

2 Literaturübersicht

2.1 Geographische Verbreitung von *Echinococcus granulosus*

Die Vielzahl bisher beschriebener Arten der Gattung *Echinococcus*, Familie Taeniidae, werden in vier Arten zusammengefasst (WHO, 1981):

Echinococcus granulosus (BATSCH, 1786)

Echinococcus multilocularis (LEUCKART, 1863)

Echinococcus oligarthrus (DIESING, 1863)

Echinococcus vogeli (RAUSCH und BERNSTEIN, 1972)

Infektionen mit *Echinococcus granulosus* sind auf allen Kontinenten und in allen Klimazonen bekannt. Der geographische Ursprung dieses Parasiten liegt vermutlich im europäisch-osteuropäischen Raum. Von hier aus erfolgte seine Verbreitung auf andere Kontinente durch die von europäischen Aussiedlern mitgebrachten Haustiere. Eine weitere Ursache für das weltweite Vorkommen von *E. granulosus* ist in der ungeheueren Anpassungsfähigkeit dieses Parasiten an ein breites Spektrum von End- und Zwischenwirten zu sehen (RAUSCH, 1967; SCHANTZ und SCHWABE, 1969; FRANK, 1982).

Es kommen zwei große Biotypen von *E. granulosus* vor, der nordische und der europäische Biotyp mit einer jeweils großen Anzahl von Subspezies und Stämmen, die durch DNA Analyse nachgewiesen wurden. Beim europäischen Biotyp dominiert der Hund/Schafstamm und beim nordischen Biotyp der Wolf/Rentierstamm. Dem Hund/Schafstamm kommt eine besonders große Bedeutung in der Verbreitung zu, er stellt ein herausragendes gesundheitliches Problem für den Menschen dar (RAUSCH, 1995).

Echinokokkose kommt mit einer höheren Endemizität in Süd Amerika vor, vor allem in Chile, Argentinien, Peru, Brasilien und Uruguay, außerdem in Nord Afrika, vorwiegend in Marokko, Algerien, Tunesien und Libyen, in Teilen von Kenia (in Turkana lag die höchste jährliche Inzidenz von zystischer Echinokokkose bei Menschen bei 222 Fällen pro 100.000 Einwohnern), in Äthiopien, Tansania und Uganda. Des weiteren wird Echinokokkose in Süd Europa nachgewiesen, vornehmlich in Spanien, Italien, Griechenland, im ehemaligen

Jugoslawien, in Bulgarien, Rumänien und der Türkei. Im Nah- und Mittleren Osten gibt es Echinokokkose im Irak, Iran, Jordanien, Syrien, Libanon, aber auch in Russland, in den ehemaligen russischen Republiken (Usbekistan, Tajikistan, Kirgistan, Kasachstan Turkmenistan) und in China (ECKERT et al., 2001a).

2.2 Entwicklungszyklus von *Echinococcus granulosus*

Echinococcus granulosus entwickelt sich vorwiegend in einem Zyklus mit domestizierten Hunden als Endwirte, doch können regional auch andere Kaniden (Dingo, Wolf, Schakal, Hyäne, selten Rotfuchs und andere Wildkaniden) in den Zyklus einbezogen sein. Eine Vielzahl von herbivoren oder omnivoren Ungulaten gelten als Zwischenwirte (RAUSCH, 1995).

2.2.1 Entwicklung im Endwirt

Die Infektion der Endwirte erfolgt durch Verzehr von Schlachtabfällen oder Innereien von Schlacht- und Beutetieren, die fertile Metazestoden (Hydatiden) von *E. granulosus* mit reifen Kopfanlagen (Protoskolizes) enthalten. Die aus den Protoskolizes hervorgehenden dreigliedrigen Bandwürmer siedeln sich vorwiegend in den vorderen zwei Dritteln des Dünndarmes an und entwickeln sich in einigen Wochen zu eiproduzierenden Adultstadien mit einer Größe von 2-11 mm. Die Präpatenz variiert bei den einzelnen Stämmen von *E. granulosus*, abhängig aber auch vom Alter und der Konstitution der einzelnen Endwirte, zwischen etwa 34 und 58 Tagen. Die kleinen und dickschaligen Eier (ca. 30-40 µm) gelangen mit den Proglottiden in die Außenwelt, oder sie werden bereits im Darm frei und mit dem Kot ausgeschieden. Sie sind morphologisch von Taeniiden-Eiern nicht zu unterscheiden (THOMPSON, 1986). Morphologische Einzelheiten sind in **Tab.1** aufgeführt.

Laut GEMELL et al. (1986) sind in Endemiegebieten die meisten Hunde gering bis mittelgradig mit *E. granulosus* befallen und nur ein geringer Prozentsatz weist hohe Befallsintensitäten auf. Im Hund überlebt *E. granulosus* zwischen 6 und 22 Monaten.

2.2.2 Entwicklung im Zwischenwirt

Epidemiologisch wichtige Zwischenwirte von *E. granulosus* sind herbivore und omnivore Tiere, vor allem Schafe, Ziegen, Rinder, Büffel, Schweine, Pferde, Esel und Kamele. In gewissen Regionen sind auch Wildtiere z.B. Antilopen, Zerviden und Kängurus am Zyklus beteiligt (RAUSCH, 1995). Die Infektion von Zwischenwirten erfolgt durch orale Aufnahme von Eiern. Aus diesen werden im Dünndarm Onkosphären frei, die in die Darmwand eindringen und auf dem venösen Blutweg in die Leber, zum Teil auch in die Lunge und in andere Organe, gelangen. Aus den Onkosphären entstehen zunächst mikroskopisch kleine Bläschen, die allmählich zu Metazestoden heranwachsen. Die Finne von *E. granulosus* (auch als „Hydatide“ bezeichnet) stellt im typischen Fall eine mit Flüssigkeit gefüllte, ein oder mehrkammerige Blase dar, deren Wand aus der inneren, dünnen zellulären Keimschicht und der äußeren, meist dicken azellulären Lamellarschicht (Kutikularschicht) besteht und außen von einer vom Wirt stammenden Bindegewebsschicht (Perizyst) umschlossen ist. Frühestens 5-6 Monate nach der Infektion entstehen an der Keimschicht etwa 250-1500 µm große Brutkapseln, in denen sich je 10-30 Protoskolizes entwickeln, die mit 4 Saugnäpfen und doppeltem Hakenkranz ausgerüstet sind. Nach dem Platzen der dünnen Brutkapseln findet man freie Protoskolizes in der Hydatidenflüssigkeit. Letztere bilden zusammen mit Brutkapseln, deren Trümmer und Kalkkörperchen den sog. Hydatidensand. Das Wachstum der Zysten erfolgt langsam. Ihr Durchmesser ist abhängig vom Alter und anderen Faktoren, wie Zwischenwirtsspezifität, und kann zwischen wenigen Millimetern und über 20 cm schwanken. Hauptlokalisation der Finnen von *E. granulosus* sind Leber und Lunge, seltener andere Organe wie Milz, Niere und Herz. Nur selten werden bei Tieren Hydatiden auch in der Skelettmuskulatur und im Knochensystem gefunden (ECKERT, 2000).

2.2.3 Entwicklung im Fehlwirt

Von den Zwischenwirten, die für die Aufrechterhaltung des Zyklus essentiell sind, können Wirte abgegrenzt werden, die in der Regel epidemiologisch keine Bedeutung haben und daher für den Parasiten eine Sackgasse darstellen (AMMAN und ECKERT, 1995). Fehlwirte sind auch der Mensch und verschiedene Säugetierarten, z.B. Affen und Karnivoren. Eine Ausnahme könnte womöglich in der Turkana im Südwesten von Kenia vorliegen, wo häufig

Menschen nach dem Tod nicht begraben werden, so dass hier ein Zyklus zwischen Hyäne und Mensch entstehen könnte (MACPHERSON, 1983). Die daraus hervorgehenden Metazestoden siedeln sich beim Menschen vorwiegend in der Leber und der Lunge und seltener in anderen Organen (Niere, Milz, Gehirn, Auge usw) an. Ein solcher Befall kann schwere Krankheitserscheinungen und Todesfälle zur Folge haben (GOTTSTEIN und REICHEN, 1996).

2.3 Geographische Verbreitung und Entwicklung der drei anderen gültigen Echinokokkenarten

Die Verbreitung von *Echinococcus multilocularis* ist nach bisherigen Angaben auf die nördliche Hemisphäre begrenzt. Endemiegebiete sind Teile Zentraleuropas, Osteuropas, Westasiens, Chinas, Japans und Nordamerikas (Alaska, Kanada, nördliche und zentrale Staaten der USA) (SCHANTZ et al., 1995; ECKERT und DEPLAZES, 1999).

E. multilocularis parasitiert hauptsächlich in den hinteren zwei Dritteln des Dünndarmes von Rot- und Polarfuchs, bekannt sind daneben Infektionen des Wolfes, des Kojoten, der Haus- und Streunerkatzen und des Haushundes. Laut ALTHER (1996) waren bei einer Untersuchung in der Schweiz 0.3% von 661 Hunden und 0.2% von 452 Katzen mit *E. multilocularis* befallen. In der Tschechischen Republik waren 8.1% von 186 Hunden mit *E. multilocularis* infiziert (SVOBODOVA und LENSKA, 2002).

