichter-Auswanderverfahren nach Baermann (1917) und Wetzel (1930) wurde für den Nachweis von Lungenwurmlarven sowie zur Aufreinigung von in der Kotkultur gewonnenen Larvensuspensionen verwendet. Hierfür wurde über den Trichterstützen ein Silikonschlauch gezogen, welcher am unteren Ende schräg abgeschnitten und mit einer schräg aufgesetzten Schlauchklemme verschlossen wurde. In den Trichter

wurden als Filtervorrichtung sechs Lagen Gaze übereinander gelegt und in einen Flexi-Rahmen gespannt. Anschließend wurde der Trichter mit Leitungswasser gefüllt. Auf die Gaze wurde nun, je nach Zweck der Untersuchung, entweder 10 g Frischkot oder die zu reinigende Larvensuspension gegeben. Die Lungenwurmlarven bzw. die L₃ aus der Kotkultur wanderten durch den Filter und sanken mit der Schwerkraft an das untere Ende des Silikonschlauches, so dass die Larven über die Schlauchklemme abgelassen werden konnten. Hierfür wurden die Trichter bei Raumtemperatur mindestens 12 Stunden hängen gelassen. Um einen Lungenwurmbefall zu detektieren, wurden einige Tropfen mit Hilfe eines Objektträgers aufgefangen und bei 40-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop untersucht. Zum Zweck der Aufreinigung einer Larvensuspension wurde die Schlauchklemme geöffnet und die L₃ in Zellkulturflaschen abgelassen, sobald sich einige der L₃ über der Klemme gesammelt hatten. Dieses Ablassen der L₃ wurde regelmäßig nach einigen Stunden wiederholt. Die aufgereinigte Larvensuspension wurde bei 10 °C in belüfteten Zellkulturflaschen flachliegend im Kühlschrank gelagert, um die Sauerstoffversorgung sicherzustellen.

3.2.2 Serologische Untersuchungsverfahren

3.2.2.1 Detektion von Antikörpern gegen *Fasciola hepatica*

Um die Ergebnisse der koproskopischen Untersuchung (Sedimentationsverfahren; siehe Kapitel 3.2.1.2) zu verifizieren, wurde für jede Behandlungsgruppe zu jedem Beprobungszeitpunkt eine serologische Sammelprobe mit Hilfe des Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) nach Charlier et al. (2007) auf Antikörper gegen *Fasciola hepatica* untersucht. Zunächst wurden hierfür die benötigten Puffer und Lösungen hergestellt und die ELISA-Platte (Nunc MaxiSorp® flat-bottom 96 well plate, Nunc, Roskilde, Dänemark) ge-coated, indem in jedes Well der 96 Well-Platte - außer in die Wells der Substratkontrollen - 100 µl Antigen-Solution gegeben wurde und diese für eine Stunde bei Raumtemperatur und anschließend über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank inkubiert wurde. Am nächsten Tag wurde die Platte dreimalig mit PBS-Tween gewaschen und danach wurden mittels 100 µl Blocking-Puffer alle unspezifischen Bindungen während der Inkubationszeit von einer Stunde bei 37 °C im Schüttelinkubator geblockt. Anschließend erfolgte wieder das Waschen der Platte mit PBS-Tween, welches dreimal wiederholt wurde. Die Serumproben wurden vor dem Einsatz in diesem ELISA in einem Verhältnis von 1:800 (entspricht 2 µl Serum auf 1598 µl Blocking-Puffer) verdünnt und dann wurden jeweils 100 µl der verdünnten Probe als Doppelansatz sowie 100 µl der Positiv- und Negativkontrolle in die entsprechenden Wells pipettiert. In die für die Substrat- und Konjugatkontrollen vorgesehenen Wells wurden jeweils 100 µl Blocking-Puffer gegeben. Eine Inkubationszeit von einer Stunde bei 37 °C schloss sich an, worauf wieder das dreimalige Waschen der ELISA-Platte mit PBS-Tween

folgte. Als nächstes wurde in jedes Well - außer in die Wells der Substratkontrollen (hier nur Blocking-Puffer) - 100 µl Konjugat gegeben, die Platte erneut bei 37 °C für eine Stunde inkubiert und anschließend mit PBS-Tween gewaschen. 100 µl der frisch angesetzten Substrat-Solution wurden nun mit einer Mehrkanalpipette möglichst zeitgleich in alle Wells pipettiert, die Platte wurde mit einer Klebefolie verschlossen und für 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunklen inkubiert. Exakt nach 10 Minuten wurde diese Reaktion durch Zugabe von 50 µl Stoplösung in jedes Well abgebrochen und anschließend wurde die ELISA-Platte mit Hilfe des Epoch-Spektralphotometer Systems (Biotek) bei einer Wellenlänge von 492 nm gelesen. Bei der Auswertung dieses ELISAs wurde darauf geachtet, dass die CV-Werte der Kontrollen und der Proben unter 10 % liegen. Es wurde dann eine Berechnung des Percent Positivity (PP)-Wertes unter Berücksichtigung der Kontrollen vorgenommen:

$$\text{PP-Wert} = \frac{\text{OD Probe}}{\text{OD pos. Kontrolle}} \cdot 100$$

Eine Probe wurde als positiv gewertet, wenn der PP-Wert über dem Cut Off-Wert von 20 lag.

3.2.2.2 Detektion von Antikörpern gegen *Dictyocaulus viviparus*

Mit dem Major Sperm Protein (MSP)-ELISA (von Holtum, Strube et al. 2008) wurden die Serumproben der Versuchstiere auf Antikörper gegen den Lungenwurm *Dictyocaulus viviparus* untersucht. Zunächst wurden, wie bereits bei dem *Fasciola*-ELISA beschrieben, serologische Sammelproben untersucht, um die Ergebnisse der koproskopischen Diagnostik zu bestätigen. Lag im Rahmen der Gruppenuntersuchungen eine Probe im positiven Bereich, wurden die entsprechenden Serumproben der Einzeltiere untersucht. Die 96-Well Platten (Immobilizer™ Amino 96 well plate, Nunc, Roskilde, Dänemark) wurden am Vortag der Untersuchung ge-coated; hierfür wurde für eine Platte 13,5 µl rekombinantes MSP in 10 ml PBS gegeben, vermischt und in jedes Well 100 µl der Lösung pipettiert. Die Platte wurde mit Klebefolie verschlossen und es folgte eine Inkubation im Kühlschrank bei 4 °C für mindestens 16 Stunden. Nach der Inkubation wurde die ELISA-Platte mit PBS-Tween gewaschen, wobei PBS-Tween in die Wells gegeben wurde, dieses für 5 Minuten dort verblieb und dann die ELISA-Platte auf einem Papierhandtuch ausgeschlagen wurde. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Die Serumproben sowie die Positiv- und Negativkontrollen wurden in einem Verhältnis von 1:40 mit PBS-Tween (entspricht 25 µl Serum auf 975 µl 0,05 %igem PBS-Tween) verdünnt und anschließend wurden jeweils 100 µl der Verdünnung als Doppelansatz in die jeweiligen Wells der ELISA-Platte gegeben. In die Wells der Konjugat- und Substratkontrollen wurde (anstelle des Serums) 100 µl PBS-Tween

pipettiert. Die Platte wurde mit Folie verschlossen und für eine Stunde bei 37 °C im Schüttelinkubator bei 250 Umdrehungen pro Minute inkubiert. Im Anschluss daran wurde die Platte wieder, wie bereits beschrieben, mit PBS-Tween gewaschen. Im nächsten Schritt wurden jeweils 100 µl des im Verhältnis 1:17.500 mit PBS-Tween verdünntes Meerrettich-Peroxidase-konjugiertes bovines IgG1 als Konjugat in jedes Well (außer in die für die Substratkontrollen vorgesehenen Wells; in diese wurden 100 µl PBS-Tween gegeben) pipettiert. Die Platte wurde mit Folie verschlossen und die Reaktion bei 37 °C ermöglicht. Nach einer Stunde folgte der vorab beschriebene Waschschrift und anschließend wurde in jedes Well der ELISA-Platte 50 µl des frisch angesetzten Substrats gegeben. Nachdem die Reaktion bei Raumtemperatur für 10 Minuten im Dunklen ablaufen konnte, wurde diese durch Zugabe von 50 µl Stopp-Lösung (2,5 M Schwefelsäure) pro Well abgestoppt. Die Platte wurde im Anschluss mit Hilfe des Epoch-Spektralphotometer Systems (Biotek) bei 490 nm gelesen. Es wurde das arithmetische Mittel der ODs der Doppelansätze bestimmt und die Optical Density Ratios (ODR) mit folgender Formel berechnet:

$$\text{ODR} = \frac{\text{OD}_{\text{test sample}} - \text{OD}_{\text{blank}}}{\text{OD}_{\text{positive control}} - \text{OD}_{\text{blank}}}$$

Der Test gilt als valide, wenn der ODR der Negativkontrolle $\leq 0,35$ und der Coefficient of Variation (CV-Wert) der Serumproben im Doppelansatz $\leq 10 \%$ ist. Ab einem ODR-Wert $\geq 0,5$ wird eine Serumprobe als positiv bewertet.

3.2.3 Genusdifferenzierung mittels qualitativer Polymerasekettenreaktion

3.2.3.1 DNA-Isolation aus dritten Larven (L3)

Mit Hilfe des NucleoSpin®Tissue Kits (Macharey und Nagel, Düren) wurde aus den mittels Kotkultur gewonnen dritten Larven (L₃) DNA extrahiert. Hierfür wurden die L₃ über Nacht mit 180 µl T1-Puffer und 25 µl Proteinase K versetzt, auf 56 °C erhitzt und bei 900 Umdrehungen pro Minute im Thermomixer inkubiert. Am nächsten Tag wurde die Proteinase K durch Zugabe von 200 µl B3-Puffer inaktiviert und die Probe mit 210 µl Ethanol versetzt und mit dem Vortexer gemischt. Im folgenden Schritt wurde die Probe dann auf die Schleudersäule des Kits gegeben und zentrifugiert; hierbei bindet die DNA an die Silicamembran der Schleudersäule. Durch die darauf folgende Zugabe von 500 µl BW- und 600 µl B5-Puffer mit anschließender Zentrifugation und dem Verwerfen des Durchflusses wurde das Probengemisch entfernt und die Membran gewaschen. Ein weiterer Zentrifugationsschritt bewirkte dann die Trocknung der Membran und das Entfernen des

Ethanol aus Puffer B5. Um die DNA zu eluieren, wurde die Säule in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt, mit 50 µl auf 70 °C erwärmtem Elutionspuffer (BE-Puffer) versetzt, die Probe fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend zentrifugiert. Die DNA lag nach diesem Schritt in 50 µl BE-Puffer gelöst vor; bis zur weiteren Bearbeitung wurde sie bei -80 °C gelagert.

3.2.3.2 Qualitative Speziesbestimmung

Um die L₃ aus den Proben zu differenzieren, wurde eine gattungsspezifische qualitative PCR, welche zu diesem Zeitpunkt bereits im Labor des Instituts für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin etabliert war, durchgeführt. Hierbei wurden gattungsspezifische Primer verwendet, welche von der Firma Invitrogen, Darmstadt hergestellt wurden. Als Positivkontrollen wurden ITS-2 Plasmide, welche aus genomischer DNA von adulten Würmern aus der Stammhaltung des Instituts für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin gewonnen wurden, in einer Konzentration von 0,5 ng/µl eingesetzt. Als Negativkontrolle wurde Diethylpyrocarbonat (DEPC)-behandeltes Wasser verwendet. Für die Analyse wurde die Phusion® Hot Start II High-Fidelity DNA-Polymerase der Firma Fermentas/Thermo Scientific eingesetzt. Der Reaktionsansatz der PCR beinhaltet 20 µl 1× Phusion HF Buffer, 200 µM Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs), 0,5 µM Vorwärts-Primer, 0,5 µM Rückwärts-Primer, 0,4 U Phusion Hot Start II DNA Polymerase sowie 2 µl DNA-Template. Alle Reaktionen wurden parallel mit zwei verschiedenen spezifischen Primerpaaren durchgeführt, um sowohl *Cooperia* als auch *Ostertagia* detektieren zu können. Als Primer für die Detektion von *O. ostertagi* wurden die bereits im Labor etablierten Primer Ost.ost-SH-For (5'-TAACATTGTTAACGTTACTGAATGATACTG-3') und Ost.ost-SH-Rev (5'-ATATAAATGATACATCGAATATACAATAC-3') verwendet. Um die Spezies *C. oncophora* zu detektieren, wurden die ebenfalls bereits etablierten Primer Coop-SH-For2 (5'-ATGGCATTGTCTACATCTGTTT-3') und Coop-SH-Rev2 (5'-AAATGATAACGAATACTACTATCTCCA-3') eingesetzt. Initial wurden die Proben für 30 s bei 98 °C denaturiert. Anschließend folgten 40 Zyklen mit einer Denaturierung bei 98 °C für 10 s, einer Primerhybridisierung (Annealing) bei 50 °C (*Ostertagia*) bzw. 62 °C (*Cooperia*) für 30 s und einer Primer-Extension bei 72 °C für 30 s. Nach Ablauf des letzten Zyklus wurden die Proben bei 4 °C gekühlt. Um die Proben auszuwerten, wurden die PCR-Produkte (incl. Negativ- und Positiv-Kontrolle) zusammen mit einem 100 Basenpaar-Marker (100 bp Ladder) auf ein Agarosegel (1,5 %) aufgetragen und mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Durch den Nachweis von spezifischen Banden der Proben und dem Vergleich mit der Positivkontrolle, konnte eine qualitative Aussage bzgl. des Vorkommens von *Ostertagia* bzw. *Cooperia* gemacht werden.

3.2.4 Weideversuch

3.2.4.1 Versuchstiere

Während der Weidesaison 2010 und 2011 wurden die Entwicklung der Körperkonstitution und der Befall mit MDS bei erstsömmrigen Rindern des Thünen-Instituts für ökologischen Landbau, Trenthorst, welche sich auf natürlichem Wege auf der Weide mit Endoparasiten infiziert haben, untersucht. Im Jahr 2010 gehörten die 22 Versuchstiere zur weiblichen Nachzucht des Milchviehbestandes des Versuchsbetriebes, in welchem die Rassen „Alte Deutsche Rotbunte“ und „Holstein–Friesian“ vertreten sind. Im Jahr 2011 wurden neben der weiblichen Nachzucht (10 Tiere) auch die männlichen Tiere der Nachzucht (15 Tiere) mit in den Versuch aufgenommen; diese wurden vor Austrieb kastriert. Die Tiere hatten vor Versuchsbeginn keinen Weidegang und bis zum Austrieb im Mai 2010 bzw. 2011 ein Alter von 3-8 Monaten erreicht. Im Rahmen eines anderen Versuches wurden die Kälber entweder mittels Automatentränke aufgezogen oder sie verblieben beim Muttertier. Ob das unterschiedliche Absetzverfahren einen Einfluss auf die Entwicklung der Rinder hat, wurde in dieser Studie überprüft.

3.2.4.2 Versuchsaufbau

In der Weidesaison 2010 wurde eine Kälbergruppe von 22 weiblichen Tieren auf einer gemeinsamen Weide ("Parkweide"; 1,23 Hektar) über einen Zeitraum von vier Wochen angeweidet. Die erstsömmrigen Kälber sollten sich auf der mit Endoparasiten vorbelasteten Fläche infizieren. Nach dem Nachweis von Endoparasiten-Eiern im Kot der Kälber wurden die Tiere nach vier Wochen in zwei Versuchsgruppen, die über die gesamte Weidesaison in ihrer Zusammensetzung konstant blieben, aufgeteilt. Hierbei wurde auf ein ausgeglichenes Verhältnis von Körpergewicht (KGW), Rasse und Alter der Kälber beider Versuchsgruppen geachtet. Eine Kälberherde diente als Kontrollgruppe und wurde mit IVM (Ivomec®; 0,2 mg/kg s.c.) behandelt. Dies erfolgte in der 8. und 16. Wochen nach dem Weideaustrieb sowie zur Aufstallung. Die zweite Versuchsgruppe wurde nicht strategisch entwurmt, sondern erhielt bei Bedarf eine gezielte Einzeltier-Behandlung (Targeted Selective Treatment) mit IVM (Ivomec®; 0,2 mg/kg s.c.). Die Entscheidungskriterien für eine Einzeltierbehandlung waren hierbei entweder eine Kombination von einer hohen EpG (≥ 250) und einer geringen DWG (≤ 250 Gramm/Tag) oder einer hohen EpG (≥ 250) in Kombination mit einem sinkenden BCS. Die Versuchstiere dieser Gruppe wurden mit Hilfe eines Halsbandes markiert, so dass im Falle einer Vermischung der Tiere eine Zuordnung zur jeweiligen Gruppe jederzeit möglich war. Der Auftrieb der Versuchsgruppen erfolgte getrennt auf eine ungemähte, in der Mitte geteilte Weide mit der Fläche von 2,89 Hektar. Für den Umtrieb stand zusätzlich eine zweite Weide mit der Fläche von 2,95 Hektar, welche die gleichen Bedingungen aufwies und

direkt neben der ersten Versuchsfläche lag, zur Verfügung. Nach dem Umtrieb wurden die abgefressen Flächen gemulcht; es wurde bei dem Hin- und Hertreiben zwischen den Versuchsweiden weiterhin darauf geachtet, dass die jeweilige Versuchsgruppe wieder auf ihrer ursprünglichen Fläche untergebracht wurde. Insgesamt beweideten die Versuchstiere während der Weidesaison also eine Fläche von 5,84 Hektar. Das Futterangebot war somit für beide Gruppen gleichwertig; Wasser wurde über zwei Tröge getrennt angeboten. Die Flächen, welche im Vorjahr durch Jungrinder beweidet worden waren, und der Umtrieb wurden so bemessen, dass im Allgemeinen keine Zufütterung erforderlich war. War dies doch notwendig, waren die Menge und die Qualität für beide Gruppen gleich. Eine Übersicht der Gruppeneinteilung 2010 ist im Anhang in Tabelle 16a dargestellt.

Auch in der Weidesaison 2011 wurden die 25 erstsömmrigen Rinder im Mai 2011 zuerst als einheitliche Gruppe auf der "Parkweide" (1,23 Hektar) angeweidet. Aufgrund von Futterknappheit wurden die Tiere bereits nach drei Wochen auf die Versuchsflächen umgetrieben und dort in drei Gruppen aufgeteilt. Hierbei wurde, wie im Vorjahr, auf ein ausgeglichenes Verhältnis von KGW, Rasse und Alter der Kälber in den Versuchsgruppen geachtet. Zudem musste im Jahr 2011 auch die gleichmäßige Verteilung der Ochsen auf die drei Gruppen berücksichtigt werden. Die erste Versuchsgruppe bestand aus 7 Tieren, diente als Kontrollgruppe und wurde 3 Wochen nach Austrieb mit Moxidectin (Cydectin 10 % LA®; 1,0 mg Moxidectin/kg s.c. auf der Ohrrückseite) behandelt. Die Tiere der Kontrollgruppe wurden mit einem roten Halsband markiert. Die zweite Versuchsgruppe bestand aus 9 Tieren und wurde nach dem Prinzip des Targeted Selective Treatments (TST) bei Bedarf mit Moxidectin (Cydectin1 %®; 0,2 mg Moxidectin/kg s.c.) behandelt. Die Entscheidungskriterien für eine Einzeltierbehandlung entsprachen denen in der Weidesaison 2010 und die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe wurde mittels blauer Halsbänder verdeutlicht. In der dritten Versuchsgruppe wurden 9 erstsömmrige Rinder nach dem Ansatz der gezielten Herdenbehandlung (Targeted Treatment) therapiert. Dies bedeutet, dass bei Behandlungsbedarf eines Einzeltieres (Kriterien entsprechen denen in der TST-Gruppe) der gesamte Herde ein Anthelminthikum (Cydectin1 %®; 0,2 mg Moxidectin/kg s.c.) verabreicht wurde. Zur Aufstallung im November 2011 wurden die Versuchstiere aller Gruppen mit Moxidectin (Cydectin1 %®; 0,2 mg Moxidectin/kg s.c.) behandelt. Die beiden Versuchsflächen, welche auch im Jahr 2010 genutzt worden sind, wurden in der Weidesaison 2011 aufgrund der zusätzlichen Versuchsgruppe jeweils in drei gleichgroße Abteilungen geteilt. Das Fütterungs- und Umtriebsmanagement der Gruppen blieb unverändert und wie für die Weidesaison 2010 beschrieben. Eine Übersicht der Gruppeneinteilung 2011 ist im Anhang in Tabelle 16b gegeben.

3.2.4.3 Beprobung der Versuchsgruppen

Im Weideversuch wurde untersucht, ob der Befall mit Magen-Darm-Parasiten mit nicht invasiven Untersuchungstechniken festzustellen ist und welche Schwellenwerte als Entscheidungshilfe für eine Anthelminthika-Behandlung geeignet sind. Die Untersuchung fand alle 14 Tage über die gesamte Weidesaison statt. Die ersten Proben wurden 12 (Weidesaison 2010) bzw. 6 Tage (Weidesaison 2011) vor dem Austrieb genommen; die letzte Beprobung erfolgte 13 (Weidesaison 2010) bzw. 6 (Weidesaison 2011) Tage nach der Aufstallung im November. An den Untersuchungstagen wurden allen Kälbern rektal Kotproben entnommen, die Körperkonstitution durch die Bestimmung des KGW mittels einer Viehwage und der Körperkondition in Form des BCS nach Edmonson et al. (1989) bewertet. Um den BCS zu ermitteln, wurden verschiedene Körperregionen adspektorisch und palpatorisch beurteilt und auf einer Skala von 1 bis 5 beurteilt. Das verwendete Schema nach Edmonson et al. (1989) ist im Anhang in Abbildung 21 dargestellt. Ergänzend zu diesem Schema wurde die seitliche Brustwand als weiteres Kriterium (BCS 9) durch Palpation der Rippen als neunter Bewertungspunkt miteinbezogen (Raschke 2007). Die Bewertung erfolgte hierbei nach dem Punktesystem, welches auch in dem Schema nach Edmonson et al. beschrieben ist und auch die Einteilung wurde in Anlehnung an das System von Edmonson et al. (1989) vorgenommen. Des Weiteren wurde zu jedem Beprobungszeitpunkt von allen Tieren Serumproben genommen; die Blutproben wurden bei 1800 Umdrehungen pro Minute für 15 Minuten zentrifugiert, das Serum anschließend mittels Pasteurpipette in zwei 1,5 ml Reaktionsgefäße überführt und bei -80 °C im Tiefgefrierschrank bis zur weiteren Untersuchung gelagert. Die rektal gewonnen Kotproben wurden mit Hilfe des modifizierten McMaster-Verfahrens (siehe Kapitel 3.2.1.1), des Sedimentationsverfahrens (siehe Kapitel 3.2.1.2) und des Trichter-Auswanderverfahrens nach *Baermann-Wetzel* (siehe Kapitel 3.2.1.4) untersucht. Außerdem wurde von dem restlichen Kot eine Kotkultur (siehe Kapitel 3.2.1.3) angelegt.

3.2.4.4 Statistische Auswertung des Weideversuchs

Für die Datenaufbereitung wurde das Tabellenkalkulationssystem Microsoft Office Excel 2007 verwendet. Die weitere statistische Auswertung erfolgte mit der statistischen Software R. Es wurde die Korrelation nach Pearson zwischen den Variablen Gewicht und BCS berechnet. Zudem wurde mit Hilfe des Rangkoeffizienten "Kendall's Tau" der Zusammenhang zwischen den Variablen Gewicht und EpG bzw. BCS und EpG bestimmt. Im Gegensatz zu dem Korrelationskoeffizient nach Pearson wird bei dem Rangkoeffizient nicht die Annahme benötigt, dass die Beziehung zwischen den Variablen linear ist und die Daten intervallskaliert sind. Außerdem ist dieser robust gegenüber Ausreißern. "Kendall's Tau" basiert hierbei auf rein ordinaler Information. Empfohlen wird die Verwendung dieses Rangkoeffizienten, wenn

die Daten nicht normal verteilt sind, die Skalen ungleiche Teilungen aufweisen oder bei sehr kleinen Stichprobengrößen (Rüger 2002). Korrelationen mit Werten unter 0,3 gelten als schwache Abhängigkeit, Werte zwischen 0,3 und 0,8 zeigten eine mittlere und Werte über 0,8 zeigten eine starke Abhängigkeit.

Um festzustellen, welche Faktoren einen Einfluss auf die unterschiedliche Gewichtsentwicklung hatten, wurde der t-Test durchgeführt. Die Annahme einer Normalverteilung bzw. Homoskedastizität der Werte wurde vorher mittels QQ-Plot und Levene-Test überprüft. Mittels eines gemischten Modells wurde analysiert, welchen Einfluss die Zugehörigkeit zu den unterschiedlichen Behandlungsgruppen auf die Gewichtsentwicklung der Tiere hatte. Hierbei wurden die Daten mit zwei unterschiedlichen Modellen analysiert. Im ersten Modell wurden alle Variablen (Gruppe, Zeit, Alter, Rasse, Absetzverfahren) berücksichtigt, so dass deren Einfluss auf diesem Wege kontrolliert werden konnte. Das zweite Modell war ein reduziertes Modell der ersten Version, indem statistisch nicht signifikante Koeffizienten entfernt wurden. In diesem Modell wurden nur noch die relevanten Variablen Gruppe, Zeit und Alter berücksichtigt. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 0.05$ festgelegt. Dies bedeutet, dass die maximal zulässige Wahrscheinlichkeit 5 % beträgt, eine eigentlich richtige Nullhypothese irrtümlich abzulehnen (sogenannter Fehler 1. Art). Mit Hilfe von QQ-Plots und Residual-Plots wurde die Anpassungsgüte überprüft.

3.2.5 Verfahren zur Detektion von Anthelminthika-Resistenzen

3.2.5.1 Eizahlreduktionstest (EZRT)

Anhand des EZRTs wurde die Wirksamkeit der eingesetzten Anthelminthika *in vivo* getestet (Boersema 1983). Hierfür wurde die Anzahl von MDS-Eiern in rektal gewonnenem Kot vor und nach der anthelminthischen Behandlung mit Hilfe des modifizierten McMaster-Verfahrens (siehe 3.2.1.1) quantitativ bestimmt. Das Gewicht der Tiere wurde mittels Balkenwaage ermittelt, so dass die für das untersuchte Präparat vom Hersteller empfohlene Dosierung individuell angepasst werden konnte; diese Dosierungen sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2: Vom Hersteller empfohlene Dosierungen für die im Eizahlreduktionstest eingesetzten Anthelminthika (KGW: Körpergewicht)

Präparat	Dosierung
Cydectin 1 %® (Pfizer GmbH)	0,2 mg Moxidectin pro kg KGW
Ivomec® (Merial GmbH)	0,2 mg Ivermectin pro kg KGW

Zwei und vier Wochen nach Anthelminthika-Gabe wurde erneut eine rektale Kotprobe der behandelten Tiere untersucht und die Eiausscheidung vor und nach Behandlung verglichen. Eine mittlere EZR von 95 % wird als wirksam angesehen, während niedrigere Werte auf eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber dem jeweilig eingesetzten Wirkstoff hinweisen können. Die Auswertung des EZRTs erfolgte mit Hilfe des Programm "BootStreat©" (Cabaret 2008), welches im Rahmen des EU Projektes PARASOL hierfür entwickelt wurde. Die Berechnung der EZR wurde auf Grundlage der Formel

$$\text{EZR} = 100 \times (1 - T2 / T1) \text{ nach Kochapakdee et al. (1995)}$$

T1 = arithmetisches Mittel der EpG vor Behandlung; T2 = arithmetisches Mittel der EpG nach Behandlung

vorgenommen. Aufgrund der Anwendung der Methode des "bootstrapping" (Sprent 1989) kann mit Hilfe von "BootStreat©" die EZR und das dazugehörige 95 %-CI angegeben werden.

