

2 Literaturübersicht

2.1 Der Bandwurmbefall des Pferdes

2.1.1 Morphologie und Systematik der Anoplocephalidae

Die Bandwürmer des Pferdes gehören zur Klasse der Zestoden, Ordnung Cyclophyllidea, Familie Anoplocephalidae. Diese Familie ist durch das Fehlen der Bewaffnung am Skolex gekennzeichnet (SPASSKIJ, 1951). Sie besitzen vier diagonal angeordnete Saugnäpfe, die der Anheftung sowie der Lokomotion dienen und meist breite, kurze Proglottiden, deren Anzahl je nach Art von einigen wenigen bis zu 90 (bei *A. perfoliata*) schwankt, woraus sich auch die unterschiedliche Gesamtlänge der Bandwurmartarten ableitet. So ist zum Beispiel *A. perfoliata* ca. 2,5 - 4 cm, *P. mamillana* bis 5 cm und *A. magna* sogar bis 80 cm lang. Jedes Bandwurmglied (Proglottide) enthält eine zwittrige Geschlechtsanlage, wobei bei den Anoplocephalidae der Genitalporus nur auf einer Seite liegt. Alle Segmente (Proglottiden) werden durch ein osmoregulatorisches System und durch gemeinsame Nerven versorgt. Rhythmische und koordinierte Bewegungen können durch die abgestimmte Aktivität zweier Muskelzonen ausgeführt werden. Die Nahrungsaufnahme erfolgt über das Integument (TAUSEND, 1989).

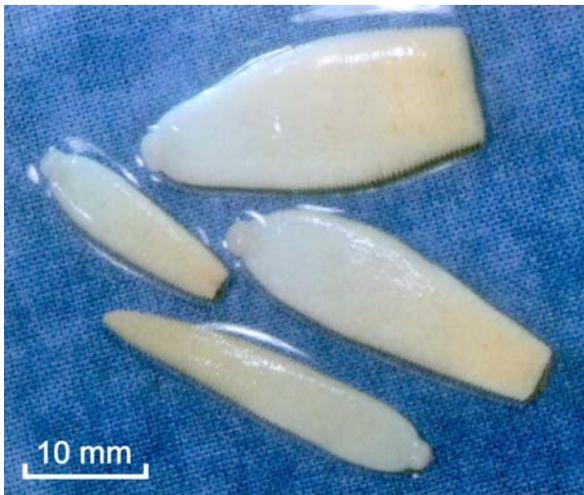


Abbildung 1: *A. perfoliata*; Adulte Bandwürmer (VIRBAC, 2002)

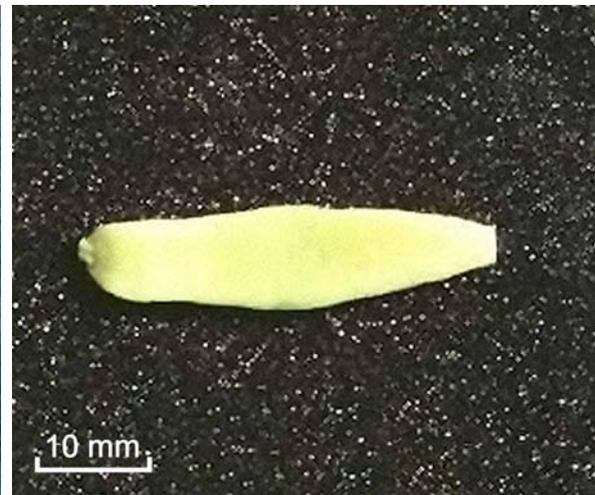
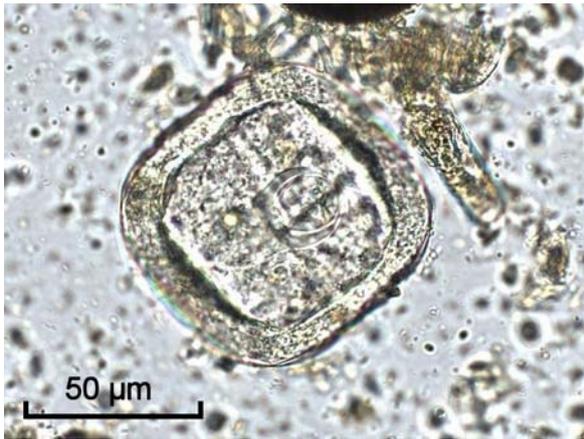


Abbildung 2: *P. mamillana*; Adulter Bandwurm (MERIAL, 2004)

Die Eier der Anoplocephalidae sind dickschalig und von unregelmäßiger, rundlicher bis viereckiger Form. Sie enthalten eine mit sechs Haken versehene kugelige Larve (Onkosphäre), die von einer besonders geformten Embryophore, dem „birnenförmigen“ Apparat umschlossen wird.

Abbildung 3: Ei von *A. perfoliata*Abbildung 4: Eier von *P. mamillana*

Wichtige Unterscheidungsmerkmale der beim Pferd hauptsächlich vorkommenden *Anoplocephala*-Arten sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Morphologische Merkmale der bei Pferden hauptsächlich vorkommenden Zestodenarten (nach LICHTENFELS, 1975)

	Anoplocephalidae		
	<i>A. perfoliata</i> (GOEZE, 1782)	<i>A. magna</i> (ABILDGAARD, 1789)	<i>P. mamillana</i> (MEHLIS, 1831)
Länge	2 – 8 cm	bis 80 cm	1 – 4 cm
Breite	0,8 – 1,4 cm	2,5 cm	0,4 – 0,6 cm
Kopf	rund und flach 2 – 3 mm 4 Saugnäpfe kegelförmig mit jeweils 1 Lappen	länglich und flach 4 – 6 mm 4 Saugnäpfe rund	flach 0,7 – 0,8 mm 4 Saugnäpfe schlitzförmig
Hals	sehr kurz	fehlt	sehr kurz

2.1.2 Entwicklung und Epidemiologie

Neben den Strongyliden, Spulwürmern (*Parascaris equorum*) und den Larven der Magendassel (*Gasterophilus intestinalis*) werden die Bandwürmer (*A. perfoliata*, *P. mamillana* und *A. magna*) zu den weltweit wichtigsten Parasiten des Pferdes gezählt (CIRAK et al., 1995). Bereits 1918 wurden von HALL und HOSKINS erste Beobachtungen über Bandwürmer beim Pferd angestellt. Zu Beginn des 19. Jahrhunderts war *A. magna* der am häufigsten auftretende Bandwurm beim Pferd.

In unseren Breiten sind heute die beiden Bandwurmart *A. perfoliata* und *P. mamillana* vertreten, wobei der Befall mit *A. perfoliata* häufiger nachgewiesen wird. Das Vorkommen von *A. magna* bei Pferden in Deutschland wurde bisher nur in zwei Fällen von CIRAK et al. (1995) durch Sektion nachgewiesen.

