

Aus der Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie  
und dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Studie zur Prävalenz von Helminthen beim Kolikpatienten**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Nadine Wolke, geb. Reimann  
Tierärztin aus Berlin

**Berlin 2019**

**Journal-Nr.: 4117**

**Gedruckt mit Genehmigung**  
**des Fachbereichs Veterinärmedizin**  
**der Freien Universität Berlin**

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
**Erster Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen  
**Zweiter Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. Georg von Samson-Himmelstjerna  
**Dritter Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. Robert Klopffleisch

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): horses, kolik, Strongylus vulgaris, Anoplocephala perfoliata, polymerase chain reaction, case studies

**Tag der Promotion: 18.09.2019**

Meinem Ehemann

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>IV</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Literaturübersicht</b>	<b>2</b>
2.1 Kolik	2
2.1.1 Definition, anatomische Besonderheiten und Ursachen	2
2.1.2 Extraintestinale Ursachen	3
2.1.3 Intestinale Ursachen	3
2.2 Kolik und gastrointestinale parasitäre Belastung	8
2.3 Kolik und Anthelminthikagaben	9
2.4 Helminthosen	10
2.4.1 Stamm Nematoda (Faden- oder Rundwürmer)	11
2.4.2 Stamm Platyhelmintha (Plattwürmer)	34
2.4.3 Stamm Arthropoda (Gliederfüßer)	40
2.5 Diagnostik von Endoparasiten	41
2.5.1 Koproscopische Methoden	41
2.5.2 Molekulardiagnostik	43
2.6 Therapie und Management von parasitären Infektionen	44
2.6.1 Anthelminthische Wirkstoffe	44
2.6.2 Resistenzproblematik	46
2.6.3 Kontrolle von Endoparasiten beim Pferd	49
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>50</b>
3.1 Material	50
3.1.1 Verbrauchsmaterialien	50
3.1.2 Gerätschaften	53
3.1.3 Dokumentation und Auswertung	54
3.2 Methoden	54
3.2.1 Auswahl der Fälle und Kontrollen	54
3.2.2 Probenentnahmen	55
3.2.3 Serodiagnostik	57
3.2.4 Koproscopische Untersuchungen	57
3.2.5 Qualitativer Nachweis von Nematoden-DNA	61
3.2.6 Reverse-Line-Blot-Analyse (RLB)	65
3.2.7 Fragebogen	65
3.2.8 Statistische Auswertung	66
<b>4 Ergebnisse</b>	<b>70</b>
4.1 Rasse-, Alters- und Geschlechterverteilung	70
4.2 Fäkale Eizählung	73
4.3 Seroprävalenz von Anti-S. vulgaris-IgG	76
4.4 Seroprävalenz von Anti-A. perfoliata-IgG(T)	79
4.5 Real-time PCR zum qualitativen Nachweis larvaler S. vulgaris-DNA	81
4.6 Reverse Line Blot (RLB)	82
4.7 Parasitenverdächtige klinische Symptome	85
4.8 Diagnosen	89
4.9 Anthelminthika-induzierte Kolik	91
4.10 Kolikgrad	93

4.11	Serumelektrophorese (SEP)	94
4.12	Zusammenfassende Bewertung und Schlussfolgerungen	94
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>96</b>
5.1	Rasse, Alter und Geschlecht	96
5.2	Prävalenz von Helmintheneiern	97
5.3	Seroprävalenz von Antikörpern gegen <i>S. vulgaris</i>	101
5.4	Seroprävalenz von Antikörpern gegen <i>A. perfoliata</i>	104
5.5	Nachweis larvaler <i>S. vulgaris</i> -DNA	105
5.6	Reverse Line Blot (RLB)	107
5.7	Parasitenverdächtige Symptome	108
5.8	Diagnosen	110
5.9	Anthelminthika-induzierte Kolik	111
5.10	Kolikgrad	113
5.11	Serumelektrophorese	113
5.12	Fragebogen	114
5.13	Ausblick	115
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>117</b>
<b>7</b>	<b>Summary</b>	<b>119</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>121</b>
	<b>Anhang</b>	<b>141</b>
	<b>Publikationen</b>	<b>145</b>
	<b>Danksagungen</b>	<b>146</b>
	<b>Selbständigkeitserklärung</b>	<b>147</b>

**Abbildungsverzeichnis**

ABBILDUNG 1: EIZÄHLUNG MITTELS FLOTAC <sup>®</sup> -VERFAHREN.	59
ABBILDUNG 2: KOPROKULTUREN IM INKUBATIONSSCHRANK.	60
ABBILDUNG 3: GESTÜLPTE KOTKULTUREN.	60
ABBILDUNG 4: BEISPIEL FÜR EIN GELBILD.	65
ABBILDUNG 5: RASSEVERTEILUNG KOLIKER / KONTROLLEN.	72
ABBILDUNG 6: DIFFERENZIERUNG UND HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DER NACHGEWIESENEN CYATHOSTOMINENSPEZIES (REVERSE LINE BLOT).	83
ABBILDUNG 7: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DIAGNOSEN.	90

**Tabellenverzeichnis**

TABELLE 1: VERGLEICH DER MITTELDARMZELLEN DER KLEINEN UND GROßEN STRONGYLIDEN.	13
TABELLE 2: CHARAKTERISTIKA DER ERST- UND DRITTLARVEN GROßER UND KLEINER STRONGYLIDEN.	20
TABELLE 3: KATEGORIALE ZUORDNUNG DER VARIABLEN RASSE, ALTER UND GESCHLECHT.	67
TABELLE 4: KATEGORIALE ZUORDNUNG DER DIAGNOSEN.	69
TABELLE 5: ANTEIL „PONYS“ VS. „ÜBRIGE RASSEN“ MIT/OHNE KOLIK.	71
TABELLE 6: RASSE ALS RISIKO FÜR EINE KOLIK.	72
TABELLE 7: PRÄVALENZEN NACHGEWIESENER HELMINTHENEIER.	75
TABELLE 8: DARSTELLUNG DER ERMITTELTEN SEROPRÄVALENZEN VON S. VULGARIS.	77
TABELLE 9: EINFLUSS VORHANDENER MAGEN-DARM-STRONGYLIDENEIER AUF SEROPOSITIVE ERGEBNISSE DES ANTI-S.VULGARIS-ELISA.	78
TABELLE 10: DARSTELLUNG DER ERMITTELTEN SEROPRÄVALENZEN VON A. PERFOLIATA.	79
TABELLE 11: EINFLUSS VORHANDENER BANDWURMEIER AUF DIE SEROPOSITIVITÄT DES ANTI-A.PERFOLIATA-ELISA.	81
TABELLE 12: DARSTELLUNG DER MOLEKULARDIAGNOSTISCH (REAL TIME-PCR) ERMITTELTEN PRÄVALENZ VON S. VULGARIS-LARVEN.	82
TABELLE 13: : NACHWEIS KLEINER STRONGYLIDENLARVEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER HÖHE DER EIAUSSCHIEDUNG.	84
TABELLE 14: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG ALLER KOLIKER MIT PARASITENVERDÄCHTIGEN SYMPTOMEN.	85
TABELLE 15: EINFLUSS VORHANDENER SYMPTOME AUF DEN NACHWEIS VON MAGEN-DARM-STRONGYLIDENEIERN IM KOT.	86
TABELLE 16: ZEITPUNKT, ALTER UND ENTWURMUNG ALLER PFERDE MIT DURCHFALL UND GLEICHZEITIG POSITIVEM NACHWEIS VON MDS-EIERN IM KOT.	86
TABELLE 17: EINFLUSS VORHANDENER SYMPTOME AUF DEN NACHWEIS VON BANDWURMEIERN IM KOT.	88
TABELLE 18: EINFLUSS VORHANDENER SYMPTOME AUF DEN NACHWEIS VON SPULWURMEIERN IM KOT	88
TABELLE 19: EINFLUSS VORHANDENER SYMPTOME AUF DEN NACHWEIS VON SPULWURMEIERN IM KOT (LOG. REGRESSION)	89
TABELLE 20 SIGNIFIKANZ DER WECHSELWIRKUNG ZWISCHEN LETZTER ENTWURMUNG UND KOLIK.	91
TABELLE 21: ABSOLUTE HÄUFIGKEIT UND ZEITPUNKT DER EINGESETZTEN WIRKSTOFFE FÜR PFERDE MIT KOLIKSYMPTOMEN.	92
TABELLE 22: ZUSAMMENHANG A. PERFOLIATA-SEROPOSITIVITÄT UND KOLIKGRAD BEI LETZTER ENTWURMUNG $\geq$ 8 WOCHEN.	93

**Abkürzungsverzeichnis**

ADCC	antibody dependant cellular cytotoxicity
A/G	Albumin/Globulin
ALB	Albumin
APP	Akute-Phase-Proteine
AR	Anthelminthikaresistenz
BE	Blutentnahme
BHP	Bauchhöhlenpunktat
BVL	Bundesministerium für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CRP	C-reaktives Protein
DiDa	Dickdarm
DüDa	Dünndarm
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGUS	Equine Gastric Ulcer Syndrome
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EpG	Eier pro Gramm Kot
EpGv	Eier pro Gramm Kot vor Anthelminthikabehandlung
EpGn	Eier pro Gramm Kot nach Anthelminthikabehandlung
ERP	Egg Reappearance Period
E/S-AG	Excretory/Secretory-Antigen
EZR	Eizahlreduktion
EZRT	Eizahlreduktionstest
GE	Gesamteiweiß
GIT	Gastrointestinaltrakt
ggr.	geringgradig
Hkt	Hämatokrit
hgr.	hochgradig
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
kDa	Kilo-Dalton als Einheit für die molekulare Größe / Molekularmasse
KI	Konfidenzintervall
L1	Erstlarve (Larve nach Schlupf)
L2	Zweitlarve (Larve nach 1. Häutung)

L3	Drittlarve (Larve nach 2. Häutung)
L4	Viertlarve (Larve nach 3. Häutung)
MDS	Magen-Darm-Strongyliden
mgr.	mittelgradig
NaCl	Natriumchlorid
NSAID	Nicht-steroidale Antiphlogistika (engl. non-steroidal anti-inflammatory drugs)
NSS	Nasenschlundsonde
OD	Optische Dichte (engl. optical density)
OR	Odds Ratio
PAC	Postanästhetische Kolik
PCR	Polymerase Chain Reaction
PMÜ	Primäre Magenüberladung
RLB	Reverse Line Blot
RU	Rektale Untersuchung
SAA	Serum-Amyloid-A
SEKO	Sekundäre Kolik
SEP	Serumelektrophorese
ssp.	Subspezies
sp.	Spezies
spp.	Spezies (plural)
SvSXP	Strongylus vulgaris spezifisches (SXP-)Antigen
TAE	TRIS-Acetat-EDTA-Puffer zur Trennung von Nukleinsäuren
Th2	T-Helfer-Zelle der Subgruppe 2
TP	Totalprotein
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung

## 1 Einleitung

Koliken sind ein bedeutendes Problem in der Pferdemedizin und stellen die Hauptsorge vieler Pferdebesitzer dar. Schwerwiegende Verläufe können letales Ausmaß erreichen und vor allem im hochklassigen Pferdesport zu immensen wirtschaftlichen Einbußen führen.

Ätiologisch kommen zahlreiche Faktoren in Betracht, unter denen auch der parasitären Belastung des Gastrointestinaltrakts (GIT) eine wichtige Rolle zuerkannt wird. In zahlreichen Studien wurden bereits Assoziationen zwischen der Wurmbürde und dem Auftreten von Koliken untersucht. Jedoch ist die Datenlage für die unterschiedlichen Helminthenarten nicht einheitlich und zum Teil widersprüchlich und nicht jede parasitäre Infektion geht zwingend mit einer klinischen Symptomatik einher.