Zwischenwirte sind Nagetiere, wobei der Familie der Muriden, vor allem der Feldmaus (*Microtus arvalis*), der Schermaus (*Arvicola terrestris*), und der Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*) die größte Bedeutung zukommen. Unter den größeren Nagern spielt die Bisamratte (*Ondatra zibethicus*) eine stärkere Rolle in der Verbreitung von *E. multilocularis* (ECKERT, 1996).

In Europa sind bisher Hausschwein, Wildschwein, Nutria (*Myocastor coypus*), Haushund und verschiedene Affenarten als Zwischenwirte identifiziert worden. In Japan gehören auch Pferde zu den Zwischenwirten von *E. multilocularis*. Pferde und Schweine spielen ansonsten in der Epidemiologie von *E. multilocularis* keine Rolle, weil sich bei ihnen normalerweise

keine Protoskolizes entwickeln (ECKERT et al., 2001b). Auch der Mensch kann sich mit dieser vorwiegend in der Leber infiltrativ wachsenden, polyzystischen Finne von *E. multilocularis* infizieren. Die Inkubationszeit beträgt meist 10-15 Jahre. Die Infektion des unbehandelten Menschen endet in 93% der Fälle letal (ECKERT et al., 1998).

In Zentral- und Süd Amerika kommen *Echinococcus oligarthrus* und *Echinococcus vogeli* vor. Die geographische Verbreitung und die Entwicklungszyklen, d.h. die Endwirt/Zwischenwirtfolge sind für diese zwei Echinokokkenarten unterschiedlich. Der Buschhund und der Haushund sind Endwirte von *E. vogeli*. Als Zwischenwirte fungieren das Paka, aber auch andere Nagetiere (RAUSCH und BERNSTEIN, 1972; RAUSCH et al., 1978; D'ALESSANDRO et al., 1979).

E. oligarthrus benutzt Wildkatzen wie z.B. Puma, Wieselkatze oder Jaguar als Endwirte. Natürliche Zwischenwirte sind das Agouti und Nagetiere (SOUSA und THATCHER, 1969; SCHANTZ und COLLI, 1973; RAUSCH et al., 1978).

Laut ECKERT und THOMPSON (1996) sind Infektionen des Menschen mit diesen Parasiten bekannt.

Tab.1: Echinokokkenarten mit taxonomischer Validität (SOUSA und THATCHER, 1969; RAUSCH und BERNSTEIN, 1972; RAUSCH et al., 1978; D’ALESSANDRO et al., 1979; RAUSCH, 1995).

Parameter	<i>E. granulosus</i>	<i>E. multilocularis</i>	<i>E. oligarthrus</i>	<i>E. vogeli</i>
Geographische Verbreitung	weltweit	nördliche Hemisphäre	Zentral- und Süd Amerika	Zentral- und Süd Amerika
Endwirt	primär Hund, andere Kaniden	primär Fuchs, andere Kaniden, Katze	Wildkatze, Puma, Jaguar	Buschhund
Zwischenwirt	primär Nutztiere, Menschen	primär Ratten, Menschen	Agouti, Paka, Nagetiere, Menschen	Agouti, Paka, Nagetiere, Menschen
Typ von Metazestoden	Unilokular (zystisch)	Multivesikulär	Polyzystisch	Polyzystisch
Organansiedlung der Metazestoden	visceral, primär Leber und Lunge	alveolär, primär Leber	primär Muskulatur	visceral, primär Leber
Haken von Protoskol. (µm)	(groß) 25-35 (19-44) (klein) 22-27 (17-31)	26-28 (25-29) 23-25 (21-27)	30-33 (29-37) 25-27 (22-29)	39-41 (38-45)
Haken von Adulten (µm)	(groß) 32-42 (25-49) (klein) 22-27 (17-31)	31 (24-34) 27 (20-31)	52 (43-60) 39 (28-45)	53 (49-57) 42 (30-47)
Proglottidenzahl	3 (2-7)	5 (2-6)	3	3
Länge (mm)	2 -11	1.2-4.5	2.2-2.9	3.9-5.5
Genitalporus bei graviden Proglottiden	hinter Gliedmitte	vor Gliedmitte	vor Gliedmitte	hinter Gliedmitte
Anzahl von Testes	32- 68 (25-80)	18-26 (16-35)	29 (15-46)	56 (50-67)
Uterusform	laterale Aussackungen	sackförmig	sackförmig	sackförmig
Verteilung von Testes/Genitalporus	äquivalent oder hinter Gliedmitte	hinter Gliedmitte	hinter Gliedmitte	hinter Gliedmitte
Länge Vorderteil/ gravide Proglottide	1:0.86-1.30	1:0.31-0.80	1:0.96-1.10	1:1.90-3.00

2.4 *Echinococcus granulosus*-Stämme

In den 70-er Jahren fanden britische Forscher morphologische Unterschiede zwischen Zysten von *E. granulosus* beim Pferd und Schaf (SMYTH und DAVIES, 1974), die auf eine Zwischenwirtsspezifität hindeuteten. Mittlerweile wurden verschiedene *E. granulosus*-Stämme identifiziert, die sich an die unterschiedlichen Zwischenwirtsarten adaptiert haben.

Die Morphologie ist ein wichtiges Kriterium zur Unterscheidung der Stämme von *E. granulosus*. Sie reicht jedoch als alleiniges Unterscheidungsmerkmal nicht aus. Morphologische Parameter müssen deshalb immer mit Untersuchungen über die Epidemiologie, die Wirtsspezifität, die Biochemie und die biologische Entwicklung verknüpft sein (THOMPSON und KUMARATILAKE, 1982; LYMBERRY et al., 1990). Die Stämme von *E. granulosus* bestimmen den Entwicklungszyklus, die Wirtsspezifität, die Entwicklungsrate, Antigenizität, die dynamische Übertragung, chemotherapeutische Sensitivität und Pathologie der Parasiten (THOMPSON und McMANUS, 2002).

In den letzten Jahren sind vor allem molekularbiologische Methoden wie DNA-Charakterisierung zur Differenzierung der *E. granulosus*-Stämme herangezogen worden (THOMPSON und LYMBERRY, 1996). Aufgrund der unterschiedlichen Verbreitung und Infektiosität für Mensch und Tier sind die exakte epidemiologische Erfassung und die Identifizierung der einzelnen Stämme für die Bekämpfung der zystischen Echinokokkose eine unabdingbare Voraussetzung. Weiterhin können mit molekulargenetischen Methoden komplexe epidemiologische Zusammenhänge schnell und zuverlässig aufgeklärt und Varianten innerhalb der Speziesebene charakterisiert und als solche erfasst werden (FROSCH et al., 1994).

Bis jetzt sind insgesamt 10 Echinokokken-Stämme mit Hilfe molekular-biologischer Methoden identifiziert worden (LAVIKAINEN et al., 2003). In Europa sind folgende Stämme von *E. granulosus* nachgewiesen: Hund-Schaf, Hund-Rind, Hund-Pferd, Hund-Schwein und Hund-Rentier. Der letztere Stamm gehört zur nordischen Form von *E. granulosus* (ECKERT et al., 1993; ECKERT und THOMPSON, 1996).

Es ist möglich, dass ein Wirt in der Zwischenwirtskala mit mehr als einem Stamm befallen sein kann, andererseits kann auch ein Stamm verschiedene Wirte befallen. Zum Beispiel sind Ziegen in Kenia sowohl mit dem Schafstamm als auch mit dem Kamelstamm infiziert (THOMPSON, 1986).

Tab.2: Vorkommen von *E. granulosus*-Stämmen in Europa (ECKERT und THOMPSON, 1996)

Stamm	Endwirt	Zwischenwirt	Infektion beim Menschen	Geographische Verbreitung
Schaf (G1)	Hund, (Fuchs, Wolf)	Schaf, Rind, Ziege, Schweine	+	West-, Süd- und Südost Europa B, D, L, NL, skandinavische Länder, CH
Rind (G5)	Hund	Rind	+	A, D, CZ, H, PL, SK, Balkanländern
Schwein (G7)	Hund (Fuchs ?)	Schweine	+ ?	B, IRL, GB, I, CH
Pferd (G4)	Hund	Pferd, andere Einhufer	-	N, S, FIN
Zervide (G8)	Wolf, Hund	Zervide	+	

Nach Meinung verschiedener Autoren (THOMPSON und LYMBERRY, 1988; ECKERT et al., 1989) sind einige Stämme gefährlicher für den Menschen, so z.B. der Hund/Schafstamm und der Hund/Rinderstamm. Der Pferde- und der Kamelstamm scheinen dagegen nicht oder weniger infektiös für den Menschen zu sein.