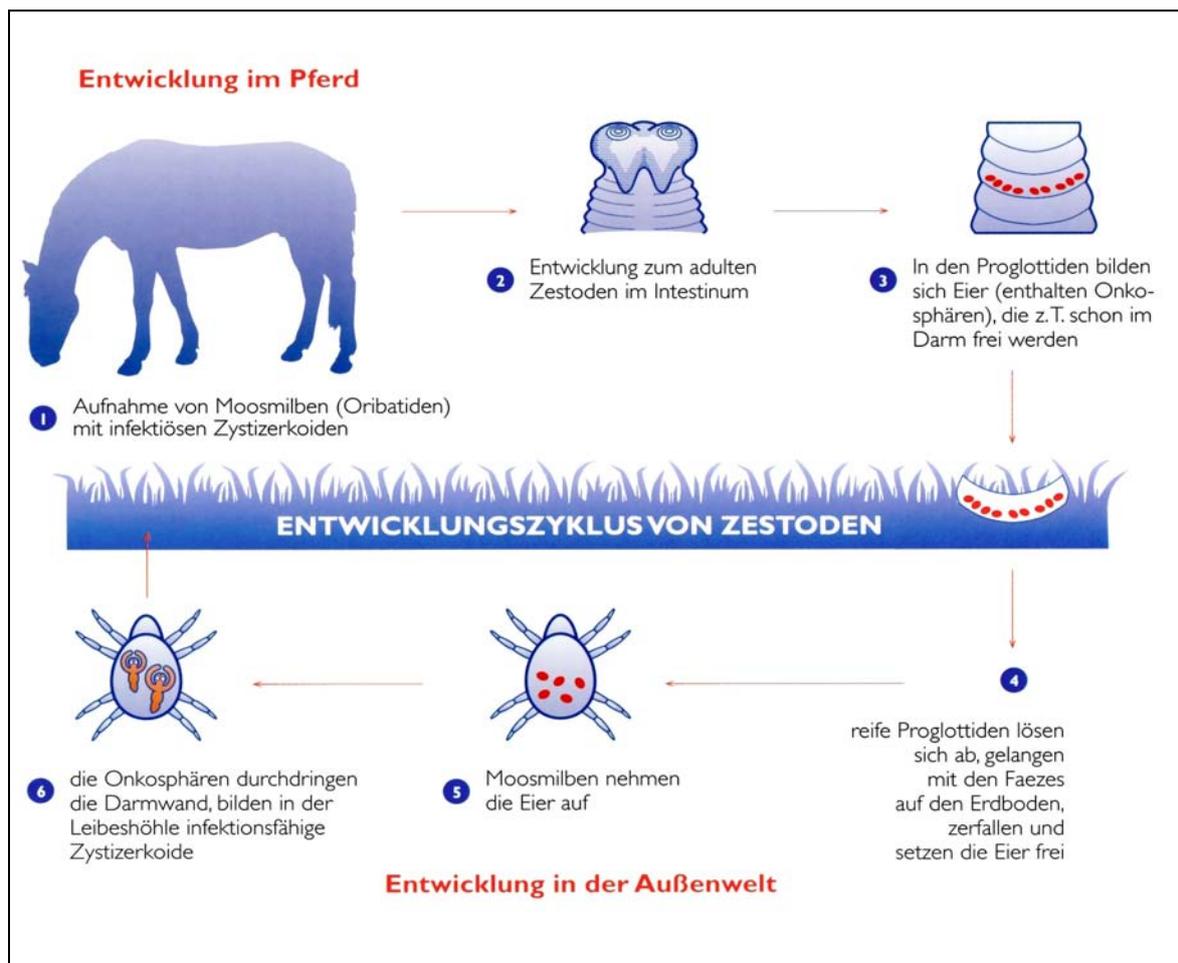


Abbildung 5: Entwicklungszyklus von Zestoden (VIRBAC, 2002)

Eine Infektion mit *A. perfoliata* oder *P. mamillana* kann allein oder als Mischinfektion auftreten. Da die Anoplocephalidae sehr wirtsspezifisch sind, wurden sie bisher nur bei Pferden, Maultieren und Eseln nachgewiesen. Voraussetzung für eine Bandwurminfektion ist die Weidehaltung, da nur hier die Zwischenwirte, verschiedene Oribatiden, vorhanden sind. Milben werden häufiger auf permanenten Weiden als auf kultiviertem Land oder Mahdweiden angetroffen (BAIN und KELLY, 1977; JACOBS, 1986).

Die vom Bandwurm abgestoßenen reifen Proglottiden werden nur teilweise im Darm mazeriert. Bei *A. perfoliata*, der meist im Blinddarm und an der Plica ileocaecalis schmarotzt, liegt bei den Proglottiden eine kurze Darmpassagezeit vor. Dies führt dazu, dass die Proglottiden nicht angedaut werden und dadurch keine Eifreisetzung erfolgt. *P. mamillana* schmarotzt eher im Dünndarm und Magen, weshalb die Proglottiden eine längere Darmpassagezeit haben, angedaut werden und ihre Eier freisetzen. Die Moosmilben (Oribatiden) nehmen die Eier aus dem Kot oder direkt von ausgeschiedenen Proglottiden auf (SCHUSTER et al., 1988). In Deutschland sind die Oribatiden mit verschiedenen Spezies vertreten: *Scheloribates laevigatus*, *Scheloribates latipes*, *Scheloribates pallidulus*, *Achipteria coleptratus* und *Ceratozetes cisalpinus* (BASHKIROVA, 1941). Für die drei Bandwurmart des Pferdes gelang BASHKIROVA (1941) die experimentelle Infektion von Moosmilben der Gattungen *Columna*, *Achipteria* und *Scheloribates*. Lediglich *Scheloribates* sp., *Achipteria* sp. und *Ceratozetes* sp. scheinen in Deutschland eine Bedeutung als obligater Zwischenwirt bei der Übertragung von Bandwurminfektionen zu haben (TAUSEND, 1989). Die Onkosphäre befreit sich im Milbendarm aus den Eiern, bohrt sich durch die Darmwand und entwickelt sich dann in ca. 2 bis 4 Monaten in der Leibeshöhle weiter zum ansteckungsfähigen Zystizerkoid (KUZNECOV, 1966). Dieses bleibt während der gesamten Lebensdauer der Moosmilbe (bis 2 Jahre) infektiös.