Viele klinische Symptome legen den Verdacht eines parasitären Befalls nahe, sind jedoch eher unspezifischer Natur und damit nicht zwingend pathognomonisch. So können Krankheitsbilder wie akute, chronische oder rezidivierende Kolik, Gewichtsverlust, Durchfall oder Blutveränderungen kausal mit Organerkrankungen assoziiert sein, die nicht mit einer Wurminfektion vergesellschaftet sind. Folglich sind im Verdachtsfall weitergehende Untersuchungen zum Nachweis einer endoparasitären Infektion unerlässlich. In diesem Zusammenhang sind klassische Kotuntersuchungen seit jeher die Grundlage der parasitologischen Diagnostik, stellen den Pferdepraktiker jedoch in der Interpretation der Befunde vor eine große Herausforderung. Gewisse Wurmartensorten sind mittels herkömmlicher Untersuchungsmethoden nicht immer sicher nachweisbar, unter anderem da die Eiausscheidung über die Fäzes zum Teil sehr unregelmäßig erfolgt und damit die Aussagekraft der Ergebnisse sinkt. Zudem wirken in der Darmmukosa überdauernde Larvenstadien als limitierender Faktor, da diese für die Zeit der Präpatenz diagnostisch nicht oder nur schwer erreichbar sind und damit falsch-negative Ergebnisse bedingen. Erschwerend kommt hinzu, dass das Vorhandensein parasitärer Gebilde im Kot nicht auf die tatsächliche Wurmbürde im Pferd schließen lässt. Eine quantitative Aussage über die im Pferd parasitierenden Würmer ist nach dem derzeitigen Wissensstand über koproskopische Untersuchungstechniken nicht sicher möglich. Auch der Nachweis von Antikörpern sowie parasitären Antigenen mittels serologischer Testverfahren scheint in diesem Zusammenhang nicht für jede Wurmart ein verlässlicher Indikator für den Grad einer Wurminfektion zu sein.

Vor diesem Hintergrund können Prophylaxemaßnahmen einflussreich sein, um den Wurmern Paroli zu bieten und damit parasitär-bedingte Koliken bestmöglich zu umgehen. Dem behandelnden Tierarzt kommt daher bei der Aufklärung der Pferdebesitzer eine wichtige Rolle zu.

Die hier vorgestellte Arbeit hatte zum Ziel, die Vorkommenshäufigkeit der wichtigsten Pferdehelminthen bei Klinikpatienten zu beschreiben und einer möglichen Assoziation zwischen einer parasitären Infektion beim Pferd und dem Auftreten einer Kolik nachzugehen. Dabei sollten möglichst umfassend die gegenwärtig zur Verfügung stehenden diagnostischen Techniken zum Einsatz kommen. Während Daten aus Deutschland bislang nur auf koproskopischen Untersuchungen basieren, stehen nach derzeitigem Wissensstand keine serologischen Prävalenzwerte für *Strongylus vulgaris* für die Bundesrepublik zur Verfügung. Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie wurde daher jedes aufgrund einer akuten Kolik hospitalisierte Pferd koproskopisch sowie serologisch untersucht und die Daten mit denen einer Kontrollgruppe verglichen.

## **2 Literaturübersicht**

### 2.1 Kolik

#### 2.1.1 Definition, anatomische Besonderheiten und Ursachen

Unter einer Kolik [von griechisch *kōliké* (*nósos*) = Darmleiden (Duden 2016)] wird der Zustand viszero-abdomineller Schmerzen verstanden, der mit einem klinischen Symptomenkomplex einhergeht. Die Ursachen sind mannigfaltig und lassen sich in Abhängigkeit des betroffenen Organs allgemein in Koliken extraintestinalen und intestinalen Ursprungs unterteilen, wobei letztere in der vorliegenden Arbeit vorrangig diskutiert werden.

### 2.1.2 Extraintestinale Ursachen

Unter den extraintestinalen Ursachen dominieren jene, bei denen der Kolikgenese eine Nieren-, Harnwegs-, Leber-, Gallengangserkrankung oder pathologische Veränderungen des Reproduktionstraktes zugrunde liegen. MAGDESIAN und SMITH (2009) stellten als häufigste extraintestinale Ursachen mesenteriale Abszesse, ovarielle Tumoren, Abszesse oder Hämatome, Geburt, akute Hepatitiden oder hepatische Lipidosen, Zwerchfellhernien, Harnblasenrupturen bei Fohlen und Torsionen des Uterus dar.

HUSKAMP et al. (2005) nannten zudem Infektions- und Hauterkrankungen sowie Krankheiten des Bewegungsapparates (Lumbago, Hufrehe), die sich in einer Kolik äußern können.

### 2.1.3 Intestinale Ursachen

Koliken, denen pathologische Veränderungen im Magen-Darm-Trakt des Pferdes zugrunde liegen, werden den (gastro-) intestinalen Ursachen zugeordnet.

ABUTARBUSH et al. (2005) erfassten retrospektiv über zehn Jahre die Daten von 604 Kolikfällen in Westkanada und nannten als häufigste Kolikform Anschoppungen im großen Kolon (20,8%), gefolgt von Verlagerungen des großen Kolons (16,5%) und Krampfkoliken (11,7%). Eine ähnliche Verteilung ergab die Studie von GROSCHE (2000), bei der die Obstipation der linken ventralen Kolonlängslage mit 21,4%, eine Dislocatio coli mit 19,8%, Dünndarmstrangulationen mit 12% und spastische Koliken mit 9,4% vertreten waren. Andere Autoren sahen die spastische Kolik dagegen mit 72% als die häufigste Kolikform (PROUDMAN 1992; COHEN und PELOSO 1996), daneben Anschoppungen mit 14,5 bis 39% (PROUDMAN 1992; REEVES 1996; VOIGT et al 2009).

Aufgrund der Schwere der Erkrankung erfordern Verlagerungen des großen Kolons oft eine chirurgische Intervention. Für operativ versorgte Koliker kamen diese Verlagerungen mit einer Häufigkeit von 29% vor und waren dagegen nur in 6% aller konservativ versorgten Fälle zu sehen (VOIGT et al. 2009).

Hinsichtlich der Intensität der Koliksymptomatik konnten zwischen Dünn- und Dickdarmkoliken keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden (REINERT und HUSKAMP 1985).

### *Risikofaktoren*

Als allgemeine Risiken für das Auftreten einer Kolik konnten in verschiedenen Studien folgende Faktoren zusammengefasst werden (PROUDMAN 1992; COHEN et al. 1995, 1997 und 1999; COHEN und PELOSO 1996; REEVES 1996; TINKER et al. 1997; GROSCHE 2000):

- vorangegangene Koliken (COHEN et al. 1995, 1997 und 1999; REEVES 1996)
- (abdominelle) Operationen (PROUDMAN 1992; COHEN et al. 1999)
- Haltungsmanagement, Weidezugang und Weidemanagement (COHEN und PELOSO 1996; REEVES 1996)
- kürzliche Fütterungs-, Aktivitäts- oder Stallwechsel (COHEN und PELOSO 1996; COHEN et al. 1999)
- Transporte (PROUDMAN 1992)
- Alter des Pferdes (COHEN und PELOSO 1996; REEVES 1996; TINKER et al. 1997)
- Geschlecht des Pferdes (COHEN und PELOSO 1996)
- Rasse und Nutzungsart des Pferdes (REEVES et al. 1996; COHEN und PELOSO 1996; TINKER et al. 1997; COHEN et al. 1999)
- kürzliche anthelminthische Behandlung (PROUDMAN 1992; COHEN et al. 1995; CRIBB et al. 2006)
- unregelmäßiges Entwurmen (UHLINGER 1990; COHEN 1999)
- saisonale Einflüsse (PROUDMAN 1992)
- Endoparasitosen (GROSCHE 2000)
- sowie Wetterwechsel (COHEN et al. 1999).

Ein Alterszusammenhang zur Kolik wird von vielen Autoren beobachtet (COHEN und PELOSO 1996; REEVES 1996; TINKER et al. 1997; GROSCHE 2000).

COHEN und PELOSO (1996) stellten diese Altersabhängigkeit für über 8 Jahre alte Pferde fest. Nach TINKER et al. (1997) wiesen Pferde zwischen 2 und 10 Jahren die höchsten Inzidenzwerte auf. GROSCHE (2000) ermittelte ein Durchschnittsalter von 6

Jahren. Außerdem wurde beobachtet, dass das Kolikrisiko mit zunehmendem Alter für Pferde, die Zugang zu Paddocks haben, steigt (REEVES 1996).

Auch die Rasse und Nutzungsart des jeweiligen Pferdes scheinen prädisponierend auf die Genese einer Kolik zu wirken. So hatten Vollblüter, vor allem Araber, ein erhöhtes Kolikrisiko (REEVES et al. 1996; COHEN und PELOSO 1996; TINKER et al. 1997; COHEN et al. 1999; VOIGT et al. 2009) sowie Pferde, die im Vielseitigkeitssport genutzt wurden oder sich in der Ausbildung befanden (TINKER et al. 1997). In der Studie von GROSCHE (2000) waren dagegen überwiegend Warmblüter betroffen, während der Kolik bei ABUTARBUSH et al. (2005) keine Rassedisposition zugrunde lag.

Angaben über das Geschlecht als prädisponierender Faktor sind uneinheitlich. Wallache waren nach COHEN und PELOSO (1996) kolikanfälliger, Stuten dagegen nach GROSCHE (2000). Keinen geschlechtsspezifischen Zusammenhang zur Kolik sah PROUDMAN (1992).

Eine Wechselwirkung zwischen dem Alter des Pferdes und der Kolikform bestand nach PROUDMAN (1992), wobei Tiere mit spastischer Kolik / Kolik unklarer Genese sich überwiegend in einem Alter von 5 bis 10 Jahren befanden. Zudem entwickelten über 15 Jahre alte Pferde post operationem mehr Koliken als Tiere, die in derselben Studie jünger waren.

Parasitologisch untersuchte Kolikpferde wiesen nach GROSCHE (2000) zu 59,6% endoparasitäre Gebilde auf, wobei der Strongylydenanteil 95,5% betrug. In dieser Studie war ein parasitärer Befall signifikant häufiger bei verstorbenen Pferden zu verzeichnen als bei Tieren, die die Kolik überlebten. Einen Zusammenhang zwischen der Kolikform und dem Parasitenbefall gab es dabei jedoch nicht.

### *Anatomischer Hintergrund*

Die besonderen anatomischen Verhältnisse des equinen Gastrointestinaltraktes beschreiben HUSKAMP et al. (2005) und lassen so die erhöhte Kolikanfälligkeit dieser Tierart besser verstehen. Der Magen des Pferdes weist mit 12-15 Litern (Großpferd) ein verhältnismäßig kleines Fassungsvermögen auf und besitzt einen besonders starken Musculus sphincter cardiae, der ein Erbrechen von Ingesta aus dem Magen weitgehend unmöglich macht respektive erschwert. Zudem mündet der Ösophagus in einem spitzen Winkel in den Magen. Diese Faktoren wirken prädisponierend für die

Ausbildung einer erhöhten Druckbelastung im Magen und bergen im Zusammenhang mit einer Magenüberladung die Gefahr einer Ruptur.

Der Dünndarm ist an einem sehr langen und weiten Gekröse aufgehängt, weshalb sich stark tympanische oder ingestagefüllte Dünndarmabschnitte günstig auf die Entstehung eines Volvulus mesenterialis jejuni et ilei auswirken können oder möglicherweise Einklemmungen in präformierte Lücken zur Folge haben.

Engstellen vor oder nach weiten Lumina fördern die Anschoppung schwer verdaulicher Pflanzenteile oder Fremdkörper inklusive Parasiten und wirken als potentieller Risikofaktor für Obstipationen in diesen Bereichen. Während ein Befall mit adulten Spulwürmern bei Fohlen zu Dünndarm-Obstruktionen führte (CRIBB et al. 2006), sind Helminthen wie *Anoplocephala perfoliata* dafür bekannt, sich namentlich im Bereich des ileozäkalen Übergangs anzusiedeln. Ein Massenbefall dieser Bandwürmer provoziert folglich eine Obturationsstenose mit Verlegung des Ostium ileocaecale (PROUDMAN et al. 1998) sowie Schleimhautreizungen und intestinale Innervationsstörungen (PAVONE et al. 2011).

Verlagerungen des großen Kolons lassen sich durch die ungenügende Fixierung dieses Darmabschnittes erklären (HUSKAMP et al. 2005). Aus dieser freien Beweglichkeit innerhalb der Bauchhöhle kann sich ein torsions-, dislokations- oder invaginationsbedingter Ileus entwickeln.