3.2.5.2 Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA)

Ziel des LMIA war es, festzustellen, ob dritte Larven (L₃) von Nematoden gegen den getesteten Wirkstoff bzw. die getestete Wirkstoffklasse resistent sind. Anhand einer Dosis-Wirkungs-Kurve wurde die hemmende Wirkung verschiedener Wirkstoffkonzentrationen auf die Migrationsfähigkeit der L₃ ermittelt (Martin and Le Jambre 1979; Douch, Harrison et al. 1983; Wagland, Jones et al. 1992; Rabel, McGregor et al. 1994; Demeler, Kuttler et al. 2010). Die zu untersuchenden L₃ wurden aus Kotkulturen (s. 3.2.1.3) von Versuchstieren gewonnen, bei denen der EZRT Hinweise auf eine verminderte Wirksamkeit des jeweilig eingesetzten Wirkstoffes (IVM bzw. Moxidectin) gab. Die L₃ wurden vor der Untersuchung im LMIA mit Hilfe des Trichterauswanderungsverfahrens nach *Baermann-Wetzel* (s. 3.2.1.4) aufgereinigt, so dass nicht bewegliche L₃ von der Untersuchung ausgeschlossen werden konnten. Anschließend wurde die Larvensuspension so eingestellt, dass ~100 L₃ in einem Volumen von 20 µl vorlagen. Für die Untersuchung wurde eine IVM-Verdünnungsreihe hergestellt. Hierfür wurde eine Stammlösung mit der Konzentration von 10⁻² M IVM (entspricht 8,71 mg IVM pro ml Dimethylsulfoxid (DMSO)) zu folgenden, in Tabelle 3 angegebenen, Konzentrationen verdünnt.

Tabelle 3: Konzentrationen von Ivermectin für den Einsatz im Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (DMSO: Dimethylsulfoxid)

	DMSO (100 %)	Konzentration I	Endkonzentration im Well
50 µl Stammlsg.	450 µl	10^{-3} M	5×10^{-6} M
100 µl 10^{-3} M	900 µl	10^{-4} M	5×10^{-7} M
20 µl 10^{-7} M	980 µl	2×10^{-5} M	10^{-7} M
20 µl 10^{-4} M	980 µl	2×10^{-6} M	10^{-8} M
20 µl 10^{-5} M	980 µl	2×10^{-7} M	10^{-9} M

Jeweils 100 µl der Konzentration I wurden durch Zugabe von 900 µl de-ionisiertem Wasser auf die entsprechenden Endkonzentrationen, welche im Well eingesetzt wurden, weiterverdünnt. Für die Positivkontrolle wurde eine IVM-Konzentration von 10^{-3} M eingesetzt; als Negativkontrolle fungierte destilliertes H₂O in DMSO (1 %ig). Der LMIA wird für jede IVM-Konzentration immer im Doppelansatz durchgeführt. Im ersten Schritt des LMIA wurden die Larven für 24 Stunden bei 28 °C in den unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen mit Hilfe eines Brutschrankes inkubiert. Hierfür wurden in jedes Well der 24-Well Zellkulturplatte 1700 µl destilliertes H₂O und 90 µl IVM-Lösung in der jeweilig zu testenden Konzentration sowie 20 µl Larvensuspension gegeben. Im zweiten Schritt wurde der gesamte Inhalt der Inkubationsplatte auf spezielle Nylonfilter mit einer Maschenweite von 28 µm, welche in einer neuen 24-Well Zellkulturplatte befestigt sind, verbracht und die Wanderung für weitere 24 Stunden bei 28 °C im Inkubator ermöglicht. In die Wells der sogenannten Wanderungsplatte wurden vorab 400 µl 1,5 %iger Bacto-Agar gegeben. Dies bewirkt, dass die Larven nicht in die Außenzone der Wells wandern und somit leichter zu zählen sind. Nach 24 Stunden wurde der Test durch das Herausheben der Nylonfilter gestoppt; die Unterseite der Siebe wurde vorsichtig mit ca. 30 µl destilliertem H₂O abgespült und die Flüssigkeit in den Reihen A bzw. C aufgefangen. Anschließend wurden die Nylonfilter umgedreht in die Reihen B bzw. D der Wanderungsplatte verbracht und dort die nicht gewanderten L₃ aus der Innenseite der Nylonfilter mit ca. 2000 µl destilliertem H₂O herausgewaschen. Für die Auswertung des LMIA wurden die gewanderten (Reihe A bzw. C) und die nicht gewanderten (Reihe B bzw. D) Larven unter Verwendung eines Stereomikroskops gezählt und der prozentuale Anteil der trotz Anthelminthika-Kontakt gewanderten Larven berechnet. Für die weitere Analyse wurde die GraphPad Prism 5.0 ® Software verwendet. Mit Hilfe dieser Software konnten aus den Mittelwerten für die Doppelansätze mit dem jeweiligen Standardfehler des Mittelwerts sigmoidale Dosis-Wirkungskurven erstellt werden, aus welchen nach dem "four-parameter-logistic-model" die

Steigung der Kurve ("Hill-slope") sowie die mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) berechnet wurde. Zudem wurden anhand des Korrelationskoeffizienten R^2 und des 95 %-CI der Zusammenhang sowie die Präzision der Lageschätzung beurteilt. Der p-Wert wurde bestimmt, um die Kurvenverläufe statistisch miteinander zu vergleichen; er ist ein Maß für die Signifikanz der Unterschiede und kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Die Unterschiede sind desto sicherer, je kleiner der p-Wert ist. Bei der Daten-Auswertung wurde ein Signifikanzniveau α von 0,05 vorausgesetzt. In GraphPad Prism 5.0 ® sind die p-Werte wie folgt definiert

p-Wert	Definition des Wertes
< 0,001	höchstsignifikant
0,001 - 0,01	hochsignifikant
0,01 - 0,05	signifikant
> 0,05	Nicht signifikant

4 Ergebnisse

4.1 Parasitologische Kotuntersuchungsverfahren

Weder in der Weidesaison 2010 noch in der Weidesaison 2011 konnte mit Hilfe der koproskopischen Untersuchungsverfahren (Sedimentationsverfahren bzw. Trichter-Auswanderungsverfahren nach *Baermann-Wetzel*) ein Befall mit Leberegeln oder Lungenwürmern nachgewiesen werden. Alle Untersuchungsergebnisse waren negativ. Die Ergebnisse der Eizählungen (mod. McMaster-Verfahren) sind im Anhang in Tabelle 17 dargestellt.

4.2 Serologische Untersuchungsverfahren

Während bei der serologischen Gruppenuntersuchung auf Antikörper gegen Leberegel alle Ergebnisse negativ waren, zeigten sich bei der Untersuchung auf Antikörper gegen *D. viviparus* zu drei Zeitpunkten positive Gruppenergebnisse. In der sich anschließenden serologischen Einzeltier-Untersuchung wurde bei sechs Tieren ein erhöhter Antikörpertiter gegen *D. viviparus* detektiert. Diese positiven Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Auflistung der Versuchstiere mit positivem *D. viviparus* - ELISA Ergebnis
(Sbt: Schwarzbunt; Rbt: Rotbunt; TST-Gr.: Targeted Selective Treatment-Gruppe; ODR: Optical Density Ratio; ein ODR-Wert $\geq 0,5$ wird als positiv bewertet)

Tier	Datum	ODR-Wert
Ohrmarke 15528 (Färse, Sbt, TST-Gruppe)	28.06.2010	0,883
	12.07.2010	0,643
Ohrmarke 15536 (Färse, Sbt, TST-Gruppe)	28.06.2010	0,802
	12.07.2010	0,847
Ohrmarke 15550 (Färse, Rbt, TST-Gruppe)	28.06.2010	1,020
	12.07.2010	0,858
Ohrmarke 15553 (Färse, Sbt, TST-Gruppe)	28.06.2010	0,755
	12.07.2010	0,839

Ohrmarke 15562 (Färsen, Sbt, TST-Gruppe)	28.06.2010	0,840
	12.07.2010	0,669
Ohrmarke 15555 (Färsen, Sbt, Kontroll-Gruppe)	20.09.2010	1,185

4.3 Genusdifferenzierung mittels qualitativer Polymerasekettenreaktion

Mit Hilfe einer gattungsspezifischen PCR wurde DNA aus den dritten Larven auf das Vorkommen von *C. oncophora* und *O. ostertagi* untersucht. Lediglich in zwei Proben konnte eine Monoinfektion mit *C. oncophora* nachgewiesen werden. Hierbei handelte es sich um die Probennummern 57 und 58 (2011) bzw. um die L₃-DNA aus den Kotkulturen der Versuchstiere mit den Ohrmarken 16080 und 16083 vom 06.09.2011 (siehe Abbildung 4a und 4b). Beide Tiere gehörten zur zweiten Versuchsgruppe, welche nach dem Prinzip des TST behandelt wurden. In allen anderen DNA-Isolaten waren *Cooperia oncophora* sowie *Ostertagia ostertagi* vertreten.

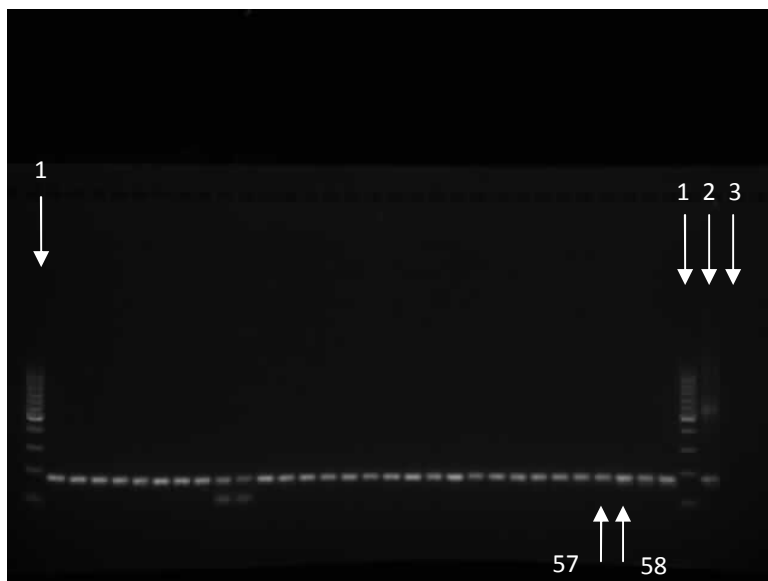


Abbildung 4a: Qualitative PCR: Probe 31-60 (2011); C.o.-Primerpaar (1: 100 Basenpaar-Marker; 2: Positiv-Kontrolle; 3: Negativ-Kontrolle)

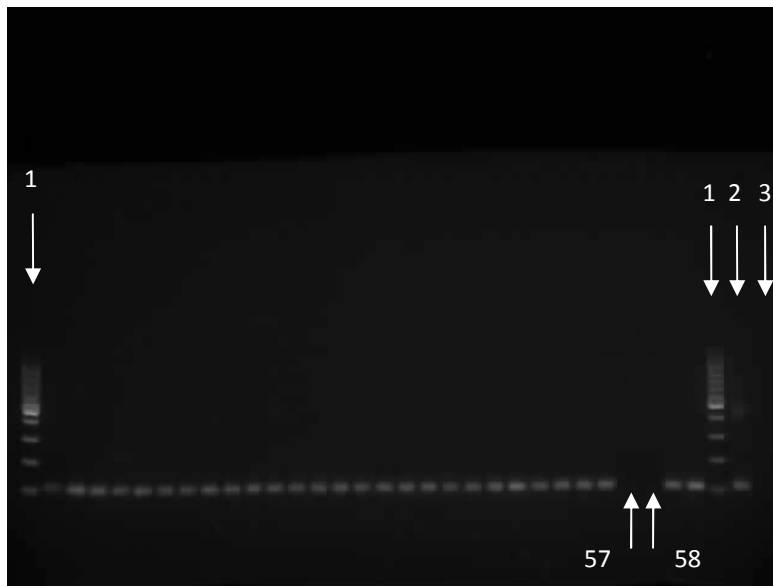


Abbildung 4b: Qualitative PCR: Probe 31-60 (2011); O.o.-Primerpaar (1: 100 Basenpaar-Marker; 2: Positiv-Kontrolle; 3: Negativ-Kontrolle)

4.4 Weideversuch

In dem Weideversuch wurden verschiedene Behandlungsansätze mit dem Ziel verglichen, trotz verringertem Einsatz von Anthelminthika keine Einbußen in der Produktivität hinnehmen zu müssen.

Auf der einen Seite wurde die Kontrollgruppe strategisch entwurmt, auf der anderen Seite wurden den Versuchsgruppen bei Bedarf entweder nach dem Prinzip der gezielten Einzeltierbehandlung (TST) oder nach der alternativen Behandlungsstrategie der gezielten Herdenbehandlung (TT) Anthelminthika verabreicht. Die Entscheidungskriterien für eine Einzeltier- bzw. Herdenbehandlung waren hierbei entweder eine Kombination einer hohen EpG (≥ 250) und einer geringen DWG (≤ 250 Gramm/Tag) oder einer hohen EpG (≥ 250) in Kombination mit einem sinkenden BCS. Während der Weidesaison 2010 erfüllte lediglich ein Tier aus der TST-Gruppe zu einem Zeitpunkt die Kriterien der Behandlungswürdigkeit (siehe Abbildung 3), alle anderen Tiere dieser Gruppe blieben unbehandelt.

Die Gruppenmittelwerte der Gewichtsentwicklung und des EpG-Verlaufes in der Weidesaison 2010 sind in Abbildung 5 dargestellt.

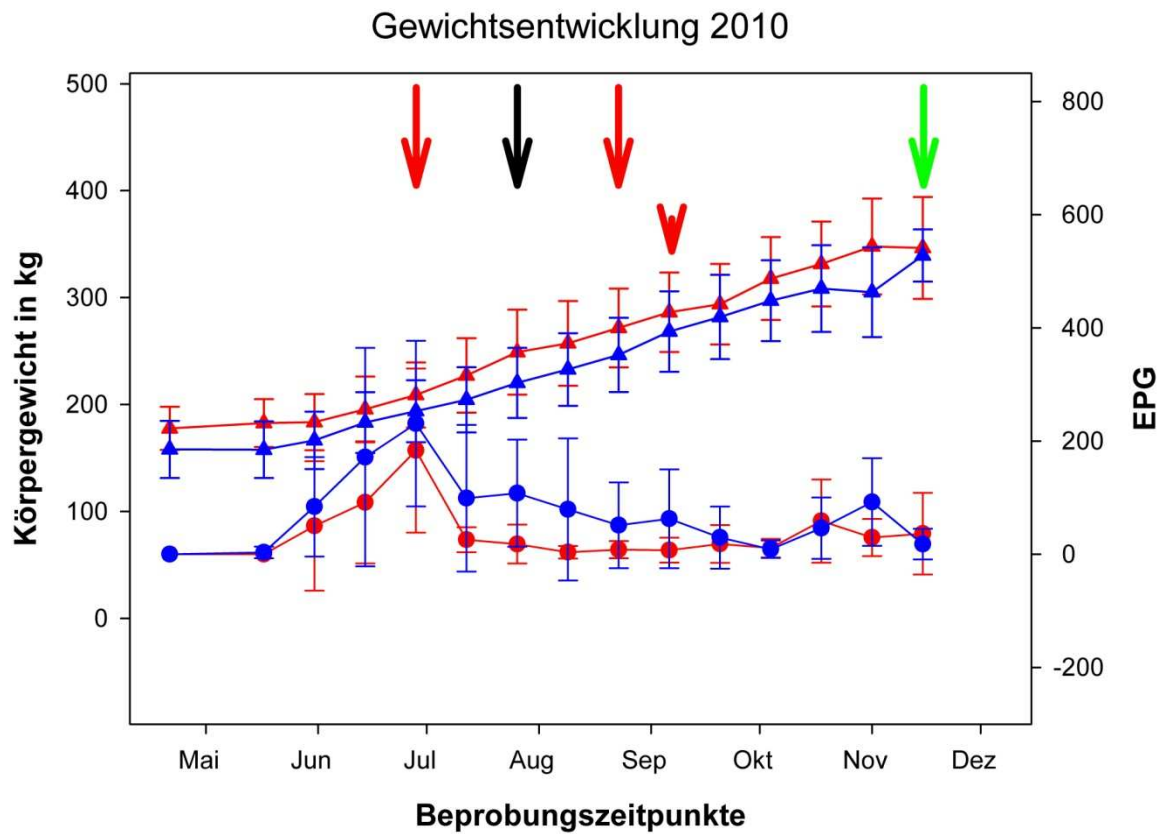


Abbildung 5: Gruppenmittelwerte der Gewichtsentwicklung (Dreiecke) und des EpG-Verlaufes (Punkte) mit Standardabweichung in der Weidesaison 2010 (blaue Symbole: Targeted Selective Treatment-Gruppe, rote Symbole: Kontroll-Gruppe; rote Pfeile: Behandlung der Kontrollgruppe mit Ivermectin, rote Pfeilspitze: Einzeltierbehandlung in der TST-Gruppe mit Ivermectin, schwarzer Pfeil: Behandlung der Kontrollgruppe mit Albendazol, grüner Pfeil: Aufstallungsbehandlung am Ende der Weidesaison).

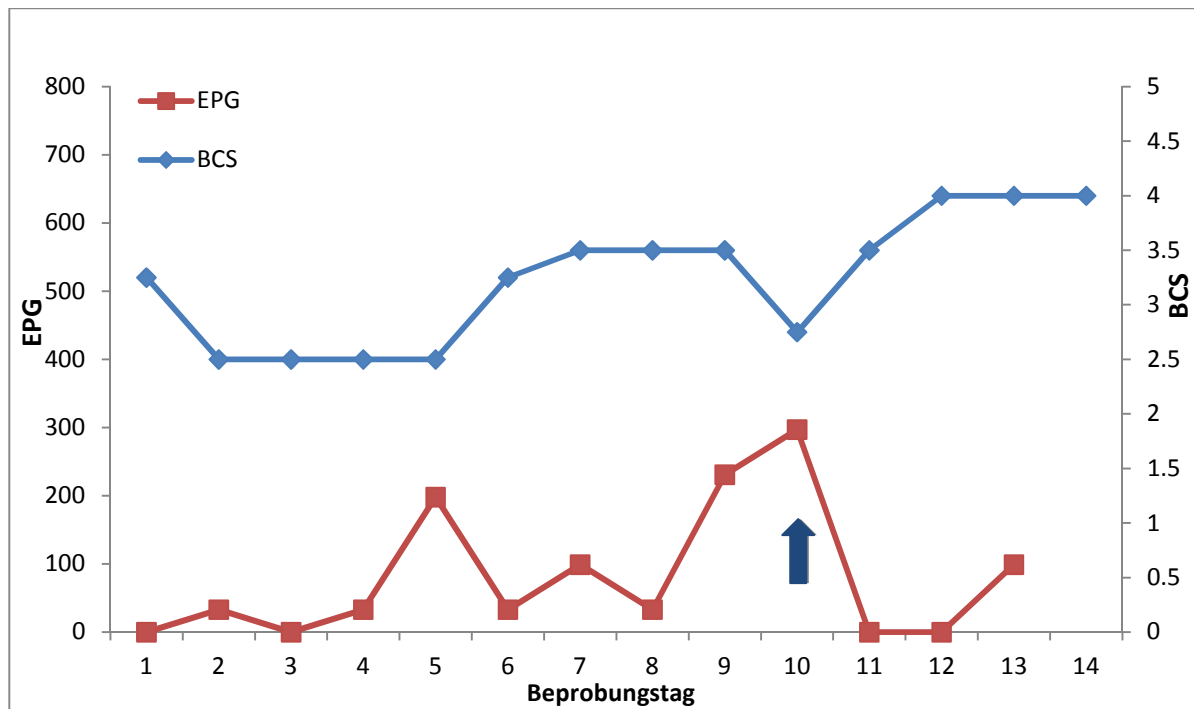


Abbildung 6: Verlauf der BCS-Entwicklung und der EpGs des behandlungswürdigen Tieres "15538" (Färse, Rotbunt) der TST-Gruppe; am 06.09.2010 Behandlung mit Ivermectin (siehe blauer Pfeil; EpG: Eizahl pro Gramm Kot; BCS: Body Condition Score)

Aufgrund von positiven EpGs 14 Tage nach IVM-Behandlung der Kontrollgruppe wurden diese Tiere zusätzlich in der 12. Woche nach Austrieb mit einem Anthelminthikum behandelt. Hierbei wurde aufgrund der scheinbar verminderten Wirksamkeit von IVM ein Wirkstoffwechsel vorgenommen und den Tieren ABZ (Valbazen®; 7,5 mg/kg oral) verabreicht (siehe Abbildung 5). Während der Weidesaison 2011 erfüllte wiederum lediglich ein Tier aus der TST-Gruppe zu einem Zeitpunkt die Kriterien der Behandlungswürdigkeit (siehe Abbildung 8), alle anderen Tiere dieser Gruppe blieben unbehandelt. Die TT-Gruppe erhielt während der Weideperiode an zwei Terminen aufgrund der Behandlungswürdigkeit von jeweils einem Tier (siehe Abbildung 9) eine gezielte Herdenbehandlung.

Die Gruppenmittelwerte der Gewichtsentwicklung und des EpG-Verlaufes in der Weidesaison 2011 sind in Abbildung 7 dargestellt.

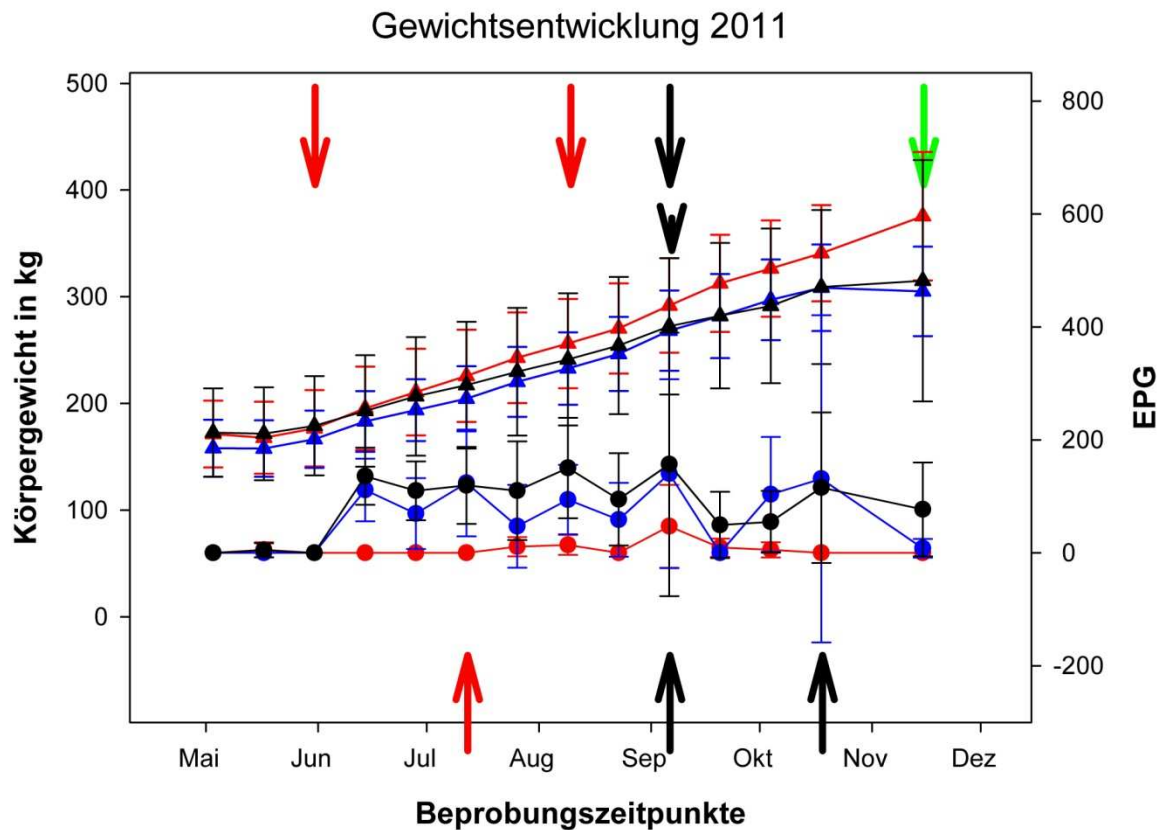


Abbildung 7: Gruppenmittelwerte der Gewichtsentwicklung (Dreiecke) und des EpG-Verlaufes (Punkte) mit Standardabweichung in der Weidesaison 2011 (schwarze Symbole: Targeted Selective Treatment-Gruppe, blaue Symbole: Targeted Treatment-Gruppe, rote Symbole: Kontroll-Gruppe; rote Pfeile von oben: Behandlung der Kontrollgruppe mit Moxidectin, rote Pfeile von unten: Behandlung der Targeted Treatment-Gruppe mit Moxidectin, schwarze Pfeile von oben: Behandlung der Kontrollgruppe mit Fenbendazol, schwarze Pfeile von unten: Behandlung der Targeted Treatment-Gruppe mit Fenbendazol, schwarze Pfeilspitze: Einzeltierbehandlung in der Targeted Selective Treatment-Gruppe mit Fenbendazol, grüner Pfeil: Aufstallungsbehandlung am Ende der Weidesaison).