Ab einem Alter von 8 Monaten können sich Pferde infizieren. Dies ist abhängig vom Entwicklungszyklus der Bandwürmer, von der Haltungsart der Pferde, von der Bodenbeschaffenheit und von der Witterung. Pferde infizieren sich beim Weidegang über die Grünfutteraufnahme mit dem ansteckungsfähigen Zystizerkoid, welches sich in der Moosmilbe befindet. Voraussetzung dafür ist eine Beweidung durch bandwurminfizierte Tiere im Vorjahr. Nach Aufnahme der infizierten Moosmilben werden die Zystizerkoide im Duodenum des Endwirtes durch Verdauungsprozesse freigesetzt. Ihre Entwicklung zum geschlechtsreifen Bandwurm (Präpatenzperiode), d. h. der Zeitraum von der Infektion bis zur Erstausscheidung von Proglottiden oder Eiern im Kot des Endwirtes, beträgt ca. 6 bis

10 Wochen (SOULSBY, 1965). Die Lebensdauer von *A. perfoliata* im Wirt beträgt mindestens 6 Monate, danach stirbt der Bandwurm ab und wird mit dem Kot ausgeschieden (ECKERT, 2000). Durch diesen indirekten Entwicklungszyklus wird nicht jedes einzelne Tier mit Sicherheit infiziert, aber Tiere, die auf Weiden grasen, die mit Bandwurmstadien kontaminierte Milben beherbergen, sind dem gleichen Infektionsrisiko ausgesetzt (EPE et al., 2001).

Nach Untersuchungen von Darminhalten geschlachteter Pferde über Jahrzehnte und weltweit wurde oft nur eine geringfügige Befallszunahme in den Herbst- und/oder Wintermonaten diagnostiziert (LYONS et al., 1983, 1984, 1985, 1987; NILSSON et al., 1995). Allerdings sah keiner der vorgenannten Autoren darin einen schlüssigen Beweis für jahreszeitliche Unterschiede in der Befallshäufigkeit mit Bandwürmern.

Auch liegen nur wenig detaillierte Angaben über die Befallsextenzität in Zusammenhang mit dem Alter der Tiere, dem Geschlecht und den Haltungsbedingungen vor. Genauere Hinweise über das Alter der Tiere in Zusammenhang mit der Infestationsrate lieferten Sektionsbefunde von LYONS et al. (1983, 1984, 1987). Dabei konnte ab dem 5. Lebensjahr ein zunehmender Befall mit Bandwürmern festgestellt werden. Auch HASS bestätigte 1979 eine höhere Befallsextenzität bei erwachsenen Tieren (26 %) im Vergleich zu Fohlen (18 %). In neueren Untersuchungen hat sich gezeigt, dass Pferde und Esel mit einem Alter zwischen 5 und 10 Jahren häufiger mit Bandwürmern infiziert sind als jüngere Tiere (NILSSON et al., 1995; BEELITZ et al., 1996).

Bezüglich der Abhängigkeit vom Geschlecht der Tiere in Korrelation mit einer Bandwurminfektion stellten LYONS et al. (1984) für Hengste, Stuten und Wallache mit jeweils 47 %, 55 % und 53 % annähernd gleiche Werte fest. Auch IMRIE und JACOBS (1987) machten ähnliche Feststellungen für Hengste, Stuten und Wallache mit 27,3 %, 29,2 % und 26,7 %.

NILSSON et al. (1995) untersuchten 218 Pferde unterschiedlichen Geschlechts, Alters sowie mit unterschiedlichen Haltungsbedingungen und kamen zu folgenden Ergebnissen: Bei den Stuten lag die Prävalenz bei 68,2 %, bei den Hengsten bei 51,9 % und bei den Wallachen bei 63,9 %. Möglicherweise entsteht der Unterschied in der Prävalenz von Hengsten zu Stuten und Wallachen durch die häufig vorkommende Einzel- oder Boxenhaltung von Hengsten, wodurch das Infektionsrisiko künstlich gesenkt wird.

Voraussetzung für eine Bandwurminfektion ist der Weidegang, da nur hier die Moosmilbe als Zwischenwirt mit dem Futter aufgenommen werden kann. Laut EPE et al., (2001)

konnten in ihrer Studie keine signifikanten Korrelationen zwischen positiven Kotproben und der Dauer der Weideperiode, gemischter Weide mit Wiederkäuern oder Vornutzung der Weide zur Heu- oder Silagegewinnung festgestellt werden.

2.1.3 Pathogenität und klinische Erscheinungen

Aufgrund von Untersuchungen von Kotproben und Schlachtkörpern bei Pferden wird von verschiedenen Autoren weltweit für *A. perfoliata* eine Prävalenz zwischen 13 % und 82 % angegeben (LYONS et al., 1983, 1984; IMRIE und JACOBS, 1987; OWEN et al., 1988; GAUDERON et al., 1988; MFITILODZE und HUTCHINSON, 1989; PEARSON et al., 1993; FOGERTY et al., 1994; BUCHNELL et al., 1995; NILSSON et al., 1995; CIRAK et al., 1996; EPE et al., 2001). Die Untersuchung von Schlachtpferdedärmen ergibt einen höheren Anteil infizierter Pferde als die Untersuchung von Kotproben, was durch die diskontinuierliche Ausscheidung von Eiern bedingt ist (HASSLINGER, 1989).

Beim Pferd parasitieren drei verschiedene Bandwurmspezies. Diese unterscheiden sich hinsichtlich der Morphologie ihrer Skolices, ihrer Größe und der Anheftungsstelle im Magen-Darm-Trakt. *A. magna* wird z. B. hauptsächlich im Endabschnitt des Dünndarmes angetroffen, nur in seltenen Fällen auch direkt im Magen. Diese Bandwurmspezies war die Ursache einer Dünndarm-Ruptur bei einem Hengstfohlen (OLIVER et al., 1977). *A. magna* verursacht in der Regel eine chronische Abmagerung, das erwähnte Fohlen verstarb aber ohne signifikante klinische Symptome. Erst bei der Sektion trat das ganz Ausmaß der entstandenen Schädigung durch den Befall mit *A. magna* zutage. Es wurde eine generalisierte, akute Peritonitis festgestellt, da durch einen Riss im Duodenum, in der Nähe des Netzansatzes, Nahrungsbrei ausgetreten war. Ursächlich für diesen Riss war eine ca. 45 cm lange, entzündete Stelle im Duodenum. Außerdem war der gesamte Abschnitt mit Bandwürmern gefüllt.

Von *P. mamillana*, der im proximalen Dünndarm und gelegentlich im Magen parasitiert, ist bisher kein Fall bekannt, bei dem dieser Läsionen oder klinische Symptome verursacht hätte (TAUSEND, 1990).