In Mitteleuropa scheint ein Hund/Rinderstamm vorzuherrschen. Die Befallshäufigkeit bei End- und Zwischenwirten ist jedoch gering. Auffällig ist die hohe Fertilitätsrate der Zysten mit 75% bis 95% beim Rind und die kürzere Präpatenzperiode (33-35 Tage) beim Hund. Die Predilektionstellen von Metazestoden sind beim Zwischenwirt hauptsächlich die Lungen. Der Hund/Rinderstamm aus der Schweiz ist identisch mit Rinderstamm aus Deutschland, Belgien und Süd Afrika und ist weltweit verbreitet, einschließlich Teilen Zentral Europas, Süd Afrikas, Indiens, Sri Lankas, Nepals und möglicherweise auch Süd Amerikas (DE RYCKE und DE COOMAN, 1968; THOMPSON et al., 1984; HÖRCHNER et al., 1986; THOMPSON und McMANUS, 2002).

Der Hund/Schafstamm hat eine Präpatenzperiode von 39-40 Tagen im Endwirt und die Entwicklung der Metazestoden ist hauptsächlich auf die Leber und die Lunge beschränkt (SILES-LUCAS et al., 1994; ECKERT und THOMPSON, 1996). Bei vergleichenden Studien, die mittels morphologischer, biochemischer und molekular-biologischer Techniken durchgeführt wurden, zeigte sich, dass der Hund/Schafstamm aus Italien, Portugal und Schottland mit dem Schafstamm aus der Schweiz und der Türkei übereinstimmt. Der Schafstamm aus England ist weltweit verbreitet und stimmt genetisch mit dem Schafstamm aus der Mittelmeerregion und anderen Ländern Europas sowie aus dem Mittleren Osten, Kenia, Australien, Asien und Süd Amerika überein (THOMPSON und LYMBERRY, 1988).

Der Hund/Schafstamm der Mittelmeerländer ist infektiös nicht nur für Schaf und Rind, sondern auch für den Menschen. Untersuchungen in Spanien ergaben identische Merkmale der Echinokokkenzysten zwischen Mensch, Schaf und Rind, was durch DNA-Analyse nachgewiesen werden konnte (SILES-LUCAS et al., 1994). Biochemische Untersuchungen deuten darauf hin, dass der Schafstamm aus Kenia für den Menschen noch weit gefährlicher ist (Mc MANUS, 1981).

Von BARDONNET et al. (2003) wurden in Algerien der Befall von Rind und Mensch mit dem Schafstamm nachgewiesen. Auffällig sind die hohe Befallsrate und die Fertilitätsrate der Zysten beim Rind. Laut KUMARATILAKE und THOMPSON (1982) wurden in Bulgarien die Existenz von zwei Stämmen vermutet, einem Schafstamm und einem Schweinestamm. Während die Eier aus dem Schaf/Hundzyklus nicht infektiös für Schweine waren, ließ sich umgekehrt eine Infektion bei Schafen mit Eiern aus dem Schwein/Hundzyklus erfolgreich setzen, wenn auch die Überlebensrate dieser Zysten geringer war. Nach BREYER et al. (2004) wurden in Bulgarien der Schafstamm sowohl bei Nutztieren wie Schaf, Rind und Schwein als auch bei Wildkaniden als Endwirt (Wolf und Jackal) nachgewiesen.

Nach HARANDI et al. (2002) konnten zum ersten Mal 3 Fälle zystischer Echinokokkose bei Menschen im Iran mit dem Kamelstamm (G6) nachgewiesen werden.

In Ost-Europa tritt ein Schweinestamm auf. Über die Infektiosität für den Menschen gibt es nur wenige Informationen. Es scheint, dass der Schweinestamm wenig infektiös für den Menschen ist (PAWLOWSKI et al., 1993). In Polen wurden bei Patienten Hydatiden isoliert,

die aber molekulargenetische Differenzen zum Schweinestamm aufwiesen. Nach SCOTT et al. (1997) existieren wahrscheinlich 2 verschiedene Schweinestämme bei den befallenen Menschen. Übertragungsversuche im ehemaligen Jugoslawien, wo ebenfalls ein Schwein/Hundzyklus vorkommt, zeigten keine Infektiosität für Kälber (WIKERHAUSER und BRGLEZ, 1984).

Nach KUMARATILAKE et al. (1986) wurde die morphologische Einheitlichkeit des Pferdestammes aus Belgien, England, Irland, Neuseeland, Schottland, Süd Afrika und der Schweiz nachgewiesen. Es gab auch keinen Unterschied zwischen Pferdestamm und Eselstamm aus der Schweiz und Spanien (SILES-LUCAS et al., 1994).

Bei neueren Untersuchungen in Spanien wurden 3 Echinokokken-Stämme nachgewiesen, nämlich ein Schafstamm (G1), der Schafe, Rinder, Ziegen, Schweine, Wildschweine und Menschen befällt, ein Pferdestamm (G4), der nur Einhufern infiziert und ein Schweinestamm (G7), der für Schweine, Ziegen und Wildschweine infektiös ist (MWAMBETE, 2004).

Im Nordwesten Kenias und in einigen nahegelegenen Provinzen Ugandas ist die Hydatidose unter der Bevölkerung weit verbreitet, während in anderen benachbarten Gebieten Infektionen des Menschen nur sehr selten auftreten, obwohl ähnliche ökologische Verhältnisse bestehen und die Infektionsrate unter den Nutztieren gleich groß ist (McMANUS und MACPHERSON, 1984). Möglicherweise ist das die Folge eines lokalen, besonders Mensch-virulenten Stammes (THOMPSON, 1979).

In Finnland und den Skandinavischen Ländern existiert ein Zervidenstamm. Es wurden zwischen dem Zervidenstamm aus Finnland und dem Zervidenstamm aus dem Norden Amerikas genetische Differenzen nachgewiesen (LAVIKAINEN et al., 2003).

2.5 Epidemiologie der Echinokokkose

Die Epidemiologie der humanen zystischen Echinokokkose ist in enger Beziehung zur Prävalenz von *E. granulosus* beim Hund, dem Kontakt zwischen Mensch und Hund und der Prävalenz von zystischer Echinokokkose beim Zwischenwirt zu sehen (NELSON, 1972).

Viele Faktoren beeinflussen die Verbreitung der Hydatidose beim Menschen. Beispielsweise das Vorkommen von empfänglichen Endwirten (vorwiegend Hunde oder Wildkaniden), das biotische Potential der Parasiten, das Vorkommen von empfänglichen Zwischenwirten (Nutztiere, Wild-Ungulaten), der Grad der Immunität sowohl beim Endwirt als auch beim Zwischenwirt, Umweltbedingungen wie z.B. Temperatur und Feuchtigkeit, das Vorhandensein von sozial-kulturellen Faktoren wie z.B. die engen Kontakte zwischen Menschen und Hunden (MACPHERSON und CRAIG, 2000).

E. granulosus hat beim Endwirt im Vergleich zu anderen Taeniidenarten ein schwaches biotisches Potential. Ein Exemplar scheidet durchschnittlich nur 42 Eier pro Tag aus im Gegensatz zu *Taenia hydatigena* mit 38.000 Eiern, so dass ein derart befallener Hund bis zu 2700 Schafe am Tag infizieren kann, aber nur 28 Schafe im Falle von *E. granulosus* (GEMELL et al., 1986; GEMELL, 1990). Allerdings ist die Erregerdichte von *E. granulosus* beim Endwirt (durchschnittlich mit 200-400 Exemplaren) höher als von *T. hydatigena*. Bei Untersuchungen in Tunesien lag die Infektionsintensität bei Hunden sogar durchschnittlich bei 2.543 *E. granulosus*, aber nur bei 1.52 mit *T. hydatigena* (LAHMAR et al., 2001).

Die Echinokokkeneier entwickeln sich im Zwischenwirt nur mit geringer Infektiosität zu Hydatiden (0.33%). Lediglich eine von 250 Onkosphären erreicht das Stadium der Hydatide im Zwischenwirt.

74% der Metazestoden von *T. hydatigena* entwickeln sich zu Adulten im Vergleich zu *E. granulosus* mit nur 5% der aufgenommenen Protoskolyzen (GEMELL et al., 1987). Je höher die Parasitenanzahl von *E. granulosus* im Endwirt ist, desto weniger Eier pro Proglottide werden produziert (WACHIRA et al., 1991).

Äußerliche Faktoren, wie Temperatur und Feuchtigkeit, spielen für das Überleben von Taeniiden-Eiern eine große Rolle, deren Tenazität bei hohen Temperaturen und niedriger Feuchtigkeit sehr kurz ist. Zum Beispiel konnten Taeniiden-Eier in der Turkana/Kenia bei

Exposition in der Sonne innerhalb von 2 Stunden deaktiviert werden (MACPHERSON, 1983). Dagegen liegt die Lebensdauer von Taeniiden-Eiern bei 4°C bei über 300 Tagen (LAWSON und GEMELL, 1983). Bei Temperaturen zwischen 37-39°C beträgt die Lebensdauer der Eier lediglich 2-14 Tage. Tiefere Temperaturen werden im allgemeinen besser toleriert (bis zu 1 Jahr), wobei Eier jedoch bei -70°C nach 24 Stunden absterben. Unter Laborbedingungen lag die Überlebenschance von Taeniiden-Eiern bei einer Exposition zu Temperaturen von 4°C und -18°C bei 478 respektive 240 Tagen. Bei Temperaturen von -83°C und -196°C (flüssiger Stickstoff) waren die Taeniiden-Eier nach 48 Stunden bzw. nach 20 Stunden deaktiviert (VEIT et al., 1995).