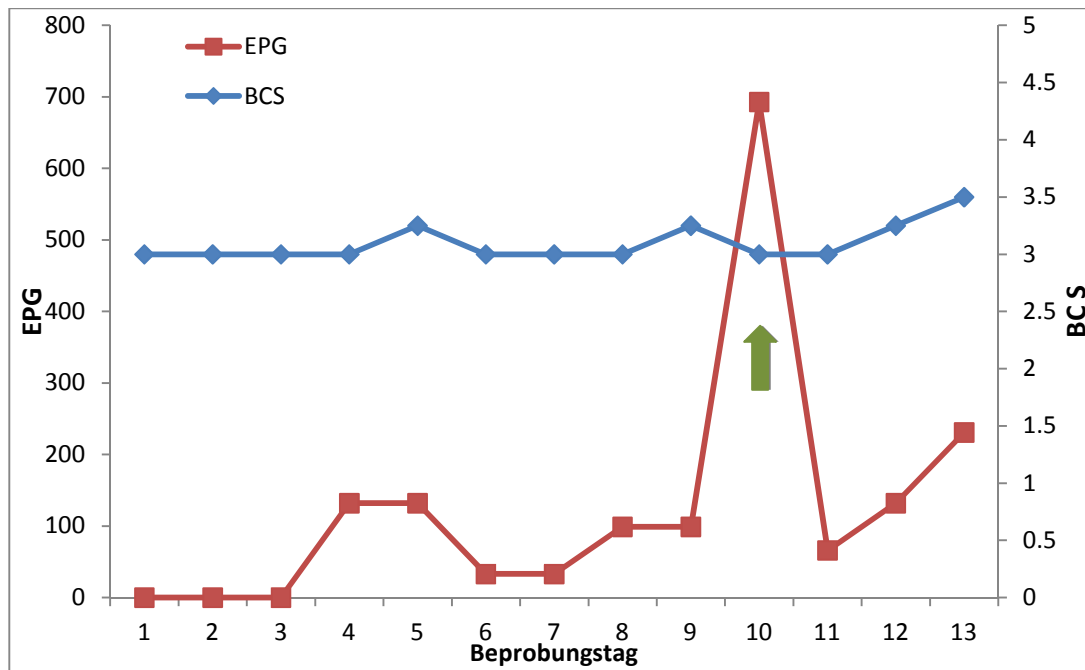


Abbildung 8: Verlauf der BCS-Entwicklung und der EpGs des behandlungswürdigen Tieres "16083" (Ochse, Rotbunt) der TST-Gruppe; am 06.09.2011 Behandlung mit Fenbendazol (siehe grüner Pfeil)

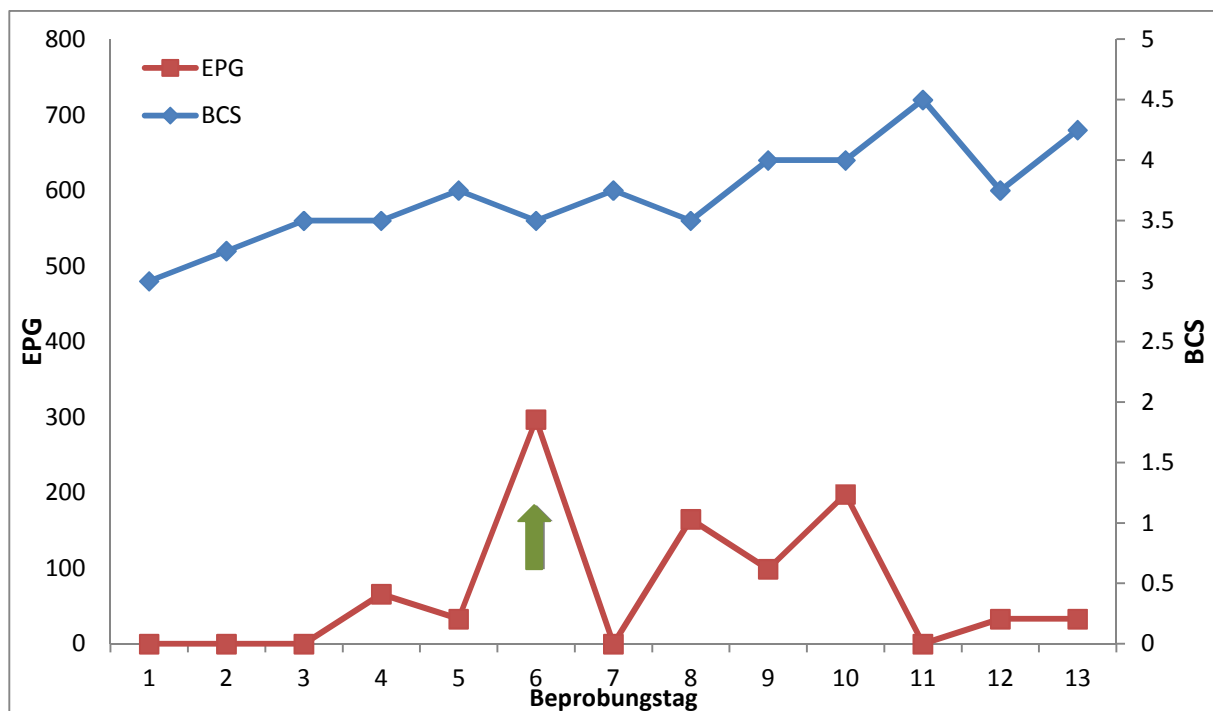


Abbildung 9: Verlauf der BCS-Entwicklung und der EpGs des behandlungswürdigen Tieres "16076" (Ochse, Rotbunt) der TT-Gruppe; am 12.07.2011 Behandlung mit Moxidectin (siehe grüner Pfeil)

Aufgrund von Eiausscheidungen während der vom Hersteller angegebenen Wirkdauer von Cydectin10 % LA® wurden die Tiere der Kontrollgruppe zusätzlich in der 13. Woche nach Austrieb mit Cydectin1 %® (Cydectin1 %®; 0,2 mg Moxidectin/kg s.c.) sowie in der 17. und 21. Woche nach Austrieb mit Fenbendazol (Panacur 10 %; 7,5 mg Fenbendazol/kg oral) behandelt (siehe Abbildung 7).

Deskriptive Statistik

Bei der statistischen Auswertung des Projektes wurden die Korrelationen nach Pearson zwischen den Variablen Gewicht und BCS berechnet. Korrelationen mit Werten unter 0,3 gelten als schwache Abhängigkeit, Werte zwischen 0,3 und 0,8 zeigten eine mittlere und Werte über 0,8 zeigten eine starke Abhängigkeit. Die Ergebnisse zeigten eine stark positive Korrelation zwischen dem KGW der Rinder und dem BCS. Dies ist in Abbildung 10a und 10b dargestellt.

Korrelation = 0.814; p-value = 0.000

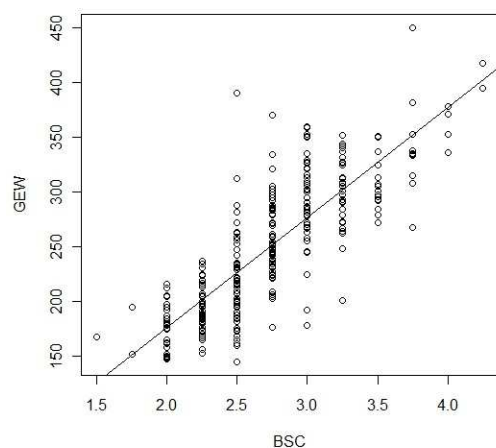


Abbildung 10a: Korrelation zwischen Gewicht und Body Condition Score 2010 (GEW: Gewicht in kg; BCS: Body Condition Score)

Korrelation = 0.750; p-value = 0.000

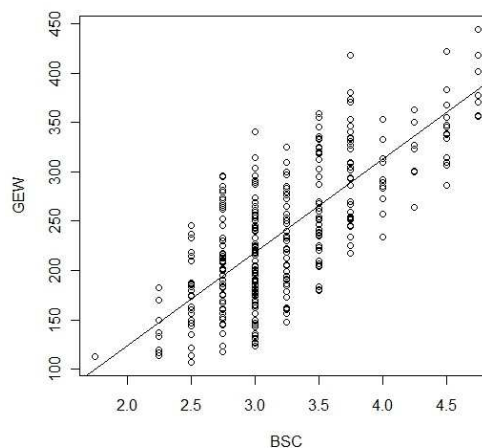


Abbildung 10b: Korrelation zwischen Gewicht und Body Condition Score 2011 (GEW: Gewicht in kg; BCS: Body Condition Score)

Da die Pearson-Korrelation zwischen Gewicht und EpG bzw. BCS und EpG aufgrund der diskreten Verteilung der EpG nicht aussagekräftig ist, wurde die Korrelation zwischen diesen Variablen mittels "Kendall's Tau" berechnet. Der "Kendall's Tau" für die Variablen KGW der Rinder und die EpG zeigte eine schwach negative Korrelation (siehe Abbildung 11a und 11b).

Kendall's Tau = -0.135; p-value = 0.035

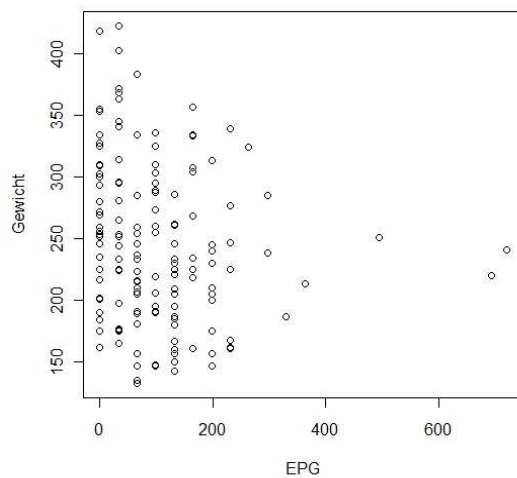


Abbildung 11a: Korrelation zwischen Gewicht und der Eizahl pro Gramm Kot 2010 (Gewicht in kg; EpG: Eizahl pro Gramm Kot)

Kendall's Tau = -0.158; p-value = 0.006

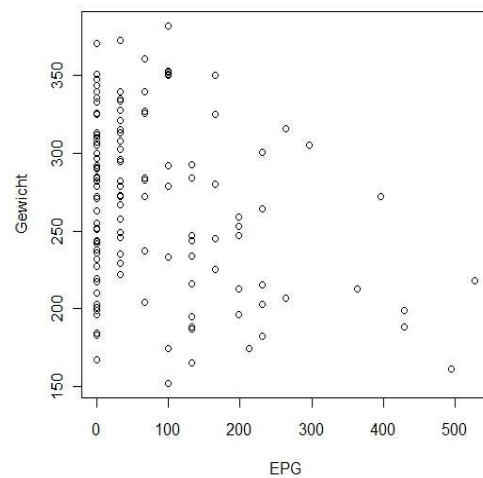


Abbildung 11b: Korrelation zwischen Gewicht und der Eizahl pro Gramm Kot 2011 (Gewicht in kg; EpG: Eizahl pro Gramm Kot)

Auch der bei der Bestimmung des Kendall's Taus für die Parameter BCS und EpG zeigte sich nur ein sehr schwacher Zusammenhang. Dies ist in den Abbildungen 12a und 12b für die entsprechende Weidesaison dargestellt.

Kendall's Tau = -0.186; p-value = 0.006

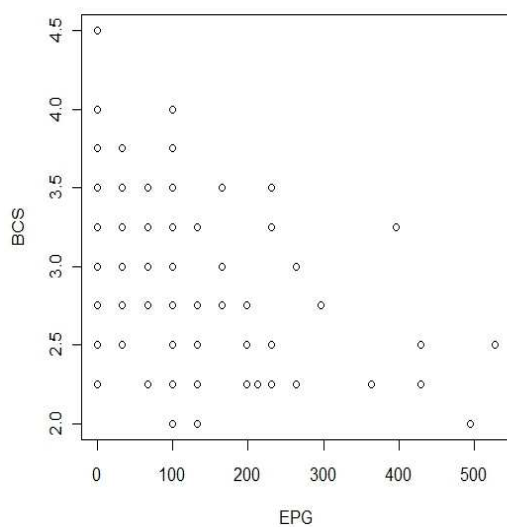


Abbildung 12a: Korrelation zwischen BCS und der Eizahl pro Gramm Kot 2010 (BCS: Body Condition Score; EpG: Eizahl pro Gramm Kot)

Kendall's Tau = 0.014; p-value = 0.817

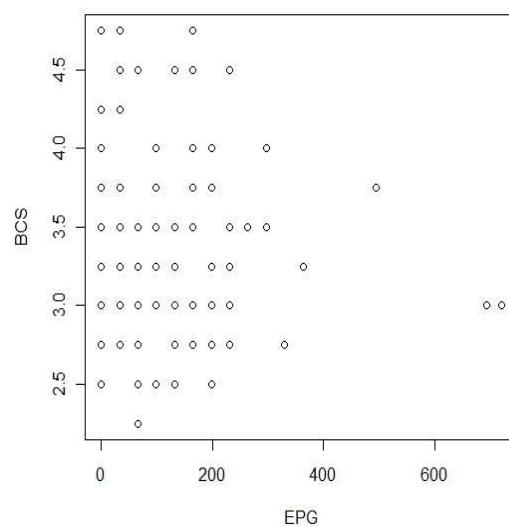


Abbildung 12b: Korrelation zwischen BCS und der Eizahl pro Gramm Kot 2011 (BCS: Body Condition Score; EpG: Eizahl pro Gramm Kot)

Induktive Statistik

Um festzustellen, welche Faktoren einen Einfluss auf die unterschiedliche Gewichtsentwicklung hatten, wurde der t-Test durchgeführt. Die dazugehörigen p-Werte sind in Tabelle 5 gelistet.

Tabelle 5: Ergebnisse des Welch Two Sample t-Test

Weidesaison	Variablen	p-Wert
2010	Gewicht ~ Rasse	0.885
2011	Gewicht ~ Rasse	0.324
2011	Gewicht ~ Geschlecht	0.052
2011	Gewicht ~ Absetzverfahren	3.325×10^{-7}

Da in der Weidesaison 2010 das Absetzverfahren die drei unterschiedliche Ausprägungen "Automatentränke", "Kontakt zum Muttertier" oder "keine Angabe" annehmen konnte, war es hier nicht möglich den t-Test anzuwenden. Anstelle dessen wurde in diesem Fall eine Varianzanalyse durchgeführt; der p-Wert hierfür lag über dem Signifikanzniveau von 0.05 (p-Wert = 0.508). Als Voraussetzung für die Anwendung des t-Tests bzw. der Varianzanalyse wurde vorher die Annahme einer Normalverteilung der Werte mittels QQ-Plot (Plots für Weidesaison 2010 siehe Anhang Abbildung 22a bis Abbildung 22e und Plots für Weidesaison 2011 siehe Anhang Abbildung 23a bis Abbildung 23f) überprüft und bestätigt. Als weitere Voraussetzung für die Anwendung des t-Tests bzw. der Varianzanalyse wurde zur Feststellung des Vorliegens von Homoskedastizität der Levene-Test durchgeführt. Die dazugehörigen p-Werte sind in Tabelle 6 gelistet.

Tabelle 6: Ergebnisse des Levene's Test

Weidesaison	Variablen	p-Wert
2010	Gewicht ~ Rasse	0.310
2010	Gewicht ~ Absetzverfahren	0.338
2011	Gewicht ~ Rasse	0.187
2011	Gewicht ~ Geschlecht	0.315
2011	Gewicht ~ Absetzverfahren	0.037

Auch die Homoskedastizität der Werte wurde hierdurch bestätigt, so dass die Voraussetzungen für die Durchführung eines t-Testes gegeben waren. Während in der Weidesaison 2010 das Aufzuchtverfahren nicht entscheidend für die Gewichtsentwicklung war, beeinflusste dies in der Weidesaison 2011 signifikant ($p\text{-Wert} = 3.325 \times 10^{-7}$; $p < 0.05$) die Gewichtsentwicklung (Automatenränke begünstigte Zunahme). Zudem schien auch das Geschlecht der Tiere Einfluss ($p\text{-Wert} = 0.052$) auf deren Entwicklung zu nehmen (weibliche Tiere nahmen besser zu).

Multivarianzanalyse und statistische Modelle

Welchen Einfluss die Zugehörigkeit zu den unterschiedlichen Behandlungsgruppen auf die Gewichtsentwicklung der Tiere hatte, wurde mittels eines gemischten Modells analysiert.

Im ersten Modell wurden alle beobachteten Variablen (Gruppe, Zeit, Alter, Rasse, Absetzverfahren) berücksichtigt, so dass deren Einfluss auf diesem Wege kontrolliert werden konnte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7a und 7b zu sehen.

Tabelle 7a: Ergebnisse des großen Modells für die Weidesaison 2010

Fixed effects: Gew ~ Gruppe + time + Alter + Rasse + Absetzverf + time × Alter + time × Gruppe

Number of Observations: 308; Number of Groups: 22

(df: Freiheitsgrad; t-value: Prüfgröße; p-value: Signifikanzwert)

	Value	Standardfehler	p-value
(Intercept)	60.59255	22.758369	0.0082
TST-Gruppe	5.19952	6.788413	0.4549
time	11.76658	1.728446	0.0000
Alter	0.51675	0.137110	0.0017
Rasse Schwarzbunt	2.20578	5.707160	0.7042
Absetzverf. k. A.	5.31715	6.438250	0.4210
Absetzverf. Kontakt	-13.09047	11.259958	0.2621
time:Alter	0.01213	0.010046	0.2282
TST-Gruppe:time	-1.02176	0.598811	0.0890

Tabelle 7b: Ergebnisse des großen Modells für die Weidesaison 2011

Fixed effects: Gew ~ Gruppe + time + Alter + Rasse + Absatzverf + time × Alter + time × Gruppe

Number of Observations: 345; Number of Groups: 25

(df: Freiheitsgrad; t-value: Prüfgröße; p-value: Signifikanzwert)

	Value	Standardfehler	p-value
(Intercept)	386.8091	52.38044	0.0000
TST-Gruppe	6.3926	12.95305	0.6273
TT-Gruppe	-2.8461	13.23841	0.8321
time	25.9041	3.60153	0.0000
Alter	1.0365	0.22081	0.0002
Rasse Schwarzbunt	-11.8102	10.67210	0.2823
Absetzverf. Kontakt	16.0427	13.36815	0.2449
time:Alter	0.0436	0.01467	0.0032
TST-Gruppe:time	-1.3944	1.08120	0.1981
TT-Gruppe:time	-0.9801	1.09618	0.3719

Das zweite Modell war ein reduziertes Modell der ersten Version, indem statistisch nicht signifikante Variablen entfernt wurden. In diesem Modell wurden nur noch die relevanten Variablen Gruppe, Zeit und Alter berücksichtigt. Die Anpassung des reduzierten Modells wurde mittels Varianzanalyse und Likelihood-Quotienten-Statistik (L-Q-Statistik) mit dem ersten Modell verglichen. Die Ergebnisse der ANOVA (Analysis of Variance) bzw. der L-Q-Statistik der beiden Modelle in der Weidesaison 2010 und 2011 sind in Tabelle 8a und 8b angegeben.

Tabelle 8a: Ergebnisse der ANOVA (Analysis of Variance) und des Likelihood-Quotienten-Tests (L-Q-Test) der Modelle 1 und 2 für die Weidesaison 2010 (df: Freiheitsgrad; AIC: Akaike Information Criterion; BIC: Bayesian Information Criterion, logLik: Log-Likelihood, L.Ratio: Likelihood Ratio ; p-Value: Signifikanzwert)

	df	AIC	BIC	logLik	L-Q-Test	L.Ratio	p-Value
Modell1	13	2337.742	2385.848	-1155.871	Modell 1 vs.	18.47495	0.0024
Modell 2	8	2346.217	2375.953	-1165.108	Modell 2		

Tabelle 8b: Ergebnisse der ANOVA (Analysis of Variance) und des Likelihood-Quotienten-Tests (L-Q-Test) der Modelle 1 und 2 für die Weidesaison 2011 (df: Freiheitsgrad; AIC: Akaike Information Criterion; BIC: Bayesian Information Criterion, logLik: Log-Likelihood, L.Ratio: Likelihood Ratio ; p-Value: Signifikanzwert)

	df	AIC	BIC	logLik	L-Q-Test	L.Ratio	p-Value
Modell1	14	2935.930	2989.327	-1453.965	Modell 1 vs.	22.97549	0.0003
Modell 2	9	2948.905	2983.365	-1465.453	Modell 2		

Mittels der ANOVA und des Likelihood-Quotienten-Tests wurde eine gute Anpassung des modifizierten Modells bestätigt. Da die Ergebnisse vergleichbar waren, gab es keinen Grund das größere Modell zu nutzen. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung der Weidesaison 2010 und 2011 mit Hilfe des reduzierten Modells sind in Tabelle 9a und 9b angegeben.

Tabelle 9a: Ergebnisse des modifizierten Modells für die Weidesaison 2010
 Fixed effects: Gew ~ time + Gruppe + Alter
 Number of Observations: 308; Number of Groups: 22
 (df: Freiheitsgrad; t-value: Prüfgröße; p-value: Signifikanzwert)

	Value	Std.Error	p-value
(Intercept)	85.60003	16.398210	0.0000
TST-Gruppe	10.24247	5.643965	0.0854
time	13.29121	0.314821	0.0000
Alter	0.36073	0.094685	0.0012

Tabelle 9b: Ergebnisse des modifizierten Modells für die Weidesaison 2011
 Fixed effects: Gew ~ time + Gruppe + Alter
 Number of Observations: 345; Number of Groups: 22
 (df: Freiheitsgrad; t-value: Prüfgröße; p-value: Signifikanzwert)

	Value	Std.Error	p-value
(Intercept)	389.3443	40.40462	0.0000
TST-Gruppe	2.4113	12.30472	0.8465
TT-Gruppe	-3.2942	12.46400	0.7941
time	14.3124	0.49982	0.0000
Alter	1.0365	0.16437	0.0000

Die Auswertung der Daten in der Multivarianzanalyse zeigte, dass das Gewicht der Tiere in der Weidesaison 2010 lediglich vom Alter der Tiere (p -Wert = 0.001; $p < 0.05$) und der Zeit (p -Wert = 0.000; $p < 0,05$) abhängig war und die Gruppenzugehörigkeit keinen Einfluss hierauf hatte (p -Wert = 0.085 ; $p > 0.05$). Abbildung 13 zeigt die Gewichtsentwicklung der Einzeltiere beider Versuchsgruppen in der Weidesaison 2010. In der Kontroll-Gruppe ist die Varianz größer als in der TST-Gruppe. Da dies aber sowohl am Anfang als auch am Ende der Weidesaison der Fall ist, kann insgesamt von einem gleichbleibenden Trend gesprochen werden.

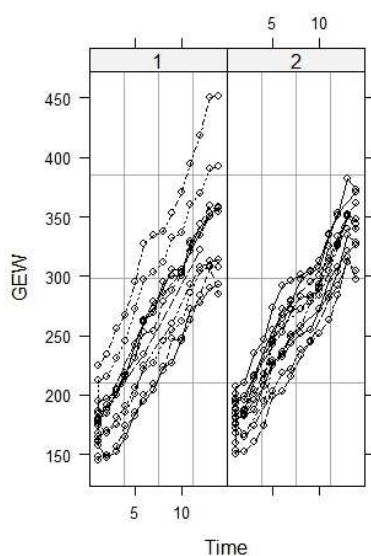


Abbildung 13: Gewichtsentwicklung der Einzeltiere beider Gruppen während der Weidesaison 2010
 (1: Kontroll-Gruppe; 2: Targeted Selective Treatment-Gruppe)

Die EpG wurde durch die Variablen Alter, Zeit und Rasse beeinflusst und für den BCS der Tiere waren die Alter-Zeit-Interaktion sowie die Rasse entscheidend. Hierbei ist zu beachten, dass die beiden Variablen Alter und Zeit stark miteinander korrelieren und dieselbe Information beinhalten. Die Auswertung der Daten aus der Weidesaison 2011 bestätigten diese Ergebnisse; auch hier hatte nur das Alter der Tiere (p -Wert = 0.000; $p < 0.05$) und die Zeit (p -Wert = 0.000; $p < 0.05$) Einfluss auf die Gewichtsentwicklung. Die Gruppenzugehörigkeit beeinflusste diese nicht (p -Wert für TST-Gruppe = 0.847; p -Wert für TT-Gruppe = 0.794; $p \gg 0.05$). Die Gewichtsentwicklung der Einzeltiere der drei Versuchsgruppen in der Weidesaison 2011 ist in Abbildung 14 dargestellt. Sowohl in der Kontroll-Gruppe als auch in der TST-Gruppe ist die Varianz größer als in der TT-Gruppe. Wie schon für die Weidesaison 2010 beschrieben, ist der Trend aber auch hier gleichbleibend. In der Kontroll- und der TST-Gruppe sind zudem jeweils potentielle Ausreißer zu sehen. Da in beiden Versuchsjahren die Gruppenzugehörigkeit kein Einfluss auf die Gewichtsentwicklung der Tiere hatte, wurden in der vorliegenden Studie Schwellenwerte für die Entscheidungsparameter BCS, DWG und EpG erfolgreich erprobt.

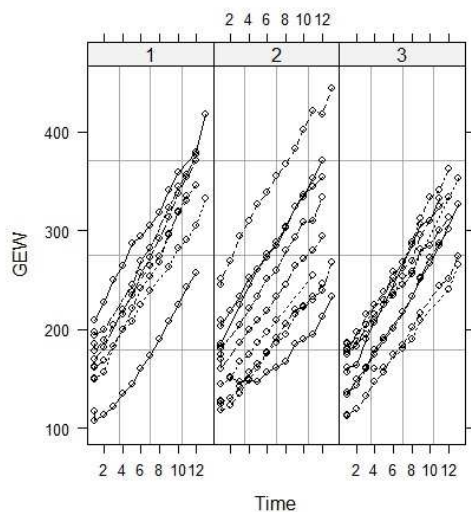


Abbildung 14: Gewichtsentwicklung der Einzeltiere der drei Gruppen während der Weidesaison 2011 (1: Kontroll-Gruppe; 2: Targeted Selective Treatment-Gruppe; 3: Targeted Treatment-Gruppe)

Anschließend wurde die Anpassungsgüte des angewandten Modells untersucht. Die Residuen sollten zufällig um Null verteilt sein und dürfen keinen Trend aufweisen, d.h. es muss Homoskedastizität vorliegen. Dies ist in den Abbildungen 15a und 15b für die Daten der Weidesaison 2010 bzw. 2011 dargestellt. Die Analyse der Residuen zeigt eine gleichmäßige

Verteilung der Daten und auch die Standardabweichung ist um den Nullwert gestreut (siehe Abbildungen 16a und 16b).