Im Gegensatz zu *A. magna* und *P. mamillana* hat *A. perfoliata* in Europa eine weit größere Bedeutung. Der Parasit siedelt sich im distalen Jejunum, im Ileum, dem Caecum, hier vor allem im Bereich der Plica ileocaecalis, sowie dem proximalen Colon an (SLOCOMBE, 1979; BEROZA et al., 1983; CARMEL, 1988; FOGARTY et al., 1994; WILLIAMSON et al., 1997). Veröffentlichungen über durch *A. perfoliata*-Befall verursachte pathologische

Veränderungen liegen aus vielen Ländern vor: Deutschland (DIETZ et al., 1994; JACH et al., 1990), Irland (COSGROVE et al., 1986), Schweden (NILSSON et al., 1995), Spanien (BARONI und SIEVERS, 1997), Finnland (SAARI und NIKANDER, 1992), Frankreich (COLLBERT et al., 1997), Norwegen (IHLER et al., 1993), USA (BEROZA et al., 1983; LYONS et al., 1984; EDWARDS, 1986), Japan (JSODA et al., 1966; OTA et al., 1981), Neuseeland (BAIN und KELLY, 1977) und Australien (WILLIAMSON et al., 1997).

Bei dem Befall mit *A. perfoliata* wurden in Sektionen verschiedene Befunde festgestellt, so z. B. eine Wandverdickung mit Elastizitätsverlust an Ileum, Plica ileocaecalis und dem größten Teil des Jejunums (LYONS et al., 1984), eine durch Hypertrophie bedingte Lumeneinengung an der Plica ileocaecalis (BEROZA et al., 1985) oder verfärbter, ödematöser Dünndarm mit Netzverklebung (CROSGROVE et al., 1986). Außerdem konnten Darmdrehungen im Bereich des Caecum und Colon ascendens (BEROZA et al., 1985) und im Bereich des Jejunums (JACH und ALLMELING, 1990) sowie Invaginationen an Ileum und Caecum beobachtet werden (BARCLAY et al., 1982; BEROZA et al., 1985; CROSGROVE et al., 1986; EDWARDS, 1986). Des Weiteren wurde eine generalisierte Peritonitis mit flockig-trüber Peritonealflüssigkeit (CROSGROVE et al., 1986; BEROZA et al., 1983; DIETZ et al., 1994) und Perforationen von Caecum und Ileum, teilweise mit gleichzeitiger Invagination beschrieben (ISODA et al., 1966; BEROZA et al., 1983, 1985; DIETZ et al., 1994).

Über einen besonderen Fall berichtet DIETZ et al. (1994). Hierbei handelte es sich um eine 23-jährige Warmblutstute die 8 Stunden lang Koliksymptome zeigte. Ein Lipoma pendulans hatte zu einer Strangulation des Jejunums geführt. Bei der Operation wurden in der Bauchhöhle zahlreiche Spulwürmer und Verklebungen zwischen Netz und Mesenterium vorgefunden. Der pathologisch-anatomische Befund wies einen Befall mit ca. 150 Exemplaren von *A. perfoliata* im Blinddarm nach, der im Bereich der Plica ileocaecalis eine hochgradige entzündliche Verdickung der Darmwand verursacht hatte. Das Ileum wies eine Hypertrophie der Tunica muscularis auf. Außerdem wurde eine hochgradige Entzündung mit starker eosinophiler Infiltration und einem Ödem der Submukosa in der Blinddarmwand festgestellt.

Von BAIN und KELLY (1977) wurden folgende makroskopisch wahrnehmbare pathologische Veränderungen an den Anheftungsstellen der Zestoden beschrieben: Ulzerationen, Degeneration, Ablagerung diphtheroider Membranen sowie verruköse, granulomatöse Läsionen.

Neuere Angaben über die Befallsintensität ergaben eine durchschnittliche Befallszahl von

1 bis 123 adulten Würmern pro Pferd, wobei die höchste Anzahl bei 408 adulten Parasiten lag. 81 % der Bandwürmer befanden sich an der Caecum-Wand und ca. 17 % am Übergang vom Ileum zum Caecum (WILLIAMSON et al., 1997). Die jahrzehntelange Annahme, dass nur ein Massenbefall mit Bandwürmern zu schweren Auswirkungen auf den Wirt führen, konnten von WILLIAMSON et al. (1997) widerlegt werden: auch eine geringe Anzahl von Zestoden hat gleichermaßen schwere Auswirkungen auf den Wirt.

Die patho-histologischen Veränderungen an den Anheftungsstellen sind von CHRISTEL (1971) wie folgt beschrieben worden: es kommt zum Schwund der Darmzotten, Epithelverlust, Einschmelzen von Teilen der Lamina propria, Muscularis mucosae oder Submukosa sowie einer starken Vermehrung der eosinophilen Blutzellen. Durch die Zelleinlagerung in das Arteriolen-Endothel mit nachfolgender Lumeneinengung kommt es zu akutem Blutstau, örtlicher Hämorrhagie sowie Hämosiderose in Mucosa und Submukosa (ISODA et al., 1966; OTA et al., 1981; BEROZA et al., 1985). WILLIAMSON stellte 1997 Ulzerationen, die mit diphtheroiden Belägen versehen waren, an Bandwurmanheftungsstellen fest. In diesen diphtheroiden Membranen waren Epithelzellen, eosinophile Granulozyten, Monozyten, Erythrozyten, Fibrin, Bakterien und Zelltrümmer vorhanden. Im Exsudat befanden sich oft neutrophile Granulozyten, außerdem lag ein ausgedehnter Schaden der Mukosa vor mit einer Fibrosierung der Darmdrüsen und eosinophiler Infiltration der Lamina propria, was zur Folge hatte, dass der Abstand zwischen den Darmdrüsen zunahm. Am Übergang vom Ileum zum Caecum und an der Caecum-Wand war die Stärke der Läsionen abhängig von der Anzahl der Würmer, die hier angeheftet waren.

Die klinischen Erscheinungen bei Bandwurmbefall sind sehr unterschiedlich, ein typisches Bild existiert nicht. Beschreibungen der Symptome reichen von schlechter Entwicklung und geringer Leistungsfähigkeit, Verdauungsstörungen (ISODA et al., 1966) bis zu unspezifischen Koliksymptomen (DIETZ et al., 1994). Ein schlechtes Allgemeinbefinden, Dehydratation, beschleunigte Atmung, erhöhte Herzfrequenz, aufgegaste Darmteile, fehlende bzw. stark unterdrückte Darmperistaltik stellten BEROZA et al. (1983), COSGROVE et al. (1986) und JACH und ALLMELING (1990) fest. BARCLAY et al. (1982) beobachteten an einem Teil ihrer Pferde Dünndarmverschluss sowie –ausweitung und den Reflux von Nahrungsbrei in den Magen. Zusätzlich stellten COSGROVE et al. (1986) eine Schwäche und Koordinationsschwierigkeiten in der Hinterhand fest.

In einer vergleichenden Studie mit 103 Kolikpferden und einer gleichen Zahl gesunder Kontrolltiere wurde nachgewiesen, dass zwischen dem Befall mit *A. perfoliata* und dem

Auftreten von spastischen Koliken ein signifikanter Zusammenhang besteht; etwa 22 % der Koliken wurden auf *A. perfoliata* zurückgeführt (PROUDMAN und TREES, 1999; PROUDMAN et al., 1998).