Begünstigend für die Persistenz des Zyklus von *E. granulosus* ist die beträchtliche Lebensdauer der Protoskolizes innerhalb der Hydatiden in den Organen geschlachteter oder verendeter Tiere. Sie kann bei 4°C 40-80 Tage, bei 20-22°C 3-8 Tage und bei 40°C 2 Tage betragen. Durch Tiefgefrieren bei -18°C gehen die Protoskolizes innerhalb von 24 Stunden zugrunde (BÜHLER, 1972).

Die Hydatidose wird von Hunden auf den Menschen durch Schmierinfektion übertragen (DEPLAZES und ECKERT, 1988). MATOFF (1968) wies nach, dass bei befallenen Hunden die meisten Echinokokkeneier an den Haaren der Analgegend und an den Gliedmaßen und Pfoten haften. Als Infektionspforte bei Menschen und Zwischenwirten ist die perorale Aufnahme unbestritten und experimentell gesichert. Dabei erscheinen aerogene Infektionen durch Einatmen von Echinokokkeneiern via Mundhöhle mit anschließendem Weitertransport der Eier in den Verdauungstrakt durchaus denkbar. Andererseits ist die direkte Ansiedlung von Onkosphären in den Atemswegen nach aerogener Infektion unwahrscheinlich.

Hinsichtlich der Dynamik der Übertragung ist von Bedeutung, dass die mit dem Kot ausgeschiedenen Eier von Taeniiden rasch in die Umgebung verbreitet werden können. Zum einen bleiben Proglottiden bewegungsfähig und wandern aktiv in die Umgebung. Zum anderen konnten Eier von *Taenia hydatigena* in einem Umkreis von 25 bis 80 m von der Ablagestelle gefunden werden (GEMMELL und JOHNSTONE, 1976). Für diese Verbreitung kann Wind nur zum Teil verantwortlich gemacht werden, eine größere Rolle dabei scheinen Vögeln und Insekten zu spielen (LAWSON und GEMMELL, 1985).

Der direkte Kontakt mit infizierten Hunden spielt bei Kindern eine besondere Rolle (SCHANTZ et al., 1995). Aber eine indirekte Übertragung durch verschmutztes Trinkwasser und Gemüse, vor allem in Bewässerungsgebieten, ist ebenfalls möglich, wie Untersuchungen in Kenia, Uruguay, Jordanien, Argentinien und Kirgistan zeigten (CARMONA et al., 1998; DOWLING et al., 2000; LARRIEU et al., 2002; TORGERSON et al., 2003).

Ein weiterer wichtiger Aspekt in der Epidemiologie der Echinokokkose ist die Immunitätsbildung bei End- und Zwischenwirten. Hunde entwickeln gegen *E. granulosus* nur eine sehr geringe Immunität, während Zwischenwirte innerhalb von 2 Wochen nach der Infektion eine bis 12 Monate anhaltende, bei Möglichkeit zur Reinfektion eine lebenslange Immunität erwerben, die weitere Infektionen gänzlich verhindern soll (GEMMELL, 1978; WHO, 1981).

Nach CRAIG et al. (2000), WANG et al. (2001) und VUITTON (2002) sind die Risikofaktoren für den Menschen vielfältig und werden bestimmt von:

- a.) dem Alter
- b.) dem Geschlecht
- c.) der Religion
- d.) dem Beruf
- e.) dem Hundebesitz (der Anzahl und dem Grad des Kontaktes)
- f.) dem Vorhandensein von Metzgereien
- g.) der möglichen genetischen Empfänglichkeit

Die Regel ist eine Prävalenz der zystischen Echinokokkose bei älteren Menschen. In manchen Endemiegebieten sind Frauen mehr als Männern betroffen. In arabischen Ländern und Teilen Afrikas, wo Muslime und Christen gemeinsam leben, kommt zystische Echinokokkose häufiger bei Christen als bei Muslimen vor, weil aus religiösen Gründen die Muslime engere Kontakte mit Hunden vermeiden. Die Prävalenz der zystischen Echinokokkose war auch deutlich höher bei Jägern als bei Nichtjägern (BAI et al., 2002).

2.6 Prävalenz von *E. granulosus* bei Hunden und zystischer Echinokokkose bei Zwischenwirten in Europa

Die Prävalenz von *E. granulosus* ist in Europa unterschiedlich. Sie ist niedrig in Zentral- und Nord-Europa und höher in Süd- und Ost-Europa, vorwiegend in Mittelmeerraum (ECKERT, 1997).

Tab.3: Prävalenz von *E. granulosus* beim Endwirt und herbivoren Zwischenwirten im Mittelmeerraum, sowie im ehemaligen Jugoslawien und Bulgarien (PETROVIC, 1979; LORENZINI und RUGGIERI, 1986; MARTINEZ-FERNANDEZ, 1986; SAMPAIO SILVA et al., 1986; STÖSSEL, 1989; TODOROV und BOEVA, 1999).

	Italien (1986)	Griechenland (1989)	Spanien (1986)	Portugal (1986)	Jugoslawien (1979)	Bulgarien (1999)
Hund	16.2%	-	13.5%	10%	8-15%	9-12%
Schaf	4.5-5.5%	16-80%	42.2%	78.5%	40-80%	30%
Rind	0.5-0.7%	13-82%	22%	6.7%	10-40%	16%
Ziege	4.5-5.5%	1.5-23%	12.6%	5%	-	-
Schweine	0.2-0.4%	0.1-5%	7.6%	10%	30%	-
Pferd	0.1-0.3%	-	1.6%	-	-	-

In der Türkei kommen sowohl *E. granulosus* als auch *E. multilocularis* endemisch vor. Die jährliche Inzidenz der zystischen Echinokokkose lag bei Menschen bei 0.87-6.6 Fällen pro 100.000 Einwohner. Die Befallsrate von *E. granulosus* lag bei Hunden zwischen 0.32% und 40%, während die zystische Echinokokkose bei Nutztieren zwischen 11.2% und 50.7% variierte. Bis jetzt wurden in der Türkei 202 Menschen an der alveolären Echinokokkose operiert (ALTINTAS, 2003).

In Deutschland lag der Befall von Hydatidose bei Schlachtrindern durchschnittlich bei 0.26%. Am höchsten war die Befallsrate bei Kühen mit 0.55%, Färsen 0.1%, Bullen 0.06% und Kälber 0.017% (HAHN, 1987). In Thüringen wurde bei 1421 Schlachttieren von 1984/91 eine Häufigkeit der Finnen beim Rind zwischen 0.1% und 0.3% und bei Schweinen 0.001% bis 0.004% festgestellt. Bei Rindern wurden die Hydatiden zu 91.7% in der Lunge und zu 1.3% in der Leber gefunden. In Mitteldeutschland konnten bei 324 parasitologischen

Hundesektionen nur 2 mit *E. granulosus* natürlich infizierte Tiere ermittelt werden (WORBES, 1992).

Laut SOILEV und BOEVA (1982) lag in Bulgarien die Befallsintensität von *E. granulosus* beim Schaf in den Jahren von 1975 bis 1979 in den Niederungsgebieten unter 20% und im Gebirge bei über 50%. Die Erkrankungsquote der Menschen war ungleichmäßig verteilt, wobei sie zwischen den einzelnen Verwaltungskreisen unterschiedlich zwischen 0.7 und 5.77 Fällen pro 100.000 Einwohner schwankte. Den relativ größten Anteil an der Verbreitungsrate für *E. granulosus* stellten Haushunde (57.7%) dar, gefolgt von Jagdhunden (28.6%) und Hütehunden (13.5%).

In Zypern stellte die zystische Echinokokkose vor 1970 ein sehr großes gesundheitliches Risiko dar. Die jährliche Inzidenzrate lag beim Menschen bei 12.9 Fällen pro 100.000 Einwohnern. Die Prävalenz bei Hunden zum selben Zeitpunkt lag bei 12.213 untersuchten Hunden etwa bei 6.8% und bei 3.369 Hütehunden bei 14%. Die Prävalenz der zystischen Echinokokkose der Nutztiere lag zur selben Zeit bei Schaf, Rind, Ziege und Schwein bei 54%, 30%, 12%, 10% (ECONOMIDUS und THRASOU, 1999). Mit der Durchführung der Anti-Echinokokkose-Kampagne des „Departement of Veterinary Services“ im Jahre 1971 wurde die Echinokokkose bei Hund und Nutztieren im Jahre 1985 als ausgerottet betrachtet (ECONOMIDUS, 1998).