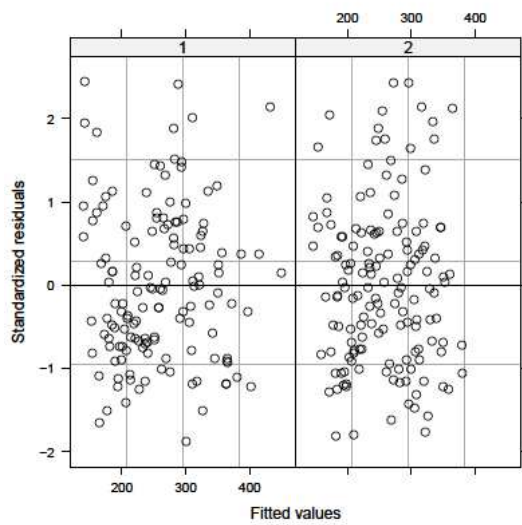


Abbildung 15a: Verteilung der Residuen 2010 (1: Kontroll-Gruppe; 2: Targeted Selective Treatment-Gruppe)

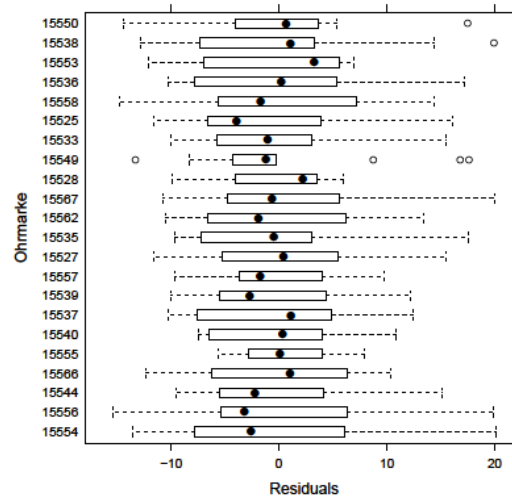


Abbildung 16a: Standardabweichung der Residuen 2010

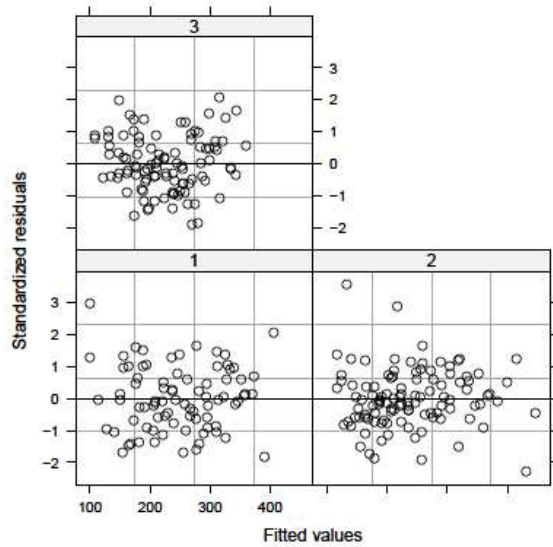


Abbildung 15b: Verteilung der Residuen 2011 (1: Kontroll-Gruppe; 2: Targeted Selective Treatment-Gruppe; 3: Targeted Treatment-Gruppe)

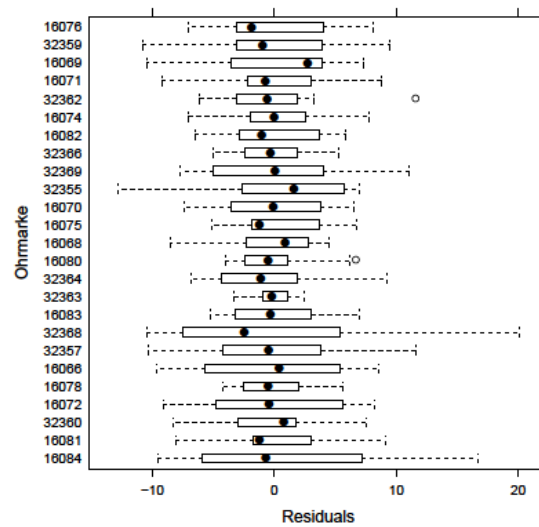


Abbildung 16b: Standardabweichung der Residuen 2011

Dies zeigt, dass das angewandte Modell zur Auswertung der vorliegenden Daten gut geeignet ist. In Abbildung 17a und 17b wird mit Hilfe von QQ-Plots der Residuen im Modell deren Normalverteilung dargestellt.

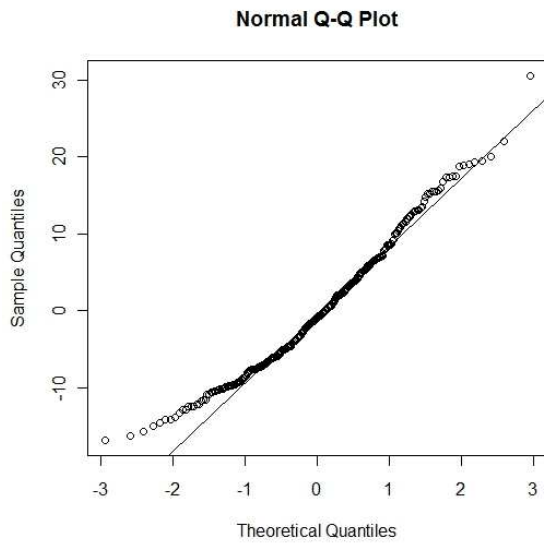


Abbildung 17a: QQ-Plot der Residuen 2010

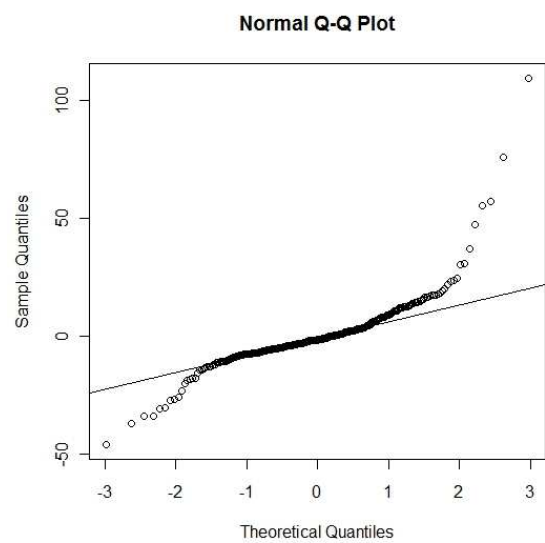


Abbildung 17b: QQ-Plot der Residuen 2011

Die QQ-Plots zeigen Abweichungen von der Linie im Bereich der größeren Quantile ("fat tails"); dies könnte durch Ausreißer erklärt werden.

4.5 Verfahren zur Detektion von Anthelminthika-Resistenzen

4.5.1 Eizahlreduktionstest (EZRT)

In der Weidesaison 2010 wurden die Versuchsgruppen mit IVM (Ivomec®; 0,2 mg/kg s.c.) behandelt. Hierbei konnte für 11 Tiere die EZR für die Tage 14 und 28 nach Behandlung berechnet werden. Es wurde im Gruppenmittel für IVM eine Wirksamkeit von 83 % an Tag 14 und 82 % an Tag 28 festgestellt. Die EpGs der Einzeltiere, welche mit IVM behandelt wurden, sind in den Tabellen 10 dargestellt.

Tabelle 10: EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Ivermectin (Ivomec®, Merial)
(EpG: Eizahl pro Gramm Kot; Tag 0: Tag der Behandlung; Tag 14 bzw. 28: 14 bzw. 28 Tage nach der Behandlung)

Behandlungsdatum	Ohrmarke	EpG (Tag 0)	EpG (Tag 14)	EpG (Tag 28)
28.06.2010	15527	33	0	0
s.o.	15535	33	33	0
s.o.	15539	264	33	0
s.o.	15544	231	33	0
s.o.	15554	99	33	66
s.o.	15556	264	66	99
s.o.	15557	369	0	0
s.o.	15566	330	33	33
23.08.2010	15544	33	0	99
s.o.	15557	33	0	33
06.09.2010	15538	297	0	0

Aufgrund der verminderten Wirksamkeit von IVM wurde in der Weidesaison 2010 zusätzlich der Wirkstoff ABZ (Valbazen®; 7,5 mg/kg oral) eingesetzt. Für diesen Wirkstoff konnte bei 3 Tieren ein EZRT nach 14 Tagen durchgeführt und die EZR berechnet werden. Diese lag bei 98 %. Die EpGs der Einzeltiere mit ABZ-Behandlung sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Albendazol (Valbazen®, Elcano Animal Health)
(k.A. = keine Angabe; EpG: Eizahl pro Gramm Kot; Tag 0: Tag der Behandlung; Tag 14: 14 Tage nach der Behandlung)

Behandlungsdatum	Ohrmarke	EpG (Tag 0)	EpG (Tag 14)
26.07.2010	15554	66	0
s.o.	15556	99	0
s.o.	15566	33	k.A.

In der Weidesaison 2011 wurde zur anthelminthischen Behandlung der Versuchstiere Moxidectin (Cydectin1 ®; 0,2 mg/kg s.c.) eingesetzt. Für diesen Wirkstoff konnte bei 7 Rindern für die Tage 14 und 28 nach Behandlung die EZR berechnet werden. Im Gruppenmittel betrug Wirksamkeit von Moxidectin 83 % an Tag 14 und 35 % an Tag 28. Die EpGs der Einzeltiere mit Moxidectin-Behandlung sind in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Moxidectin (Cydectin 1 ®, Pfizer) (EpG: Eizahl pro Gramm Kot; Tag 0: Tag der Behandlung; Tag 14 bzw. 28: 14 bzw. 28 Tage nach der Behandlung)

Behandlungsdatum	Ohrmarke	EpG (Tag 0)	EpG (Tag 14)	EpG (Tag 28)
12.07.2011	16069	198	66	132
s.o.	16074	165	66	66
s.o.	16076	297	0	165
s.o.	32366	66	0	0
09.08.2011	16072	33	0	66
s.o.	16081	33	0	0
s.o.	16084	33	0	66

Da 14 Tage nach Moxidectin-Behandlung bei einigen Tieren eine unvollständige EZR vorlag, wurde in der Weidesaison 2011 als zusätzlicher Wirkstoff Fenbendazol (Panacur 10 %; 7,5 mg/kg oral) eingesetzt. Bei 9 Rindern konnte für diesen Wirkstoff ein EZRT für den Tag 14 nach Behandlung berechnet werden. Im Gruppenmittelwert lag die Wirksamkeit für Fenbendazol bei 95 %. Die EpGs der Einzeltiere mit Fenbendazol-Behandlung sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: EpGs der Tiere vor und nach Behandlung mit Fenbendazol (Panacur 10 %®, Intervet)
(EpG: Eizahl pro Gramm Kot; Tag 0: Tag der Behandlung; Tag 14: 14 Tage nach der Behandlung)

Behandlungsdatum	Ohrmarke	EpG (Tag 0)	EpG (Tag 14)
06.09.2011	16072	66	33
s.o.	16078	198	0
s.o.	16084	66	0
s.o.	16069	33	0
s.o.	16071	165	0
s.o.	32362	495	0
s.o.	16074	33	0
s.o.	16076	198	0
s.o.	16083	693	66

Tabelle 14 gibt einen Überblick der Ergebnisse der EZRTs für die verschiedenen Wirkstoffe; zusätzlich ist hier das 95 %-CI mit angegeben.

Tabelle 14: Übersicht Ergebnisse der EZRT
(n: Anzahl der untersuchten Tiere; EZR: Eizahlreduktion; k.A.: keine Angabe; 95 % CI: 95 %-Konfidenzintervall Tag 14 bzw. 28: 14 bzw. 28 Tage nach der Behandlung)

Wirkstoff	n	EZR in %	95 % CI	EZR in %	95 % CI
		Tag 14	Tag 14	Tag 28	Tag 28
Ivermectin	11	83	57-97	82	60-97
Albendazol	3	98	97-100	k.A.	k.A.
Moxidectin	7	83	41-100	35	0-79
Fenbendazol	9	95	80-100	k.A.	k.A.

4.5.2 Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA)

Mit dem LMIA wurde festgestellt, ob die dritten Larven aus den Kotkulturen der Tiere, welche nach Behandlung mit ML (2010 - IVM, 2011 - Moxidectin) noch eine positive EpG zeigten, empfindlich gegenüber IVM sind. Es wurde eine Dosis-Wirkungskurve auf Basis des inhibitorischen Effektes verschiedener Konzentrationen des Wirkstoffes erstellt. Die Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve ("Hill-slope") des LMIA, welcher mit den dritten Larven aus Trenthorst durchgeführt wurde, unterschied sich sowohl 2010 als auch 2011 signifikant (p -Werte < 0.0001) von der Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve eines LMIA, welcher mit sensiblen *C. oncophora*-Larven durchgeführt wurde. Die EC_{50} -Werte sind in Tabelle 15 zusammen mit den 95 %-CI, dem Determinationskoeffizient (R^2) und dem Signifikanzwert (p -Wert) angegeben. Die Dosis-Wirkungskurven für die LMIA der Weidesaison 2010 und 2011 sind in Abbildung 18a und 18b dargestellt.

Tabelle 15: mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) von Ivermectin (IVM), 95 %-Konfidenzintervallen (95 % CI), Determinationskoeffizient (R^2) und Signifikanzwert (p -Wert) für den Larven-Migrations-Inhibitions-Assay (LMIA) der Weidesaison 2010 und 2011 im Vergleich zu in der Literatur angegebenen Referenzwerten (Demeler et al., 2010).

L ₃ aus der Weidesaison	EC_{50} IVM (in nM)	95 % CI (in nM)	R^2	p -Wert
2010	328	170- 635	0.978	<0.0001
2011	212	133- 336	0.993	<0.0001
L ₃ <i>C. oncophora</i> (sensibel)	107	98,4 – 116,7	0,97	

LMIA nach Ivermectin-Behandlung (2010)

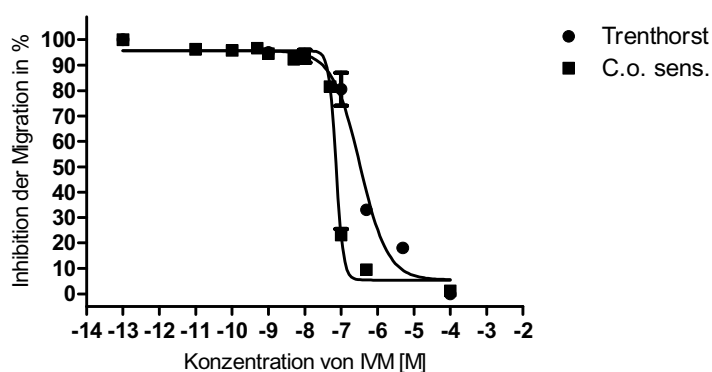


Abbildung 18a: Dosis-Wirkungskurve des Larven-Migrations-Inhibitions-Tests der Weidesaison 2010 (C.o.sens.: *Cooperia oncophora* sensibel, Trenthorst: Feldisolat nach Ivermectin-Behandlung)

LMIA nach Moxidectin-Behandlung (2011)

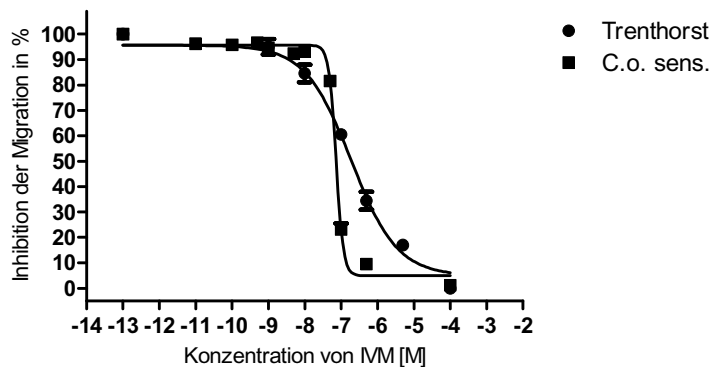


Abbildung 18b: Dosis-Wirkungskurve des Larven-Migrations-Inhibitions-Tests der Weidesaison 2011 (C.o.sens.: *Cooperia oncophora* sensibel, Trenthorst: Feldisolat nach Moxidectin-Behandlung)

4.5.3 Qualitative Polymerasekettenreaktion im Anschluß an die Larven-Migrations-Inhibitions-Assays (LMIA)

Im Abschluß an den LMIA wurde aus den gewanderten und nicht gewanderten Larven getrennt DNA isoliert und eine qualitative PCR, wie in Kapitel 3.2.5.2 beschrieben, durchgeführt. In dem Test der Weidesaison 2010 wurden für die DNA-Isolation nur Larven berücksichtigt, welche bei den IVM-Konzentrationen 10^{-3} M und 10^{-4} M 24 Stunden inkubiert worden sind. Diese wurden nach Ende des Testes in den Fraktionen "gewandert" und "nicht-gewandert" gepoolt. Das Bild der Gelelektrophorese der PCR im Anschluss an den LMIA aus der Weidesaison 2010 zeigte, dass unter Verwendung des *O. ostertagi* - Primerpaars keine Bande im Bereich der Probe 65.2 (d.h. im LMIA gewanderte Larven) zu sehen ist (siehe Abbildung 19a und 19b).

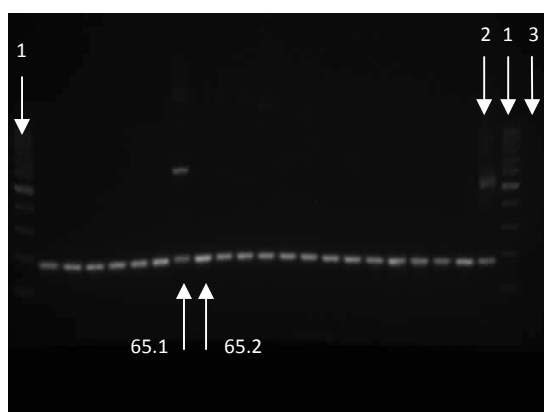


Abbildung 19a: C.o.-Primerpaar

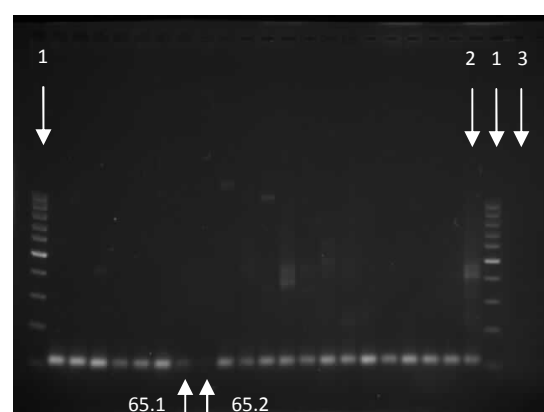


Abbildung 19b: O.o.-Primerpaar

Abbildung 19a und 19b: Qualitative PCR: Proben 59-77 (2010); Probe 65.1: im LMIA nicht gewanderte Larven, Probe 65.2: im LMIA gewanderte Larven (1: 100 Basenpaar-Marker; 2: Positiv-Kontrolle; 3: Negativ-Kontrolle)

Bei dem LMIA, welcher mit dritten Larven aus der Weidesaison 2011 durchgeführt wurde, wurden separat bei allen verwendeten IVM-Konzentrationen aus den am Ende des Testes gewanderten bzw. nicht gewanderten Larven getrennt DNA isoliert. Die Bilder der Gelelektrophorese sind in den Abbildungen 20a und 20b dargestellt.

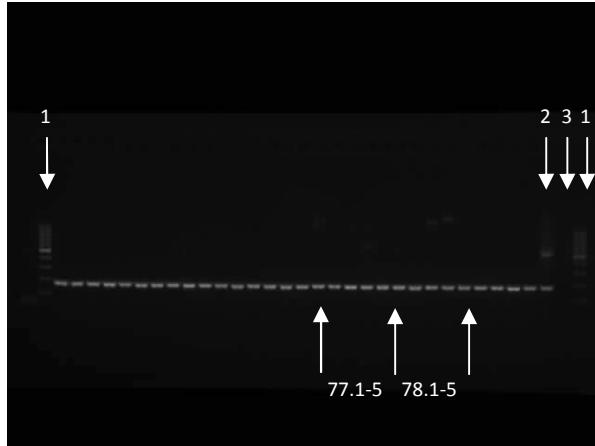


Abbildung 20a: C.o.-Primerpaar

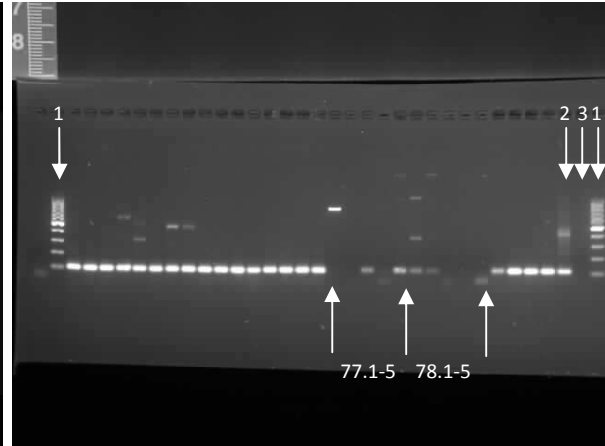


Abbildung 20b: O.o.-Primerpaar

Abbildung 20a und 20b: Qualitative PCR: Proben 61-82 (2011);
 Probe 77.1: bei IVM-Konzentration von 10^{-3} M im LMIA gewanderte Larven;
 Probe 77.2: bei IVM-Konzentration von 10^{-4} M im LMIA gewanderte Larven;
 Probe 77.3: bei IVM-Konzentration von 2×10^{-5} M im LMIA gewanderte Larven;
 Probe 77.4: bei IVM-Konzentration von 2×10^{-6} M im LMIA gewanderte Larven;
 Probe 77.5: bei IVM-Konzentration von 2×10^{-7} M im LMIA gewanderte Larven;
 Probe 78.1: bei IVM-Konzentration von 10^{-3} M im LMIA nicht gewanderte Larven;
 Probe 78.2: bei IVM-Konzentration von 10^{-4} M im LMIA nicht gewanderte Larven;
 Probe 78.3: bei IVM-Konzentration von 2×10^{-5} M im LMIA nicht gewanderte Larven;
 Probe 78.4: bei IVM-Konzentration von 2×10^{-6} M im LMIA nicht gewanderte Larven;
 Probe 78.5: bei IVM-Konzentration von 2×10^{-7} M im LMIA nicht gewanderte Larven
 (1: 100 Basenpaar-Marker; 2: Positiv-Kontrolle; 3: Negativ-Kontrolle; IVM: Ivermectin)

Auch hier sind unter Verwendung des *O. ostertagi* - Primerpaars keine Banden im Bereich der Proben 77.1, 77.2, 78.3, 78.4 und 78.5 zu sehen.

5 Diskussion

Ziel dieser Studie war es, Entscheidungsparameter für die Anwendung von alternativen Behandlungsstrategien zur Endoparasitenbekämpfung zu finden. Diese sollten zugleich kostengünstig sowie einfach in der Anwendung sein und behandlungswürdige Tiere sicher identifizieren. Hierfür wurden in den Jahren 2010 und 2011 während der Weidesaison bei natürlich infizierten erstsömmrigen Rindern des Thünen-Instituts für Ökologischen Landbau, Trenthorst, in zweiwöchentlichen Intervallen das KGW, der BCS und die Eiausscheidung bestimmt sowie Blutproben gezogen. Außerdem wurde sowohl koproskopisch als auch serologisch eine Infektion mit *F. hepatica* und *D. viviparus* untersucht.

Mit Hilfe des Sedimentationsverfahrens bzw. des Trichter-Auswanderungsverfahren konnte zu keinem Untersuchungszeitpunkt ein Befall mit Leberegeln bzw. Lungenwürmern nachgewiesen werden. Auch in dem serologischen Untersuchungsverfahren wurden keine Antikörper gegen *F. hepatica* nachgewiesen; der durchgeführte ELISA untermauerte folglich die negativen Ergebnisse des Sedimentationsverfahrens. Die negativen Ergebnisse des Trichterauswanderungsverfahrens, konnten jedoch durch die Serologie nicht bestätigt werden. In der Weidesaison 2010 wurden am 28.06.2010, am 12.07.2010 und am 20.09.2010 mit Hilfe des ELISAs bei insgesamt sechs Tieren Antikörper gegen *D. viviparus* nachgewiesen. Zum einen zeigt dieses Ergebnis, dass der serologische Nachweis von *D. viviparus*-Befall scheinbar sensitiver ist als das eingesetzte koproskopische Untersuchungsverfahren. Zum anderen ist zu bemerken, dass fünf der seropositiven Tiere der TST-Gruppe angehörten, während nur ein Tier aus der Kontrollgruppe einen positiven Titterspiegel im ELISA zeigte. Beim Einsatz von alternativen Behandlungsansätzen sollte deshalb, neben dem Befall mit MDS, auch immer ein möglicher Lungenwurmbefall mit berücksichtigt werden. Dies sollte aufgrund der höheren Sensitivität nach Möglichkeit mittels serologischer (Gruppen)Untersuchungen erfolgen. Es bleibt hierbei festzustellen, dass bei den Versuchstieren zu keinem Zeitpunkt klinische Erscheinungen registriert wurden, welche auf eine Lungenwurmerkrankung hindeuten könnten. Höglund (2006) zeigte in seiner Studie, dass es möglich war, Dictyocaulose nach dem Prinzip des TST von seropositiven Tieren mit Hilfe des Einsatzes von ML zu behandeln. Es bleibt aber festzustellen, dass eine vollständige Ausmerzungen der Krankheit nicht möglich war; trotz eines engmaschigen Monitorings über 3 Jahre und bei Bedarf erfolgten Einzeltierbehandlungen traten weiterhin Infektionen auf.

In der hier durchgeführten Studie waren die Entscheidungskriterien für eine gezielte Verabreichung von Anthelminthika an behandlungswürdige Tiere entweder eine Kombination von einer hohen MDS-Eizahl pro Gramm Kot (EpG) (≥ 250) und einer geringen Tageszunahme (≤ 250 Gramm/Tag) bezogen auf den letzten Beprobungstermin oder einer hohen EpG (≥ 250) in Kombination mit einem sinkenden BCS. Hierbei ist zu beachten, dass es für Rinder bisher keinen empfohlenen Cut-off Wert für die EpG gibt. Der Schwellenwert von 250 Eiern pro Gramm Kot entspricht den Angaben aus dem Pferdebereich (Von Samson-

Himmelstjerna 2011) und bei der Übertragung auf das Rind muss dieser an die regionalen Einflüsse wie z.B. Infektionserreger, Infektionsdruck und Haltungssystem angepasst werden. Da in unseren Regionen beim Rind Infektionen mit *Haemonchus spp.* nur sporadisch auftreten, ist die EpG als Entscheidungsparameter geeignet. Andernfalls müsste auch eine eventuell auftretende Anämie mit in das Monitoring einbezogen werden. Dies haben Vatta et al. (2001) im Bereich der kleinen Wiederkäuer mit Hilfe des FAAffaMAAlanCHArts (FAMACHA) erfolgreich umgesetzt; für Rinder gibt es jedoch bislang keine Erfahrungswerte zu der Anwendung dieses Systems. Es ist weiterhin zu berücksichtigen, dass bei Infektionen mit MDS die Eiausscheidung der adulten Würmer nicht kontinuierlich erfolgt; bei Rindern besteht keine deutliche Korrelation zwischen der EpG und der Wurmbürde (Sangster and Dobson 2002). Das in dieser Studie für die Erhebung der EpGs eingesetzte McMaster-Verfahren besitzt eine Sensitivität von 33 Eiern pro Gramm Kot. Bei geringgradigem Befall kann es gelegentlich zu falsch negativen Ergebnissen kommen. Trotz der genannten Nachteile ist die Erhebung der EpG mittels McMaster-Verfahren mangels Alternativen die am besten geeignete Methode zur Feststellung einer MDS-Infektion beim Rind. Außerdem wurde im Studienverlauf zu keinem Zeitpunkt ein sinkender BCS ohne eine dazu passende hohe EpG festgestellt. Dies deutet darauf hin, dass bei relevantem Infektionsdruck eine entsprechende EpG ermittelt und der Schwellenwert überschritten wird.