Schließlich sei auf die Entstehung sedierungs- beziehungsweise allgemeinnarkosebedingter sekundärer Koliken (SEKO) hingewiesen. Vor allem die klinische Untersuchung und Behandlung renitenter Schmerzpatienten erfordert nicht selten die Sedierung eines Pferdes.  $\alpha$ 2-Agonisten wie Xylazin oder Detomidin haben neben ihrer sedativen und analgetischen Wirkung auch einen Darmotilität-reduzierenden Effekt (TAYLOR 1999) und bergen somit das Risiko für die unerwünschte Entstehung einer Obstipationskolik. Im Rahmen einer retrospektiven Studie wurden Daten aus dem Patientengut der Veterinärmedizinischen Universität Wien im Zusammenhang mit der Entstehung sekundärer Koliken analysiert. 1,7% der dort hospitalisierten, primär kolikfreien Pferde (n = 7193) entwickelten während ihres stationären Aufenthaltes in der Klinik eine Kolik, darunter 70,9% mit vorausgegangener Allgemeinanästhesie. 51,2% der SEKO-Fälle gründeten auf einer Obstipation. 2,82% aller chirurgisch versorgten Pferde (n = 2556) waren in derselben Studie von der SEKO betroffen, verglichen mit 1,11% aller Patienten der Orthopädie (n = 3698) resp. 0,85% der Internistik (n = 939) (HAMMERL et al. 2010) – dies jedoch ohne Angabe einer statistischen Signifikanz.

### *Kolik und Schmerz*

Der im Zuge des Koliksyndroms auftretende Eingeweideschmerz wird nach MAGDESIAN und SMITH (2009) hauptsächlich durch

- Dehnung der Darmwand
- Zug an der Gekrösewurzel
- Ischämie oder Infarzierung
- tiefe Magen-Darm-Ulzerationen
- und Peritonitis hervorgerufen.

Schmerzrezeptoren sind an der Vermittlung des Kolikschmerzes beteiligt und werden unter physiologischen Bedingungen nicht angesprochen (SANN 2010). Ein abnorm mit Ingesta, Gas, Flüssigkeit oder auch Parasiten gefüllter Darm führt zu einer starken Dehnung der Darmwand und folglich zu einer Sensibilisierung dieser Nozizeptoren. Dieser starke Füllungszustand birgt die Gefahr einer Magen- oder Darmruptur mit sekundär auftretender Peritonitis. Parasitär bedingte Bauchfellentzündungen sind durch den aktiven Durchbruch bestimmter Larvenspezies in die Bauchhöhle möglich (LAPOINTE et al. 2003; DART et al. 1987; WADDELL 1972). Folge eines hochgradig gefüllten Intestinums können auf der anderen Seite auch Darmverlagerungen sein, die Zug auf die Mesenterien ausüben, die lokale Blutzufuhr behindern und zu ischämischen Zuständen des entsprechenden Darmabschnittes führen. Der viszerale Schmerz wird dabei durch das sympathische Nervensystem vermittelt (MAGDESIAN und SMITH 2009).

Ein akuter Gefäßverschluss durch Gefäßthrombosierungen mündet ohne hinreichende Kollateralversorgung in einem Mesenterialinfarkt. Thrombosen des tiefen Venensystems sind beim Pferd zwar selten, können aber beispielsweise in Zusammenhang mit hochgradigen Kardiopathien stehen und so die Verlegung venöser Darmgefäße bedingen (GEHLEN et al. 2001).

Thrombotisch-embolische Darmkoliken lassen sich weiterhin durch die Wanderstadien bestimmter Nematoden hervorrufen, wie es bei der verminösen Endarteriitis der Mesenterialarterie der Fall ist (DRUDGE 1979).

Nicht-infektiöse Ursachen für gastrointestinale Ulzerationen können neben langen Hungerphasen, der Gabe nicht-steroidaler Antiphlogistika (NSAID), Fehlgärungen nach

kräftfutterreicher oder raufaserarmer Ernährung oder Stresssituationen ebenso in einer parasitenbedingten mukosalen Schädigung begründet liegen.

## 2.2 Kolik und gastrointestinale parasitäre Belastung

Zu den bedeutenden im Pferd parasitierenden Helminthen werden Magen-Darm-Strongyliden, Spul- und Bandwürmer, Pfriemenschwänze und Zwergfadenwürmer gezählt (REINEMEYER und NIELSEN 2009). Die Pathogenese und Klinik vieler Wurminfektionen ist in der Literatur gut beschrieben (SCHNIEDER 2006; REINEMEYER und NIELSEN 2009; DEPLAZES et al. 2013; NIELSEN et al. 2014a). Ebenso existieren Studien zur tatsächlichen Rolle der einzelnen Parasiten im gastrointestinalen Krankheitsgeschehen (UHLINGER 1990; PROUDMAN et al. 1998; BARRETT et al. 2005; BOSWINKEL et al. 2007; BACK et al. 2013; NIELSEN et al. 2015a). Anhand von klinischen Befunden erweist es sich als schwierig, der Kolik eine parasitische Ätiologie zu geben (UHLINGER 1990). Vor allem parasitäre Erkrankungen, die mit migrierenden Entwicklungsstadien einhergehen oder bei denen die Larven ihr Reservoir in der Darmmukosa finden, sind diagnostisch schwer erreichbar. Zudem konnte belegt werden, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Koliken und der fäkalen Strongylideneizahl gibt (PROUDMAN et al. 1998). Daneben kann über die quantitative Eizahlbestimmung aber auch keine Aussage über die vorherrschende Würmbürde im Pferd getroffen werden (NIELSEN et al. 2010). Eine sichere Diagnosestellung ist daher nur durch post mortem-Untersuchungen zu erreichen.

Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten abdomineller Schmerzen und einer Endoparasitose kommen vor allem aus experimentellen Studien (UHLINGER 1990; PROUDMAN et al. 1998; BARRETT et al. 2005; BOSWINKEL et al. 2007).

Als möglicherweise kolikverursachende Parasiten werden vor allem die encystierten Larven der kleinen Strongyliden, migrierende Stadien der großen Strongyliden (insbesondere *S. vulgaris*), die Bandwurmspezies *A. perfoliata*, der Pferdespulwurm *P. equorum*, Zwergfadenwürmer (*Strongyloides westeri*) sowie die Larven der Dasselfliege (*Gasterophilus intestinalis*) angesehen (REINEMEYER und NIELSEN 2009).

Unter den nicht-kolikverdächtigen Parasiten befanden sich in einer Studie von REHBEIN et al. (2013) adulte *Trichostrongylus axei* (11%), adulte und larvale *Habronema* spp. (34,5%), *Paranoplocephala mamillana* (1%) sowie Larven von *Gasterophilus nasalis* (0,25%) (REHBEIN et al. 2013).

Besondere Beachtung sollte vor allem den kleinen Strongyliden beigemessen werden, dies neben der gegenwärtig vorherrschenden Resistenzentwicklung (KAPLAN 2002; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007; MOLENTO et al. 2008; LYONS et al. 2011) nicht zuletzt auch aufgrund der Tatsache, dass diese Helminthen nahezu in jedem Betrieb prävalent sind (WIRTHERLE 2003; FRITZEN 2005; HINNEY 2008; SCHNEIDER et al. 2014; HONEDER 2015). Darüber hinaus können diese Cyathostominen pathogenen Charakter annehmen und vor allem bei Jungpferden zu dem klinischen Bild der larvalen Cyathostominose führen (JASKO und ROTH 1984; LYONS et al. 2000). Ein Zusammenhang zwischen diesem simultanen Auswandern mukosaler, kleiner Strongylidenlarven und dem Auftreten einer Kolik ist jedoch relativ selten beschrieben (ANDERS et al. 2008; ERTELT et al. 2012).

### 2.3 Kolik und Anthelminthikagaben

Regelmäßige Entwurmungsprogramme können einen wesentlichen Teil zur Prophylaxe parasitenbedingter Koliken beitragen (UHLINGER 1990). Im Umkehrschluss lassen sich Koliken beim Pferd aber auch nach der Verabreichung anthelminthischer Präparate beobachten (COHEN et al. 1999; BARRETT et al. 2005; CRIBB et al. 2006). Das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) berichtete für die Jahre 2005/2006 über unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW, n < 50) bei Pferden. Dabei gingen Meldungen über Koliken mit tödlichem Ausgang nach Ivermectingabe sowie eine Meldung über Durchfall und Fieber nach Applikation einer Kombination aus Ivermectin und Praziquantel ein (WILKE et al. 2007). Für den Praktiker lässt sich nur schwer eine Aussage darüber treffen, inwieweit auftretende Symptome allein als unerwünschte Arzneimittelwirkung eines Präparates zu sehen sind oder aber in der Folge der Beseitigung hoher Wurmbürden gründen.

In einer Studie von BARRETT et al. (2005) wiesen alle Pferde 8-12 Stunden nach Entwurmung Symptome auf, die sich klinisch in Form von milder Kolik und / oder

Durchfall manifestierten. Diese Studie umfasste jedoch ein relativ kleines Patientengut (n = 14) und beschränkte sich auf die Gabe eines Kombinationspräparates aus Ivermectin und Praziquantel. Da 71% dieser Pferde zudem hohe IgG-Spiegel gegen ein Oberflächenantigen von *A. perfoliata* aufwiesen, wurde die behandlungsbedingte Beseitigung hoher Bandwurmbürden mit dem Auftreten milder Kolik in Zusammenhang gebracht.

Auch CRIBB et al. (2006) konnten in ihrer retrospektiven Studie eine Assoziation zwischen anthelminthischer Behandlung und einer innerhalb von 24 Stunden einsetzenden Kolik beobachten, die mit einer Akkumulation adulter Spulwürmer im Bereich des Dünndarmes der behandelten Fohlen einherging.

## 2.4 Helminthosen

Der Begriff „Helminthen“ umfasst den Stamm der Nematelminthes (Faden- oder Rundwürmer) und der Plathelminthes (Plattwürmer). Eine weitere Unterteilung der Plattwürmer erfolgt in Cestoda (Bandwürmer) und Trematoda (Saugwürmer).

### *Klinik und Labor*

Klinische Symptome, die auf eine parasitäre gastrointestinale Erkrankung hinweisen können, umfassen je nach Parasitenart Durchfälle, Obstipationen, Koliken, Leistungsinsuffizienzen, Husten, Gewichtsverluste bis hin zu kachektischen Körperkonditionen des Pferdes (BLACKWELL 1973; JASKO und ROTH 1984; OWEN et al. 1989; UHLINGER 1990; PROUDMAN und EDWARDS 1993; NETHERWOOD et al. 1996; PROUDMAN et al. 1998; BARRETT et al. 2005; LYONS et al. 2000; ERTELT 2012; BACK et al. 2013; NIELSEN et al. 2015a). Diese Anzeichen sind für den Tierarzt jedoch zu unspezifisch und damit nicht hinreichend, um sicher die Diagnose einer verminösen Erkrankung stellen zu können.

Zielführender gestalten sich weitergehende Laboruntersuchungen, die durch die Verknüpfung klinischer sowie anamnestischer Daten beurteilt werden. Dazu gehören chronische Blutungsanämien, bei denen das rote Blutbild durch eine Verminderung der Erythrozytenzahl, einem verringerten Hämatokrit (Hkt) und / oder Hämoglobingehalt charakterisiert ist. Häufig beschrieben werden Leukozytosen und eine Neutrophilie mit Linksverschiebung, aber auch Leukopenien als Folge eines erhöhten Leukozytenverbrauchs, wie es zum Beispiel bei Körperhöhlenergüssen der Fall ist. Das Vorliegen einer Bluteosinophilie ist möglich, kann aber bei Invasion der

eosinophilen Granulozyten in parasitär befallenes Gewebe auch durchaus fehlen (BLACKWELL 1973; KRAFT et al. 1999). Je nach Parasit und Verlaufsform sind Veränderungen in der Blutchemie zu beobachten.

Elektrophoretisch aufgetrennte Serumproteine können weiteren Aufschluss über die Frage einer Parasitose geben. Hypalbuminämien (BLACKWELL 1973; LOVE 2002), ein erniedrigter Albumin-Globulin-Quotient (A/G-Ratio) und ein Anstieg der  $\beta$ -Globulinfraktion werden in der Literatur als mögliche Auswirkung eines Wurmbefalls artikuliert (LOVE 2002).

In die Bauchhöhle des Pferdes einbrechende Endoparasiten können eine Peritonitis induzieren (LAPOINTE et al. 2003; DART et al. 1987; WADDELL 1972), wobei die Diagnose der Bauchfellentzündung über einen transabdominellen Ultraschall und die Entnahme von Bauchhöhlenpunktat (BHP) gesichert werden kann.