2.7 Diagnose von *E. granulosus* beim Endwirt

Zur Bestimmung der Infektion von *E. granulosus* beim Endwirt bedient man sich verschiedene Methoden:

- a) Direkter Nachweis: Parasitenmaterial im Kot, Sektion und diagnostische Entwurmung mittels Arecolinhydrobromid
- b) Indirekte Verfahren: Antikörpernachweis im Serum, Koproantigen-Nachweis und molekular-biologische Methoden

Der Nachweis von Eiern oder Proglottiden ist sehr schwierig, da die Ausscheidung nicht kontinuierlich erfolgt. Deshalb wird bei einer einmaligen Kotuntersuchung nur ein Drittel der Bandwurmträger entdeckt. Darüber hinaus verläuft die Infektion beim Endwirt in den allermeisten Fällen klinisch inapparent, auch bei höherer Befallsdichte (ECKERT, 1981).

Eine sichere Diagnose für *Echinococcus spp.* durch den Nachweis von Eiern ist nicht möglich, weil die Echinokokkeneier nicht von anderen Taeniiden-Eiern unterschieden werden können. Das Vorhandensein von Echinokokken-Proglottiden im tierischen Kot ermöglicht eine korrekte Diagnose (ECKERT et al., 2001b).

Bei der Diagnose des *E. granulosus*-Befalles sollten Sicherheitsvorkehrungen beachtet werden. Kot und Eimaterial sind im Verdachtsfall durch Hitze zu sterilisieren, Sektionsmaterial sollte zur weiteren Untersuchung bei -80°C für 2-4 Tage tiefgefroren werden (ECKERT et al., 1991).

2.7.1 Nachweis von Eiern oder Proglottiden

Der Nachweis von Eiern im Kot erfolgt meist durch Flotationsverfahren (BOCH und SUPPERER, 1983). Die ausgeschiedenen Proglottiden sind sehr kleine, etwa 0.6-3 mm große, weißliche Gebilde auf der Kotoberfläche oder gelegentlich im Perianalbereich. In Kotproben werden sie meist nur dann gefunden, wenn das Material nach Aufschwemmung in Wasser speziell darauf untersucht wird. Zum Nachweis von Eiern oder Proglottiden am lebenden Tier kann auch eine diagnostische Entwurmung mit Arecolinhydrobromid oder Praziquantel

durchgeführt werden (WHO, 1981).

2.7.2 Sektion

Bis zum Ende der 80-er Jahre war die Sektion die einzige und zuverlässigste Methode zur sicheren Diagnose der Echinokokkose beim Endwirt. Bei der Autopsie, vor allem der wildlebender Endwirte, wird der Darm an beiden Enden sorgfältig abgebunden und bei -80°C für 5 Tage tiefgefroren. Die Sektion besteht aus:

- a) Sedimentationstechnik (Sedimentations Counting Technique-SCT)
- b) Intestinale-Technik (Intestinale Scraping Technique-IST)

SCT wird für eine exakte Bestimmung der Parasitenanzahl im Darm durchgeführt und weist gegenüber IST eine höhere Sensitivität und Spezifität auf, weshalb sie als „Gold Standard“ verwendet wird. Der Dünndarm wird in gesamter Länge aufgeschnitten und in 20 cm lange Segmente geteilt. Die Darmsegmente mit Inhalt werden in ein Becherglas überführt und mit 1 l physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt. Nach kurzem Schütteln des Becherglases werden die Darmstücke mit 2 Fingern gepresst, damit der Inhalt mit Mukosa in der Lösung aufgeschwemmt wird. Nach 15-30 min wird der Überstand bis auf ein Sediment dekantiert und das Becherglas anschließend mit Wasser erneut aufgefüllt. Dieser Vorgang wird mehrmals wiederholt, bis der Überstand klar ist. Das Sediment wird dann in kleine Portionen (5-10 ml) auf Petrischalen überführt und unter dem Stereomikroskop untersucht (RAUSCH et al., 1990).

Nach DEPLAZES und ECKERT (1996) wurde IST vor allem in den letzten Jahren bei epidemiologischen Studien an Fuchspopulationen eingesetzt. An 15 aufgeschnittenen Dünndarmsegmenten werden mit einem Objektträger Abstriche entnommen und unter einem Stereomikroskop bei 50-100-facher Vergrößerung durchgemustert. Bei schwachem Befall sind Dünndarmteile unter dem Stereomikroskop zu untersuchen, da die Parasiten nach Abwurf der reifen Endproglottide zwischen den Dünndarmzotten makroskopisch übersehen werden (WHO, 1981; LAWSON und GEMELL, 1983).

2.7.3 Diagnostische Entwurmung mittels Arecolinhydrobromid

Die diagnostische Entwurmung ist die Methode der Wahl zum Nachweis von *E. granulosus* in Hundepopulationen. Sie basiert auf der Verabreichung von Arecolinhydrobromid per os an Hunde und die spätere Untersuchung des ausgeschiedenen Kotes auf Parasiten-Material. Arecolinhydrobromid hat neben dem vermiziden einen sympatikomimetischen Effekt im Darm, infolge dessen die Parasiten schneller ausgetrieben werden. Die Dosis variiert zwischen 1.75 mg und 3.5 mg/kg und ist geeignet für alle Hunderassen. Der Vorteil dieser diagnostischen Methode liegt darin, dass eine spezifische Diagnose der Echinokokkose direkt durch die abgegangene Wurmbürde gestellt werden kann. Die Nachteile dieser Methode sind die niedrigere Sensitivität (65%), der Kostaufwand und die Gefahr einer Umweltkontamination durch Echinokokkeneier (SCHANTZ et al., 1995).

2.7.4 Antikörpernachweis im Serum

Nach CHORDI et al. (1962) und MOVSESIJAN und MLADENOVIC (1971) können Hunde spezifische Antikörper gegen eine Infektion von *E. granulosus* produzieren. Zum Nachweis von Antikörpern im Serum wurden verschiedene Antigene larvaler, sowie juveniler und adulter Intestinalstadien verwendet. Exkretorisch-sekretorisches-Antigen des Skolex reagierte mit Antikörpern im Serum von Hunden 35-40 Tage nach der experimentellen Infektion, dagegen mit Protoskolex-Antigen schon 5 Tage post infectionem. Keine Antikörper-Reaktionen konnten mit dem Onkosphären-Antigen ermittelt werden. Es gab auch keine Kreuzreaktionen mit Infektionen von *Taenia hydatigena*, *Taenia pisiformis* und Nematoden wie *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum* und *Trichuris vulpis* (JENKINS und RICKARD, 1986).

Mit dem ELISA unter Verwendung von Skolex-Antigen können beim Endwirt Antikörper gegen *E. granulosus* auch mehrere Monate im Serum infizierter und erfolgreich behandelter Hunde nachgewiesen werden, was zu falsch-positiven Ergebnissen führen kann (GOTTSTEIN et al., 1991; GASSER et al., 1993).

Bei experimentellen Infektionen von Hunden sind IgA, IgM und IgG Antikörper gegen Protoskolex-Antigen schon nach einer Woche p.i. festgestellt und eine Zunahme von IgE

Antikörpern nach 2 Wochen p.i. beobachtet worden. Der hauptsächliche Anstieg von IgG Antikörpern findet jedoch erst 3 Wochen p.i. statt. Die ELISA-Methode wies eine Spezifität von 97-100% auf, die Sensitivität variierte aber zwischen 53-84% (GASSER et al., 1993).

Nach JENKINS et al. (1990) wiesen ELISA-Untersuchungen an natürlich infizierten Hunden in der Turkana/Kenia eine niedrige Sensitivität von 40% und eine Spezifität von 70% auf. Eine Serum-Antikörper-Bestimmung beim lebenden Hund zur Diagnose einer Echinokokkose ist nach GASSER et al. (1990) unzuverlässig.

2.7.5 Nachweis von Echinokokkeneiern mit dem indirekten Immunfluoreszenztest

CRAIG et al. (1986) entwickelten einen Immunfluoreszenztest mit monoklonalen Antikörpern (mAK). Es gab keine Kreuzreaktionen mittels mAK gegen Eier von *Taenia hydatigena* und *Taenia saginata*. Bei weiteren Studien von CRAIG et al. (1988) wurden Taeniiden-Eier aus dem Kot, der Perianal-Region von natürlich infizierten Hunden oder der Umgebung des Wohnsitzes von Menschen (am Boden und im Wasser) in der Turkana/Kenia isoliert und auf das Vorhandensein von Echinokokkeneiern überprüft. Von den 30 untersuchten Hunden waren 11 mit *E. granulosus* infiziert, wobei 8 positiv im Immunfluoreszenztest (IFAT) reagierten. 19 mit *Taenia hydatigena* infizierte Hunde lösten dagegen keine Reaktion mit dieser Methode aus. Die Immunodiagnose von Echinokokkeneiern wies im Vergleich zur *Taenia hydatigena*-Infektion eine Spezifität von 100% auf, die Sensitivität lag bei 73%.

2.7.6 Koproantigen-Enzyme linked immunosorbent assay (CA-ELISA)

Stoffwechselprodukte der im Darm lebenden Parasiten werden mit dem Kot ausgeschieden. Deshalb versuchte man, diese Antigene mit spezifischen Antikörpern zu erfassen. Ein Nachweis spezifischer Koproantigene wurde mit gutem Erfolg bei verschiedenen Infektionen von Viren, Bakterien und Protozoen durchgeführt (GREEN, 1986).