In der Literatur wird angegeben, dass bei weiblichen Aufzuchttrindern der Rasse "Schwarzbunte" eine tägliche Zunahme von 630g/Tag angestrebt wird (Jeroch, Drochner et al. 1999). In dieser Studie lag der entsprechende Cut-off Wert deutlich unter dieser Angabe, da auch andere Faktoren Einfluss auf die Gewichtsentwicklung haben und die Versuchstiere des Instituts für ökologischen Landbaus extensiv gehalten und gefüttert werden. Es sollte zudem beachtet werden, dass eine reduzierte Tageszunahme der Tiere erst mit zeitlicher Verzögerung als Folge der MDS-Infektion auftritt. Die Körperkondition in Form des BCS wurde nach dem Schema von Edmonson et al. (1989) bewertet. Dieser Score wurde für die Beurteilung des BCS bei Milchkühen entwickelt und für die Beurteilung von Erstsömmrigen modifiziert, indem ergänzend die seitliche Brustwand als weiteres Kriterium durch Palpation der Rippen als neuer Bewertungspunkt miteinbezogen wurde (Raschke 2007). Gegebenenfalls sind die Schwellenwerte für eine Behandlungsentscheidung noch durch weitere Studien zu optimieren. Höglund et al. (2009) zeigten in ihrer Studie, dass die Tageszunahmen von erstsömmrigen Rindern in der Mitte der Weidesaison sowohl mit der EpG zu diesem Zeitpunkt als auch mit dem Gewicht bei der Aufstallung signifikant korrelieren. Es wird angegeben, dass die Tageszunahme eines Tieres in der Mitte der Weidesaison mit 70 % Sensitivität und 50 % Spezifität ein geeigneter Parameter für die Anwendung der TST-Strategie ist. Auch Eysker und Ploeger (2000) geben in ihrer Studie an, dass mit Hilfe der EpGs in der Mitte der Weidesaison auf das Infektionslevel der Tiere geschlossen werden kann. In dem durchgeführten und hier beschriebenen Versuch wurde sowohl die EpG als auch die

Tageszunahmen der Tiere in zweiwöchigen Abständen ermittelt; hier konnte zu keinem Zeitpunkt eine schlechte Tageszunahme errechnet werden, ohne dass eine entsprechende hohe EpG des Tieres detektiert wurde. Dies zeigt ebenfalls, dass Endoparasiten einen erheblichen Einfluss auf die Gewichtsentwicklung erstsömmriger Rinder haben und die Tageszunahmen der Tiere als Entscheidungsparameter für eine gezielte anthelminthische Behandlung prinzipiell geeignet sind. Ungünstig ist hierbei jedoch, dass die Einzeltiere für die Ermittlung der Tageszunahme gewogen werden müssen. Dies ist unter Praxisbedingungen auf vielen Betrieben nicht durchführbar. Eine Alternative wäre das Gewicht der Tiere mittels Maßband zu ermitteln; Heinrichs et al. (2007) zeigten in ihren Versuchen eine gute Wiederholbarkeit zwischen unterschiedlichen Untersuchern und eine gute Schätzung des tatsächlichen Körpergewichtes. Die am einfachsten im Feld anwendbare Methode zur Beurteilung der Körperkondition ist jedoch die Bestimmung des BCS. Kleinschmidt et al. (2009) gaben an, dass dieser Parameter wiederholt signifikant ($p\text{-value} < 0,0001$) mit dem ermittelten KGW korrelierte. Auch in der vorliegenden Studie konnte eine stark positive Korrelation zwischen dem KGW der Rinder und dem BCS gezeigt werden (2010: Korrelation = 0.814; $p\text{-value} = 0.000$; 2011: Korrelation = 0.750; $p\text{-value} = 0.000$).

Die Eiausscheidung war in beiden Versuchsjahren gering. Sowohl im Jahr 2010 als auch im Jahr 2011 erfüllte lediglich ein Tier aus der TST-Gruppe zu einem Zeitpunkt die Kriterien der Behandlungswürdigkeit; die TT-Gruppe erhielt während der Weideperiode 2011 an zwei Terminen aufgrund der Behandlungswürdigkeit von jeweils einem Tier eine gezielte Herdenbehandlung. In der Weidesaison 2010 war die maximale Eiausscheidung pro Gramm Kot bei beiden Versuchsgruppen im Juni erreicht; in der Weidesaison 2011 zeigte die TST- und die TT-Gruppe jeweils einen Anstieg der EpGs im Juni sowie einen Anstieg der Eiausscheidung Anfang September. Zum einen herrschten für die infektiösen dritten Larven witterungsbedingt in beiden Versuchsjahren suboptimale Lebensbedingungen, zum anderen stand den 22 bzw. 25 Versuchstiere eine Versuchsfläche von 5,84 Hektar zur Verfügung. Durch beide Faktoren erklärt sich, warum der Infektionsdruck für die Versuchstiere gering blieb. In einem weiteren Versuch könnte der Infektionsdruck durch künstliche Infektionen erhöht werden; Dimander et al. (2003) infizierten ihre Versuchstiere vor Austrieb beispielsweise mit je 5000 infektiösen *O. ostertagi*-Larven sowie 5000 *C. oncophora*-Larven, um einen gewissen Infektionsdruck zu garantieren. Dies war in dieser Studie aus betriebstechnischen Gründen nicht durchzuführen. Charlier et al. (2010) bestimmten mit Hilfe des Serum-Pepsinogentests während der Jahre 2006 und 2007 das Infektionslevel von *O. ostertagi* bei erstsömmrigen Rindern in Belgien, Schweden und Deutschland. Hierbei wurde festgestellt, dass in den meisten beprobten Herden das Infektionslevel mit dieser Spezies sehr niedrig war. Nur 2-6 % der untersuchten Herden waren mit einer Intensität befallen, welche zu Produktionseinbußen führen kann. Dieses Resultat lässt sich mit Ergebnissen zuvor in Schweden und in den Niederlanden durchgeführter Studien (Ploeger, Borgsteede et al. 2000;

Hoglund, Svensson et al. 2001) vereinen und entspricht ebenfalls dem niedrigen Infektionsdruck, welcher in der in Trenthorst durchgeführten Studie vorlag. Des Weiteren zeigten Charlier et al. (2010) in ihrer Studie, dass trotz des niedrigen Infektionslevels mit *O. ostertagi* auf ca. 80 % der untersuchten Betriebe regelmäßig Anthelminthika angewendet wurden. Borgsteede et al. (1998) und Ploeger et al. (2000) offenbarten dieses Phänomen zuvor in den Niederlanden und schlussfolgerten, dass ca. 30 % der von ihnen untersuchten Herden mit anthelminthischen Maßnahmen üerversorgt waren.

In der Weidesaison 2010 wurde in der Kontrollgruppe durchschnittlich pro Tier 1271,5 mg Anthelminthikum eingesetzt, während in der TST-Gruppe der durchschnittliche pro Tier-Verbrauch bei 5,5 mg Anthelminthikum lag und somit konnte der Verbrauch in dieser Gruppe folglich um 99,57 % reduziert werden. Orientiert man sich bei der Kostenanalyse an den auf der Internetseite www.vetidata.de angegebenen Netto-Einkaufspreisen, entstanden für die Kontrollgruppe pro Tier Behandlungskosten in Höhe von 3,58 Euro. Die Einzeltierbehandlungskosten in der TST-Gruppe betrug hingegen nur 0,14 Euro; mit Hilfe der gezielten selektiven Behandlung konnten also 96,09 % der pro Tier anfallenden Kosten für Anthelminthika eingespart werden. In der Weidesaison 2011 wurde in der Kontrollgruppe durchschnittlich pro Tier 5885,6 mg Anthelminthikum eingesetzt, während in der TT-Gruppe der durchschnittliche pro Tier-Verbrauch bei 2882,7 mg Anthelminthikum lag und somit konnte der Verbrauch in dieser Gruppe um 51 % reduziert werden. In der TST-Gruppe wurde in dieser Weidesaison pro Tier 222,2 mg Anthelminthikum eingesetzt, womit der Verbrauch im Vergleich zur Kontrollgruppe um 96,22 % gesenkt werden konnte. In diesem Jahr entstanden folgende Kosten für anthelminthische Behandlung pro Tier:

- Kontrollgruppe: 11,68 Euro

- TT-Gruppe: 3,47 Euro

- TST-Gruppe: 0,14 Euro

Die Kosten konnten im Vergleich zu der Kontrollgruppe folglich bei der TT-Gruppe um 70,29 % gesenkt werden, während bei der TST-Gruppe (im Vergleich zur Kontrollgruppe) sogar Einsparungen von 98,8 % erfolgten.

Neben der Vermeidung einer weiteren Resistenzentwicklung und den wirtschaftlichen Einsparungen haben die alternativen Behandlungsansätze auch einen positiven Effekt auf die Ausbildung einer belastbaren Immunität der Rinder. Antikörper gegen *C. oncophora* werden nach Parasitenkontakt in einem Zeitraum von 8-10 Wochen ausgebildet, bewirken eine verzögerte Larvenentwicklung und damit auch eine Reduktion von etablierten adulten Würmern im Gastrointestinaltrakt des Tieres (Gasbarre, Leighton et al. 2001). Dagegen entwickelt sich die Immunität gegen *O. ostertagi* nur sehr langsam, so dass die Rinder eine belastbare Immunität oft erst am Ende der zweiten Weidesaison erreichen. Dies ist u.a. ein

Grund für die große wirtschaftliche Bedeutung, welche Infektionen mit *O. ostertagi* in gemäßigten Klimazonen haben. Bei Jungtieren kommt es zu Entwicklungseinbußen und bei adulten Kühen werden wirtschaftlich bedeutende subklinische Milchleistungseinbußen beschrieben (Gasbarre, Leighton et al. 2001; Nodtvedt, Dohoo et al. 2002; Charlier, Claerebout et al. 2005; Perri, Mejia et al. 2011). Ohne den systematischen Einsatz von Anthelminthika haben die Immunsysteme der Tiere während der ersten Weideperioden die Möglichkeit sich mit Endoparasiten auseinanderzusetzen und eine belastbare Immunität zu entwickeln (Vercruysse, Hilderson et al. 1994; 1995; Claerebout, Vercruysse et al. 1998; Eysker, Boersema et al. 2000; Larsson, Ugglä et al. 2011). Es ist davon auszugehen, dass aufgrund einer solch verbesserten körpereigenen Abwehr sich gegebenenfalls die subklinischen Infektionen der Kühe und die daraus resultierenden Verluste in der Milchleistung reduzieren lassen. Durch die Anwendung einer gezielten anthelminthischen Behandlung während der ersten Weidesaison soll gleichzeitig den Entwicklungseinbußen der Jungtiere entgegengesteuert werden.

Bei der statistischen Auswertung des Projektes zeigte sich eine stark positive Korrelation zwischen dem KGW der Versuchsrinder und dem BCS (Weidesaison 2010: Korrelation = 0.814; p-value = 0.000; Weidesaison 2011: Korrelation = 0.750; p-value = 0.000). Da die Beurteilung der Körperkondition der Tiere anhand des BCS mit deutlich weniger Aufwand durchzuführen ist, wird diese Methode bereits routinemäßig im Rahmen des Herdenmanagements von Milchviehbetrieben eingesetzt. Die angegebenen Korrelationen zeigen, dass dieses Verfahren nach dem Schema von Edmonson et al. (1989) modifiziert nach Raschke et al. (2007) auch bei der Konditionsbeurteilung erstsömmriger Rinder eingesetzt werden kann.

Da die Verteilung der EpG diskret verläuft, wurden die Korrelationen zwischen Gewicht und EpG sowie zwischen BCS und EpG mittels "Kendall's Tau" berechnet. In beiden Fällen zeigte sich bei der statistischen Auswertung der Daten nur ein schwacher Zusammenhang. Die Variablen KGW der Rinder und EpG korrelierten in beiden Jahren schwach negativ (Weidesaison 2010: Korrelation = -0.135; p-value = 0.035; Weidesaison 2011: Korrelation = -0.158; p-value = 0.006), während die Korrelation zwischen dem BCS und der EpG in der Weidesaison 2011 entgegen der Erwartungen schwach positiv ausfiel (Korrelation = 0.014; p-value = 0.817). Hierbei ist jedoch zu beachten, dass dieser Wert nicht signifikant ist und im Studienverlauf zu keinem Zeitpunkt ein sinkender BCS ohne eine dazu passende hohe EpG festgestellt wurde. Bei der Interpretation der Werte sollte berücksichtigt werden, dass im durchgeführten Projekt sowohl die Anzahl der Versuchstiere als auch der Infektionsdruck sehr gering war. Aus anderen Daten, welche während der Jahre 2005 bis 2009 in neun verschiedenen Betrieben mit je 20 Versuchstieren erhoben wurden, ist eine negative Korrelation zwischen BCS und EpG abzulesen (bisher unveröffentlichte Daten, Demeler et al.).

Welchen Einfluss die Zugehörigkeit zu den unterschiedlichen Behandlungsgruppen auf die Gewichtsentwicklung der Tiere hat, wurde mittels Multivarianzanalyse (vgl. Ergebnisteil) ermittelt. Sowohl in der Weidesaison 2010 als auch in der Weidesaison 2011 bestimmte lediglich das Alter der Tiere deren unterschiedliche Gewichtsentwicklung; die Gruppenzugehörigkeit hatte keinen signifikanten Einfluss (Weidesaison 2010: p-Wert für TST-Gruppe = 0.085; Weidesaison 2011: p-Wert für TST-Gruppe = 0.847; p-Wert für TT-Gruppe = 0.794). Dies bedeutet, dass in dem durchgeführten Projekt trotz eines erheblich verringerten Einsatzes von Anthelminthika (2010: 99,57 % (TST-Gruppe); 2011: 51 % (TT-Gruppe) bzw. 96,22 % (TST-Gruppe)) keine Leistungseinbußen hingenommen werden mussten. Diese Feststellung sollte jedoch mit Hilfe weiterer Versuche im Rinderbereich verifiziert werden. Höglund et al. (2013) verglichen in Schweden die Entwicklung von erstsömmrigen Rindern, welche nach drei unterschiedlichen Strategien behandelt wurden. Der ersten Gruppe wurde zu keinem Zeitpunkt ein Anthelminthikum verabreicht, die zweiten Gruppe wurde regelmäßig mit Doramectin behandelt und in der dritten Gruppe wurden gezielt Einzeltiere behandelt, wenn ihre Tagesgewichtszunahme unterhalb der Zunahmen lag, welche die Tiere der schlechteren Hälfte der behandelten Gruppe erreichten. Zum Zeitpunkt der Aufstallung wurde in dieser Studie eine signifikant höhere Tageszunahme der behandelten Tiere im Vergleich zu den Tieren der TST-Gruppe festgestellt. Die Zunahmen der TST-Gruppe lagen jedoch signifikant deutlich über Tageszunahmen der Tiere der unbehandelten Gruppe. Der Anthelminthika-Einsatz in der TST-Gruppe wurde im Vergleich zur behandelten Kontrollgruppe um 92 % reduziert. Nach Angaben des Autors gab es während der über drei Jahre laufenden Studie keine Hinweise auf selektionsbedingte verminderte Wirksamkeit des Anthelminthikums in der strategisch behandelten Gruppe. In mit kleinen Wiederkäuern durchgeführten Studien wurde bereits mehrfach publiziert, dass aus verringertem AM-Einsatz keine Leistungseinbußen resultieren müssen: Leathwick et al. (2006) zeigten, dass sich bei einer Teilherdenbehandlung, bei der die schwersten 10 Prozent eines Schafbestandes nicht behandelt wurden, die Gewichtszunahmen nicht signifikant von einer vollständig behandelten Kontrollgruppe unterschieden. Greer et al. (2009) behandelten in ihrem Versuch Einzeltiere, die eine vorher bestimmte Mindestgewichtszunahme nicht erreichten. Hierdurch konnte, bei im Vergleich zu einer vollständig behandelten Kontrollgruppe identischer bzw. nur gering niedrigerer Zunahme, der Anthelminthika-Einsatz um 50 % reduziert werden.

Bei der Anwendung dieser alternativen Behandlungsansätze ist jedoch weiterhin zu berücksichtigen, dass der parasitäre Infektionsdruck auf den von Rindern beweideten Flächen bei jahrelangem Einsatz der TST- bzw. TT-Strategien steigen wird. Durch den Wegfall der regelmäßigen anthelminthischen Behandlungen vergrößert sich mit der Intrapopulation des Refugiums im Wirt auch die Suprapopulation des Refugiums auf der Weide. Dies bedingt neben einer Sicherung der genetischen Vielfalt auch einen erhöhten Infektionsdruck. Die Anwendung der alternativen Behandlungsstrategien sollten daher längerfristig immer mit

geeigneten Weidemanagement-Maßnahmen kombiniert werden. Dimander et al. (2003) zeigten in ihrem über 3 Jahre in Schweden durchgeführten Versuch, dass der Austrieb von erstsömmrigen Rindern auf eine im Vorjahr durch ältere Tiere beweidete Fläche in Kombination mit einem Umtrieb Mitte der Weidesaison auf eine zuvor zur Futtergewinnung gemähte Weide die Endoparasitenbelastung der Versuchsrinder deutlich senken konnte. Hierbei ist anzumerken, dass die Tageszunahmen der Tiere der Rotationsgruppe wiederholt nach dem Umweiden im Juli anstiegen. Im Rahmen der Studie wurde in jedem Jahr die Wurmbürde in Tracer-Tiere bestimmt. Diese lag bei den unbehandelten Kontrolltieren zwischen 40000-48000 Würmern, bei den mit IVM-Bolus behandelten Kontrolltieren im Mittel bei 1700 Würmern und bei den Versuchstieren, welche nach dem Rotationsprinzip verschiedene Flächen beweideten durchschnittlich bei 4100 Würmern.

Sowohl in der Weidesaison 2010 als auch in der Weidesaison 2011 wurde bei den Versuchstieren eine verminderte Wirksamkeit von ML festgestellt. Im Jahr 2010 traten 14 Tage nach IVM-Behandlung positive EpGs in der Kontrollgruppe auf; auch im Versuchsjahr 2011 kam es zu weiterbestehenden Eiausscheidungen während der vom Hersteller angegebenen Wirkdauer von Cydectin® (Wirkstoff Moxidectin). Das Vorliegen einer AR wurde mittels EZRT (siehe Seite 71) und LMIA (siehe Seite 74) überprüft. In der Weidesaison 2010 wurde der Wirkstoff IVM eingesetzt und es konnte bei 11 Tieren die EZR für die Tage 14 und 28 nach Behandlung berechnet werden. Hierbei betrug die Wirksamkeit von IVM im Gruppenmittel an Tag 14 83 % und an Tag 28 nach Behandlung 82 %. Beide Werte deuten nach Definition der W.A.A.V.P. (Coles, Bauer et al. 1992) auf das Vorliegen einer verminderten Wirksamkeit hin. Die Einzahlreduktion beträgt < 95 % und das untere 95 %-Konfidenzintervall liegt ebenfalls unter dem Cut-off-Wert von 90 %. In der Weidesaison 2011 wurde zur Behandlung der Tiere der Wirkstoff Moxidectin eingesetzt. Bei 7 Tieren konnte für die Tage 14 und 28 nach Behandlung die EZR errechnet werden. Im Gruppenmittel betrug die Wirksamkeit an Tag 14 83 % und an Tag 28 nach Behandlung 35 %. Auch hier ist also, in Verbindung mit der Interpretation der Werten des 95 %-Konfidenzintervalls nach W.A.A.V.P., von einer verminderten Wirksamkeit auszugehen. Der Einzahlreduktionstest für die Wirkstoffe aus der Gruppe der Benzimidazole gibt keinerlei Hinweise auf das Vorliegen einer Resistenz (EZR an Tag 14 nach Albendazol-Behandlung: 98 %; EZR an Tag 14 nach Fenbendazol-Behandlung: 95 %). Generell ist anzumerken, dass auch hier die geringe Sensitivität des McMaster-Verfahrens berücksichtigt werden muss. Es kann zu falsch negativen Ergebnissen kommen, welche eine Resistenz verschleiern. Zudem besteht bei Rindern keine deutliche Korrelation zwischen der EpG und der Wurmbürde (Sangster and Dobson 2002). Bei einer Stichprobe von 10-15 Tieren kann mit Hilfe des EZRT eine AR erst zuverlässig festgestellt werden, wenn bereits 25 % der Population resistent gegen den eingesetzten Wirkstoff sind. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Aussage von Meija et al. (2003), dass bei Rindern Resistenzen gegen ML häufiger vorkommen als

Resistenzen gegen BZ. Bei *Cooperia spp.* wurde in wissenschaftlichen Studien eine verminderte Wirksamkeit von IVM bisher häufiger beschrieben als bei *Ostertagia spp.* (Basler 2008). Lifschitz et al. (2000) begründen dies durch die unterschiedlich hohen Wirkstoffkonzentrationen, mit denen beide Spezies belastet werden. *O. ostertagia* lebt im Labmagen des Rindes und ist somit am Anfang des Verdauungstraktes höheren Konzentrationen an IVM ausgesetzt als die sich im Dünndarm befindenden Cooperien. Michei et al. (1969) und Anderson et al. (2000) weisen darauf hin, dass *Cooperia spp.* eine höhere Eiausscheidung haben als *Ostertagia spp.*. Dies bedeutet, dass auch die Resistenzweitergabe deutlich verstärkt erfolgen kann. Eine andere Theorie, welche das gehäufte Vorkommen von Resistenzen bei Cooperien erklären könnte, ist, dass aufgrund der geringen Pathogenität von Cooperien erhebliche klinische Erscheinungen meist ausbleiben. Wird in einem Bestand der Erfolg einer durchgeführten Entwurmung nicht kontrolliert, kann es dazu kommen, dass über Jahre Anthelminthika eingesetzt werden, welche keine volle Wirksamkeit besitzen. So erfolgt in dieser Parasitenpopulation dann eine Selektion in Richtung Resistenz.

Mit Hilfe der dritten Larven aus den Kotkulturen der Tiere, welche nach Behandlung mit ML noch eine positive EpG zeigten, wurde ein LMIA durchgeführt, um die verminderte Wirksamkeit von ML zu bestätigen. Hierzu wurden die aus den Kotkulturen der verschiedenen Tiere gewonnenen Larven gepoolt, um genügend L₃ für die Durchführung des Tests einsetzen zu können. Sowohl der für die Weidesaison 2010 als auch der für Weidesaison 2011 durchgeführte LMIA zeigte eine Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve, die sich signifikant (p-Wert < 0.0001) von der Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve eines LMIA, welcher mit sensiblen *C. oncophora*-Larven durchgeführt wurde, unterschied. Der EC₅₀-Wert von IVM lag für die Weidesaison 2010 bei $3,28 \times 10^{-7}$ M und für die Weidesaison 2011 bei einem Wert von $2,12 \times 10^{-7}$ M. Folgende Referenzwerte wurden für die Spezies *C. oncophora* angegeben (Demeler, Kuttler et al. 2010; Demeler, Kleinschmidt et al. 2012):

- Empfindliche Isolate: 8×10^{-8} - 1×10^{-7} M

- Teilresistente Isolate: $4-6 \times 10^{-7}$ M

- Resistente Isolate: 1×10^{-6} M

Beim Vorliegen einer Infektion mit *C. oncophora* können die oben angegebenen EC₅₀-Werte der Weidesaison 2010 und 2011 also sowohl in den Bereich der empfindlichen Isolate als auch in den Bereich der teilresistenten Isolate eingeordnet werden. Da sich die EC₅₀-Werte der Dosis-Wirkungs-Kurven aber signifikant (p-Wert < 0.0001) von dem EC₅₀-Wert der Dosis-Wirkungs-Kurve eines mit sensiblen *C. oncophora*-Larven durchgeführten LMIA unterscheiden und im Weideversuch keine vollständige Wirksamkeit der verabreichten Anthelminthika vorlag, sollten die Referenzwerte gegebenenfalls in Richtung Resistenz nach

unten korrigiert werden. Im Anschluss an die durchgeführten LMIA's wurde aus den gewanderten bzw. nicht gewanderten Larven getrennt DNA isoliert und mit Hilfe dieser gewonnenen DNA eine qualitative PCR zur Detektion von *C. oncophora* und *O. ostertagi* durchgeführt. In der Weidesaison 2010 zeigte sich, dass es nur *C. oncophora* möglich war, bei höheren IVM-Konzentration zu wandern. Bei Verwendung des *O. ostertagi*-Primerpaars ergab sich in der Gelelektrophorese beim Auftragen der entsprechenden Probe keine Bande. Die Ergebnisse der Weidesaison 2011 bestätigten dieses Resultat. Die oben erwähnte qualitative PCR wurde zusätzlich für alle Einzeltierproben während beider Weidesaisons durchgeführt. Hierbei wurden von jedem Tier zu jedem Untersuchungszeitpunkt Kotkulturen angelegt und die hieraus gewonnen dritten Larven mittels PCR untersucht. Lediglich in zwei Proben konnte eine Monoinfektion mit *Cooperia oncophora* nachgewiesen werden; in allen anderen untersuchten Proben waren sowohl die Spezies *C. oncophora* als auch die Spezies *O. ostertagia* nachweisbar. Dies bestätigt die Annahme, dass es sich bei natürlichen Feldinfektionen von Rindern in der Regel um Mischinfektionen handelt (Nilsson and Sorelius 1973).

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass mit Hilfe der alternativen Behandlungsstrategien erhebliche Anthelminthika-Einsparungen erzielt werden konnten ohne bedeutende Leistungseinbußen der Tiere in Kauf zu nehmen. Dies sollte in weiteren Versuchen, nach Möglichkeit mit höheren Tierzahlen, bestätigt werden. Da für diese Studie nur betriebseigene erstsömmrige Rinder eingesetzt werden konnten, mussten die Versuchsgruppen relativ klein gehalten werden. In der Weidesaison 2010 standen für den Versuch 22 weibliche Tiere zur Verfügung, welche in zwei Gruppen (Kontrollgruppe und TST-Gruppe) mit je 11 Tieren aufgeteilt wurden. Da für den Versuch in der Weidesaison 2011 nur 10 weibliche Rinder aus der betriebseigenen Nachzucht zur Verfügung standen und ein Zukauf weiterer weiblicher Tiere nicht möglich war, wurden in diesem Jahr auch männlichen Tiere der Nachzucht (15 Tiere) mit in die Studie aufgenommen; diese wurden vor Austrieb kastriert. In der Weidesaison 2011 wurden die Tiere in drei Gruppen aufgeteilt: in der Kontrollgruppe befanden sich 7 Tiere und die TST- sowie die TT-Gruppe beinhaltete jeweils 9 Tiere. Das Hauptaugenmerk des Versuchs lag auf dem verringerten Einsatz von Anthelminthika, um den Selektionsdruck in Richtung AR zu senken. Ein weiterer Effekt ist jedoch, dass mit diesen Einsparungen von Medikamenten auch Behandlungskosten reduziert werden; die alternativen Behandlungsstrategien sind somit auch von wirtschaftlichem Interesse. Bei der Anwendung von TT- oder TST-Strategien mit Hilfe der beschriebenen Entscheidungsparameter sollte beachtet werden, dass in diesem Rahmen kein Lungenwurm- oder Leberegelbefall detektiert wird. In prädisponierten Gebieten bzw. Herden sollten daher zusätzliche koproskopische bzw. serologische Untersuchungen durchgeführt werden, um einen eventuellen Befall mit diesen Spezies auszuschließen. Welche der beiden Strategien (TT oder TST) im Einzelfall die bessere ist, richtet sich nach den äußeren Faktoren. In kleineren Herden mit zutraulichen

Tieren kann ohne Probleme eine gezielte Einzeltierbehandlung erfolgen, während bei großen Herden mit hoher Besatzdichte aus betrieblichen Gründen die gezielte Herdenbehandlung vorzuziehen ist. Hier wäre eine regelmäßige Einzeltierbeurteilung zu kosten- und zeitintensiv. Ob die unterschiedlichen antiparasitären Behandlungsansätze einen Einfluss auf die weitere Entwicklung der Rinder in Hinsicht auf Fruchtbarkeit und Milchleistung haben, soll in einer weiteren Studie untersucht werden. Ausgesuchte Fruchtbarkeits- und Milchleistungsparameter werden für die in den Jahren 2010 und 2011 in den Versuch einbezogenen weiblichen Tiere bis in die zweite Laktationsperiode notiert und entsprechend der Gruppenzugehörigkeit (TST, TT, Kontrolle) der Tiere auf statistische Relevanz untersucht. Für den Vergleich mit einer unbehandelten Kontrollgruppe sollen Tiere aus früheren Jahren mit einbezogen werden.