#### 2.4.1 Stamm Nematoda (*Faden- oder Rundwürmer*)

Klasse Chromadorea

Ordnung Rhabditida

Familie Strongylidae (Palisadenwürmer)

##### 2.4.1.1 Magen-Darm-Strongyliden (MDS)

Als bedeutende zur Familie der Strongylidae gehörende Endoparasiten werden die großen und kleinen Strongyliden gezählt. Zur Prävalenzlage der wichtigsten Endoparasiten beim Pferd liegen für die Bundesrepublik Deutschland zahlreiche jüngere Daten aus Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Brandenburg, Ober- und Niederbayern vor (WIRTHERLE 2003; FRITZEN 2005; HINNEY 2008; REHBEIN et al 2013; MENZEL 2014; SCHNEIDER et al. 2014; HONEDER 2015). Laut derzeitigem Wissensstand gibt es jedoch bundesweit keine reinen Fall-Kontroll-Studien über die Häufigkeit einer parasitären Infektion bei Kolikpferden.

Zu den Helminthen mit den bundesweit höchsten Prävalenzwerten zählen die Magen-Darm-Strongyliden (MDS). Auf Tierebene konnten diese Nematoden mit einer Häufigkeit von 39,8% (WIRTHERLE 2003) bis 69,8% (MENZEL 2014) verzeichnet werden. Auf Betriebsebene reichten die Zahlen von 73,5% (MENZEL 2013) bis 98,7% (FRITZEN 2005). In Brandenburg waren 98,4% aller beprobten Betriebe MDS-positiv, wobei es sich nahezu ausschließlich um kleine Strongyliden handelte (HINNEY 2008). Große Strongyliden, hier *Strongylus vulgaris*, konnten in dieser Studie nur für einen Betrieb nachgewiesen werden. Aufgrund des ausgeprägten Migrationsverhaltens larvaler *S. vulgaris* hat dieser Parasit eine wichtige pathogene Rolle. Allgemein liegen jedoch wenige Vergleichsdaten aus Deutschland vor, die die Häufigkeit dieser *Strongylus* sp. beschreiben. In Süddeutschland lag die Einzeltierprävalenz für *S. vulgaris* bei allen selektiv entwurmtten Pferden nach Anzucht der Drittlarven bei rund 1,1% (GREITE 2013). In einer bundesweiten Studie von SCHNEIDER et al. (2014) konnten nach Koprokultivierung in lediglich 0,2% aller positiven Kotproben (Sensitivität 20 EpG) Drittlarven (L3) von *S. vulgaris* nachgewiesen werden.

Bei den Prävalenzdaten muss berücksichtigt werden, dass die koproskopische Erfassung der Helmintheneizahl nicht auf die tatsächliche Gesamtwurmbürde im Tier schließen lässt, da nachweislich kein enger Zusammenhang zwischen der Strongylideneizahl im Pferdekot und der Anzahl an Würmern im Pferdeorganismus besteht (NIELSEN et al. 2010).

Das Überleben infektiöser Strongyliden-Drittlarven in der Umwelt des Pferdes wird unter anderem durch die Anwesenheit der Larvenhülle als Schutz vor Austrocknung sowie durch die zellulären Energiespeicher, von denen die Larven vor allem bei niedrigeren Temperaturen länger zehren können, begünstigt (NIELSEN et al. 2014a). Die Toleranz gegenüber kalten Temperaturen verleiht den infektiösen Drittlarven der Magen-Darm-Strongyliden das Vermögen, den Winter im Freien zu überstehen (DEPLAZES et al. 2013). Dagegen führen heiße und trockene Umweltbedingungen zu einer niedrigeren Überlebensfähigkeit der Larven (NIELSEN et al. 2014a).

Allgemein kann ein Befall mit den Larven der MDS das klinische Bild einer Proteinverlust-Enteropathie nach sich ziehen und sich in einer schlechten Körperkondition des Pferdes, Durchfällen oder wechselhafter Kotkonsistenz, Dehydratation und subkutanen Ödemen äußern (BLACKWELL 1973). Neben migrierenden Strongylidenlarven kommen nach MERRITT et al. (1975) bei jeder

Durchfallerkrankung differentialdiagnostisch auch bakterielle Infektionen wie Salmonellosen oder Corynebacteriosen in Betracht sowie Typhlocolitiden, akute Peritonitiden und chronische Lebererkrankungen.

#### 2.4.1.1.1 Unterfamilie Cyathostominae (= Kleine Strongyliden)

Unter den vielen Gattungen der Cyathostominae wurden bislang 50 Arten bestätigt (LICHTENFELS et al. 2008).

##### *Morphologie*

Adulte Cyathostominae sind mit etwa 0,5-3 cm Länge (DEPLAZES et al. 2013) etwas kleiner als die Arten der Gattung *Strongylus*, jedoch überlappen die Größen zum Beispiel von *S. vulgaris* und einigen kleinen Strongylidenarten. Die Mundkapsel ist deutlich kleiner dimensioniert, die Eier dagegen tendenziell größer als die der großen Strongyliden. Eier der kleinen Strongyliden erreichen meist eine Länge von ca. 100 µm, allerdings gibt es hierzu keine zuverlässigen Untersuchungen.

Hinsichtlich der Hülle und Ösophagusform unterscheiden sich die Erstlarven nicht von denen der großen Strongyliden (vgl. Tabelle 2, Kapitel 2.4.1.1.2), dagegen kann anhand der Mitteldarmzellen der Drittlarven eine Differenzierung der unterschiedlichen Strongylidenarten erfolgen (vgl. Tabelle 1).

*Tabelle 1: Vergleich der Mitteldarmzellen der kleinen und großen Strongyliden [Quelle: DEPLAZES et al. (2013)].*

	<i>Cyathostominae</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>S. equinus</i>	<i>S. edentatus</i>
Anzahl der Mitteldarmzellen	8	32	16	20

*Entwicklungszyklus*

Die Eier der Cyathostominae gelangen mit dem Kot in die Umwelt des Pferdes. Die exogene Entwicklung der Erst- bis Drittlarven entspricht im Wesentlichen der der großen Strongyliden (vgl. Kapitel 2.4.1.1.2). Nach peroraler Aufnahme der L3 durch das Pferd migrieren diese unbescheidet in mukosale und submukosale Dickdarmschichten. Präferiert werden Schleimhautschichten des Zäkums, des ventralen sowie dorsalen Kolons (GAWOR 1995), in denen die Entwicklung zur Viertlarve (L4) erfolgt. Dieser Vorgang wird begleitet von granulomatösen Entzündungen der Dickdarmschleimhaut, wobei die Larvengröße Einfluss auf den Grad der Entzündungsreaktion nimmt (STEINBACH 2003). Eine Körperwanderung bleibt dagegen aus. Ähnlich wie bei den großen Strongyliden findet die Reifung adulter Würmer anschließend luminal im Dickdarm statt. Eier werden frühestens nach einer Präpatenzzeit von 1 ½ bis 3 Monaten über die Fäzes an die Umwelt abgegeben.

*Hypobiose*

Die Schleimhautphase (histotrope Phase) der Cyathostominae wird in der Literatur mit einer Dauer von 1-2 Monaten angegeben. Die Entwicklung der Drittlarven in der Darmmukosa kann aber auch länger stagnieren, wobei eine Persistenz von bis zu 3 Jahren möglich ist. Dieser hypobiotische Zustand der eingekapselten Larven unterliegt einer Saisondynamik und wird ab Juli, vor allem aber im Herbst und bis zum Ende des Winters beobachtet (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2006).

*Epidemiologie*

Unter den MDS sind die kleinen Strongyliden (Cyathostominen) am häufigsten vertreten. In Deutschland liegen die Prävalenzdaten auf Tierebene zwischen 39,8% (WIRTHELERLE 2003) und 69,8% (MENZEL 2014).

TRAVERSA et. al. (2010) untersuchten in einer breit angelegten Studie im Jahr 2008 das Vorkommen kleiner Strongyliden in drei europäischen Ländern, wobei Italien mit 67,4% die höchsten und Deutschland mit 48,3% die niedrigsten Einzeltierprävalenzen aufwiesen. Auf allen Betrieben konnten in dieser Studie Cyathostominen nachgewiesen werden, was die Bedeutsamkeit hinsichtlich des Vorkommens der kleinen Strongyliden unterstreicht. Eine weitergehende Spezies-Differenzierung der in-vitro gezüchteten Larven folgte in dieser Arbeit molekular diagnostisch in einem

Reverse Line Blot-Assay (RLB), wobei die folgenden fünf Spezies der Cyathostominae die häufigste Prävalenz zeigten (TRAVERSA et al. 2010):

- *Cylicocyclus nassatus*
- *Cylicostephanus longibursatus*
- *Cyathostomum catinatum*
- *Cylicocyclus goldi*
- *Cyathostomum pateratum*.

Cyathostominosen stellen in erster Linie Weideinfektionen dar und betreffen grundsätzlich alle Altersgruppen (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2013). CHAPMAN et al. (2003) beobachteten ein vermehrtes Vorkommen adulter Cyathostominen im Herbst. Gleichzeitig unterlagen sich entwickelnde eingekapselte Larven aber keiner Saisondynamik.

#### *Pathogenese und Klinik*

Aufgrund ihres ubiquitären Vorkommens kommt den Cyathostominen nach VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. (2011) besondere Gewichtung hinsichtlich der Beeinträchtigung der Pferdegesundheit zu.

Für gewöhnlich verläuft eine Infektion mit kleinen Strongylidenlarven klinisch inapparent. Selbst bei Wurmbürden von zehntausenden Cyathostominenlarven können klinische Erscheinungen ausbleiben (LOVE et al. 1999).

Bei massenhaftem Befall der Darmschleimhaut und einer hohen Zahl synchron emigrierender Viertlarven kann sich die Infektion dennoch klinisch manifestieren, weshalb die Cyathostominae auch von anderen Autoren als wichtige pathogene Parasiten des Pferdes angesehen werden (LOVE et al. 1999; MATTHEWS et al. 2004; NIELSEN et al. 2013). Je nach Tieralter und Verlaufsform sind unterschiedliche klinische Symptome zu erwarten:

Ein Befall mit kleinen Strongyliden kann das Bild einer Proteinverlust-Enteropathie induzieren (LOVE et al. 1999). Während chronische Formen meist milder verlaufen und mit Durchfall und Gewichtsverlust resp. erschwelter Gewichtszunahme bei Jungtieren einhergehen (BLACKWELL 1973; WOBESER und TATARYN 2009), münden akute Verläufe nicht selten in einer erhöhten Mortalität (ROUMEN et al. 2004; WOBESER und TATARYN 2009).

Inwieweit ein Cyathostominen-Befall mit der Genese von Koliken assoziiert ist, ist nach wie vor nicht vollständig geklärt. Nach ANDERS et al. (2008) stehen weniger die luminalen Adultstadien, sondern vielmehr die mukosalen Drittlarven im Verdacht, am Kolikgeschehen beteiligt zu sein. Dieselben Autoren sehen hierfür die Gründe in dem Schlupf der Larven aus der Darmschleimhaut, zum anderen aber auch in der mukosalen Penetration und Kapselbildung per se (ANDERS et al. 2008).

#### *Larvale Cyathostominose*

Ein Massenbefall persistierender Drittlarven mit anschließendem Auswandern der Viertlarven aus ihren Schleimhautknoten kann mit dem klinischen Bild der larvalen Cyathostominose einhergehen, wobei vor allem Jungtiere betroffen sind (JASKO und ROTH 1984; LYONS et al. 2000). Im Vergleich zur ubiquitär vorkommenden Infektion mit kleinen Strongyliden ist die larvale Cyathostominose jedoch eine äußerst selten vorkommende Erkrankung (NIELSEN 2014f).

Hierbei kommt es zu evasionsbedingten Schleimhautläsionen, die in einer Typhlitis oder Colitis resultieren (LOVE et al. 1999). Mukosale Läsionen können aber auch bereits im Zuge der Invasion und Granulombildung auftreten (LOVE et al. 1999; LYONS et al. 2000; STEINBACH 2003; ANDERS et al. 2008).

Klinisch apparente Verläufe umfassen vor allem akute, später chronische Durchfälle mit wechselnder Kotkonsistenz sowie Abmagerung des Pferdes (JASKO und ROTH 1984) und können in einer erhöhten Mortalität von bis zu 50% münden (DOWDALL et al. 2002). Eine Vergesellschaftung mit Koliksymptomen kann fehlen (SMETS et al. 1999; STEINBACH 2003). Zusätzlich sind Fieber und subkutane Ödembildung beschrieben.