Einzelne Wissenschaftler vermuten, dass die Pathophysiologie von durch *A. perfoliata* bedingten Darmerkrankungen durch einen Eingriff in den Mechanismus der parasympathischen Reizübertragung entsteht (BAIN und KELLY, 1977). *A. perfoliata* enthält eine große Menge an Acetylcholinesterase. Wird diese in großen Mengen freigesetzt, wird die Übertragung auf parasympathische Nerven gestört. Sie führen dies darauf zurück, dass das präsynaptische Acetylcholin, noch bevor sich postsynaptisch ein Aktionspotential bilden kann, in Cholin und Essigsäure gespalten wird. Dadurch wird möglicherweise die Darmperistaltik um den Parasiten herum unterdrückt, so dass Krämpfe auftreten, in deren Folge es bei Vorschädigung des Gewebes zur Ruptur kommen kann.

2.1.4 Therapie

Die wichtigste Maßnahme bei der Bekämpfung der Parasiten ist die Gabe von Anthelminthika. Leider erfüllen nicht alle Präparate die an sie gestellten Erwartungen, und ein therapeutischer Effekt bleibt aus. Folgende hohe Ansprüche werden derzeit an die Anthelminthika gestellt:

- gute Verträglichkeit
- hohe Wirksamkeit bei der gewünschten Zielgruppe
- großer Sicherheitsindex für den Wirt
- einfache Verabreichungsform
- geringe Kosten
- kurze Wartezeiten für Fleisch- und Milchprodukte
- geringe Belastung der Umwelt

Nur wenigen anthelminthischen Pharmaka wird eine Wirkung gegenüber Bandwürmern beim Pferd nachgesagt. Niclosamid (50 - 88 mg / kg KGW) und Pyrantelsalze (6,6 mg, 13,2 mg bzw. 19,8 mg Pyrantel / kg KGW) sollen laut LYONS et al. (1974, 1986, 1989), SLOCOMBE (1979), BEROZA et al. (1983) und JUBB et al. (1985) in unterschiedlichem Maße wirksam sein. Nach einer neueren Studie von DRÖSSIGK und SCHUSTER (1997) wurden 39 bandwurmpositive Pferde mit Anthelminthika der Wirkstoffgruppe Pyrantel (19,8 mg / kg KGW) oral, Oxibendazol (10 mg / kg KGW) oral bzw. Praziquantel (1 - 2 mg / kg KGW) i. m. behandelt. Für die Therapieversuche kamen die handelsüblichen Anthelminthika Banmith[®], Droncit[®], sowie das nicht in Deutschland erhältliche Equitac[®] in verschiedenen Dosierungen und Formulierungen zum Einsatz. Nach Behandlung und anschließender dreifacher koproskopischer Untersuchung (NaCl / ZnCl₂ – Flotation) konnten die in der Literatur vorliegenden positiven Ergebnisse nach Behandlung mit Oxibendazol und Pyrantel nicht bestätigt werden. Nur die spezifische Chemotherapie mit Praziquantel in einer Dosierung von 1 - 2 mg / kg KGW i. m. oder oral ist hochwirksam und zu empfehlen (LYONS et al., 1992; PROUDMAN und TREES, 1996; DRÖSSIGK und SCHUSTER, 1997).

Das auf dem Markt erhältliche Droncit[®] (9 %iges orales Gel) mit dem Wirkstoff Praziquantel (1 g Gel enthält 90 mg Praziquantel) wurde im Feldversuch in mehreren Ländern getestet und ergab nach Behandlung und mehrfacher koproskopischer Untersuchung (kombiniertes Sedimentations-/ Flotationsverfahren) eine 94,1 %ige

Bandwurmfreiheit bei vorher positiven Pferden. Bei dem Kombinationspräparat Equimax® (1 g Gel enthält 18,7 mg Ivermectin und 140,3 mg Praziquantel) soll laut einer Studie von FRAYSSINET et al. (2001) die Wirkung gegen die drei häufigsten Bandwürmer des Pferdes sogar bei 100 % liegen.

Eine Therapie gegen Bandwürmer sollte bei Tieren, die im Winter im Stall gehalten werden, bei der Aufstallung im Herbst erfolgen, so dass sich eine Austriebsbehandlung im folgenden Jahr erübrigen würde. Bei Reitställen und Gestüten mit bekannter Bandwurmproblematik ist noch zusätzlich eine Behandlung im Hoch- oder Spätsommer (zwei Monate vor Aufstallung) zu empfehlen. Pferde in Offenstallhaltung und/oder ganzjähriger Weidehaltung sollten im Frühjahr und Herbst gegen Bandwürmer behandelt werden. In Betrieben mit hohem Infektionsdruck ist eine Bandwurmbehandlung in kürzeren Abständen nötig, um den Zyklus im Endwirt zu unterbrechen und die Weidekontamination zu reduzieren. Auch wenn nur eine Kotprobe im Bestand positiv ist, sollten alle Tiere, die gleichen Bedingungen (Weidegang etc.) unterliegen, als potentiell infiziert angesehen und auch alle gleichzeitig entwurmt werden (EPE et al., 2001).

2.1.5 Prophylaxe

Da der Parasitenbefall nicht völlig zu eliminieren ist, muss es Ziel der Prophylaxe sein, den Befall auf ein Maß zu reduzieren, welches die finanziellen und ideellen Schäden so gering wie möglich hält. Schon ARCHER empfiehlt 1980 im Rahmen des Weidemanagements das Sammeln und Entfernen des Pferdekotes, die wechselweise Nutzung der Weideareale durch andere Tierarten (Rinder), den Umbruch der Weide mit Neuansaat und die Mahd (HASSLINGER und TAUSEND, 1989). Die regelmäßige Kotentfernung hätte zusätzliche Vorteile wie z. B. eine Vergrößerung der nutzbaren Weidefläche durch Wegfall der von Pferden gemiedenen Geilstellen, die Kontrolle anderer über den Kot vermittelter Parasitosen und Weidelästlingen, die Kot als Brutmedium benötigen, sowie die Risikominderung einer Praziquantelresistenz der Bandwürmer (BEELITZ und GOTHE, 2001).

Die Bekämpfung der Zwischenwirte (Oribatidae) ist laut BOCH, SUPPERER und ROMMEL (2000) nicht durchführbar. Durch den Umbruch stark kontaminierter Weideflächen könnte aber eine Dezimierung der Moosmilbenpopulation erfolgen (HIEPE, 1985).