6 Zusammenfassung

Optimierung der Parasitenbekämpfung bei Weidehaltung von Rindern

Magen-Darm-Strongyliden sind in der gemäßigten Klimazone sowie weltweit verbreitete Nematoden des Rindes. Am häufigsten kommen die Spezies *Cooperia oncophora* und *Ostertagia ostertagi* vor, welche den Labmagen sowie den Dünndarm der Tiere besiedeln. Dies ist in der Regel bei allen Rindern mit Weidegang der Fall. Die Verbreitung von Anthelminthika-Resistenzen gewinnt mittlerweile auch im Rinderbereich zunehmend an Bedeutung. In Europa, Neuseeland und Südamerika wurden bereits verminderte Wirksamkeiten von Anthelminthika in Rinderherden beschrieben. Aus diesem Grund sollte die strategische Herdenbehandlung durch alternative Bekämpfungsstrategien ersetzt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden Schwellenwerte für bereits entwickelte Parameter für die Anwendung von Targeted Selective Treatment und Targeted Treatment bei erstsömrrigen Rindern erprobt; die Entscheidungskriterien für eine gezielte Verabreichung von Anthelminthika an behandlungswürdige Tiere waren hierbei entweder eine Kombination von einer hohen Eizahl pro Gramm Kot (≥ 250) und einer geringen Tageszunahme (≤ 250 Gramm/Tag) bezogen auf den letzten Beprobungstermin oder eine hohe Eizahl pro Gramm Kot (≥ 250) in Kombination mit einem sinkenden Body Condition Score. In der Weidesaison 2010 wurden zwei Gruppen nach unterschiedlichen Strategien (Targeted Selective Treatment und Kontrolle) behandelt und von Mai bis November in 14tägigem Abstand beprobt; an jedem Termin wurden die Tiere gewogen, der Body Condition Score nach Edmonson et al. (1989) wurde bestimmt und es wurden Kot- sowie Blutproben genommen. Die Kotproben wurden mittels Sedimentations- sowie Auswanderungsverfahren untersucht und mit einer modifizierten McMaster-Methode analysiert, um die Eizahl pro Gramm Kot auf Einzeltierbasis bestimmen zu können. Mit Hilfe verschiedener Serum-Enzyme Linked Immunosorbent Assay wurden die Blutproben auf Antikörper gegen den Leberegel, *Fasciola hepatica*, und den Lungenwurm, *Dictyocaulus viviparus*, untersucht. In der Weidesaison 2011 wurde dieser Versuch mit modifiziertem Aufbau wiederholt. Es wurde jeweils eine Gruppe erstsömrriger Rinder nach der Strategie des Targeted Selective Treatment und des Targeted Treatment behandelt, sowie eine Kontrollgruppe regelmäßig entwurmt. Die Probennahme erfolgte während der Weidesaison von Mai bis November, wie im Vorjahr, in 14tägigen Abständen. Die statistische Auswertung des Projektes hat ergeben, dass trotz eines erheblich verringerten Anthelminthikaeinsatzes keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtsentwicklung der Gruppen auftraten. Außerdem bleibt festzustellen, dass während des Versuches bei den erstsömrrigen Rindern zu keinem Zeitpunkt klinische Erscheinungen auftraten, welche auf eine parasitäre Erkrankung hindeuteten. Die Eiausscheidung der Rinder war in beiden Versuchsjahren niedrig. Durch die Einsparung von Anthelminthika wurden auch die Behandlungskosten deutlich reduziert. Das Körpergewicht der Rinder korrelierte in

beiden Versuchsjahren stark positiv mit dem Body Condition Score; dieses Verfahren kann folglich bei der Konditionsbeurteilung erstsömmriger Rinder eingesetzt werden. Während der Versuchsdurchführung wurde bei den Erstsömmrigen sowohl in der Weisesaison 2010 als auch in der Weidesaison 2011 eine verminderte Wirksamkeit von Makrozyklischen Laktonen festgestellt. Das Vorliegen einer Anthelminthikaresistenz gegenüber Makrozyklischen Laktonen wurde mittels Eizahlreduktionstest und Larvenmigrationsinhibitionstest bestätigt. Der Eizahlreduktionstest für die Wirkstoffe aus der Gruppe der Benzimidazole ergab keinerlei Hinweise auf das Vorliegen einer Resistenz. Mit Hilfe aus den einzelnen im Larvenmigrationsinhibitionstest entstandenen Fraktionen gewonnener Desoxyribonukleinsäure wurde eine qualitative Polymerase-Kettenreaktion zur Detektion von *Cooperia oncophora* und *Ostertagia ostertagi* durchgeführt. Es zeigte sich, dass es nur *Cooperia oncophora* möglich war, bei höheren Ivermectin-Konzentration zu wandern. Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass die Anwendung von Targeted Selective Treatment oder Targeted Treatment Strategien sich auch im Jungrinderbereich als möglich erwiesen hat. Es konnten erfolgreich Schwellenwerte für Parameter identifiziert und im Feld angewendet werden, welche unter den beschriebenen Umweltbedingungen zu einer starken Reduktion von Anthelminthika ohne Folgeprobleme hinsichtlich Tiergesundheit oder Produktion geführt haben. Insbesondere für den ökologischen Landbau hat die weitere Erprobung dieser Behandlungsansätze großes Potential, da hier die rein präventive, strategische Verabreichung von Anthelminthika nicht möglich ist. Da bei der Anwendung von Targeted Treatment- oder Targeted Selective Treatment-Strategien mit Hilfe der beschriebenen Entscheidungsparameter kein Lungenwurm- oder Leberegelbefall detektiert wird, sollten in prädisponierten Gebieten bzw. Herden zusätzliche Untersuchungen durchgeführt werden. Zudem bedürfen die Ergebnisse der beschriebenen Studie einer weiteren Validierung mit Hilfe größerer Versuchsgruppen.

7 Summary

Optimisation of treatment strategies to control parasitic infections in grazing cattle

Gastrointestinal Nematodes are widespread nematodes of cattle in the temperate climate zone and worldwide. The most common species are *Cooperia oncophora* and *Ostertagia ostertagi*, which live in the abomasum and small intestine of generally all grazing cattle. The increase of anthelmintic resistance becomes more important in the cattle farming and milk production branch. In Europe, New Zealand and South America decreased efficacy of different anthelmintics has already been recorded. Therefore, systemic treatment of whole flocks is no longer justifiable and there is the need to develop other parasitic management strategies. The aim of this study was to evaluate thresholds for already developed parameters, which can be used for treatment decision in targeted selective treatment- and targeted treatment-strategies. The decision criterions for a selective usage of anthelmintics for heavily infected animals were either a combination of a high fecal egg count (≥ 250) and a low daily weight gain (≤ 250 gram/day) or a high fecal egg count (≥ 250) combined with a decreasing Body Condition Score. During the grazing-season in 2010 two groups of first-grazing cattle were treated in two different ways: One group served as control group and was regularly treated with Ivermectin (Ivomec®). The other group did not receive a systemic treatment; if required, the animals were treated according to targeted selective treatment-strategies. The calves were weighed, the Body Condition Score was measured and individual sampled (blood and faeces) in intervals of 14 days between May and November. The faecal samples were analysed using sedimentation, a Baerman-funnel system and the modified McMaster method to determine individual fecal egg count. The blood samples were examined using different Serum-Enzyme Linked Immunosorbent Assay to detect antibodies against *Fasciola hepatica* and *Dictyocaulus viviparus*. During the grazing-season in 2011 this approach was repeated in a modified set-up. Two group were treated according to targeted selective treatment-strategies and targeted treatment-strategies, respectively. A control group was regularly treated with anthelmintics. The sampling was repeated at intervals of 14 days during the grazing-season from May till November. The statistical analysis resulted in no significant difference in the total weight gain of the groups, although the usage of anthelmintics could be significantly reduced. Furthermore, clinical signs could not be detected at any time during the study. The fecal egg count of the first season grazing calves was low in both years. By reducing the usage of anthelmintics the treatment costs of the animals were kept markedly low. In both years there was a good correlation between the bodyweight and the Body Condition Score; this procedure seems to be suitable to evaluate the body condition of first season grazing cattle. In both years a decreased efficacy of macrocyclic lactones was noticed. The presence of anthelmintic resistance considering macrocyclic lactones was confirmed by the results obtained from a Faecal Egg Count Reduction Test and Larval Migration Inhibition Assay.

The Faecal Egg Count Reduction Test performed with anthelmintics belonging to the benzimidazole-group revealed no hints of anthelmintic resistance against this chemical group; there was no evidence for reduced efficacy of benzimidazole. Deoxyribonucleic acid isolation was performed using the larvae obtained from the Larval Migration Inhibition Assays (migrated and non-migrated). Both fractions were subsequently used to perform a qualitative polymerase chain reaction in order to detect the presence of *Cooperia oncophora* and *Ostertagia ostertagi*. It could be shown, that only *Cooperia oncophora* was able to migrate in the presence of high concentrations of Ivermectin. In total, the results of the present study show that it is possible to use targeted selective treatment- and targeted treatment-strategies also for young grazing cattle. Thresholds of decision parameters for the selection of treatment were successfully established and evaluated under field conditions, which led to a significant decrease in use of anthelmintics without problems regarding animal health and productivity. Particularly for the ecological farming system a great potential can be seen in these strategies as preventative and strategic anthelmintic use is greatly restricted here. Because the targeted selective treatment- and targeted treatment-strategies, using the parameter mentioned above, do not detect involvement of *Fasciola hepatica* and *Dictyocaulus viviparus*, there should be additional tests in predisposed areas. At least the described results need to be validated in further studies with more animals.

8 Literaturverzeichnis

Anderson, R. C. (2000):

Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission. 2nd.
Wallingford, UK: CABI Publishing.

Anziani, O. S.; Suarez, V.; Guglielmo, A. A.; Warnke, O.; Grande, H.; Coles, G. C. (2004):

Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina.
Veterinary Parasitology. 122(4), 303-6.

Anziani, O. S.; Zimmermann, G.; Guglielmo, A. A.; Vazquez, R.; Suarez, V. (2001):

Avermectin resistance in *Cooperia pectinata* in cattle in Argentina.
Vet Rec. 149(2), 58-9.

Bairden, K.; Armour, J.; Duncan, J. L. (1995):

A 4-year study on the effectiveness of alternate grazing of cattle and sheep in the control of bovine parasitic gastro-enteritis.
Veterinary Parasitology. 60(1-2), 119-32.

Barger, I. A.; Southcott, W. H. (1975):

Control of nematode parasites by grazing management-I. Decontamination of cattle pastures by grazing with sheep.
Int J Parasitol. 5(1), 39-44.

Basler, I. (2008):

Anthelminthikaresistente Nematoden beim Rind - eine Literaturstudie., Ludwig-Maximilians-Universität München, Dissertation.

Bennema, S. C.; Vercruyse, J.; Morgan, E.; Stafford, K.; Høglund, J.; Demeler, J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Charlier, J. (2010):

Epidemiology and risk factors for exposure to gastrointestinal nematodes in dairy herds in northwestern Europe.
Veterinary Parasitology. 173(3-4), 247-54.

Berghen, P.; Hilderson, H.; Vercruyse, J.; Dorny, P. (1993):

Evaluation of pepsinogen, gastrin and antibody response in diagnosing ostertagiasis.

Veterinary Parasitology. 46(1-4), 175-95.

Besier, R. B. (2008):

Targeted treatment strategies for sustainable worm control in small ruminants.

Trop Biomed. 25(1 Suppl), 9-17.

Boersema, J. H. (1983):

Possibilities and limitation in the detection of anthelmintic resistance. CEC Workshop, Lelystad.

Boisvenue, R. J.; Brandt, M. C.; Galloway, R. B.; Hendrix, J. C. (1983):

In vitro activity of various anthelmintic compounds against *Haemonchus contortus* larvae.

Veterinary Parasitology. 13(4), 341-7.

Borgsteede, F. H.; Sol, J.; van Uum, A.; de Haan, N.; Huyben, R.; Sampimon, O. (1998):

Management practices and use of anthelmintics on dairy cattle farms in The Netherlands: results of a questionnaire survey.

Veterinary Parasitology. 78(1), 23-36.

Borgsteede, F. H.; Tibben, J.; Cornelissen, J. B.; Agneessens, J.; Gaasenbeek, C. P. (2000):

Nematode parasites of adult dairy cattle in the Netherlands.

Veterinary Parasitology. 89(4), 287-96.

Broughan, J. M.; Wall, R. (2007):

Faecal soiling and gastrointestinal helminth infection in lambs.

Int J Parasitol. 37(11), 1255-68.

Buerger, H.-J.; Stoye, M. (1968):

Parasitologische Diagnostik: Eizählung und Larvendifferenzierung.

Therapogen Praxisdienst. 2, 1-24.

Cabaret, J. (2008):

Pro and cons of targeted selective treatment against digestive-tract strongyles of ruminants.
Parasite. 15(3), 506-9.

Campbell, W. C.; Benz, G. W. (1984):

Ivermectin: a review of efficacy and safety.
J Vet Pharmacol Ther. 7(1), 1-16.

Campbell, W. C.; Fisher, M. H.; Stapley, E. O.; Albers-Schonberg, G.; Jacob, T. A. (1983):

Ivermectin: a potent new antiparasitic agent.
Science. 221(4613), 823-8.

Charlier, J.; Claerebout, E.; Duchateau, L.; Vercruyse, J. (2005):

A survey to determine relationships between bulk tank milk antibodies against *Ostertagia ostertagi* and milk production parameters.
Veterinary Parasitology. 129(1-2), 67-75.

Charlier, J.; Demeler, J.; Hoglund, J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Dorny, P.; Vercruyse, J. (2010):

Ostertagia ostertagi in first-season grazing cattle in Belgium, Germany and Sweden: general levels of infection and related management practices.
Veterinary Parasitology. 171(1-2), 91-8.

Charlier, J.; Demeler, J.; Hoglund, J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Dorny, P.; Vercruyse, J. (2010):

Ostertagia ostertagi in first-season grazing cattle in Belgium, Germany and Sweden: General levels of infection and related management practices.
Veterinary Parasitology. 171(1-2), 91-98.

Charlier, J.; Dorny, P.; Levecke, B.; Demeler, J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Hoglund, J.; Vercruyse, J. (2011):

Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited.

Res Vet Sci. 90(3), 451-6.

Charlier, J.; Duchateau, L.; Claerebout, E.; Williams, D.; Vercruyse, J. (2007):

Associations between anti-Fasciola hepatica antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds.

Prev Vet Med. 78(1), 57-66.

Charlier, J.; Hoglund, J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Dorny, P.; Vercruyse, J. (2009):

Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control.

Veterinary Parasitology. 164(1), 70-9.

Charlier, J.; Vercruyse, J.; Smith, J.; Vanderstichel, R.; Stryhn, H.; Claerebout, E.; Dohoo, I. (2010):

Evaluation of anti-Ostertagia ostertagi antibodies in individual milk samples as decision parameter for selective anthelmintic treatment in dairy cows.

Prev Vet Med. 93(2-3), 147-52.

Chiu, S. H. L.; Lu, A. Y. H. (1989):

Metabolism and Tissue Residues.

In: Ivermectin and Abamectin. / Hrsg. W. C. Campbell. - New York, NY: Springer Verlag. - S. 129-143.).

Christensen, C. M.; Zarlenga, D. S.; Gasbarre, L. C. (1994):

Ostertagia, Haemonchus, Cooperia, and Oesophagostomum: construction and characterization of genus-specific DNA probes to differentiate important parasites of cattle.

Experimental Parasitology. 78(1), 93-100.

Claerebout, E.; Vercruyse, J.; Dorny, P.; Demeulenaere, D.; Dereu, A. (1998):

The effect of different infection levels on acquired resistance to gastrointestinal nematodes in artificially infected cattle.

Veterinary Parasitology. 75(2-3), 153-67.

Coles, G. C. (1988):

Arrested larval development and anthelmintic resistance in cattle nematodes.

Parasitol Today. 4(4), 106.

Coles, G. C. (2002):

Sustainable use of anthelmintics in grazing animals.

Vet Rec. 151(6), 165-9.

Coles, G. C. (2004):

Resistance in cattle worms.

Vet Rec. 155(10), 312.

Coles, G. C.; Bauer, C.; Borgsteede, F. H.; Geerts, S.; Klei, T. R.; Taylor, M. A.; Waller, P. J. (1992):

World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.

Veterinary Parasitology. 44(1-2), 35-44.

Coles, G. C.; Jackson, F.; Pomroy, W. E.; Prichard, R. K.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Silvestre, A.; Taylor, M. A.; Vercruyse, J. (2006):

The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.

Veterinary Parasitology. 136(3-4), 167-85.

Coles, G. C.; Simpkin, K. G. (1977):

Resistance of nematode eggs to the ovicidal activity of benzimidazoles.

Res Vet Sci. 22(3), 386-7.

Coles, G. C.; Tritschler, J. P., 2nd; Giordano, D. J.; Coppinger, R. P. (1986):

Nematodirus species in New England lambs.

Vet Rec. 118(25), 696-8.

Condi, G. K.; Soutello, R. G.; Amarante, A. F. (2009):

Moxidectin-resistant nematodes in cattle in Brazil.

Veterinary Parasitology. 161(3-4), 213-7.

Coop, R. L.; Jackson, F.; Graham, R. B.; Angus, K. W. (1988):

Influence of two levels of concurrent infection with *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus vitrinus* on the growth performance of lambs.

Res Vet Sci. 45(3), 275-80.

Coop, R. L.; Sykes, A. R.; Angus, K. W. (1977):

The effect of a daily intake of *Ostertagia circumcincta* larvae on body weight, food intake and concentration of serum constituents in sheep.

Res Vet Sci. 23(1), 76-83.

Cringoli, G.; Rinaldi, L.; Veneziano, V.; Mezzino, L.; Vercruyse, J.; Jackson, F. (2009):

Evaluation of targeted selective treatments in sheep in Italy: effects on faecal worm egg count and milk production in four case studies.

Veterinary Parasitology. 164(1), 36-43.

Croxton, D.; Stollard, R. J. (1976):

Use of Body Condition Scoring as a Management Aid in Dairy and Beef Herds.

Animal Production. 22, 146-147.

Demeler, J.; Kleinschmidt, N.; Kuttler, U.; Koopmann, R.; von Samson-Himmelstjerna, G. (2012):

Evaluation of the Egg Hatch Assay and the Larval Migration Inhibition Assay to detect anthelmintic resistance in cattle parasitic nematodes on farms.

Parasitol Int. 61(4), 614-8.

Demeler, J.; Kuttler, U.; El-Abdellati, A.; Stafford, K.; Rydzik, A.; Varady, M.; Kenyon, F.; Coles, G.; Høglund, J.; Jackson, F.; Vercruyse, J.; von Samson-Himmelstjerna, G. (2010):

Standardization of the larval migration inhibition test for the detection of resistance to ivermectin in gastro intestinal nematodes of ruminants.

Veterinary Parasitology. 174(1-2), 58-64.

Demeler, J.; Kuttler, U.; von Samson-Himmelstjerna, G. (2010):

Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle.

Veterinary Parasitology. 170(1-2), 61-70.

Demeler, J.; Van Zeveren, A. M.; Kleinschmidt, N.; Vercruyse, J.; Høglund, J.; Koopmann, R.; Cabaret, J.; Claerebout, E.; Areskog, M.; von Samson-Himmelstjerna, G. (2009):

Monitoring the efficacy of ivermectin and albendazole against gastro intestinal nematodes of cattle in Northern Europe.

Veterinary Parasitology. 160(1-2), 109-15.

Dimander, S. O.; Høglund, J.; Ugglå, A.; Sprondly, E.; Waller, P. J. (2003):

Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for first-season grazing cattle in Sweden.

Veterinary Parasitology. 111(2-3), 193-209.

Donald, A. D.; Waller, P. J.; Dobson, R. J.; Axelsen, A. (1980):

The effect of selection with levamisole on benzimidazole resistance in *Ostertagia* spp. of sheep.

Int J Parasitol. 10(5-6), 381-9.

Dorny, P.; Shaw, D. J.; Vercruyse, J. (1999):

The determination at housing of exposure to gastrointestinal nematode infections in first-grazing season calves.

Veterinary Parasitology. 80(4), 325-340.

Douch, P. G.; Harrison, G. B.; Buchanan, L. L.; Greer, K. S. (1983):

In vitro bioassay of sheep gastrointestinal mucus for nematode paralyzing activity mediated by substances with some properties characteristic of SRS-A.

Int J Parasitol. 13(2), 207-12.

Douch, P. G.; Morum, P. E. (1994):

The effects of anthelmintics on ovine larval nematode parasite migration in vitro.

Int J Parasitol. 24(3), 321-6.

Eckert, J.; Friedhoff, K. T.; Zahner, H.; Deplazes, P. (2005):

Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. -

Stuttgart: Enke Verlag.

Edmonds, M. D.; Johnson, E. G.; Edmonds, J. D. (2010):

Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States.

Veterinary Parasitology. 170(3-4), 224-9.

Edmonson, A. J.; Lean, I. J.; Weaver, L. D.; Farver, T.; Webster, G. (1989):

A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy-Cows.

Journal of Dairy Science. 72(1), 68-78.

El-Abdellati, A.; Geldhof, P.; Claerebout, E.; Vercruyse, J.; Charlier, J. (2010):

Monitoring macrocyclic lactone resistance in *Cooperia oncophora* on a Belgian cattle farm during four consecutive years.

Veterinary Parasitology. 171(1-2), 167-71.

Epe, C.; Woidtke, S.; Pape, M.; Heise, M.; Kraemer, F.; Kohlmetz, C.; Schnieder, T. (1999):

Strategic control of gastrointestinal nematode and lungworm infections with eprinomectin at turnout and eight weeks later.

Vet Rec. 144(14), 380-2.

Evans, D. G. (1978):

The Interpretation and Analysis of Subjective Body Condition Scores.

Animal Production. 26, 119-125.

Eysker, M.; Boersema, J. H.; Githiori, J. B.; Kooyman, F. N. (1998):

Evaluation of the effect of ivermectin administered topically at zero and six weeks after turnout on gastrointestinal nematode infection in first-season grazing cattle.

Veterinary Parasitology. 78(4), 277-86.

Eysker, M.; Boersema, J. H.; Kooyman, F. N.; Ploeger, H. W. (2000):

Resilience of second year grazing cattle to parasitic gastroenteritis following negligible to moderate exposure to gastrointestinal nematode infections in their first year.

Veterinary Parasitology. 89(1-2), 37-50.

Eysker, M.; Ploeger, H. W. (2000):

Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants.

Parasitology. 120 Suppl, S109-19.

Feng, X. P.; Hayashi, J.; Beech, R. N.; Prichard, R. K. (2002):

Study of the nematode putative GABA type-A receptor subunits: evidence for modulation by ivermectin.

J Neurochem. 83(4), 870-8.

Ferguson, J. D.; Galligan, D. T.; Thomsen, N. (1994):

Principal descriptors of body condition score in Holstein cows.

Journal of Dairy Science. 77(9), 2695-703.

Fiel, C. A.; Saumell, C. A.; Steffan, P. E.; Rodriguez, E. M. (2001):

Resistance of Cooperia to ivermectin treatments in grazing cattle of the Humid Pampa, Argentina.

Veterinary Parasitology. 97(3), 211-7.

Gaba, S.; Cabaret, J.; Sauve, C.; Cortet, J.; Silvestre, A. (2010):

Experimental and modeling approaches to evaluate different aspects of the efficacy of Targeted Selective Treatment of anthelmintics against sheep parasite nematodes.

Veterinary Parasitology. 171(3-4), 254-262.

Gallidis, E.; Papadopoulos, E.; Ptochos, S.; Arsenos, G. (2009):

The use of targeted selective treatments against gastrointestinal nematodes in milking sheep and goats in Greece based on parasitological and performance criteria.

Veterinary Parasitology. 164(1), 53-8.

Gasbarre, L. C.; Leighton, E. A.; Sonstegard, T. (2001):

Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes.

Veterinary Parasitology. 98(1-3), 51-64.

Gasser, R. B.; Chilton, N. B.; Hoste, H.; Stevenson, L. A. (1994):

Species identification of trichostrongyle nematodes by PCR-linked RFLP.

Int J Parasitol. 24(2), 291-3.

Gill, J. H.; Lacey, E. (1998):

Avermectin/milbemycin resistance in trichostrongyloid nematodes.

Int J Parasitol. 28(6), 863-77.

Gill, J. H.; Redwin, J. M.; van Wyk, J. A.; Lacey, E. (1991):

Detection of resistance to ivermectin in *Haemonchus contortus*.

Int J Parasitol. 21(7), 771-6.

Gill, J. H.; Redwin, J. M.; van Wyk, J. A.; Lacey, E. (1995):

Avermectin inhibition of larval development in *Haemonchus contortus*--effects of ivermectin resistance.

Int J Parasitol. 25(4), 463-70.

Greer, A. W.; Kenyon, F.; Bartley, D. J.; Jackson, E. B.; Gordon, Y.; Donnan, A. A.; McBean, D. W.; Jackson, F. (2009):

Development and field evaluation of a decision support model for anthelmintic treatments as part of a targeted selective treatment (TST) regime in lambs.

Veterinary Parasitology. 164(1), 12-20.

Gross, S. J.; Ryan, W. G.; Ploeger, H. W. (1999):

Anthelmintic treatment of dairy cows and its effect on milk production.

Veterinary Record. 144(21), 581-587.

Hall, C. A.; Campbell, N. J.; Richardson, N. J. (1978):

Levels of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* recorded from an egg hatch test procedure.

Res Vet Sci. 25(3), 360-3.

Heinrichs, A. J.; Erb, H. N.; Rogers, G. W.; Cooper, J. B.; Jones, C. M. (2007):

Variability in Holstein heifer heart-girth measurements and comparison of prediction equations for live weight.

Prev Vet Med. 78(3-4), 333-8.

Heuwieser, W.; Bergmann, J. (1996):

Body Condition Scoring - Kühe nach Noten füttern.

Top Agrar. R3, 8-11.

Hoglund, J. (2006):

Targeted selective treatment of lungworm infection in an organic dairy herd in Sweden.