Die Erkrankung der larvalen Cyathostominose wird häufig gegen Ende des Winters (LOVE et al. 1999; SMETS et al. 1999; LYONS et al. 2000; ERTELT et al. 2012) beobachtet, weshalb sich auch der Terminus Winter-Cyathostominose etabliert hat. Abweichungen davon belegten PEREGRINE et al. (2006), in deren Studie die Symptome von September bis Mai, vor allem aber zwischen Oktober und Dezember auftraten. Laborparametrisch werden eine verminderte Konzentration des Plasma-Gesamteiweißes, eine Hypalbuminämie (BLACKWELL 1973; JASKO und ROTH 1984) und ein erhöhter  $\beta$ -Globulingehalt beobachtet (SMETS et al. 1999; ERTELT et al. 2012) sowie erhöhte Serumwerte der alkalischen Phosphatase und des Fruktosamins.

Pathohistologisch geht die mukosale Larvenpenetration mit einer inflammationsbedingten Dickenzunahme der Darmwand einher (BLACKWELL 1973; ERTELT et al. 2012). Das Bild einer granulomatösen Colitis und die Infiltration mit Entzündungszellen, die vor allem auch durch das Vorhandensein von Eosinophilen geprägt ist, beschreiben BLACKWELL (1973) sowie JASKO und ROTH (1984).

Kurz zuvor applizierte Anthelminthika können eine Massenauswanderung hypobiotischer Larven induzieren (LOVE et al. 1999). Genauso sind aber auch hohe Infektionsdosen, Umweltfaktoren sowie der Immunstatus des Pferdes an der Reaktivierung encystierter Larven beteiligt (LOVE et al. 1999). Wirkstoffe mit larvizidem Effekt stehen im Zusammenhang mit entzündlichen Darmveränderungen, die Folge von Abbauvorgängen abgetöteter kleiner Strongylidenlarven sind. Von STEINBACH (2003) kommen histopathologische Hinweise auf eine Fenbendazol-induzierte inflammatorische Abstoßungsreaktion gegen in der Darmmukosa lokalisierte Cyathostominenlarven.

### *Immunologie*

Das klinische Bild der larvalen Cyathostominose zur Winterzeit wird vor allem für Jungpferde beschrieben (LOVE et al. 1999).

Nach KLEI und CHAPMAN (1999) scheinen Pferde mit zunehmendem Alter eine allmähliche, aber inkomplette Immunität gegen kleine Strongyliden aufzubauen. Zusätzlich beschreiben ANDERS et al. (2008), dass es unter wiederholter Exposition zu kleinen Strongyliden zur Ausbildung einer protektiven Immunität kommt. Junge Pferde zeigten unter Feldbedingungen vergleichsweise höhere Strongyliden-Eizahlen als erwachsene Tiere (KLEI und CHAPMAN 1999). Und auch die Egg Reappearance Period (ERP), das heißt die Zeit zwischen erfolgter Anthelminthikagabe und dem Wiederanstieg von Eiern im Kot (DEPLAZES et al. 2013), war bei diesen Jungtieren verkürzt.

Die zur Ausbildung einer kompletten Immunität beitragenden Angriffspunkte und Mechanismen werden durch KLEI und CHAPMAN (1999) wie folgt beschrieben:

- schnelle Austreibung invadierender Drittlarven
- Induzierung der Hypobiose der Drittlarven mit folglichem Anstieg früher Larvenstadien (early third stage larvae, EL3)
- Beseitigung mukosaler Larvenstadien

- aktiver Ausstoß der L4 und adulten Würmer.

Untersuchungen von CHAPMAN et al. (2003) zufolge sind immunologische Reaktionen bei Fohlen vor allem gegen die EL3 der kleinen Strongyliden gerichtet. Die Autoren dieser Studie beschrieben für Jährlinge ein geringeres Vorkommen der EL3, während diese bei älteren Pferden (2 bis 5 Jahre) vermehrt vorkamen. Stattdessen zeigten sich entwickelnde Viertlarven (developing fourth stage larvae, DL4) in höherer Zahl.

In einer Studie von DOWDALL et al. (2002) wurden verschiedene Larvenstadien aus der Mukosa von Zäkum und Kolon isoliert und Antigene der frühen Drittlarven (EL3), späten Drittlarven (late third stage larvae, LL3) und DL4 gewonnen. Ein signifikanter Anstieg spezifischer Serumantikörper gegen die mukosalen Drittlarven der Cyathostominae zeigte sich hierbei 5 Wochen post infectionem.

### *Diagnose*

Der Wurmeinachweis im Kot per Flotationsverfahren gibt lediglich einen Hinweis auf das Vorhandensein von MDS-Eiern. Eine Identifizierung großer resp. kleiner Strongyliden ist auf diesem Weg nicht möglich und kann nur über eine Speziesdifferenzierung der Larven nach LICHTENFELS et al. (2008) erreicht werden. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Eiausscheidung einer Saisondynamik unterliegt und nach VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. (2011) vermehrt und kontinuierlich im Frühjahr und während der Weidezeit erfolgt, dagegen Eier im Winter nur diskontinuierlich von den adulten Cyathostominen abgegeben werden. Die Höhe der MDS-Eiausscheidung wird zudem wesentlich durch das Alter der Pferde beeinflusst, wobei Jungpferde signifikant höhere Zahlen aufweisen als adulte Tiere (KLEI und CHAPMAN 1999; WIRTHERLE 2003; CHAPMAN et al. 2003; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2009). Eine rasse- bzw. geschlechtsabhängige Eiausscheidung konnte WIRTHERLE (2003) in ihrer Studie nicht bestätigen.

Serologische Tests sind bislang nicht etabliert. Eine große Herausforderung ergibt sich für die Diagnostik präpatenter Infektionen und vor allem für die Detektion encystierter Larven, da diese eingekapselten Stadien derzeit nicht erfassbar sind. Jedoch konnten in diesem Zusammenhang zwei antigenische Proteine, Cy-GALA (cyathostomin gut associated larval antigen) und Cy-CID (cyathostomin immunodiagnostic antigen), identifiziert werden, die großes Potential für den Nachweis encystierter Larven bieten

(MCWILLIAM et al. 2010; STRATFORD et al. 2011). Desweiteren beobachteten DOWDALL et al. (2002 und 2004), dass Antigenkomplexe mit einer Größe von 25 kDa positiv mit dem Grad der encystierten Larven und Antigenkomplexe mit einer Größe von 20 kDa positiv mit dem Grad der Wurmbürde im Darmlumen korrelierten. Die Antigen-spezifischen Antikörper des Isotyps IgG(T) waren in dieser Studie bei infizierten Ponys innerhalb der Präpatenzzeit signifikant höher als bei uninfizierten Tieren und stellen damit potentielle Marker einer präpatenten larvalen Cyathostominose dar.

TRAVERSA et al. (2007) haben einen Test etabliert, der sich auf das Prinzip der Reversen Hybridisierung (Reverse Line Blot) stützt und eine Spezies-spezifische Differenzierung der kleinen Strongyliden erlaubt. Der Reverse Line Blot (RLB) basiert darauf, den zu analysierenden, biotinylierten DNA-Abschnitt mit spezifischen Oligonukleotidsequenzen, sogenannten Gensonden, zu koppeln und die amplifizierten, mit dem biotinylierten Ende versehenen PCR-Produkte sichtbar zu machen. Bei den Gensonden handelt es sich um Sequenzen, die komplementär zu der gesuchten DNA-Sequenz des amplifizierten Templates sind. Bei entsprechenden Hybridisationsbedingungen und nach mehreren Waschschrinen bleibt diese Bindung (Hybridisierung) nur dann bestehen, wenn die Basenpaare der Sonde exakt komplementär zu dem gesuchten Genabschnitt des Amplikons passen. Markerstoffe wie Peroxidase-markiertes Streptavidin (TRAVERSA et al. 2007) dienen der Visualisierung der Hybride beziehungsweise Gensonden. Die gleichzeitige Identifizierung von insgesamt 13 der vielen beim Pferd parasitierenden Cyathostomina-Spezies ist mit diesem Assay möglich. In einer weitergehenden Studie zum Vorkommen dieser Spezies in Italien, Großbritannien und Deutschland zeigte sich, dass alle der durch diesen RLB-Test erfassbaren Spezies in den 3 Ländern vorkamen (TRAVERSA et al. 2010). Kurze Zeit später wurde dieser Test durch CWIKLINSKI et al. (2012) weiterentwickelt und erlaubt nunmehr die Bestimmung von insgesamt 21 Cyathostomina-Spezies.

## 2.4.1.1.2 Unterfamilie Strongylinae

Gattung *Strongylus* (= Große Strongyliden) mit 4 Arten (= Spezies):

- *Strongylus vulgaris*
- *Strongylus edentatus*
- *Strongylus equinus*
- *Strongylus asini*

*Morphologie*

Adulte Stadien großer Strongylidenarten sind etwa 1-5 cm lang und fallen durch ihre im Vergleich zu den Vertretern der kleinen Strongyliden verhältnismäßig große Mundkapsel auf. Während *S. edentatus* in dieser Mundkapsel keine zahnartigen Fortsätze aufweist, präsentieren sich *S. equinus* und *S. vulgaris* mit 4 respektive 2 „Zähnen“.

Die Eier der großen Strongyliden ähneln in Form, Größe und Inhalt denen der kleinen Strongyliden, wenngleich die Größe sehr variabel ist (70-140 x 40-65 µm). Je nach Entwicklungsstand enthalten sie unterschiedlich viele Furchungskugeln oder eine sich entwickelnde Larve.

Die Erstlarven der großen Strongyliden sind unbescheidet. Ihr Pharynx weist am Übergang zum Mitteldarm eine Anschwellung, den sogenannten Bulbus auf. Dieser rhabditforme Ösophagus unterscheidet die L1 von den L3, deren Ösophagus filariform ist (vgl. Tabelle 2). Zudem besitzen die L3 eine Hülle und stellen damit das für das Pferd infektiöse Stadium dar. Wichtiges Kriterium zur Differenzierung der unterschiedlichen Strongylidenarten ist die Anzahl der Mitteldarmzellen (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 2: Charakteristika der Erst- und Drittlarven großer und kleiner Strongyliden [Quelle: SCHMÄSCHKE (2014)].

	L1	L3
Hülle	unbescheidet	bescheidet
Ösophagus	rhabditform	filariform
Mitteldarmzellen	-	variabel

*Entwicklungszyklus*

In den mit dem Kot ausgeschiedenen Eiern entwickelt sich die Erstlarve, die anschließend schlüpft und sich zweifach häutet. Die letzte Häutung geht ohne Verlust des Integuments vonstatten. Die L3 bleibt somit bescheidet und stellt das infektiöse Stadium dar. Durch die gute Motilität der Drittlarven ist ein Auswandern auf umliegende Pflanzen möglich (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2006), von wo aus die perorale Aufnahme durch das Pferd erfolgt. Die exogene Entwicklung bis zur infektiösen Drittlarve beträgt unter optimalen klimatischen Verhältnissen 1 bis 2 Wochen (DUNCAN 1974).

Die sich anschließenden Migrationswege im Organismus des Pferdes differieren je nach vorliegender *Strongylus*-Spezies.

*Strongylus vulgaris*

Die Drittlarven dieses Pferdepalisadenwurms migrieren unbescheidet in submukosale Schichten des Zäkums und verursachen dort eine mit Granulombildung einhergehende zelluläre Reaktion. In diesen Granulomen folgt die Weiterentwicklung zu L4, die nach DUNCAN und DARGIE (1975) nach einer Woche post infectionem Anschluss an die Blutbahn finden und subendothelial gegen den Blutstrom zur kranialen Gekrösearterie wandern. Intimal reifen die L4 ab dem 90. Tag post infectionem zu immaturren L5 heran, die ihrerseits mit dem arteriellen Blutstrom wieder zurück zum Dickdarm gelangen und nach Penetration der Darmwand im Darmlumen die finale Entwicklung zu Adulten vollziehen. Die luminale Reifung zu geschlechtsreifen Würmern geben DUNCAN und DARGIE (1975) mit einer weiteren Dauer von 6-8 Wochen an.

Abweichende Migrationswege sind beschrieben, aber selten und können je nach eingeschlagenem Weg zu Infestationen in Niere, Herz und ZNS führen (DUNCAN 1974).

*Strongylus equinus*

Die Migration der *S. equinus*-Drittlarven in submukosale Schichten mit Granulombildung und Häutung zur L4 verläuft vorwiegend im ventralen und dorsalen Kolon, aber auch ileale Darmabschnitte sind betroffen. Nach Einbruch in die Peritonealhöhle erfolgt eine histotrope Wanderphase im Leberparenchym, unter der Leberkapsel und im Pankreas. Über Letzteres migrieren die L5 in den Dickdarm zurück

und entwickeln sich dort luminal zum murenen Wurmstadium. Im Vergleich zu *S. vulgaris* migriert *S. equinus* nicht im arteriellen Blutgefäßsystem.