Es erscheint dringend notwendig, weitere Studien dieser Art in Deutschland durchzuführen, um einen sinnvollen Prophylaxeplan gegen den Bandwurmbefall beim Pferd zu erarbeiten. Zum jetzigen Zeitpunkt erscheint es vernünftig, möglichst alle oben genannten Maßnahmen und natürlich eine regelmäßige Behandlung der bandwurmpositiven Pferde und aller anderen Pferde in der Herde, die gleichen Weidebedingungen unterliegen, als Prophylaxe durchzuführen.

2.2 Diagnostik des Bandwurmbefalles

2.2.1 Koproscopische Nachweisverfahren

Üblicherweise wird der Bandwurmbefall durch eine Kotprobenuntersuchung mit Hilfe der Flotations- oder Sedimentationstechnik diagnostiziert. Keine dieser Methoden garantiert jedoch eine hinreichend sichere positive Diagnose, da die meisten Bandwurmeier nach der Ausscheidung in der graviden Proglottide verbleiben (FRENCH und CHAPMAN, 1993).

Bei dem Flotationsverfahren steigen die Wurmeier von geringer Dichte in einer Lösung von höherer Dichte (i. d. R. gesättigte Kochsalzlösung, Dichte 1,18) an die Oberfläche der Flüssigkeitssäule, von dort werden sie auf einen Objektträger gebracht und mikroskopisch durchgemustert.

In vielen Versuchsberichten wurden die Ergebnisse bei Verwendung von unterschiedlichen Flotationslösungen, wie z.B. gesättigte Kochsalzlösung (spezif. Gewicht 1,18), gesättigte Magnesium-Sulfat-Lösung (spezif. Gewicht 1,28), Kalium-Jodid / Quecksilber-Jodid-Lösung (spezif. Gewicht 1,44), Zinkchlorid- / Natriumchlorid-Lösung (spezif. Gewicht 1,52) und Zuckerlösung (spezif. Gewicht 1,12) miteinander verglichen. Auch wurden verschiedene Sedimentationstechniken untersucht, da diese ursprünglich als doppelt so empfindlich wie die geprüften Flotationstechniken galten (FRENCH und CHAPMAN, 1993). Sie wurden aber aufgrund ihrer schlechten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wieder verworfen (BEROZA et al., 1986 a. und b.).

Da die Sensitivität der einfachen Flotationsmethode mit ca. 2 - 13 % weit außerhalb des für diagnostische Tests akzeptablen Bereiches liegt, mussten neue Methoden entwickelt werden, um die Sensitivität zu erhöhen. Eine Verbesserung der Nachweishäufigkeit von Bandwurmeiern im Kot ist zu erreichen, wenn ein kombiniertes Sedimentations-/ Flotationsverfahren eingesetzt wird (PROUDMAN und EDWARDS, 1992; NILSSON et al., 1995; IHLER et al., 1995; MEANA et al., 1998). Dafür wird eine Suspension aus 40 g Kot

und 500 ml Leitungswasser hergestellt, dieses lässt man 24 h sedimentieren. Das Sediment wird in Zentrifugenröhrchen überführt und mit z.B. gesättigter Zuckerlösung resuspendiert. Die Röhrchen werden nach einstündigem Stehenlassen für 3 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert. Anschließend erfolgt die mikroskopische Untersuchung des mittels Drahtöse abgenommenen und auf einen Objektträger verbrachten Tropfens auf Bandwurmeier (BEELITZ und GOTHE, 2001). Mit dem kombinierten Sedimentations-/ Flotationsverfahren wird eine verbesserte Sensitivität (50 - 60 %) vor allem dadurch erreicht, dass größere Kotmengen untersucht werden können.

2.2.2 Serologische Nachweisverfahren

Auch die Entwicklung serologischer Nachweisverfahren unter Verwendung von exkretorischem oder sekretorischem Antigen (PROUDMAN und TREES, 1996) oder Skolex-Antigen (HÖGLUND et al., 1995) brachte keine wesentliche Verbesserung der Sensitivität gegenüber der kombinierten Sedimentations-/ Flotationsmethode. Sie stehen für die Routinediagnostik und Einzeltieruntersuchung nicht zur Verfügung.

2.2.3 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR ist eine *in vitro*-Technik, mit der man gezielt DNA-Abschnitte, die von zwei bekannten DNA-Sequenzen eingerahmt werden, vervielfältigen kann.

Das typische PCR-Programm besteht aus einem Denaturierungsschritt, einem Annealingschritt und einem Elongationsschritt. Denaturiert wird bei 94 °C, dabei trennen sich die beiden Stränge der Ziel-DNA (=Template; =DNA-Matrize). Anschließend wird die Temperatur auf 50 - 60 °C gesenkt, so dass es zur Hybridisierung der im massiven Überschuss vorhandenen Oligonukleotidprimer an die einzelsträngige Template-DNA kommt. Oligonukleotidprimer sind kurze, einzelsträngige DNA-Moleküle, die komplementär zu den Enden einer definierten Sequenz der DNA-Matrize sind. Danach wird die Temperatur auf 72 °C, dem Temperaturoptimum der Taq-Polymerase, erhöht. Diese verlängert dann in Gegenwart von Desoxynukleosidtriphosphaten (dNTPs) die Primer entlang der einzelsträngigen denaturierten DNA-Matrize und synthetisiert so neue DNA-Stränge, deren Sequenz komplementär zur Matrize ist. Am Ende der Reaktion liegt dann ein DNA-Doppelstrang vor.

Um die Synthese zu wiederholen, muss man die doppelsträngige DNA erneut durch Hitze

aufschmelzen und nach Abkühlung der Mischung die Primer wieder binden lassen. Sobald die richtige Temperatur für die Enzymreaktion erreicht ist, verlängert die DNA-Polymerase die Primer. Jede zusätzliche Strangsynthese bedeutet eine neue Vermehrungsrunde. Dabei dienen auch die neu synthetisierten DNA-Stränge als Matrize und tragen so dazu bei, dass mit jedem neuen Zyklus die Konzentration der vervielfältigten Ziel-Sequenzen ansteigt.

In den ersten zwei Zyklen ist die Länge der Negativkopien noch nicht festgelegt, da die DNA-Polymerase so lange DNA synthetisiert, bis sie entweder von alleine anhält, oder vom Beginn einer neuen Vermehrungsrunde unterbrochen wird. Ab der dritten Runde wird nur noch die „Ziel“-Sequenz gebildet, die durch die Position der Primer (vom 3'-5' und 5'-3' Ende) in der Originalmatrize vorgegeben ist. Ab dem vierten Zyklus vermehrt sich diese Zielsequenz exponentiell.

Dies lässt sich nach Abschluss der Reaktion mit folgender Gleichung berechnen:

$$(2^n - 2n)x$$

n = Anzahl der Vermehrungszyklen
 $2n$ = Produkte der 1. und 2. Vermehrungszyklen
 x = Anzahl der Kopien der ursprünglichen DNA-Matrize

In der Regel werden die Zyklen 20 - 40 mal wiederholt.