Veterinary Parasitology. 138(3-4), 318-327.

Hoglund, J.; Dahlstrom, F.; Sollenberg, S.; Hesse, A. (2013):

Weight gain-based targeted selective treatments (TST) of gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle.

Veterinary Parasitology.

Hoglund, J.; Morrison, D. A.; Charlier, J.; Dimander, S. O.; Larsson, A. (2009):

Assessing the feasibility of targeted selective treatments for gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle based on mid-season daily weight gains.

Veterinary Parasitology. 164(1), 80-88.

Hoglund, J.; Svensson, C.; Hessle, A. (2001):

A field survey on the status of internal parasites in calves on organic dairy farms in southwestern Sweden.

Veterinary Parasitology. 99(2), 113-28.

Hoste, H.; Chartier, C.; Lefrileux, Y.; Goudeau, C.; Broqua, C.; Pors, I.; Bergeaud, J. P.; Dorchies, P. (2002):

Targeted application of anthelmintics to control trichostrongylosis in dairy goats: result from a 2-year survey in farms.

Veterinary Parasitology. 110(1-2), 101-8.

Hoste, H.; Le Frileux, Y.; Goudeau, C.; Chartier, C.; Pors, I.; Broqua, C.; Bergeaud, J. P. (2002):

Distribution and repeatability of nematode faecal egg counts in dairy goats: a farm survey and implications for worm control.

Res Vet Sci. 72(3), 211-5.

Hubert, J.; Kerboeuf, D.; Gruner, L. (1979):

Study of gastro-intestinal strongylosis in a sheep flock on permanent pasture. 1. Sheep parasitism in 1977.

Ann Rech Vet. 10(4), 503-18.

Jackson, F.; Christie, M. G. (1979):

Observations on the egg output resulting from continuous low level infections with *Ostertagia circumcincta* in lambs.

Res Vet Sci. 27(2), 244-5.

Jackson, F.; Coop, R. L. (2000):

The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes.

Parasitology. 120 Suppl, S95-107.

Jackson, R.; Rhodes, A. P.; Pomroy, W. E.; Leathwick, D. M.; West, D. M.; Waghorn, T. S.; Moffat, J. R. (2006):

Anthelmintic resistance and management of nematode parasites on beef cattle-rearing farms in the North Island of New Zealand.

N Z Vet J. 54(6), 289-96.

Jeroch, H.; Drochner, W.; Simon, O., Eds. (1999):

Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere: Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung.

Stuttgart, Verlag Ulmer.

(Jungviehfütterung für die weibliche Nachzucht.)

Kaplan, R. M. (2004):

Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report.

Trends Parasitol. 20(10), 477-81.

Kenyon, F.; Greer, A. W.; Coles, G. C.; Cringoli, G.; Papadopoulos, E.; Cabaret, J.; Berrag, B.; Varady, M.; Van Wyk, J. A.; Thomas, E.; Vercruyse, J.; Jackson, F. (2009):

The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants.

Veterinary Parasitology. 164(1), 3-11.

Kenyon, F.; Jackson, F. (2012):

Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches.

Veterinary Parasitology. 186(1-2), 10-7.

Kleiboehmer, C.; Heuwieser, W.; Bergmann, J.; Ochsmann, A. (1998):

Untersuchung zur Erlernbarkeit und Genauigkeit der Körperkonstitutionsbeurteilung (BCS) beim Rind.
Praktischer Tierarzt. 79, 50-61.

Kleinschmidt, N. (2009):

Untersuchungen zum Vorkommen von Anthelminthikaresistenzen bei erstsömmrigen Rindern in norddeutschen Milchviehbetrieben.

Hannover, Tierärztliche Hochschule

Kochapakdee, S.; Pandey, V. S.; Pralomkarn, W.; Choldumrongkul, S.; Ngampongsai, W.; Lawpetchara, A. (1995):

Anthelmintic resistance in goats in southern Thailand.

Vet Rec. 137(5), 124-5.

Koopmann, R.; Holst, C.; Epe, C. (2006):

Erfahrungen mit der FAMACHA®-Eye-Colour-Karte zur Identifizierung von Schafen und Ziegen für die gezielte anthelminthische Behandlung.

Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 119, 436-442.

Lacey, E. (1988):

The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles.

Int J Parasitol. 18(7), 885-936.

Lacey, E. (1990):

Mode of action of benzimidazoles.

Parasitol Today. 6(4), 112-5.

Lanusse, C. E.; Prichard, R. K. (1993):

Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics.

Veterinary Parasitology. 49(2-4), 123-58.

Larsson, A.; Dimander, S. O.; Rydzik, A.; Uggla, A.; Waller, P. J.; Hoglund, J. (2006):

A 3-year field evaluation of pasture rotation and supplementary feeding to control parasite infection in first-season grazing cattle - Effects on animal performance.

Veterinary Parasitology. 142(3-4), 197-206.

Larsson, A.; Dimander, S. O.; Rydzik, A.; Uggla, A.; Waller, P. J.; Hoglund, J. (2007):

A 3-year field evaluation of pasture rotation and supplementary feeding to control parasite infection in first-season grazing cattle: dynamics of pasture infectivity.

Veterinary Parasitology. 145(1-2), 129-37.

Larsson, A.; Uggla, A.; Waller, P. J.; Hoglund, J. (2011):

Performance of second-season grazing cattle following different levels of parasite control in their first grazing season.

Veterinary Parasitology. 175(1-2), 135-140.

Le Jambre, L. F. (1976):

Egg hatch assay as an in vitro assay of thiabendazole resistance in nematodes.

Vet. Parasitol. . 2(4), 383-391.

Leathwick, D. M.; Miller, C. M.; Atkinson, D. S.; Haack, N. A.; Alexander, R. A.; Oliver, A. M.; Waghorn, T. S.; Potter, J. F.; Sutherland, I. A. (2006):

Drenching adult ewes: implications of anthelmintic treatments pre- and post-lambing on the development of anthelmintic resistance.

N Z Vet J. 54(6), 297-304.

Leathwick, D. M.; Waghorn, T. S.; Miller, C. M.; Atkinson, D. S.; Haack, N. A.; Oliver, A. M. (2006):

Selective and on-demand drenching of lambs: impact on parasite populations and performance of lambs.

N Z Vet J. 54(6), 305-12.

Leathwick, D. M.; Waghorn, T. S.; Miller, C. M.; Candy, P. M.; Oliver, A. M. B. (2012):

Managing anthelmintic resistance - Use of a combination anthelmintic and leaving some lambs untreated to slow the development of resistance to ivermectin.

Veterinary Parasitology. 187(1-2), 285-294.

Lifschitz, A.; Virkel, G.; Sallovitz, J.; Sutra, J. F.; Galtier, P.; Alvinerie, M.; Lanusse, C. (2000):

Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle.

Veterinary Parasitology. 87(4), 327-38.

Lo, P. K.; Fink, D. W.; Williams, J. B.; Blodinger, J. (1985):

Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation.

Vet Res Commun. 9(4), 251-68.

Loveridge, B.; McArthur, M.; McKenna, P. B.; Mariadass, B. (2003):

Probable multigeneric resistance to macrocyclic lactone anthelmintics in cattle in New Zealand.

N Z Vet J. 51(3), 139-41.

Lyndal-Murphy, M.; Rogers, D.; Ehrlich, W. K.; James, P. J.; Pepper, P. M. (2010):

Reduced efficacy of macrocyclic lactone treatments in controlling gastrointestinal nematode infections of weaner dairy calves in subtropical eastern Australia.

Veterinary Parasitology. 168(1-2), 146-50.

Martin, P. J.; Anderson, N.; Jarrett, R. G. (1989):

Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction tests and in vitro assays.

Aust Vet J. 66(8), 236-40.

Martin, P. J.; Le Jambre, L. F. (1979):

Larval paralysis test as an *invitro* assay of levamisol and morantel tartrate resistance in *Ostertagia*.

Vet. Res. Comm. 3, 159-164.

Martin, R. J. (1996):

An electrophysiological preparation of *Ascaris suum* pharyngeal muscle reveals a glutamate-gated chloride channel sensitive to the avermectin analogue, milbemycin D.

Parasitology. 112 (Pt 2), 247-52.

Mehlhorn, H.; Duewel, D.; Raether, W. (1993):

Diagnose und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren. -

Stuttgart: Fischer Verlag.

Mehlhorn, H.; Piekarski, G. (2002):

Grundriß der Parasitenkunde: Parasiten des Menschen und der Nutztiere. -

Heidelberg: Spektrum Akad. Verlag.

Meija, M. E.; Fernandez Igartua, B. M.; Schmidt, E. E.; Cabaret, J. (2003):

Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance?

Vet. Res. 34, 461-467.

Metzner, M.; Heuwieser, W.; Klee, W. (1993):

Die Beurteilung der Körperkondition (body condition scoring) im Herdenmanagement.

Praktischer Tierarzt. 11, 991-998.

Michel, J. F. (1969):

The epidemiology of some nematode infections in calves.

Vet Rec. 85(12), 323-6.

Michel, J. F. (1985):

Strategies for the use of anthelmintics in livestock and their implications for the development of drug resistance.

Parasitology. 90 (Pt 4), 621-8.

Morgan, E. R.; Coles, G. C. (2010):

Nematode control practices on sheep farms following an information campaign aiming to delay anthelmintic resistance.

Vet Rec. 166(10), 301-3.

Nansen, P.; Jorgensen, R. J.; Henriksen, S. A.; Foldager, J. (1987):

The effects of late turnout on the epidemiology and control of ostertagiasis in calves.

Veterinary Parasitology. 24(1-2), 139-47.

Nansen, P.; Steffan, P.; Monrad, J.; Gronvold, J.; Henriksen, S. A. (1990):

Effects of separate and mixed grazing on trichostrongylosis in first- and second-season grazing calves.

Veterinary Parasitology. 36(3-4), 265-76.

Nilsson, O.; Sorelius, L. (1973):

[Trichostrongyle infections of cattle in Sweden].

Nord Vet Med. 25(2), 65-78.

Nodtvedt, A.; Dohoo, I.; Sanchez, J.; Conboy, G.; DesCoteaux, L.; Keefe, G. (2002):

Increase in milk yield following eprinomectin treatment at calving in pastured dairy cattle.

Veterinary Parasitology. 105(3), 191-206.

Perri, A. F.; Mejia, M. E.; Licoff, N.; Lazaro, L.; Miglierina, M.; Ornstein, A.; Becu-Villalobos, D.; Laca-Mengido, I. M. (2011):

Gastrointestinal parasites presence during the peripartum decreases total milk production in grazing dairy Holstein cows.

Veterinary Parasitology. 178(3-4), 311-318.

Ploeger, H. W.; Borgsteede, F. H.; Sol, J.; Mirck, M. H.; Huyben, M. W.; Kooyman, F. N.; Eysker, M. (2000):

Cross-sectional serological survey on gastrointestinal and lung nematode infections in first and second-year replacement stock in the netherlands: relation with management practices and use of anthelmintics.

Veterinary Parasitology. 90(4), 285-304.

Pomroy, W. E. (2006):

Anthelmintic resistance in New Zealand: a perspective on recent findings and options for the future.

N Z Vet J. 54(6), 265-70.

Prichard, R. (1994):

Anthelmintic resistance.

Veterinary Parasitology. 54(1-3), 259-68.

Prichard, R.; Hennessey, D. R.; Steel, J. W. (1978):

Prolonged administration: A new concept increasing the spectrum and effectiveness of anthelmintics.

Veterinary Parasitology. 4, 309-315.

Prichard, R. K.; Hall, C. A.; Kelly, J. D.; Martin, I. C.; Donald, A. D. (1980):

The problem of anthelmintic resistance in nematodes.

Aust Vet J. 56(5), 239-51.

Rabel, B.; McGregor, R.; Douch, P. G. (1994):

Improved bioassay for estimation of inhibitory effects of ovine gastrointestinal mucus and anthelmintics on nematode larval migration.

Int J Parasitol. 24(5), 671-6.

Raschke, K. (2007):

Erstellung eines Schemas zur Beurteilung der Körperkondition von Kälbern der Rassen „Deutsches Fleckvieh“ und „Holstein Friesian“.

München, Ludwig-Maximilians-Universität München.

Roeber, F.; Jex, A. R.; Campbell, A. J.; Campbell, B. E.; Anderson, G. A.; Gasser, R. B. (2011):

Evaluation and application of a molecular method to assess the composition of strongylid nematode populations in sheep with naturally acquired infections.

Infect Genet Evol. 11(5), 849-54.

Rüger, B. (2002):

Test- und Schätztheorie Band II: Statistische Tests. -: Oldenbourg Verlag. -).

Sanchez, J.; Dohoo, I. (2002):

A bulk tank milk survey of *Ostertagia ostertagi* antibodies in dairy herds in Prince Edward Island and their relationship with herd management factors and milk yield.

Can Vet J. 43(6), 454-9.

Sanchez, J.; Dohoo, I.; Carrier, J.; DesCoteaux, L. (2004):

A meta-analysis of the milk-production response after anthelmintic treatment in naturally infected adult dairy cows.

Preventive Veterinary Medicine. 63(3-4), 237-256.

Sanchez, S.; Alvarez, L.; Sallovitz, J.; Lanusse, C. (2000):

Enhanced plasma and target tissue availabilities of albendazole and albendazole sulphoxide in fasted calves: evaluation of different fasting intervals.

J Vet Pharmacol Ther. 23(4), 193-201.

Sangster, N. C.; Dobson, R. J., Eds. (2002):

The Biology of Nematodes.

London, Verlag Taylor and Francis.

(Anthelmintic Resistance)

Sarkunas, M.; Malakauskas, A.; Nansen, P.; Hansen, J. W.; Paulikas, V. (1999):

Effect of strategic treatments with ivermectin on parasitism of set-stocked calves exposed to natural trichostrongyle infection in Lithuania.

Acta Vet Scand. 40(2), 163-71.

Sarkunas, M.; Nansen, P.; Hansen, J. W.; Paulikas, V. (2000):

Effects of mixed grazing of first- and second-year calves on trichostrongylid infections in Lithuania.

Vet Res Commun. 24(2), 125-34.

Schnieder, T. (2006):

Veterinärmedizinische Parasitologie. -

Stuttgart: Parey Verlag.

Schnieder, T.; Epe, C.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Kohlmetz, C. (1996):

Use of an ivermectin bolus against gastrointestinal nematode and lungworm infections in first-year grazing calves.

Appl Parasitol. 37(1), 38-44.

Schnieder, T.; Heise, M.; Epe, C. (1999):

Genus-specific PCR for the differentiation of eggs or larvae from gastrointestinal nematodes of ruminants.

Parasitology Research. 85(11), 895-8.

Soutello, R. G.; Seno, M. C.; Amarante, A. F. (2007):

Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern Sao Paulo State, Brazil.

Veterinary Parasitology. 148(3-4), 360-4.

Southcott, W. H.; Barger, I. A. (1975):

Control of nematode parasites by grazing management. II. Decontamination of sheep and cattle pastures by varying periods of grazing with the alternate host.

Int J Parasitol. 5(1), 45-8.

Sprent, P., Ed. (1989):

Applied non-parametric statistical methods.

London, Chapman&Hall.).

Stafford, K.; Coles, G. C. (1999):

Nematode control practices and anthelmintic resistance in dairy calves in the south west of England.

Vet Rec. 144(24), 659-61.

Suarez, V. H.; Cristel, S. L. (2007):

Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina.

Veterinary Parasitology. 144(1-2), 111-7.

van Wyk, J. A. (2001):

Refugia--overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance.

Onderstepoort J Vet Res. 68(1), 55-67.

van Wyk, J. A.; Bath, G. F. (2002):

The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment.

Vet Res. 33(5), 509-29.

Vatta, A. F.; Letty, B. A.; van der Linde, M. J.; van Wijk, E. F.; Hansen, J. W.; Krecek, R. C. (2001):

Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa using an eye colour chart developed for sheep.

Veterinary Parasitology. 99(1), 1-14.

Vercruyse, J.; Hilderson, H.; Claerebout, E. (1994):

Effect of chemoprophylaxis on immunity to gastrointestinal nematodes in cattle.

Parasitol Today. 10(4), 129-32.

Vercruyse, J.; Hilderson, H.; Claerebout, E. (1995):

Effect of chemoprophylaxis with avermectins on the immune response to gastrointestinal nematodes in first-season grazing calves.

Veterinary Parasitology. 58(1-2), 35-48.

von Holtum, C.; Strube, C.; Schnieder, T.; von Samson-Himmelstjerna, G. (2008):

Development and evaluation of a recombinant antigen-based ELISA for serodiagnosis of cattle lungworm.

Veterinary Parasitology. 151(2-4), 218-26.

Von Samson-Himmelstjerna, G. (2011):

Empfehlungen zur nachhaltigen Kontrolle von Magen-Darminfektionen beim Pferd in Deutschland.

Pferdeheilkunde. 27:2, 127-139.

von Samson-Himmelstjerna, G. (2012):

Anthelmintic resistance in equine parasites - detection, potential clinical relevance and implications for control.

Veterinary Parasitology. 185(1), 2-8.

von Samson-Himmelstjerna, G.; Coles, G. C.; Jackson, F.; Bauer, C.; Borgsteede, F.; Cirak, V. Y.; Demeler, J.; Donnan, A.; Dorny, P.; Epe, C.; Harder, A.; Hoglund, J.; Kaminsky, R.; Kerboeuf, D.; Kuttler, U.; Papadopoulos, E.; Posedi, J.; Small, J.; Varady, M.; Vercruyse, J.; Wirthlerle, N. (2009):

Standardization of the egg hatch test for the detection of benzimidazole resistance in parasitic nematodes.

Parasitology Research. 105(3), 825-34.

von Samson-Himmelstjerna, G.; Harder, A.; Schnieder, T. (2002):

Quantitative analysis of ITS2 sequences in trichostrongyle parasites.

Int J Parasitol. 32(12), 1529-35.

Wagland, B. M.; Jones, W. O.; Hribar, L.; Bendixsen, T.; Emery, D. L. (1992):

A new simplified assay for larval migration inhibition.

Int J Parasitol. 22(8), 1183-5.

Wetzel, R. (1951):

Verbesserte McMaster-Kammer zum Auszählen von Wurmeiern.

Tieraertl. Umschau. 11, 209.

Whitlock, H. V.; Sangster, N. C.; Gunawan, M.; Porter, C. J.; Kelly, J. D. (1980):

Trichostrongylus colubriformis and Ostertagia sp resistant to levamisole, morantel tartrate and thiabendazole: isolation into pure strain and anthelmintic titration.

Res Vet Sci. 29(1), 31-5.

Wolstenholme, A. J.; Fairweather, I.; Prichard, R.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Sangster, N. C. (2004):

Drug resistance in veterinary helminths.

Trends Parasitol. 20(10), 469-76.

Wolstenholme, A. J.; Kaplan, R. M. (2012):

Resistance to macrocyclic lactones.

Curr Pharm Biotechnol. 13(6), 873-87.

9 Anhang

	NOTE	Dornfortsätze	Verbindungslineie Dorn- zu Querfortsätzen	Querfortsätze	Übergang zur Hungergrube	Hüfthöcker & Sitzbeinhöcker	Bereich zwisch Hüft- & Sitzbeinhöcker	Bereich zwisch. Hüfthöckern	Beckenausgangsgrube
HOCHGRADIG ABGEMAGERT (kachektisch)	1.00	treten stark hervor 'sägezahnähnlich'	tief eingesenkt	> 1/2 sichtbar	deutlicher Sims eingesunken	extrem hart, kein Fettgeweb	völliger Fleischverlust	extrem eingesunken	scharf, V-förmig, Knochen stark hervortretend
	1.25								
	1.50								
KNOCHEN-VORSPRÜNGE GUT SICHTBAR	1.75			1/2 Länge sichtbar	vorstehender Sims				
	2.00	einzeln erkennbar	deutlich eingesenkt	1/2 - 1/3 Länge sichtbar	vorstehend	vorstehend	sehr eingesunken		
	2.25			1/2 - 1/3 Länge sichtbar					
KNOCHEN-VORSPRÜNGE GUT ABGEDECKT	2.50			1/3 - 1/4 sichtbar	mäßig vorstehend		dünne Fleischauflage	deutlich eingesunken	erste Anzeichen von Fett
	2.75	deutlich hervorstehende Rückenlinie		< 1/4 sichtbar	kaum vorstehend	glatt	eingesunken	mäßig eingesunken	angedeutet, Knochen weich
	3.00		leicht konkave Linie	Querfortsätze angedeutet			eingesunken	leicht eingesunken	
KNOCHEN-VORSPRÜNGE ANGEDEUTET	3.25	Dornfortsätze undeutlich, weiche Rückenlinie	leichte Neigung	deutliche Leiste, Querforts. nicht einzeln sichtbar		gut bedeckt	leicht eingesunken	leicht eingesunken	
	3.50						eingesunken	leicht eingesunken	
	3.75						eingesunken	leicht eingesunken	
HOCHGRADIG VERFETTET	4.00	Dornfortsätze nicht erkennbar, Rückenlinie flach	fast waagrecht	glatte, runde Kante	nicht vorstehend	abgerundet	angedeutet	flach	ausgefüllt, Knochen abgerundet
	4.25						angedeutet	flach	
	4.50						angedeutet	flach	
HOCHGRADIG VERFETTET	4.75			Kante kaum erkennbar		in Fettauflage versunken			ausgefüllt mit Fettfalten, Knochen im Fett eingesunken
	5.00	Dornfortsätze von Fettauflage verdeckt	abgerundet (konvex)	in Fettauflage verschwunden	vorgewölbt		abgerundet		

Quelle: A.J. Edmonson 11, Tom L.D. Woor, T. Ferrer und G. Wheeler: Tierärztliche Medizin, 1989. Abbildungen mit freundlicher Genehmigung des Journal of Dairy Science

Abbildung 21: Diagramm zur Beurteilung des Body Condition Score nach EDMONSON et al. (1989), übersetzt und modifiziert nach METZNER et al. (1993)

Tabelle 16a: Gruppeneinteilung 2010
(TST-Gruppe: Targeted Selective Treatment-Gruppe; Sb: Schwarzbunt, Rb: Rotbunt;
w: weiblich, m: männlich)

Gruppe 1 (Kontrollgruppe)			
<i>Ohrmarke</i>	<i>Rasse</i>	<i>Geb.-datum</i>	<i>Geschlecht</i>
15527	Sb	22.09.2009	w
15535	Rb	12.10.2009	w
15537	Sb	15.10.2009	w
15539	Sb	17.10.2009	w
15540	Sb	17.10.2009	w
15544	Rb	26.10.2009	w
15554	Rb	21.11.2009	w
15555	Sb	23.11.2009	w
15556	Rb	30.11.2009	w
15557	Sb	02.12.2009	w
15566	Rb	28.12.2009	w
Gruppe 2 (TST-Gruppe)			
<i>Ohrmarke</i>	<i>Rasse</i>	<i>Geb.-datum</i>	<i>Geschlecht</i>
15525	Rb	18.09.2009	w
15528	Sb	23.09.2009	w
15533	Rb	09.10.2009	w
15536	Sb	14.10.2009	w
15538	Rb	16.10.2009	w
15549	Sb	09.11.2009	w
15550	Rb	10.11.2009	w
15553	Sb	19.11.2009	w
15558	Rb	03.12.2009	w
15562	Sb	10.12.2009	w
15567	Sb	30.12.2009	w

Tabelle 16b: Gruppeneinteilung 2011
 (TST-Gruppe: Targeted Selective Treatment-Gruppe, TT-Gruppe: Targeted Treatment-Gruppe;
 Schwarzbunt, Rb: Rotbunt; w: weiblich, m: männlich)

Gruppe 1 (Kontrollgruppe)			
<i>Ohrmarke</i>	<i>Rasse</i>	<i>Geb.-datum</i>	<i>Geschlecht</i>
32357	Sb	25.10.2010	w
16066	Rb	24.11.2010	m
32360	Sb	09.12.2010	w
16072	Sb	16.12.2010	m
16078	Rb	30.12.2010	m
16081	Sb	07.01.2011	m
16084	Sb	01.02.2011	m
Gruppe 2 (TST-Gruppe)			
<i>Ohrmarke</i>	<i>Rasse</i>	<i>Geb.-datum</i>	<i>Geschlecht</i>
32355	Rb	16.10.2010	w
16068	Rb	30.11.2010	m
16070	Sb	08.12.2010	m
16075	Sb	27.12.2010	m
32363	Sb	27.12.2010	w
32364	Sb	01.01.2011	w
16080	Sb	03.01.2011	m
16083	Rb	21.01.2011	m
32368	Rb	17.02.2011	w
Gruppe 3 (TT-Gruppe)			
<i>Ohrmarke</i>	<i>Rasse</i>	<i>Geb.-datum</i>	<i>Geschlecht</i>
32359	Sb	28.11.2010	w
16069	Sb	06.12.2010	m
16071	Rb	10.12.2010	m
32362	Rb	23.12.2010	w
16074	Sb	26.12.2010	m
16076	Rb	28.12.2010	m
32366	Sb	10.01.2011	w
16082	Sb x Rb	16.01.2011	m
32369	Rb	04.03.2011	w

Tabelle 17a: Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (Kontrollgruppe; n=11)

Ohrmarke	21.04.	17.05.	31.05.	16.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	01.11.	15.11.
15527	0	0	0	0	33	0	0	33	0	0	0	0	33	33	66
15535		0	0	0	33	33	0	0	0	0	0	0	0	0	33
15537	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		33	0
15539	0	0	66	297	264	33	0	0		0	0			0	33
15540		0	0				0	0	0		0	0	33	0	0
15544	0	0	369	165	231	33	0	0	33	0	99	33	198	33	231
15554	0	0	33	99	99	33	66	0	0	66	33	33	0	0	0
15555		0					0						165		
15556	0	0	0	66	264	66	99	0	0	0	0	0	33	66	0
15557	0	0	33	0	396	0	0	0	33	0	33	33	0	33	0
15566	0	0	0	198	330	33	33			0		0	66	99	0

Tabelle 17b: Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010 (Targeted Selective Treatment-Gruppe; n=11)

Ohrmarke	21.04.	17.05.	31.05.	16.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	01.11.	15.11.
15525	0	0	0	0	198	132	198			33	132	0	165	99	0
15528	0	0	231	429		0	0	0	33		0	0	33	33	0
15533	0	0	132	66	528	165	231	396	0	66	0	33	66	33	66
15536	0	0	198	231		132	66	165		33	0	0		99	0
15538	0	33	0	33	198	33	99	33	231	297	0	0	99		0
15549		0	0	0	264	33	0	0	0	0	33	0	33	33	33
15550	0	0	0	0	66	0	33	0	0	33	0	33	0	99	33
15553			132	363		0	198	0	66	33	132	0	66	99	66
15558	0	0	0		132	165	132	33	33	99	0	33	0	165	0
15562	0	0	99	495	231	429	231	132	99	33		0	0	0	0
15567	0	0	132	99		0	0	33	0	0	0	0	0	264	0