Die Entwicklung des Koproantigen-Nachweises hat ein neues Kapitel in der Diagnose von intestinalen Zestoden eröffnet (CRAIG, 1993; DEPLAZES und ECKERT, 1996). Die ersten Versuche diesbezüglich haben BABOS und NEMETH (1962) gemacht, um mit Immunsereen von Kaninchen gegen Zystenflüssigkeit von *E. granulosus* in der Immundiffusion Koproantigene von *E. granulosus*-infizierten Hunden nachzuweisen. Das Antigen wurde bereits während der Präpatenzperiode nachgewiesen und es gab vereinzelt Kreuzreaktionen mit anderen Taenienarten. Auch MACHNICKA und KRAWCZUK (1988) konnten die Kopro- Antigene von Zestoden im Kot in der Präpatenzperiode und bei Tieren mit negativem Eibefund nachweisen.

Ebenfalls gute Ergebnisse mit dem CA-ELISA wurden mit monospezifischen Antiseren gegen somatische Antigene (ALLAN et al., 1992; CRAIG et al., 1995) oder exkretorisch-sekretorische Antigene von adulten Echinokokken erzielt (DEPLAZES et al., 1992; SAKASHITA et al., 1995).

DEPLAZES et al. (1992) haben den CA-ELISA bei Untersuchungen an Hunden (Streunerhunden aus Spanien), Füchsen und Dingos mit gutem Erfolg angewendet, wobei eine deutliche Korrelation mit der Parasitenanzahl im Darm festzustellen war. Erste positive Reaktionen waren schon ab 10 Tagen p.i. bei Hunden und ab dem fünften Tag p.i. bei Füchsen mit Parasitenanzahlen von über 10.000 Exemplaren pro Tier festzustellen. Bei allen Hunden, die über 1.000 Echinokokken im Darm besaßen, waren positive Reaktionen spätestens ab 20 Tagen p.i. nachzuweisen. Bei 31 Streunerhunden, die auch mit *Taenia hydatigena*, *Taenia pisiformis* und *Dipylidium caninum* infiziert waren, trat nur einmal eine Kreuzreaktion mittels CA-ELISA auf. Auch 9 Hunde mit einer Parasitenanzahl von über 200 wiesen bereits positive Reaktionen auf. Die durchschnittliche Sensitivität dieses Tests lag bei 56% bei Hunden und bei 46% bei Dingos. Bei Hunden mit einer Parasitenanzahl über 200 lag die Sensitivität bei

87%, die Spezifität lag bei 98%.

Die Koproantigene bleiben im Kot bei 30°C für mehr als 5 Tage in der Außenwelt stabil und können in 5-10% Formalin fixiert und bei 4°C für 4 Wochen eingelagert werden (CRAIG et al., 1995; DEPLAZES et al., 1999; JENKINS et al., 2000). Der CA-ELISA zeigte ebenfalls noch eine hohe Sensitivität, wenn das Untersuchungsmaterial für 6 Monate in 5%-igem Formalin fixiert oder bei -20°C tiefgefroren wurde. JENKINS et al. (2000) stellten keine Unterschiede beim Nachweis von *E. granulosus*-Infektionen mittels CA-ELISA zwischen frisch entnommenen Proben und über 1 Jahr tiefgefrorenen Proben fest. Laut RAOUL et al. (2001) wurde kein Unterschied zwischen dem vom Boden aufgesammelten und rektal entnommenem Fuchskot beim Nachweis des Koproantigens mittels ELISA nachgewiesen. THENEVET et al. (2003) führte den Nachweis von *E. granulosus* mittels des ELISA noch bei 41 Monate altem Kot von Hunden.

Nach VISCIDI et al. (1984); ALLAN et al. (1992) und DEPLAZES et al. (1994) besteht das Problem für den CA-ELISA in der Zusammensetzung des Kotes, in dem viele abgebaute Komponenten und Faktoren auftreten, die eine Interferenz beim ELISA hervorrufen können. Mit einer Verwendung von 50% fötalem Kälber-Serum oder einer Wärmebehandlung der Kotproben sollte der Effekt dieser Faktoren vermieden werden.

Das Koproantigen wurde unabhängig vom Eibefund nachgewiesen und die Sensitivität lag bei 100% im Vergleich zur mikroskopischen Diagnose, wobei in nur 26% der Proben Taeniiden-Eier nachgewiesen wurden. Bei Untersuchungen von Personen mit Taenien-Befall zeigte sich, dass nur bei einem Patienten, bei dem keine Eier gefunden wurden, eine positive Diagnose mittels des CA-ELISA gestellt werden konnte (ALLAN et al., 1992). Dagegen wurde keine Korrelation zwischen der Sensitivität des CA-ELISA Tests und dem Eibefund beim Hund ermittelt, wobei das Ausscheiden der Eier kontinuierlich als auch periodisch erfolgte (DEPLAZES et al., 1990).

Bei einer Untersuchung, die CRAIG et al. (1995) in Uruguay bei natürlich infizierten Hunden durchgeführt haben, wurde der CA-ELISA und der Nachweis von Antikörpern im Serum mit der diagnostischen Entwurmung mittels Arecolinhydrobromid bei kaniner Echinokokkose verglichen. Bei 26 Hunden (100%) wurde *E. granulosus* mittels diagnostischer Entwurmung

(Arecolinhydrobromid) nachgewiesen. Der CA-ELISA wies dagegen eine Sensitivität von 76.9% (20/26) und der Serum IgG-ELISA eine Sensitivität von 34.6% auf. Die Autoren folgern, dass der CA-ELISA die diagnostische Entwurmung bei kaniner Echinokokkose ergänzen kann. SAKAI et al. (1995) wiesen bei experimentell infizierten Hunde Koproantigene von *E. granulosus* nach, hatten aber eine niedrigere Sensitivität im Vergleich zur diagnostischen Entwurmung. In Untersuchungen von ALLAN et al. (1992), CRAIG et al. (1995) und MORO et al. (1999) variierte die Sensitivität des CA-ELISA zwischen 50% und 87.5% bei Befall von Hunden mit *E. granulosus*. Untersuchungen von DEPLAZES et al. (1994) ermittelten für den CA-ELISA eine Spezifität von 97% und eine durchschnittliche Sensitivität von 63%. ALLAN et al. (1992) infizierten Hunde mit *T. hydatigena* und stellte ein negatives Ergebnis beim Nachweis auf *E. granulosus* fest. Vergleichsuntersuchungen zwischen therapeutischer Diagnose und CA-ELISA zeigten in 74 Proben nur im 34% eine Infektion mit *E. granulosus*, während der CA-ELISA eine solche von 82% aufwies (LOPERA et al., 2003). Ein ähnlicher Vergleich zwischen Sektion und CA-ELISA wurde in Jordanien an Streunerhunden und Füchsen bezüglich *E. granulosus* durchgeführt. Von 94 Hunden waren 13 (13.8%) mit *E. granulosus* befallen, mit einer Parasitenanzahl von 3->10.000. Nur 8 der 13 befallenen Tiere wiesen einen positiven CA-ELISA auf; die durchschnittliche Sensitivität lag bei 61.5%; die Spezifität bei 91%. Am häufigsten gab es Kreuzreaktion mit *Dipylidium caninum* (EL-SHEHABI et al., 2000).

Laut GOTTSTEIN et al. (2001) waren in der Schweiz 7% von 86 untersuchten Hunden und 3% von 33 untersuchten Katzen mit *E. multilocularis* befallen, die mittels des CA-ELISA, des Flotationsverfahrens zum Nachweis der Taeniiden-Eiern und der PCR untersucht wurden (siehe Tab.4).

Tab.4: Prävalenz von *E. multilocularis* bei Hunden und Katzen (GOTTSTEIN et al., 2001)

	Probenanzahl	Positive Taeniiden-Eier	Positiver ELISA	Positive PCR	Prävalenz (%)
Hunde	86	7	6	6	7
Katzen	33	1	1	1	3

Tab. 5: Diagnostische Sensitivität und Spezifität von Nachweismethoden bei der kaniden Echinokokkose (CRAIG et al., 1997)

Methoden	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Sektion	> 90	100
Diagnostische Entwurmung	50-70	100
Serum-ELISA	35-70	>90
Koproantigen-ELISA	75-80	>95

Die Sensitivität hängt sehr stark von der Parasitenanzahl im Darm ab. Der Nachweis des Koproantigens mittels des CA-ELISA war bei Hunden, die über 10.000 Exemplare von *E. granulosus* enthielten, bereits 11 Tag p.i. möglich. 6 Hunde mit einer Wurmbürde von < 20, wiesen dagegen falsch negative Ergebnisse mittels des CA-ELISA auf. Bei Hunden mit einer Echinokokkenanzahl von 3-67.700 wurde das Koproantigen nach 3 Wochen p.i. und noch 5-6 Tage nach der Entwurmung nachgewiesen (MALGOR et al., 1997; DEPLAZES et al., 1992).