Da in jedem Zyklus mehrere Faktoren eine 100 %ige Ausbeute verhindern, vermehren sich die Zielsequenzen nicht beliebig lange exponentiell. Nach 25 - 30 PCR-Zyklen, in denen die DNA millionenfach vermehrt wurde, ist meist die Menge und die Aktivität der DNA-Polymerase der begrenzende Faktor für die Reaktion.

Auch vermindert die Hybridisierung der gewünschten Stränge untereinander, bei zunehmender Konzentration, die Effektivität der Vervielfältigung, da diese Reaktion mit der Anlagerung der Primer konkurriert. Deshalb ist es wichtig, die PCR zu standardisieren und eine 100 %ige Ausbeute innerhalb der Zyklen anzustreben.

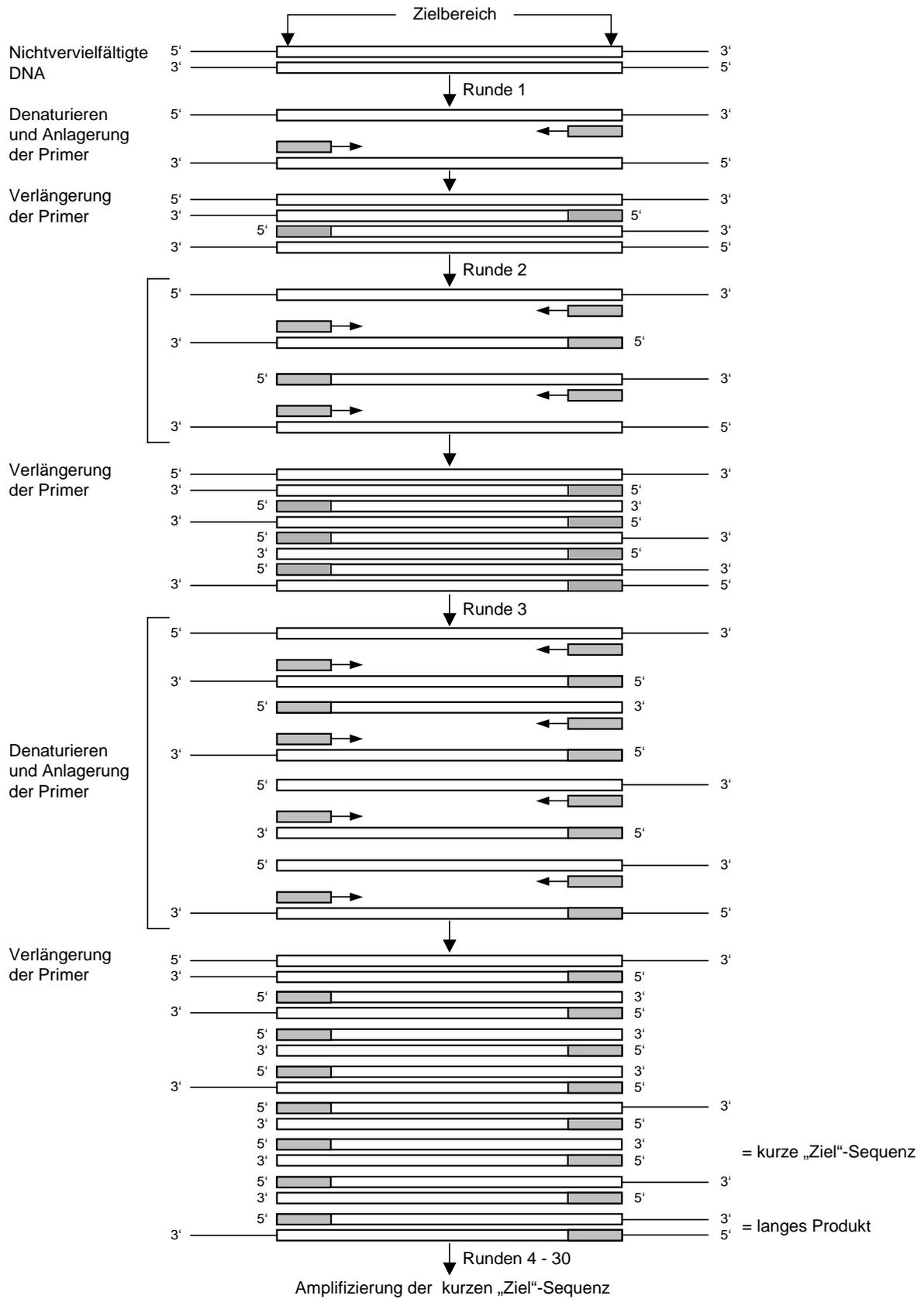


Abbildung 6: Polymerasekettenreaktion (NEWTON und GRAHAM, 1994)

Wesentliche Komponenten der PCR sind:

- DNA-Matrize (Template)
- Pufferlösung
- dNTPs
- DNA-Polymerase
- Primer

Diese werden in ein Eppendorf-Gefäß pipettiert, gemischt, mit Mineralöl überschichtet und in einen Thermocycler überführt, welcher die vorprogrammierten PCR-Zyklen automatisch durchführt.

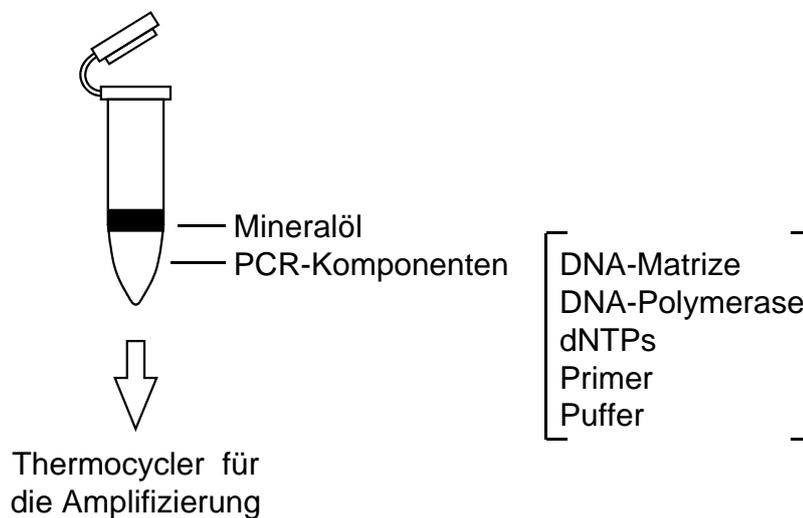


Abbildung 7: vorbereitete Probe für die PCR (NEWTON und GRAHAM, 1994)

Ein PCR-Programm, was üblicherweise verwendet wird, sieht folgende Bedingungen vor:

1. Denaturierung bei 94 °C für 5 Minuten (zur Aktivierung der Hot Start Taq Polymerase)
 2. Denaturierung bei 94 °C für 30 Sekunden
 3. Annealing bei 50 - 60 °C für 30 Sekunden
 4. Elongation bei 72 °C für 30 - 90 Sekunden
 5. Abschließende Elongation bei 72 °C für 5 Minuten
 6. Herunterkühlen auf 4 °C
- 30x

Bei den Endprodukten der PCR, den Amplikons, handelt es sich um DNA-Fragmente, deren Länge von der Position der Primer vorgegeben wird. Der Nachweis der Amplikons

erfolgt in der Gelelektrophorese. Hierbei wird eine kleine Menge des Amplikons (oder des PCR-Produktes) in einem Agarose-Gel aufgetrennt und mittels Ethidiumbromid gefärbt. Ethidiumbromid ist ein spezieller fluoreszierender Farbstoff, der in die DNA interkaliert und bei Bestrahlung mit UV-Licht rötlich leuchtet.