Tabelle 17c: Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011 (Kontrollgruppe; n=7)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32357	0		0	0	0	0	33	0	0	0	0		0	0
16066	0	0	0			0	33	0		0	33	0	0	
32360	0	33	0	0	0	0	0	0		0	0	33	0	0
16072	0	0	0		0	0	0	33	0	66	33	0	0	
16078		0	0		0	0	0	0	0	198	0	0	0	
16081	0	0	0	0	0	0		33	0	0	0	0		
16084	0	0	0	0	0	0	0	33	0	66	0	0	0	

Tabelle 17d: Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Targeted Selective Treatment-Gruppe; n=9)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32355	0	0	0	99	99	0	231	165	33	66	33	33	0	0
16068	0	33		198	132	165	33	99	0	0	0	0	66	
16070	0	0		231	132	132	231	66	99	264	165	0	33	
16075	0	0	0	132	33		99	99	165	0	99	33	0	
32363	0		0	132	33	132	33	198				99		
32364	0	0	0	66	132	165	33	330	132	66	33	66	198	66
16080	0	0		132	198	132	99	66	0	33	0	0	33	
16083	0	0	0	132	132	33	33	99	99	693	66	132	231	
32368	k.A.	k.A.	0	99	99	198	198	231	231	132	0	132	363	165

Tabelle 17e: Eiausscheidungen (EpG) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Targeted Treatment-Gruppe; n=9)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32359	0			99	66		0	66	0					0
16069	0	0	0	66	0	198	66	132	0	33	0	99	0	
16071	0	0	0	99	66	132	198		132	165	0	165		
32362	0	0	0	231	132	66		165	165	495	0	297		33
16074		0	0	132	66	165	66	66	0	33	0	0	33	
16076	0	0	0	66	33	297	0	165	99	198	0	33	33	
32366	0	0	0	66	66	66	0	0	0	0		33	0	0
16082	0	0	0	132	198	66	0		33	0	0	99	0	
32369	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	0	0		66	99	198			721	0

Tabelle 18a: Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010
(Kontrollgruppe; n=11)

Ohrmarke	21.04.	17.05.	31.05.	16.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	01.11.	15.11.
15527	1.75	2	2	2.25	2.75	2.5	2.75	2.75	3.25	3.25	3.25	3	2.75	2.5	3
15535	2.5	2.25	2.25	2.5	3	3	3.25	3.75	3.75	3.75	4	4.25	4.25	3.75	4.25
15537	2.25	2.25	2	2	2.25	2.5	2.5	2.75	2.75	2.75	3.25	3	3.25	3	3.5
15539	2	2	2	2	2.25	2.5	2.5	3	2.75	3	3	3.5	3.25	3	3.5
15540	2.25	2	2	2.25	2.5	2.75	2.75	3	2.75	2.75	3	3.25	3	3	3.25
15544	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25	2.75	2.75	2.75	2.75	3	3.25	3	3.25	3.25	3.75
15554	2	2	2	1.75	2.5	2.25	2.25	2.75	2.75	2.75	3.25	3	3	3	3.5
15555	2	2	2.25	2.25	2.25	2.5	2.5	2.75	2.5	2.5	3	3	3	3	3.25
15556	2.5	2	2	2.25	2.5	2.5	2.25	2.75	2.75	2.75	3	3	3.5	3.25	3.5
15557	3	2.25	2.5	2.5	2.25	2.75	2.5	2.75	2.75	2.75	3	2.75	3.25	3	3.25
15566	2.5	2.25	2.25	2.5	2.5	2.5	2.75	2.75	2.75	2.75	3	3.5	3.75	3.25	3.75

Tabelle 18b: Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010
(Targeted Selective Treatment-Gruppe; n=11)

Ohrmarke	21.04.	17.05.	31.05.	16.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	01.11.	15.11.
15525	2.5	2.5	2.25	2.5	2.5	2.75	2.75	3	3	3.25	3.25	3.5	3.5	3.5	3.5
15528	1.5	2.25	2.25	2.25	2.5	2.75	2.75	2.75	3	3.75	2.75	3.25	3	3	3.5
15533	2	2.25	2.25	2.25	2.5	3	3.25	3.25	3.5	2.75	3.25	3.75	3.25	3.25	3.5
15536	2	2	2.25	2.25	2.25	2.75	3.25	2.75	2.75	3	3	3	3	3	3.25
15538	3.25	2.5	2.5	2.5	2.5	3.25	3.5	3.5	3.5	2.75	3.5	4	4	4	4.5
15549	2.5	2.25	2.25	2.5	2.25	2.5	2.5	2.75	2.75	3	2.75	2.75	2.75	2.75	3
15550	3	2.25	2.5	2.5	2.25	3	3.25	3.5	3.5	2.75	3.5	3.75	3.5	3.75	3.75
15553	2	2	2.25	2.25	2.5	2.75	2.75	2.75	2.75	2.5	3.25	3.25	3	3.25	3.5
15558	2.75	2.5	2.25	2.25	2.5	3	2.75	2.75	3	2.75	3.25	3.5	3.75	3.5	4
15562	2	2.25	2	2	2.25	2.5	2.5	2.5	2.5	2.75	2.75	3	2.75	2.5	3
15567	2.5	2.5	2	2.25	2.5	2.75	2.5	2.5	2.75	2.75	2.75	3	3	3	3

Tabelle 18c: Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Kontrollgruppe; n=7)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32357	2.75	2.75	3	3	3.25	3	3.75	3.75	3.5	3	3.5	3.75	3.75	3.75
16066	3	3.25	3.25	3	3.25	3.75	3.75	4	4.25	4.25	4.5	4.75	4.75	
32360	2.25	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	3.5	3.5	3.25	2.75	3.25	3	3.75	3.5
16072	2.5	2.75	2.75	2.75	3	3.25	3.5	3.75	3.5	3.25	3.5	3.75	3.75	
16078	3	3	3	3	3.5	3.5	4	4	4	4.5	4.5	4.5	4.75	
16081	3	3	3	3	2.75	3.5	3.5	3.25	3	3	3.5	3.75	4.25	
16084	2.25	2.5	2.5	2.5	2.5	2.75	2.5	2.5	2.75	2.75	3	3	3.25	

Tabelle 18d: Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Targeted Selective Treatment-Gruppe; n=9)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32355	3.25	3.5	3.5	3.5	3.75	4.25	4.5	4.75	4.5	4.5	4.75	4.5	4.75	4.75
16068	3.5	3.5	3.25	3.25	3.25	3.75	3.75	3.5	3.25	3.75	3.75	4	4.5	
16070	2.75	3	3	2.75	3	3	3.25	3.25	3.5	3.5	3.75	4	3.75	
16075	3	3	3.25	2.75	3.25	3.5	3.25	3	3	3.5	3.5	3.5	3.5	
32363	2.25	2.75	2.75	2.75	3	3.25	3	3	3	3.25	3.25	3		
32364	2	2.75	2.75	2.5	2.5	2.75	2.75	2.75	2.75	3	3	2.75	3	2.75
16080	2.25	2.75	2.5	2.5	2.75	2.75	2.5	2.5	2.5	3	2.75	2.75	2.75	
16083	3	3	3	3	3.25	3	3	3	3.25	3	3	3.25	3.5	
32368	k.A.	k.A.	2.75	3	3.25	3	2.5	3.25	3	3.25	3	3	3.25	3.25

Tabelle 18e: Body Condition Score (BCS) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Targeted Treatment-Gruppe; n=9)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32359	3	3	2.75	3	3.5	3.5	3.25	3.5	3.75	3.75	3.5	3.75	3.75	3.75
16069	2.5	2.5	2.5	2.5	2.75	2.75	3	2.75	3	2.75	3.25	3.25	3.5	
16071	3	3.25	3	3.25	3.5	3.5	3.75	4.25	4.5	4.5	4.5	4	4.5	
32362	3	3	3	3	3.5	3.25	3.5	3.75	4	3.75	3.75	4	4.25	3.75
16074	3	3	3	3	2.75	3	2.5	2.5	3	2.75	2.75	3.25	3	
16076	3	3.25	3.5	3.5	3.75	3.5	3.75	3.5	4	4	4.5	3.75	4.25	
32366	1.75	2.25	2.25	2.25	2.5	2.75	2.5	2.5	2.75	2.75	2.75	3	2.75	2.75
16082	2.25	2.75	2.5	2.75	2.75	3	2.75	2.75	3	3	3.25	3.5	3.75	
32369	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	3.25	3.25	3.25	3.5	3.25	3	3.25	3.5	3	2.75

Tabelle 19a: Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010
(Kontrollgruppe; n=11)

Ohrmarke	21.04.	17.05.	31.05.	16.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	01.11.	15.11.
15527	195	212	216	231	246	272	297	303	312	332	337	360	370	390	392
15535	222	225	234	256	267	295	327	334	338	353	371	395	418	450	451
15537	187	195	197	204	217	242	262	269	295	300	301	329	340	353	358
15539	175	180	184	205	219	231	263	272	286	306	306	337	342	353	358
15540	185	187	192	205	221	239	261	279	286	292	303	327	335	350	357
15544	168	176	168	181	191	206	222	227	245	255	262	286	305	309	308
15554	162	158	147	152	165	185	195	204	224	227	248	272	278	290	293
15555	178	179	173	185	198	215	234	246	259	288	287	313	322	351	341
15556	145	148	149	156	174	182	200	209	221	248	246	263	284	308	285
15557	178	184	188	200	215	231	253	254	279	288	302	321	344	359	354
15566	161	165	170	175	185	201	225	232	243	260	270	293	308	313	314

Tabelle 19b: Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2010
(Targeted Selective Treatment-Gruppe; n=11)

Ohrmarke	21.04.	17.05.	31.05.	16.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	01.11.	15.11.
15525	173	184	184	201	213	244	259	268	270	279	284	305	325	350	340
15528	168	180	182	188	197	227	236	251	258	268	272	297	308	321	326
15533	184	188	188	204	218	245	264	272	272	284	291	315	326	340	340
15536	182	195	196	215	224	247	272	280	284	295	300	310	326	351	348
15538	201	207	210	235	247	273	292	296	301	305	313	336	353	378	371
15549	184	189	183	196	207	229	232	243	252	255	272	285	303	334	328
15550	193	197	199	217	237	255	267	279	297	303	307	335	351	382	373
15553	176	184	187	213	222	242	253	271	283	282	293	325	327	352	361
15558	177	175	167	186	195	225	234	249	258	279	290	313	333	350	344
15562	150	153	152	161	174	199	203	216	233	246	252	282	292	312	305
15567	160	168	165	174	190	203	219	222	238	244	252	263	284	316	297

Tabelle 19c: Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Kontrollgruppe; n=7)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32357	210	213	227	250	265	287	294	305	319	341	359	373	380	418
16066	197	194	200	218	240	246	270	283	301	323	345	357	377	
32360	150	151	157	183	200	208	225	239	248	264	283	291	305	333
16072	163	161	169	190	200	222	242	254	268	297	320	335	346	
16078	177	170	182	200	220	235	257	273	292	314	338	355	371	
16081	185	179	190	205	215	238	252	265	274	296	318	331	350	
16084	117	108	114	122	135	145	160	174	190	208	225	243	257	

Tabelle 19d: Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Targeted Selective Treatment-Gruppe; n=9)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32355	246	251	270	295	310	327	339	356	368	383	402	422	418	444
16068	175	181	185	205	221	234	252	260	280	293	309	310	334	
16070	183	186	201	225	246	261	277	285	303	324	334	353	371	
16075	210	204	219	233	253	263	273	289	304	325	336	345	355	
32363	145	146	151	167	175	187	198	210	219	240	250	255		
32364	124	118	124	135	150	161	176	187	195	216	224	233	240	268
16080	170	160	180	187	200	209	219	233	246	265	272	280	295	
16083	128	127	131	143	157	165	177	191	206	220	223	230	247	
32368	k.A.	k.A.	153	147	148	147	157	161	168	185	190	195	213	233

Tabelle 19e: Gewicht (in kg) der Versuchsrinder in der Weidesaison 2011
(Targeted Treatment-Gruppe; n=9)

Ohrmarke	03.05.	17.05.	31.05.	14.06.	28.06.	12.07.	26.07.	09.08.	23.08.	06.09.	20.09.	04.10.	18.10.	15.11.
32359	175	174	184	195	210	223	235	254	259	286	312	323	323	353
16069	187	186	188	215	225	230	259	262	269	296	310	325	334	
16071	157	161	165	190	207	225	245	264	286	307	310	333	347	
32362	136	135	150	162	180	191	204	218	234	251	267	285	300	327
16074	178	178	198	205	215	225	237	246	256	281	285	300	314	
16076	181	179	184	205	225	238	253	268	289	313	334	341	363	
32366	113	114	120	133	147	157	175	184	202	217	225	244	252	274
16082	137	136	144	160	175	189	201	218	233	253	273	287	302	
32369	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	160	162	173	181	190	210	221	236	241	266

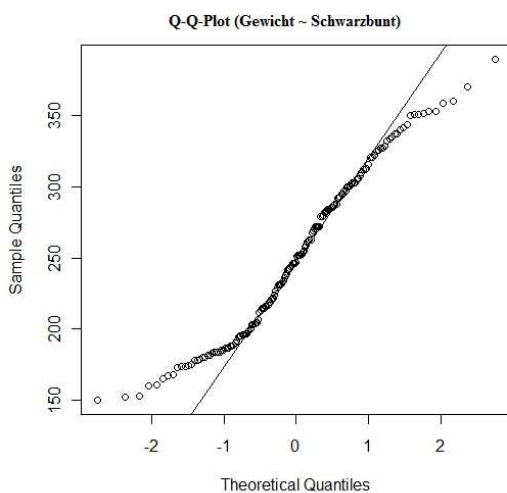


Abb. 22a: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Schwarzbunt in der Weidesaison 2010

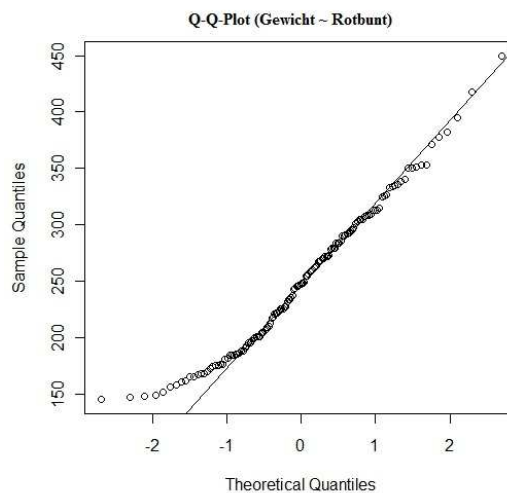


Abb. 22b: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Rotbunt in der Weidesaison 2010

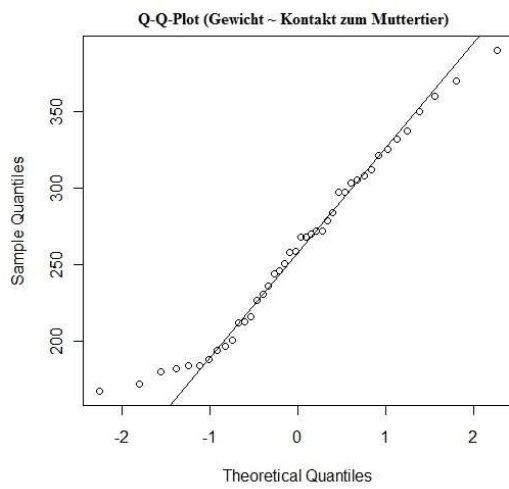


Abb. 22c: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absatzverfahren Kontakt zum Muttertier in der Weidesaison 2010

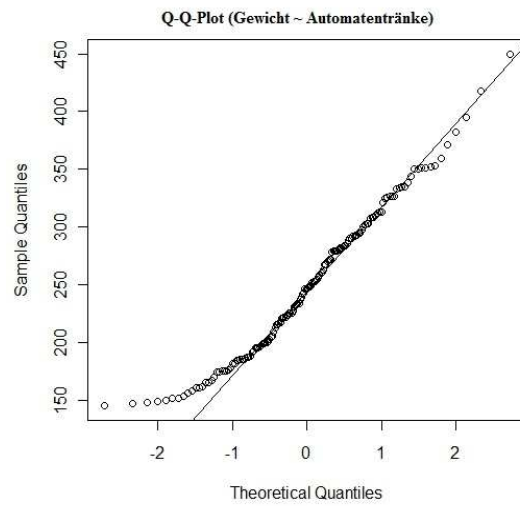


Abb. 22d: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absatzverfahren Automatentränke in der Weidesaison 2010

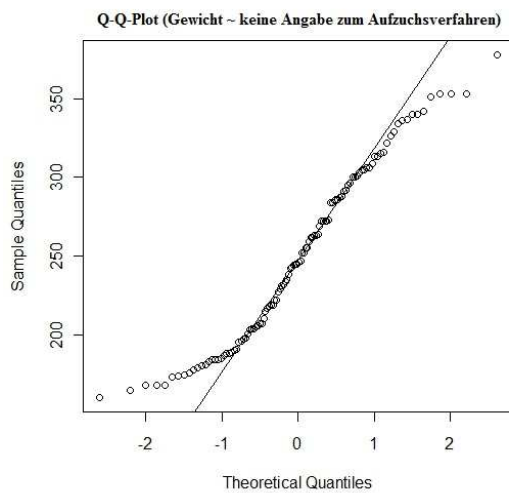


Abb. 22e: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und keine Angabe zum Absatzverfahren in der Weidesaison 2010

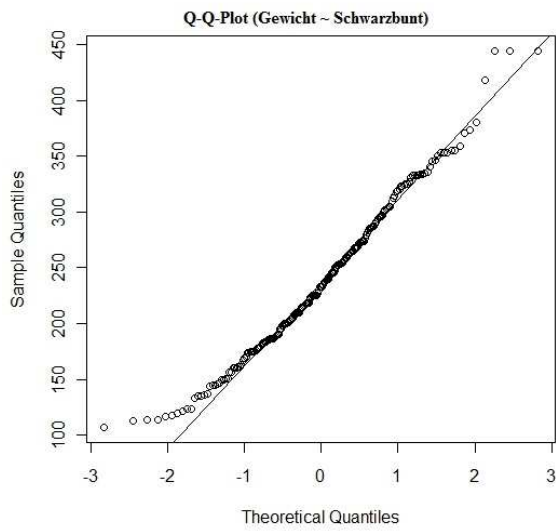


Abb. 23a: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Schwarzbunt in der Weidesaison 2011

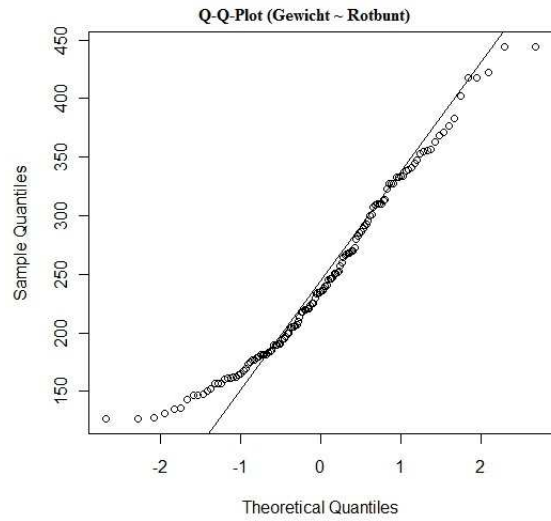


Abb. 23b: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Rasse Rotbunt in der Weidesaison 2011

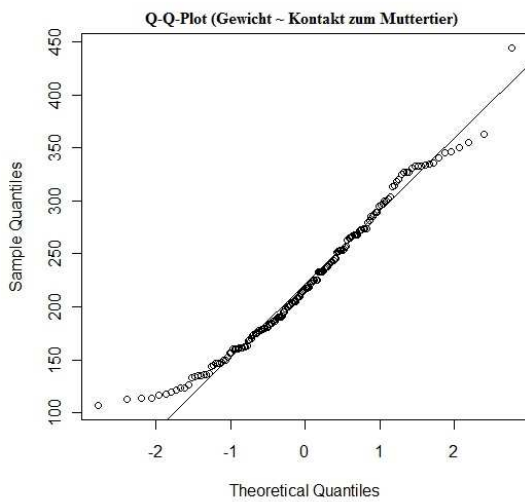


Abb. 23c: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absatzverfahren Kontakt zum Muttertier in der Weidesaison 2011

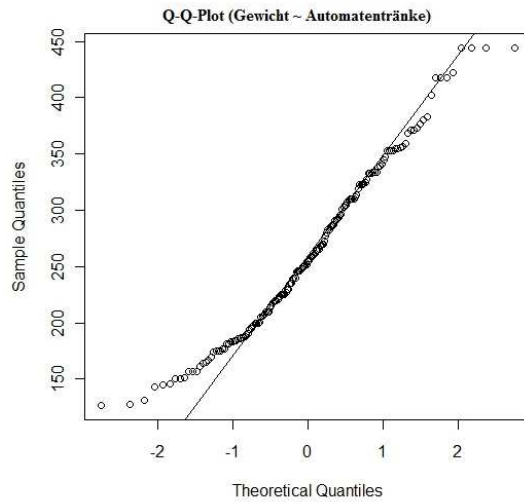


Abb. 23d: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Absatzverfahren Automatentränke in der Weidesaison 2011

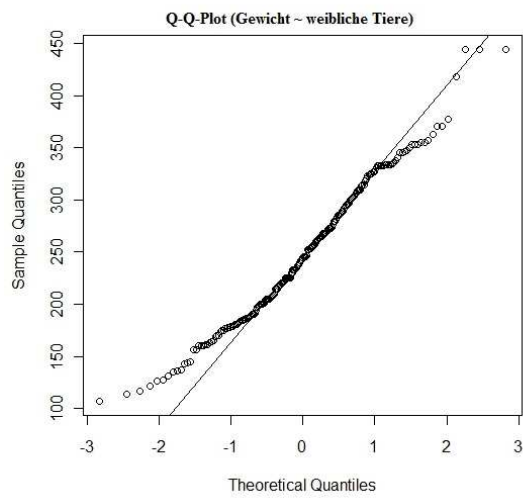


Abb. 23e: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Geschlecht weibliche Tiere in der Weidesaison 2011

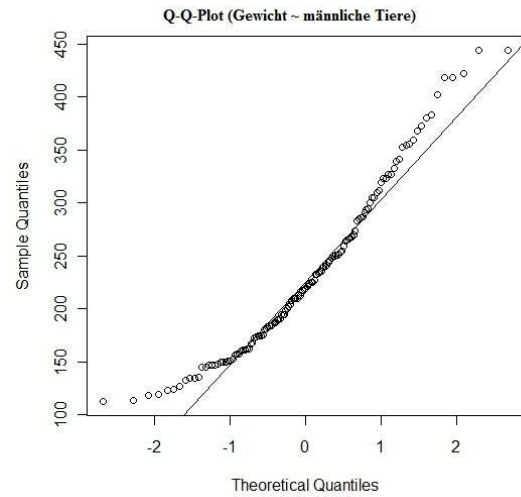


Abb. 23f: QQ-Plot der Residuen der Variablen Gewicht und Geschlecht männlich Tiere in der Weidesaison 2011

10 Publikationsverzeichnis

Teile dieser Doktorarbeit wurden bereits auf folgenden Tagungen bzw. in folgenden Artikeln veröffentlicht:

Fahrenkrog J, Koopmann R., von Samson-Himmelstjerna G., Demeler J., 2011:

"Targeted Selective Treatment (TST) bei Rindern zur Reduzierung der Resistenzbildung bei Endoparasiten"

Landbauforschung - Sonderheft, Band 346, S. 71-76

Fahrenkrog J, Demeler J., von Samson-Himmelstjerna G., Koopmann R., 2011:

"Entwicklung nachhaltiger Endoparasitenbekämpfungsstrategien"

VetMedReport 6/2011, S.10

Fahrenkrog J, Koopmann R., von Samson-Himmelstjerna G., Demeler J., 2011:

"Optimierung der Parasitenbekämpfung bei Weidehaltung von Rindern"

Tierärztliche Praxis Großtiere 3/2011, S. A13

Fahrenkrog J, Koopmann R., von Samson-Himmelstjerna G., Demeler J., 2011:

"Optimierung der Parasitenbekämpfung bei Weidehaltung von Rindern"

Tagung der DVG-Fachgruppe Parasitologie und Parasitäre Krankheiten, Berlin, Deutschland
04.-06. Juli 2011, S. 58

11 Danksagung

Eine Dissertation (kurz *Diss.*) oder Doktorarbeit, seltener Dissertationsschrift oder Doktorschrift [...] ist eine wissenschaftliche Arbeit zur Erlangung eines Doktorgrades an einer Universität oder einer anderen Hochschule mit Promotionsrecht. Zur Promotion ist neben der Veröffentlichung der Dissertation meist eine mündliche Prüfung notwendig. (Quelle: <http://www.wikipedia.de>)

Und nun ist es nach einigen arbeitsreichen, nervenaufreibenden, stressigen, desillusionierenden aber auch interessanten, lehrreichen, witzigen und schönen Stunden, Tagen, Wochen, Monaten und Jahren geschafft! Auf diesem Wege möchte ich mich deshalb bei allen beteiligten Personen bedanken:

Mein herzlicher Dank gilt dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Georg von Samson-Himmelstjerna für die Überlassung des Themas und die allseits freundliche Unterstützung.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Demeler für ihre gute Betreuung der Arbeit, die herausragende Unterstützung, die vielen Anregungen und die gut durchdachten Korrekturvorschläge bedanken; sie stand mir mit ihrer fachlichen Kompetenz stets zur Seite und hatte bei Fragen und Problemen immer ein offenes Ohr. Vielen, vielen Dank hierfür, Janina!

Dem Thünen-Institut für ökologischen Landbau unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Gerold Rahmann danke ich für die Anstellung als wissenschaftliche Mitarbeiterin, für die finanzielle Unterstützung und für die Ermöglichung der Projektdurchführung auf dem Versuchsbetrieb.

Insbesondere gilt mein herzlicher Dank hier Frau Dr. Regine Koopmann für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die beständige Unterstützung auf allen Gebieten. Vielen lieben Dank Regine!

Den Mitarbeitern des Versuchsbetriebes und der WTE-Tier des Thünen-Instituts danke ich für ihre Hilfe bei den Probennahmen. Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Kerstin Hofmann für ihre großartige Hilfe an allen Untersuchungstagen.

Ich danke allen Mitarbeitern und Mitdoktoranden des Instituts für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin, die mir bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit behilflich waren; vor allem danke ich Sabrina Ramünke für die umfangreiche Unterstützung bei der Arbeit im Labor.

Zudem danke ich Frau Dr. Gitta Reimers für die frühzeitige berufliche Inspiration, für die stetige Unterstützung während meiner Schul-, Studien- und Assistentenzeit und für ihre Flexibilität, welche mir eine Tätigkeit in ihrer Praxis neben der Doktorarbeit ermöglichte.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei all meinen Freunden bedanken, die mich während dieser Zeit vielfältig mit offenen Ohren und offenen Armen, Verständnis, ermunternden Worten, Ablenkung, einer Menge Spaß und vielem, vielem mehr unterstützt haben. Ihr seid großartig!

Meinen Eltern und meiner Familie danke ich einfach für alles. Danke!

12 Selbstständigkeitserklärung:

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen Anspruch genommen habe.

Berlin, den 09 Mai 2013

Jana Fahrenkrog