Aufgrund der guten Ergebnisse mit dem CA-ELISA ist nach Meinung von ALLAN et al. (1992), DEPLAZES et al. (1992), BARONET et al. (1994), PALMER et al. (1996), COHEN et al. (1998), EL-SHEHABI et al. (2000), JENKINS et al. (2000), WANG et al. (2001) und THENEVET et al. (2003) dieser beim Nachweis von *E. granulosus*-Infektionen in jedem Fall vorzuziehen. Er wurde daher auch für epidemiologische Untersuchungen und Überwachungsprogramme in verschiedenen endemischen Gebieten eingesetzt und kann als Methode der Wahl bezeichnet werden. Trotz der niedrigen Sensitivität des Tests kann eine Feststellung einer Infektion mit *E. granulosus* bei einer Hundepopulation in einer endemischen Region bis zu 90% nachgewiesen werden.

Der CA-ELISA wurde auch in epidemiologischen Studien bei Löwenpopulationen in Ost-Afrika eingesetzt (MÜLLER-GRAF, 1995).

Alle positiven Ergebnisse für *E. granulosus*- und *E. multilocularis* mittels des CA-ELISA wurden in der PCR bestätigt (STEFANIC et al., 2004). Bei epidemiologischen Untersuchungen zum *E. granulosus*-Befall bei Hunden in Zypern wurde der CA-ELISA mit guten Ergebnissen als Nachweistest eingesetzt und die PCR für weitergehende Untersuchungen auf Stammspezifität empfohlen (CHRISTOFI et al., 2002).

2.7.7 Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction=PCR)

Seitdem es gelang, die Amplifikation von viralen oder bakteriellen Genen in einem heterogenen Medium, z.B. im Kot, durchzuführen, konnte man auch mit geeigneten Primern die in größerer Menge vorhandene DNA verschiedener Parasiten amplifizieren (ALLARD et al., 1990). Die PCR wurde sogar für eine Krebsdiagnose in humanen Stuhlproben eingesetzt (SIDRANSKI et al., 1992).

Um eine intra-vitam Echinokokkendiagnose beim Endwirt zu stellen, sind molekularbiologische Methoden am sichersten. Die ersten Versuche wurden mit einer PCR-Amplifikation der DNA von Taeniiden, sowohl von Metazestoden-, Adulten- als auch Proglottidenmaterial gemacht, nicht aber mit einer DNA-Extraktion direkt aus den Taeniiden-Eiern aus dem Kot (GOTTSTEIN et al., 1991).

BRETAGNE et al. (1993) haben eine neue Methode zur DNA-Extraktion von Echinokokkenmaterial aus dem Kot entwickelt. Mit Hilfe der PCR wurde ein vorher isoliertes DNA-Fragment von *E. multiloculari*-Eiern amplifiziert. Wegen der dicken Membrane der Taeniiden-Eier verwendeten die Autoren alkaline Substanzen wie KOH bei Temperaturen von 65°C, um die Membrane zu lysieren. Bei der PCR wurden von BRETAGNE et al. (1993) die U1 snRNA-Gene und von DINKEL et al. (1998) mitochondrial 12 sRNA-Gene eingesetzt. Die U1 sn-RNA Gene wurden wenigsten 50 mal im Genom multipliziert und als Anfangspunkt für eine PCR Methode angesehen.

Zur Unterscheidung zwischen Taeniiden- und Echinokokken-Eiern wurde erstmals eine DNA-Amplifikation von den *E. granulosus*-Eiern aus dem Kot von Hunden durchgeführt. Die Durchführung der PCR zur Identifizierung der Eier vom *E. granulosus*-„Schafstamm“ gelang mit Hilfe von Primern aus mitochondrialen Sequenzen (Cytokromoxidase-Gene). Der Nachweis des *E. granulosus*-„Schafstamms“ bei natürlich infizierten Hunden wies eine Spezifität von 100% auf im Vergleich zu anderen 5 *E. granulosus*-Stämmen und 14 weiteren verschiedenen Helminthenarten, einschließlich von Proben von *E. multilocularis* und je einer Probe von *E. vogeli*, *Taenia spp.*, *Dyphyllobothrium latum* und *Hymenolepis nana*, die alle in der PCR negativ waren (CABRERA et al., 2002; ABBASI et al., 2003; STEFANIC et al., 2004).

Auch SHAIKENOV et al. (2004) konnten Taeniiden-Eier aus vom Boden entnommenen Hundekotproben mittels der PCR differenzieren. In 120 Proben wurden bei 21 Hunden Taeniiden-Eier nachgewiesen, von denen in 5 Fällen mittels der PCR der *E. granulosus*-„Schafstamm“ identifiziert wurde.

Bei Untersuchungen an Füchsen nach BRETAGNE et al. (1993) wiesen 7 Tiere in der PCR eine positive Reaktion auf, die bei der Sektion negativ waren. Auch in Untersuchungen von DINKEL et al. (1998) an 241 Füchsen wiesen bei der Sektion 59% einen Befall mit *E. multilocularis* auf, dagegen mit der PCR eine Prävalenz von 75%. Diese PCR-positiven Proben sind nicht als falsch-positiv zu beurteilen, da adspektorisch bei der Sektion bei einer schwachen Infektion die Echinokokken im Darm übersehen werden können.

Eine positive PCR konnte bei natürlich mit *E. granulosus* infizierten Hunde auch dann noch erzielt werden, wenn nur 2 Parasiten im Darm vorhanden waren. Die hohe Sensitivität des Tests zeigte sich darin, dass von einem einzigen Ei aus dem Hundekot ein positives Signal gesetzt werden konnte. Auch bei 18 in der Sektion negativen Hunden, die aus einem endemischen Gebiet mit *E. granulosus* stammten, wurden 4 mit der PCR als positiv ermittelt. Wiederum wurde darauf hingewiesen, dass die PCR eine höheren Sensitivität aufwies als die Sektion (ABBASI et al., 2003).

STEFANIC et al. (2004) konnten aus einem endemischen Gebiet in Kasachstan die Eier von *E. granulosus*-„Schafstamm“ im Kot von natürlich infizierten Hunden mittels der PCR differenzieren. Die Hunde waren vorher mit Arecolinhydrobromid entwurmt und der Kot mittels des CA-ELISA untersucht. Trotz Mischinfektionen mit *Taenia. spp.* konnten mit den entsprechenden Primern sowohl *E. granulosus* als auch *E. multilocularis* differenziert werden.

In einer Studie von DINKEL et al. (1998) wurde gezeigt, dass die PCR als eine alternative Methode für die Routinediagnostik der Echinokokkose bei Karnivoren geeignet ist, da bereits ein einziges Ei von *E. multilocularis* ein positives Signal geben kann. Trotzdem hängt die Sensitivität der PCR von der Echinokokkenanzahl im Darm bzw. den ausgeschiedenen Eiern und der Stufenreife der Parasiten ab. Sind über 1.000 gravide Parasiten im Darm enthalten, dann steigt die Sensitivität bis auf 100%. Bei Füchsen mit weniger als 10 unreifen Parasiten im Darm betrug die Sensitivität der PCR bis zu 70%.

MATHIS et al. (1996) fanden bei einer Untersuchung an Füchsen keine falsch-positiven Ergebnisse mit der PCR, da bei den negativen Proben auch in der Sektion keine *E. multilocularis* im Darm gefunden wurden. Die PCR wies eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 94% auf. Falsch negative Ergebnisse wurden nur bei den Proben festgestellt, die immature Parasiten enthielten. Bei keiner der Proben wurden PCR-Inhibitoren nachgewiesen.

Ein Problem beim Nachweis pathogener Organismen im Kot sind Faktoren, die eine normale Reaktion bei der PCR inhibieren können. Auch beim Nachweis der Echinokokkeneier ist das Vorhandensein von PCR-hemmenden Substanzen in Kotproben, die falsch negative Ergebnisse hervorrufen können, ein Problem (CRAIG und Mc MANUS, 2003). So konnten nach Untersuchungen von DINKEL et al. (1998) bis zu 3.6% der mit der PCR untersuchten Proben aufgrund dieser hemmenden Einflüsse keine Reaktionen ergeben. MONNIER et al. (1996) verwendeten kommerzielle Produkte wie Gene-Fizz (anion binding resin), um diese hemmende Faktoren bei der DNA-Amplifikation zu binden und zu eliminieren. Mit der Verwendung von Gene-Fizz stieg die Sensitivität bei der PCR zum Nachweis von *E. multilocularis* von 23.5% bis auf 82.3%.