### *Strongylus edentatus*

Drittlarven von *S. edentatus* migrieren vom Dickdarm über das Pfortadersystem in die Leber. Parenchymal erfolgt die Häutung zur Viertlarve, die ihrerseits über anliegende Leberbänder subperitoneale Bereiche infiltriert und sich dort zum nächsten Stadium weiterentwickelt. Über mesenteriale Strukturen erreichen die präadulten Übergangsstadien wieder das Zäkum und Kolon und reifen final zu geschlechtsreifen Würmern heran. Auch bei dieser *Strongylus* sp. bleibt eine arterielle Wanderphase aus.

Die Präpatenz wird für *S. vulgaris* mit einer Zeit von 6 Monaten angegeben (DUNCAN und DARGIE 1975), kann aber auch eine Dauer von bis zu 9 Monaten erreichen (DEPLAZES et al. 2013). Für *S. equinus* und *S. edentatus* beträgt diese dagegen 8 ½ bis 9 respektive 10 ½ bis 11 Monate.

### *Epidemiologie*

Ein gehäuftes Vorkommen adulter *S. vulgaris* und *S. edentatus* im Pferdeorganismus zeichnete sich im Sommer und Herbst in einer Studie von CHAPMAN et al. (2003) ab, während larvale Spätstadien von *S. vulgaris* vermehrt im Winter und Frühling aus dem mesenterialen Gefäßsystem der Pferde isoliert werden konnten. Grundsätzlich betreffen Infektionen mit *S. vulgaris* alle Altersgruppen. Hauptinfektionsquellen für Fohlen sind Parasiten-belastete Weideflächen, zu deren Kontamination folgende Faktoren beitragen (DUNCAN 1974):

- überwinterte Larven
- Muttertiere und andere Pferde
- unregelmäßiges Entwurmungsregime.

Mutterstuten zeigen im Frühling und Sommer einen Anstieg an fäkal ausgeschiedenen *S. vulgaris*-Eiern, sodass in diesen Jahreszeiten folglich auch die Kontamination der Weiden mit Drittlarven (DUNCAN 1974) steigt.

Seit mehreren Jahrzehnten werden zur Bekämpfung der großen Strongyliden regelmäßige und mehrmals jährlich durchgeführte Entwurmungen empfohlen (DRUDGE und LYONS 1966). Diese sowie die gute Wirksamkeit der makrozyklischen Laktone, auch gegen sich entwickelnde Stadien der großen Strongyliden, führten zu einem imposanten Rückgang des Vorkommens von *S. vulgaris* (REINEMEYER et al. 1984; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007). Vor Einsatz der ML wurden für *S. vulgaris* immerhin Prävalenzwerte von 64,4% bis nahezu 100% beschrieben (SLOCOMBE und CRAW 1973; OGBOURNE 1975; KESTER 1975; ENGLISH 1979).

Zur Prävalenz von *S. vulgaris* in Deutschland existieren derzeit nur wenige Daten, aber diese weisen auf eine sehr niedrige Prävalenz hin (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007; HINNEY 2008; GREITE 2013; SCHEUERLE et al. 2013; SCHNEIDER et al. 2014; KASPAR et al. 2017). Für die Jahre 2003 und 2004 wiesen 2% der Betriebe (n = 63) nach Ansetzen einer Larvenkultur L3 von *S. vulgaris* auf (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007). In einer anderen Studie konnten für die Jahre 2011 und 2012 in 0,3% aller untersuchten Pferde (n = 1997) Larven von *S. vulgaris* identifiziert werden (SCHEUERLE et al. 2013). Die Senkung der Prävalenz in Deutschland kann insbesondere durch die gute larvizide Wirksamkeit der makrozyklischen Laktone während der auffallend langen Präpatenzzeit erklärt werden (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. (2011).

#### *Pathogenese und Klinik*

Das klinische Bild der Strongylose richtet sich nach der jeweiligen Krankheitsdauer und reicht von Inappetenz, Gewichtsverlust, akuter oder rezidivierender Kolik über Fieber bis zu Durchfall. Schwerwiegende Verläufe mit letalem Ausgang treten insbesondere bei hohen Infektionsdosen auf (DUNCAN 1974). Blutchemische Veränderungen werden in der Literatur mit Erhöhungen des Serum-Laktats, der Alkalischen Phosphatase, der  $\gamma$ -Glutamat-Transpeptidase und des Serum-Fruktosaminwertes angegeben (DEPLAZES et al. 2013).

Mukosale Dickdarmschädigungen, die durch die luminal parasitierenden adulten *Strongylus* spp. verursacht werden, können mit Darmmotilitätsstörungen (DUNCAN 1974; WRIGHT 1972) einhergehen oder auch intestinale Blutungen auslösen. Letztere

ziehen Veränderungen der Serumproteinwerte nach sich, wobei eine Hypalbuminämie als Folge eines Blutplasmaverlustes zu sehen ist.

Demgegenüber kommt den Junvenilstadien infolge ihres ausgeprägten Migrationsverhaltens eine besondere pathogenetische Gewichtung zu. Unter den großen Strongyliden hat *S. vulgaris* besonders großes Potential, parasitär induzierte Schäden zu erwirken (WRIGHT 1972; NIELSEN et al. 2015a). Die subendotheliale Wanderphase der larvalen *S. vulgaris* birgt die Gefahr von Endothelschädigungen mit Entstehung einer Thrombarteriitis im mesenterialen Gefäßsystem sowie von Wurmaneurysmen (KÖNIG und GERHARDS 2010). Je nach Umfang des entstehenden Thrombus kann daraus eine vollständige Verlegung des Gefäßlumens mit einer Infarzierung des entsprechenden Darmabschnitts resultieren. Auch in kleinste distal gelegene Gefäßäste abgeschwemmtes Thrombusmaterial begünstigt die Entstehung einer thrombotisch-embolischen Kolik durch Dünn- oder Dickdarminfarkte, wobei der dabei auftretende Schmerz mit der Infarzierung und Ischämie per se begründet wird (WRIGHT 1972). Prädilektionsstellen für den thrombotischen Verschluss darmversorgender Gefäße scheinen die Zäkumspitze, *Apex caeci*, und die linke Kolonschleife zu sein (KÖNIG und GERHARDS 2010).

In die *A. femoralis* abgeschwemmte Emboli führen beim Pferd zu dem klinischen Bild des intermittierenden Hinkens (*Claudicatio intermittens*).

Larveninduzierte Gefäßalterationen betreffen vor allem die *A. mesenterica cranialis* (DUNCAN 1974; DRUDGE 1979) und die *A. ileocolica*. Makroskopisch sind Endothelschädigungen in Form von „roten Straßen“ sowie inflammationsbedingte Gefäßwandverdickungen sichtbar.

Den Zusammenhang zwischen der Gefäßwanddicke und den larval verursachten arteriellen Läsionen belegten auch post mortem-Untersuchungen an sardischen Pferden. Besonders die Intima und Adventitia der *A. ileocolica* waren in dieser Studie von signifikanten Gefäßwandverdickungen geprägt. Darüber hinaus zeigten Pferde mit arteriell nachgewiesenen *S. vulgaris*-Larven veränderte Serumproteinwerte in Form einer Erhöhung der  $\alpha$ 2-,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Globuline und einen niedrigen A/G-Quotienten (PILO et al. 2012).

Im Rahmen einer akuten *S. vulgaris*-Infektion kann es in der Peritonealhöhle sekundär zu Verklebungen zwischen den einzelnen Darmwänden kommen, die potentielle Kolikauslöser sein können (DRUDGE 1979).

Bei experimentell mit *S. vulgaris* infizierten Pferden umfassten die klinischen Symptome fieberhafte und anorektische Zustände, intermittierende Kolik sowie hämatologische Veränderungen wie die einer Leukozytose, Eosinophilie, eines erhöhten Serum-Gesamteiweißes und einer Hyper- $\beta$ -Globulinämie (DUNCAN und DARGIE 1975). Akute Verläufe mit einer hohen Mortalitätsrate beschrieb DRUDGE (1979) vor allem für Saugfohlen und Absetzer.

Eine aktuelle Studie aus Dänemark liefert Hinweise auf die Assoziation zwischen *S. vulgaris* und der Kolikform. Vier verschiedene Kolikkategorien wurden in dieser Fall-Kontroll-Studie wie folgt definiert (NIELSEN et al. 2015a):

- Kolik sensu lato
- Kolik mit weiteren Untergruppen, z.B. Kolik unklarer Genese
- Kolik mit strangulierender Obstruktion
- Kolik mit nicht-strangulierender Infarzierung.

Danach war ein deutlicher Zusammenhang zwischen einer nicht-strangulierenden intestinalen Infarzierung und den Spezies-spezifischen Antikörpern gegen die Larven von *S. vulgaris* zu erkennen (NIELSEN et al. 2015a).

Für *S. equinus* sind pathologische Schäden im Zuge der Wanderphase vor allem in der Leber, im Pankreas und in der Peritonealhöhle zu finden. Das Leberparenchym weist Bindegewebsalterationen auf, die reparierte Gewebsdefekte darstellen und sich makroskopisch als auch palpatorisch in Form von hellen Flecken resp. narbigen Strängen präsentieren. Fibrotische Vorgänge schlagen sich auch auf das Pankreas nieder, die zum Teil mit erheblicher Organomegalie einhergehen. Granulomatöse Entzündungsherde sind potentiell in allen larveninfizierten Organen sowie (retro-) peritoneal zu finden.

Die Migration juveniler *S. edentatus* beschränkt sich vor allem auf die Leber und Peritonealhöhle. Larveninduzierte Organveränderungen entsprechen im Wesentlichen denen von *S. equinus* und beinhalten Fibrosen, Organomegalie, granulomatöse Entzündungsherde sowie Organverklebungen.

### *Immunologie*

Wie auch bei den Cyathostominen kommt es bei Kontakt mit den großen Strongyloiden zu immunologischen Reaktionen, deren protektives Ausmaß hoch ist (MONAHAN et al.

1994). Die Stimulation der Immunantwort ist dabei weniger gegen die Antigene der adulten Würmer gerichtet, sondern vorwiegend gegen migrierende Larvenstadien (ANDERSEN et al. 2013b). Eine zweimalige Vakzinierung mit röntgen-attenuierten Drittlarven von *S. vulgaris* führte in der Studie von MONAHAN et al. (1994) quantitativ zu einer signifikanten Reduzierung larvaler Stadien im Bereich der *A. mesenterica cranialis* im Vergleich zur nicht immunisierten Kontrollgruppe und so zu einer protektiven Immunität von rund 90%.

Der maternale Transfer von *S. vulgaris*-spezifischen Antikörpern findet bereits in den ersten Lebenswochen der Fohlen statt (NIELSEN et al. 2014c). Die Autoren dieser Studie erhielten zusätzlich Hinweise auf einen dynamischen Verlauf der Serokonversion, der von dem Geburtszeitpunkt der Fohlen abhing. Je später die Pferde im Frühjahr geboren wurden, desto später kam es bei diesen Fohlen zu einer Serokonversion. Im ELISA-Test waren die Anti-SvSXP-IgG(T) frühestens ab einem Lebensalter von 3 Monaten im Serum natürlich infizierter und gemeinsam auf einer Weide grasender Fohlen nachweisbar, spätestens aber ab einem Alter von 5 Monaten (NIELSEN et al. 2014c). Zunächst herrschte Unklarheit, ob die Antikörper auf die von späten migrierenden Larvenstadien sezernierten Antigene abzielten. Im Verlauf weiterer Studien konnten dieselben Autoren diese Frage jedoch verneinen und zeigten, dass das SvSXP-Antigen während der gesamten arteriellen Wanderphase produziert wird (NIELSEN et al. 2014d und 2015b).

### *Diagnose*

Die alleinige Anwesenheit mikroskopisch identifizierter MDS-Eier erlaubt keine spezifische Differenzierung in große und kleine Strongyliden. Zum anderen ergeben sich Probleme der Diagnostik aber auch aus der sehr langen Präpatenz von *S. vulgaris*. Patente Infektionen können theoretisch über die koproskopische Eizählung mit anschließender Gattungsdiagnose der in-vitro gezüchteten Drittlarven nachgewiesen werden, jedoch wird diese Bestimmungsmethode in der Praxis gegenwärtig kaum angewandt. Der Befall mit den Larven des Palisadenwurms ist allerdings insofern von klinischer Relevanz, als dass diese Juvenilstadien ein ausgeprägtes Migrationsverhalten zeigen und damit in dieser Phase schwer detektierbar sind. Präpatente Infektionen und migrierende Entwicklungsstadien sind diagnostisch daher kaum zu erfassen. Dies beweist auch die Studie von PILO et al.