Der Einsatz der PCR erfolgte in den letzten Jahren in der Hoffnung, durch den Nachweis von Zestoden-DNA in den Fäzes eine Verbesserung der diagnostischen Sensitivität zu erreichen. Die molekulare Differenzierung der verschiedenen Bandwürmer des Pferdes ist dabei sinnvoll, da diese unterschiedliche pathogene Bedeutung haben.

2.2.4 PCR zur Amplifikation von Zestoden

Eine Studie von NICKISCH-ROSENEGK et al. (1997) zeigt, dass die ribosomalen 12s rRNA-Gene ein wichtiger Baustein bei der Differenzierung und Taxonomie von Helminthen mittels PCR-Methode sind. Voraussetzung dafür ist, dass die Primer und die PCR-Methoden eine spezifische Amplifikation der Parasiten und nicht der Wirts-DNA leisten. Für diese Studie wurde ein Primerpaar entwickelt, welches eine spezifische Amplifikation der DNA von Zestoden und Trematoden erlaubt. Der Primer kodiert für eine Sequenz von 314 bp auf dem 12s rRNA-Gen. Ein Teil des 314 bp Fragmentes diente zum Vergleich zwischen den einzelnen Bandwurmspezies. Dieses Gen-Fragment ermöglicht es in der Parasitologie, die phylogenetischen Beziehungen zwischen Wirt und Parasit und die Koevolution zwischen diesen Organismen zu charakterisieren.

Der Nachweis von Bandwürmern im Kot mittels PCR kommt für *Echinococcus (E.) multilocularis* beim Fleischfresser in den letzten Jahren vermehrt zum Einsatz. So haben DINKEL et al. (1998) in einer Untersuchung an 250 wilden Füchsen aus Endemiegebieten in Süddeutschland die Sektion mit der PCR-Methode verglichen. Die am Fuchskot angewendete PCR-Methode erfolgte in zwei Schritten. Im ersten Schritt wurde das von NICKISCH-ROSENEGK et al. (1997) entwickelte Primerpaar zur Amplifikation von Zestoden- und Trematoden-DNA eingesetzt. Im zweiten Schritt erfolgte eine nested-PCR mit einem Primerpaar, welches ein spezifisches Produkt für *E. multilocularis* entstehen ließ. Dabei zeigte sich, dass für *E. multilocularis* die Sensitivität der PCR von der Höhe des Befalles mit Bandwürmern und dem Reifezustand der Eier in den Bandwürmern abhängig ist. Bei einem in der Sektion festgestellten Befall mit über 1000 graviden Würmern lag die Sensitivität der PCR-Methode bei nahezu 100 %. Bei Füchsen, die mit weniger als 10 Bandwürmern befallen waren, lag die Sensitivität bei ca. 78 %. Da die Sensitivität der

Sektion nur bei maximal 76 % liegt, kann die PCR-Methode als gute Alternative angesehen werden.

Durch GASSER et al. (1999) wurden neun *Taenia*-Arten mittels ihrer mitochondrialen NADH-Dehydrogenase Untereinheit I charakterisiert und ihre genetische Verwandtschaft mit von Cytochrom-C-Oxidase Untereinheit I - Sequenzen abgeleiteten Angaben verglichen. Bisher wurden die verschiedenen Arten nur durch morphologische, biologische, immunologische und physiologische Untersuchungen unterschieden. Laut dieser Studie kann man sie jetzt auch molekularbiologisch unterscheiden und dadurch sicherer feststellen, welche Arten auch genetisch verwandt sind.

NAKAO et al. (2000) untersuchten den mitochondrial-genetischen Code von Plattwürmern und fanden heraus, dass auch die Cytochrom-C-oxidase I Gene von 8 Zestodenspezies teilweise mit diesem Code übereinstimmen. Bei einem Vergleich der in den COI-verschlüsselten Nukleotidsequenzen mit solchen in Menschen, Seegurken, Fruchtfliegen, Nematoden und Hefen stellte sich heraus, dass diese auch für Zestoden ausreichen. Weiterhin wurde festgestellt, dass das Stop-Codon UAG in allen *Taeniae*-Spezies zu UAA abgeändert war. Es wird in dieser Studie vorgeschlagen, den mitochondrialen Code (COI-Sequenz) von Plattwürmern für Zestoden so abzuändern, dass ein Anfangs-Methionin-Codon (GUG) und ein End-Codon (UAA) eingesetzt werden.

In einer Studie von DROGEMULLER et al. (2004) wurde die ribosomale-DNA (rDNA) - Sequenz von drei Individuen der Zestodenart *A. perfoliata* und einem Individuum der Zestodenart *P. mamillana* ermittelt und verglichen. Es zeigte sich eine hohe Übereinstimmung von beiden Arten in der 18S, 5,8S und 28S rDNA. In einem Teil der 18S-rDNA, der internal transcribed spacer 1 (ITS-1) und der internal transcribed spacer 2 (ITS-2)-Region, lag die Übereinstimmung mit 39,8 - 43,5 % zu 59,5 - 61,2 % bedeutend niedriger. Deshalb erschien diese Region als geeignet, um einen spezifischen Primer für *A. perfoliata* auf Basis der ITS-2-Sequenz von *A. perfoliata* rDNA herzustellen. Dieser spezifische ITS-2-Primer amplifiziert für ein Produkt von 254 bp. Die Spezifität des Primers wurde gegenüber *P. mamillana* und einer Anzahl von kleinen Strongyliden der Unterfamilie Cyathostominae getestet. Mit einer Verdünnungsreihe wurde die Sensitivität des ITS-2-Primers getestet, diese lag bei 500 fg nachweisbarer DNA. In ersten praktischen Anwendungen des Primers zur Untersuchung von mit *A. perfoliata* gespickten Kotproben war ein Nachweis von 6 mg einer *A. perfoliata*-Proglottide in 0,5 - 1 g Kot möglich.