Dem Vorschlag von MATHIS et al. (1996) folgend, bei positiven CA-ELISA Proben von Füchsen mit *E. multilocularis* Befall eine weitere Diagnose mit der PCR anzuschließen, erlaubte auch bei *E. granulosus*-Befall bei Hunden eine effizientere Diagnostik (STEFANIC et al., 2004). Der Kopro-PCR-Test für *Echinococcus spp.* ermöglicht eine Überwachungskontrolle von Endwirtpopulationen, vorwiegend durch die Bestätigung von positiven CA-ELISA Proben, und ermöglicht die Erstellung von Basisdaten für Infektionen bei Endwirtpopulationen mit niedriger Endemizität (VAN der GIESSEN et al., 1999; SMITH et al., 2003). Zusammenfassend können Studien in diesem Bereich auch an einer großen Anzahl von Proben durchgeführt werden. Da nachgewiesen ist, dass die Eier von *Echinococcus spp.* mehr als 6 Monate im Freien überleben (VEIT et al., 1995), sind die Ergebnisse von Felduntersuchungen daher für epidemiologische Aussagen realistisch (MONNIER et al., 1996).

2.8 Nachweis von zystischer Echinokokkose beim Zwischenwirt

Eine Routinemethode für den Nachweis von zystischer Echinokokkose ist die Untersuchung von Nutztieren bei der Schlachtung. Die Hydatiden sind durch Adspektion erkennbar. Es sollten jedoch, besonders bei größeren Tieren, Organe wie Leber vor allem aber Lunge durchtastet und im Verdachtsfall angeschnitten werden, weil sehr kleine Zysten übersehen werden können (WHO, 1981).

Serologische Tests zur intra-vitam Diagnose der Echinokokkose bei Nutztieren sind grundsätzlich möglich, jedoch nicht praxisreif, da sie zu unempfindlich sind oder Kreuzreaktionen mit anderen Helminthen zeigen (ECKERT, 1981). Der intradermale Casoni Test oder serologische Tests wurden nur vereinzelt zur Feststellung einer Infektion bei Tieren sowie Menschen eingesetzt (KAGAN, 1968). Bei Schafen wurden in einem kleinen Ausmaß radiologische Untersuchungen durchgeführt, erwiesen sich aber für epidemiologische Studien als nicht geeignet (WYN-JONES und CLARKSON, 1984).

CRAIG und RICKARD (1981) untersuchten mittels des ELISA Kreuzreaktionen zwischen *Taenia saginata*, *Taenia hydatigena* und *E. granulosus* bei Schafen und Rindern. Sie konnten durch Reinigung der verwendeten Antigene Kreuzreaktionen deutlich verringern, allerdings auf Kosten der Sensitivität des Tests. Die Antikörper wurden bei experimentell infizierten Schafen erst nach 4-6 Wochen p.i nachgewiesen (CRAIG et al., 1981). Sie persistieren mindestens 4 Jahre im Blut (LIGHTOWLERS et al., 1984). Serologische Kreuzreaktionen zwischen *E. granulosus*-Hydatidose und Finnen anderer Zestoden verhindern eine spezifische Diagnose von zystischer Echinokokkose mittels des ELISA (YONG et al., 1984). Dagegen wiesen IBRAHEM et al. (1996) eine höhere Sensitivität und Spezifität des Tests im Vergleich zur Schlachttieruntersuchung auf. Bei Untersuchungen von KITTELBERGER et al. (2002) mit 3 ELISA-Tests zum Nachweis der zystischen Echinokokkose bei Schafen lag die höchste Sensitivität bei 63% und die Spezifität bei 96%.

Eine Ultraschalluntersuchung ist bei Tieren möglich. In Versuchen in Kenia und Argentinien wurde eine Sensitivität dieser Methode über 70% und eine unterschiedliche Spezifität mit falsch-positiven Fällen von *Taenia hydatigena* nachgewiesen (MAXSON et al., 1996; GUARNERA et al., 2000).

2.9 Diagnose von zystischer Echinokokkose (Hydatidose) beim Menschen

Die Mehrzahl der Infektionen mit zystischer Echinokokkose beim Menschen verläuft zunächst asymptomatisch. Die Beschwerden sind zumeist uncharakteristisch. Treten klinische Symptome auf, so sind sie oft auf den Funktionsausfall des betreffenden Organs durch Atrophie oder Kompression infolge der wachsenden Hydatidenblase zurückzuführen (NITSCHKE, 1985). In der Häufigkeit der befallenen Organe steht die Leber mit bis zu 75% an erster Stelle, gefolgt von der Lunge mit 10%, Gehirn und Milz mit 5% und der Niere mit 2% (JENS und DÖLLE, 1982). Nach HOXHA (2003) wurden im Kosova Echinokokkenzysten bei 61.3% der Patienten in der Leber und nur bei 35.6% in der Lunge gefunden. In Albanien wurden 51% der Hydatidose-Patienten an der Leber und 43.5% an der Lunge operiert (ELEZI, 1992). Die Zysten in der Lunge werden häufig bei einer routinemäßigen Röntgenuntersuchung entdeckt.

Röntgenologisch stellen sich die Hydatidenblasen in der Lunge als rundliche bis ovale Verschattungen gut dar, jedoch ist die Differenzialdiagnose äußerst vielfältig. In der Leber lassen sich die Echinokokkenzysten nur darstellen, wenn Kalkeinlagerungen in der Zystenwand vorhanden sind (WALTHER, 1982). Die Sonographie besitzt eine große Treffsicherheit bei der Diagnose von zystischer Echinokokkose. Der Nachweis von Tochterzysten innerhalb der Zyste ist pathognomisch (PIRSCHKE, 1982). Bei der Szintigraphie figurieren die von dem Parasiten befallenen Partien als Speicherdefekte, wenn ihr Durchmesser mindestens 1 bis 3 cm beträgt (NITSCHKE, 1985). Bei der Computertomographie (CT) ist der Nachweis von Wandverkalkungen für Hydatidenblasen ebenso pathognomisch wie die Darstellung von Tochterzysten und von Agglomeraten von Protoskolyzen (HÜBNER und METZGER, 1982).

Für den indirekten Nachweis der zystischen Echinokokkose, d.h. dem Nachweis von Antikörpern, stehen mehrere serologische Testmethoden unterschiedlicher Sensitivität und Spezifität zur Verfügung und werden alleine oder in Kombination angewendet. Der Doppeldiffusionstest, die Immunelektrophorese, die Gegenstromelektrophorese und die Komplementbindungsreaktion (KBR) gelten als spezifische, jedoch wenig sensitive Tests. Der indirekte Hämagglutinationstest (IHA), der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT), der ELISA und der Radioimmuntest (RIA) werden hingegen als Verfahren mit hoher Sensitivität

angesehen (BIAVA et al., 2001). In Ländern, in denen *E. granulosus* und *E. multilocularis* gleichzeitig vorkommen, ist die Differentialdiagnose hinsichtlich der weiteren Behandlung und der Prognose von Patienten von großer Bedeutung. Um die Sicherheit des Antikörper-Nachweises zu erhöhen, werden zwei oder mehrere Testmethoden gleichzeitig und möglichst unter Verwendung verschiedener Antigene durchgeführt (AUER et al., 1986). Zur Steigerung der Spezifität gelang es GOTTSTEIN et al. (1983), aus dem Gewebe der Metazestoden von *E. multilocularis* zwei serologische aktive Proteinfractionen zu isolieren, wovon ein Antigen mit Antikörpern gegen *E. granulosus* und *E. multilocularis* reagierte. Durch gleichzeitige Anwendung und Vergleich der Reaktionen beider Antigenfractionen im ELISA konnte in 95% der untersuchten Echinokokkose-Patienten eine spezifische Differenzialdiagnose zystischer oder alveolärer Echinokokkose gestellt werden.

In den letzten 10 Jahren wurden neue Methoden zur Feststellung der Diagnose von zystischer Echinokokkose, nämlich die Verwendung zirkulierender Antigene von Hydatiden, die Proliferation der Lymphozythen, Zytokin-Analysen und molekular-biologische Methoden entwickelt (SILES-LUCAS und GOTTSTEIN, 2001).

SADAKA et al. (2002) haben eine einfache, schnelle und effiziente Methode zur Diagnosis von zystischer Echinokokkose bei Menschen entwickelt; die Methode besteht darin, dass das Antigen von Hydatiden-Patienten im Urin mittels eines Co-Agglutinationstests nachgewiesen werden kann. Die Spezifität und Sensitivität dieser Methode sollen beinahe 100% liegen.

2.10 Therapie bei Hunden und Menschen

Praziquantel und Epsiprantel sind Mittel der Wahl gegen *Echinococcus spp.* bei Hunden als Endwirten. Die Dosis beträgt 5 mg/kg per os in Form von Tabletten oder 5.7 mg/kg paranteral. Die subkutanae Injektion hat eine ungenügende Wirkung gegen *E. granulosus*. Perorale Gaben von Praziquantel sind hochwirksam auch gegen anderer Zestoden und schon eine einzige Dosis hat eine Effektivität von 100% (ECKERT et al., 2001b).

Die Behandlung der zystischen Echinokokkose beim Menschen ist primär chirurgisch (Drainage, Zystoektomie und Resektion des befallenen Organs). Eine preoperative

Chemotherapie mit Benzimidazole ist bei Personen nötig, die multiple Zysten in zwei oder mehreren verschiedenen Organen aufweisen. Die Effizienz der Langzeit-Chemotherapie liegt bei 30 bis 70% bei Hydatidenpatienten (AMMANN und ECKERT, 1995).