(2012), in der 46 geschlachtete Pferde auf Sardinien hinsichtlich des Vorkommens dieses Parasiten untersucht wurden. 39% der Pferde beherbergten in ihrer *A. mesenterialis cranialis* oder deren benachbarten Abgängen L3 von *S. vulgaris*. Nach Anlegen einer Koprokultur und anschließender Identifizierung der Drittlarven unter dem Mikroskop zeichnete sich jedoch lediglich eine Nachweisrate von 4% ab (PILO et al. 2012).

Eine Real-time PCR-Methode für den qualitativen als auch semi-quantitativen Nachweis von *S. vulgaris*-DNA wurde von NIELSEN et al. (2008) entwickelt und validiert. Die Extraktion der DNA erfolgte hierbei aus den im Pferdekot vorhandenen Eiern. Sowohl die Real-time PCR als auch die klassische Anzucht von Larvenkulturen eignen sich damit für die Detektion von *S. vulgaris*-DNA (NIELSEN et al. 2012b; KASPAR et al. 2017), jedoch gewährleistet die Real-time PCR einer aktuellen Studie zufolge eine signifikant höhere Nachweisrate (KASPAR et al. 2017).

ANDERSEN et al. identifizierten kürzlich ein *S. vulgaris* spezifisches Protein (rSvSXP), welches sie rekombinant exprimierten und das Ziel für zirkulierende IgG(T) im Serum *S. vulgaris*-infizierter Pferde war. Dieses Protein bietet damit Potential für die Entwicklung eines serodiagnostischen Tests, der künftig präpatente Infektionen mit migrierenden *S. vulgaris* Larven diagnostizierbar machen könnte (ANDERSEN et al. 2013a).

#### 2.4.1.2 Klasse Chromadorea

Ordnung Spirurida (Spulwürmer)

Familie Ascarididae

Gattung *Parascaris*

Arten *Parascaris equorum* / *Parascaris univalens* (Pferdespulwürmer)

#### *Morphologie*

Die Weibchen von *Parascaris equorum* und *Parascaris univalens* sind 18-50 cm lang (DEPLAZES et al. 2013; KÖHLER 2016). Die 90-100 µm großen Pferdespulwurmeier sind kugelig bis eiförmig mit ungefurchtem Inhalt und besitzen eine dicke, klebrige

Schale von brauner bis braungelblicher Farbe. Das Fehlen der Proteinhülle führt bei Betrachtung unter dem Mikroskop zu dem Erscheinungsbild deutlich glatterer, heller Eier (DEPLAZES et al. 2013; SCHMÄSCHKE 2014).

### *Entwicklungszyklus*

Die Pferdespulwürmer befallen als homoxener Parasit nur Wirte derselben Art. Ihre fertilen Weibchen legen ihre Eier im Dünndarm des Pferdes, die anschließend mit dem Kot an die Umwelt abgegeben werden. Hier können *Parascaris*-Eier jahrelang überdauern. Die Entwicklung der L1 bis L3 erfolgt exogen im Ei, wobei das Stadium der Drittlarve unter optimalen Temperaturverhältnissen nach 2 Wochen erreicht ist. Niedrige Temperaturen haben eine verzögerte Entwicklungsdauer von mehreren Monaten zur Folge. Das infektiöse Stadium stellt die Drittlarve von *Parascaris* dar, die nach oral-alimentärer Aufnahme im Magen und Dünndarm des Pferdes aus ihrem Ei schlüpft. Über das Mesenterialvenensystem finden die L3 Anschluss an die Blutbahn und migrieren in Leber und Lunge. Nach etwa 48 Stunden post infectionem sind die Larven von *P. equorum* in der Leber angelangt (CLAYTON und DUNCAN 1979a) und nach 1 bis 2 Wochen in der Lunge zu erwarten (CLAYTON und DUNCAN 1979a; NICHOLLS et al. 1978). Über die Alveolen bohren sich die L3 in das Lumen des luftführenden Teils der Lunge und landen nach dem Hochhusten schließlich wieder im Dünndarm. Hier folgt die Häutung zur L4 und die finale Entwicklung zum adulten Pferdespulwurm. Eier werden nach einer Präpatenzzeit von circa 10-16 Wochen (DEPLAZES et al. 2013) über die Fäzes an die Umwelt abgegeben, wobei März- und Aprilfohlen eine statistisch signifikant längere Präpatenz zeigen als später im Jahr (Mai, Juni) geborene Fohlen KÖHLER (2016).

### *Epidemiologie*

Die Parascariose der Equiden ist eine Weide- oder Stallinfektion, die weltweit vorkommt und vorwiegend Saugfohlen sowie Absetzer betrifft (DRUDGE und LYONS 1966; KÖHLER 2016).

Aus einer kürzlich erschienenen Publikation von NIELSEN et al. (2014e) geht hervor, dass gegenwärtig vermutlich nicht *P. equorum*, sondern vielmehr *P. univalens* als dominante Pferdespulwurmart angesehen werden muss. Aufgrund der genetisch engen Verwandtschaft sowie identischen Morphologie und Biologie dieser zwei Spezies wurde *P. univalens* damit über Jahre hinweg fälschlicherweise als *P. equorum*

identifiziert (JABBAR et al. 2014).

Die überwiegende Mehrheit der Fohlen war hinsichtlich einer *Parascaris*-Infektion erstmals in der 15. Lebenswoche koproskopisch positiv (KÖHLER 2016). Die höchsten Eizahlen zeigten Fohlen im Alter von 4 Monaten (FABIANI et al. 2016). KÖHLER (2016) fand die höchsten EpG-Werte bei Fohlen, die sich im Alter von 22 Wochen befanden. Rund 85% aller *P. equorum*-infizierten Pferde waren in einer saudi-arabischen Studie unter 2 Jahre alt (AL ANAZI und ALYOUSIF 2011).

Die Aufnahme infektiöser L3 durch das Fohlen kann durch intensives Erkundungs- sowie Koprophagieverhalten bereits ab dem ersten Tag post natum erfolgen. Das Vorkommen von Askariden schwankt in der Bundesrepublik für das Einzelpferd zwischen 0,2% (MENZEL 2014) und 95,6% (KÖHLER 2016) und zwischen 0,8% (MENZEL 2014) und 28,6% (HONEDER 2015) auf Betriebsebene.

REHBEIN et al. (2013) studierten über einen Zeitraum von 17 Monaten das Vorkommen gastrointestinaler Pferdeparasiten an 400 Schlachtpferden in Deutschland, wobei die Befunde post mortem anhand der fäkalen Eizahl (Nachweisgrenze: 10 EpG) und / oder des direkten Nachweises von Parasiten aus dem Magen-Darmtrakt erhoben wurden. Adulte und larvale (L4) *P. equorum* (n = 400) konnten hier in 11,3% der Pferde direkt nachgewiesen werden. Eine Infektion mit *P. equorum* scheint dabei keiner Saisondynamik zu unterliegen (REHBEIN et al. 2013; FABIANI et al. 2016).

Variable Einzeltierprävalenzen für *P. equorum* kommen aus anderen Teilen der Welt, zum Beispiel 5% in Australien (BUCKNELL 1995), 20% in Brasilien (TEIXEIRA 2014), 22,4% in einer weiteren amerikanischen Studie (LYONS und TOLLIVER 2004) und 28,8% in Saudi-Arabien (AL ANAZI und ALYOUSIF 2011).

### *Pathogenese und Klinik*

Pathogenetisch bedeutsam sind die Leber-, Lungen- und Darmphase in der Entwicklung von *P. equorum*. Die Aufenthaltsdauer in der Leber beträgt etwa 1 Woche. Diese Phase bleibt klinisch zumeist asymptomatisch, kann aber durch parenchymale Wanderung der Larven Gewebsschäden und hämorrhagische Leberveränderungen (CLAYTON und DUNCAN 1979a) mit einhergehender Hepatomegalie hervorrufen. Durch die Infiltration von Entzündungszellen im Bereich dieser Läsionen zeigen sich makroskopisch grau-weißliche Flecken im Leberparenchym.

Während der Lungenphase kann der Durchbruch der L3 in die Alveolen hämorrhagische Veränderungen, fokale Ödeme und eine eosinophile Zellinfiltration des Lungengewebes verursachen (NICHOLLS 1978; DEPLAZES et al. 2013). Nekrotische Herde in der Lunge sowie die klinische Manifestation einer interstitiellen Pneumonie sind weitere Folgen der Larvenmigration (SRIHAKIM und SWERCZEK 1978). Subpleurale Granulome von 0,3 bis 1 cm Größe (NICHOLLS 1978) sind beschrieben und frühestens 3 Wochen nach Erstinfektion zu erwarten. Die vermehrte bronchiale Schleimproduktion wird als sofortige Antwort auf den Larvenbefall beobachtet, während das Bild einer transienten eosinophilen Bronchitis erst verzögert auftritt und ab dem 23. Tag post infectionem von einer lymphozytären Entzündungsreaktion dominiert wird (NICHOLLS 1978). Betroffene Pferde können unter Dyspnoe, Husten, Nasenausfluss, Fieber und Inappetenz leiden. Eine Verschlechterung des Nasenausflusses korrelierte statistisch signifikant mit elf Wochen später erstmals nachgewiesenen *Parascaris*-Eiern im Kot dieser respiratorisch erkrankten Fohlen (KÖHLER 2016). Eine verschärfte bronchiale Atmung und Nasenausfluss mukopurulenten Charakters zeigte ein hochgradig mit *P. equorum* befallenes Fohlen (LEINEMANN und RÖCKEN 1996). Infolge entzündlicher Darmläsionen kommt es während der intestinalen Phase zu klinischen Symptomen, die sich in Kolik, Durchfall, Abmagerung und schlechtem Haarkleid äußern (DEPLAZES et al. 2013). Inflammationsbedingte Zottenatrophien im Bereich des Dünndarms lassen Fohlen schlecht an Gewicht zunehmen. Zudem wird dieses Kümern durch Inappetenz verstärkt. Sind Gallengänge betroffen, zeigen sich klinisch ikterisch-veränderte Schleimhäute. Ein massiver Befall mit den adulten Pferdespulwürmern kann das Abdomen wie aufgebläht wirken lassen (sogenannter „Askaridenbauch“) und vor allem auch aufgrund der beachtlichen Größe der weiblichen *P. equorum* in einer Anschoppungskolik resultieren (RYU 2004). Akute intestinale Obstruktionen zeigten sich in einer retrospektiven Studie von CRIBB et al. (2006) vor allem im Bereich des Dünndarms.

Als Komplikation werden Dünndarmperforationen mit einhergehender Peritonitis und Abszessbildung beschrieben (LEINEMANN UND RÖCKEN 1996). Das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit berichtete von einer Parascariosebedingten Darmruptur beim Kolikfohlen (WILKE, IBRAHIM und KLEE 2005).

Blutbildveränderungen können mit einer Anämie, Leukopenie (SRIHAKIM und SWERCZEK 1978) sowie Eosinophilie (SRIHAKIM und SWERCZEK 1978; CLAYTON

und DUNCAN 1977) einhergehen. Erhöhte Hämatokrit- sowie Gesamteiweißgehalte fanden sich bei von LEINEMANN und RÖCKEN (1996) untersuchten Pferden.

### *Immunologie*

Parascariosen sind grundsätzlich nicht bei älteren Pferden, sondern vor allem bei Fohlen und Jährlingen zu finden. Während CLAYTON und DUNCAN (1979b) eine Zunahme der Immunkompetenz mit steigendem Alter der Fohlen beobachteten, kommen aktuelle Hinweise aus Kentucky, die einen biphasischen Verlauf der Eiausscheidung demonstrieren:

- Peak im Alter von 91 bis 120 Tagen
- anschließender Abfall der Eizahlen
- erneuter Peak im Alter von 241 bis 300 Tagen (DONOGHUE et al. 2015).

Da in derselben Studie zum Zeitpunkt des zweiten Peaks immature Stadien von *Parascaris* spp. im Darm der Fohlen lokalisiert waren, scheinen immunprotektive Mechanismen offensichtlich zu diesem Zeitpunkt noch nicht das gesamte Spektrum der Entwicklungsstadien abzudecken (DONOGHUE et al. 2015).

Einen bis zu 23-fachen IgG-Anstieg innerhalb der ersten 48 Stunden nach Kolostrumaufnahme konnte KÖHLER (2016) im Serum ihrer Fohlen nachweisen.

### *Diagnose*

Eier von *P. equorum* werden koproskopisch per Flotation nachgewiesen. Da die beiden Spulwurmarten *P. equorum* und *P. univalens* morphologisch identisch sind (NIELSEN et al. 2014e), jedoch die Chromosomenanzahl zwischen *P. equorum* (4) und *P. univalens* (2) abweicht, ist eine Differenzierung einzig anhand einer Karyotypisierung möglich (GODAY und PIMPINELLI 1986).

Serologische Nachweisverfahren existieren derzeit nicht. Aufgrund ihrer Größe und echogenen Kutikula lassen sich luminal parasitierende adulte Spulwürmer auch leicht und kostengünstig im Ultraschall nachweisen (NIELSEN et al. 2015c), wobei diese Methode die zuverlässigsten Ergebnisse ab einer Spulwurmbürde von 10 Askariden pro Fohlen liefert (NIELSEN et al. 2015c).

### 2.4.1.3 Klasse Secernentea

Ordnung Rhabditida

Familie Strongyloididae

Gattung *Strongyloides*

Art *Strongyloides westeri*

#### *Morphologie*

Die 40-52 x 30-40 µm kleinen, embryonierten Eier der Zwergfadenwürmer sind von ellipsoidaler Gestalt und besitzen eine verhältnismäßig dünnwandige, glatte Schale. Die auch als L3 unbescheideten Larven weisen je nach Stadium einen rhabdit- oder filariformen Ösophagus auf. Letzterer ist bei den Drittlarven zu finden und macht nahezu 50% der Gesamtkörperlänge aus. Darüber hinaus sind die Drittlarven gut anhand des langen Ösophagus erkennbar.

#### *Entwicklungszyklus*

Die im Dünndarm lebenden Weibchen des Zwergfadenwurms sind in der Lage, ihre Eier via Parthenogenese zu produzieren (SCHNIEDER 2006). Diese werden anschließend mit dem Kot an die Umwelt des Pferdes abgegeben. Nach dem Schlupf der Erstlarven entwickeln sich nach zwei Häutungen die infektiösen L3 oder eine freilebende, geschlechtliche Generation (SCHNIEDER 2006).

Die Drittlarven von *Strongyloides westeri* können entweder peroral oder perkutan auf das Pferd übertragen werden und zeigen nach oraler Aufnahme durch den Wirt Migrationsverhalten. Auf dem Blutweg gelangen sie zur Lunge und werden über das tracheobonchiale System wieder dem Verdauungstrakt zugeführt. In der Dünndarmmukosa erfolgt die Entwicklung zu Viertlarven und adulten Würmern. Die Aufnahme und Weiterentwicklung infektiöser Drittlarven betrifft dabei nicht nur Fohlen, sondern auch immune, adulte Pferde (REINEMEYER und NIELSEN 2007), sodass Eier von *S. westeri* ebenfalls von erwachsenen Pferden ausgeschieden werden und diese damit zur Umgebungskontamination beitragen können.

Eine Besonderheit stellt die Übertragungsmöglichkeit auf galaktogenem Weg (GENCHI 1976) sowie die somatische Larvenwanderung dar. Die Migration der Larven in die Milchdrüse der Stute erfolgt unter dem Einfluss von Trächtigkeits- und

Laktationshormonen, sodass die infektiösen Drittlarven bereits innerhalb weniger Tage post partum in der Milch der Mutterstute zu finden sind und so auf die Saugfohlen übertragen werden (REINEMEYER und NIELSEN 2007 und 2009). Eier werden nach einer Präpatenzzeit von 10 bis 14 Tagen (DEPLAZES et al. 2013) über die Fäzes an die Umwelt abgegeben.

#### *Epidemiologie*

Infektionen mit *S. westeri* kommen selten vor und sind vor allem bei Fohlen zu finden, wobei es sich in erster Linie um Stallinfektionen handelt. Nach HARRIS (2012) wiesen Hengstfohlen im Vergleich zu Stutfohlen eine höhere Nachweishäufigkeit auf.

#### *Pathogenese und Klinik*

Das klinische Bild einer Strongyloidose ist hauptsächlich durch das Auftreten von Durchfall geprägt, den viele Fohlen ohnehin in ihren ersten Lebensmonaten entwickeln. Neben bakteriellen Infektionen mit Rotaviren, *Cryptosporidium* spp. und *Clostridium perfringens* konnten in einer Studie aus Großbritannien auch *S. westeri* als Hauptursache für die Durchfallerkrankung identifiziert werden (NETHERWOOD et al. 1996), wobei die Durchfälle erst ab einem Grenzwert von 2000 Eiern pro Gramm Kot auftraten. Die perkutane Penetration der larvalen *Strongyloides* spp. kann die Entstehung von Hauteffloreszenzen provozieren. Studien darüber existieren jedoch vor allem für Wiederkäuer. Für das Pferd wird dieser Zusammenhang in einer Studie von DEWES und TOWNSEND (1990) vermutet. Ein Zusammenhang zur Kolik ist bislang unklar, aber nach REINEMEYER und NIELSEN (2009) durch die Enteritis möglich.

#### *Immunologie*

Fohlen entwickeln eine gute Immunität gegen *S. westeri* um den 5. oder 6. Lebensmonat und sind danach vor Reinfektionen geschützt (REINEMEYER und NIELSEN 2007).

#### *Diagnose*

Eier von *S. westeri* können koproskopisch im Flotationsverfahren nachgewiesen werden. Auch eignet sich differentialdiagnostisch die in vitro-Anzucht der Drittlarven (DEPLAZES et al. 2013).

#### 2.4.1.4 Klasse Secernentea

Ordnung Oxyurida (Pfriemenschwänze)

Familie Oxyuridae

Gattung *Oxyuris*

Art *Oxyuris equi*

Eier von *Oxyuris equi* sind aufgrund der perianalen Lokalisation diagnostisch gut erreichbar und mikroskopisch leicht zu identifizieren. Die extraintestinale Eiablage der adulten, weiblichen Würmer verursacht beim Pferd Pruritus-bedingtes Unwohlsein, das größtenteils mit sekundären Hauteffloreszenzen einhergeht. Pfriemenschwänze werden beim Pferd zwar häufig beobachtet, jedoch tragen sie in der Genese der Kolik keine Rechnung, weshalb diese Helminthenart im weiteren Verlauf dieser Arbeit nicht näher thematisiert wird.

#### 2.4.2 Stamm Platyhelmintha (Plattwürmer)

Unterstamm Trematoda (Saugwürmer)

Klasse Cestodea (Bandwürmer)

Ordnung Cyclophyllida

Familie Anoplocephalidae

Gattung *Anoplocephala*

Arten *Anoplocephala perfoliata* / *magna* / *mammillana*

Für das Pferd sind mehrere spezifische Bandwurmartarten bekannt. In hiesigen Breitengraden kommen *Anoplocephala perfoliata* (*A. perfoliata*), *A. magna* und *A. mammillana* vor. Darunter ist *A. perfoliata* als häufigster intestinaler Bandwurm vertreten und in der Genese der Kolik besonders bedeutsam (OWEN et al. 1989; PROUDMAN et al. 1998; BOSWINKEL et al. 2007; BACK et al. 2013).

### *Morphologie*

Die 65-80 µm mittelgroßen Eier von *A. perfoliata* sind von polymorpher, zum Teil eckiger Gestalt und besitzen eine dünne bis dicke Schale. Ihr Inhalt weist die Onkosphäre auf, die von einer birnenförmigen, Fortsätze tragenden Embryophore umgeben ist. Der Kopf des Bandwurms ist unbewaffnet, das heißt hakenlos, und weist vier Saugnäpfe auf. Zudem sind ohrenförmige Anhängsel am Skolex sowie die einseitige Geschlechtsöffnung je Proglottide Spezies-typisch. Während adulte *A. perfoliata* bis zu 8 cm lang sind, erreicht *A. magna* vergleichend dazu eine bis zu 10-fache Länge.

### *Entwicklungszyklus*

Anoplocephalidae sind obligat heteroxene Parasiten, die für ihre vollständige Entwicklung die Moosmilbe als Zwischenwirt benötigen. Die durch Weidepferde mit dem Kot ausgeschiedenen Bandwurmeier beziehungsweise Proglottiden werden in der Außenwelt von diesen Milben aufgenommen. Nach Perforation der Darmwand in die Leibeshöhle der Milbe entwickelt sich die Onkosphäre zum infektiösen Finnenstadium, dem sogenannten Zysticercoïd. Diese Phase dauert für *A. perfoliata* 2-4 Monate und ist von äußeren Temperatureinflüssen abhängig. Das Pferd als Endwirt infiziert sich *per os* durch die Aufnahme der zystizercoïdhaltigen Milben über das Weidegras. Hier reift das Finnenstadium schließlich zum adulten Bandwurm, der über seinen Saugnäpfe tragenden Skolex an der equinen Darmschleimhaut haftet. Proglottiden und Eier werden nach einer Präpatenzzeit von 6 bis 8 Wochen über die Fäzes an die Umwelt abgegeben.

### *Epidemiologie*

Anoplocephalidosen sind weltweit verbreitet und betreffen alle Altersgruppen. Sie stellen in erster Linie Weideinfektionen dar, können aber durch die Fütterung von Moosmilben enthaltendem Heu auch bei im Stall gehaltenen Pferden vorkommen. NILSSON et al. (1995) sahen eine saisondynamische Beziehung zur Befallsintensität, wobei schwedische Pferde in der zweiten Jahreshälfte stärker infiziert waren als im ersten Halbjahr. Diese Studie belegte auch einen erhöhten Befallsgrad für über 2 Jahre alte Pferde. Jährlinge hatten demnach deutlich niedrigere Bandwurmbürden. *Anoplocephala perfoliata* konnte bundesweit in Deutschland in 0,2% (WIRTHERLE 2003) bis 28,5% (REHBEIN et al. 2013) der Einzeltiere nachgewiesen werden. Auf

Betriebsebene lagen die Zahlen für *A. perfoliata* bei 0,3% (FRITZEN 2005) bis 35,2% (BEHRENS et al. 2001).

#### *Pathogenese und Klinik*

Über den Saugnäpfe tragenden Skolex haften und saugen die adulten Bandwurmstadien an der Darmmukosa des Pferdes. Für *A. perfoliata* ist der bevorzugte Ort der Bereich des Ostium ileocaecale, während *A. magna* vornehmlich jejunal parasitiert.

Bei einem Befall mit *A. perfoliata* betreffen die Gewebsalterationen vor allem diesen ileozäkalen Übergang und beinhalten verdickte sowie hyperämische Darmschleimhäute, Fibrosen, Ödeme und Ulzerationen, die histopathologisch mit einer ausgeprägten eosinophilen, lymphozytären und / oder neutrophilen Zellinfiltration einhergehen können (NILSSON 1995; BEROZA 1983).

Als Komplikation kann ein massiver Bandwurmbefall in einer Darmperforation mit sekundärer Peritonitis und Abszessbildung resultieren (BEROZA et al. 1983).

Zumeist verlaufen Bandwurminfektionen ohne Auftreten klinischer Symptome (DEPLAZES et al. 2013). Intestinale Motilitätsstörungen sind jedoch möglich und werden mit einer einhergehenden Degeneration neuronaler Zellen, hervorgerufen durch parasitierende *A. perfoliata*, in Zusammenhang gebracht. So zeigte sich an italienischen Schlachtpferden mit moderater bis hoher Bandwurmbürde eine signifikante Zerstörung des enterischen Nervensystems (PAVONE et al. 2011). Die präferierte Ansiedlung von *A. perfoliata* im Bereich des ileozäkalen Übergangs birgt zudem die Gefahr einer verminös bedingten Lumenverlegung und folglich einer möglichen Obstipationskolik. Bei einer mittelgradig kolikenden Traberstute konnte ein Massenbefall mit Bandwürmern nachgewiesen werden, der zu einem Obturationsileus des Jejunums infolge eines submukösen Hämatoms führte (JACH und ALLMELING 1990). Daneben wird von anorektischen Pferden (BEROZA et al. 1983) und Durchfällen berichtet. In vielen Studien konnte bereits ein Zusammenhang zur Kolik hergestellt werden, jedoch sind die Ergebnisse über verschiedene Studien und Fallberichte hinweg nicht konsistent (BEROZA 1983; OWEN et al. 1989; JACH und ALLMELING 1990; PEARSON et al. 1993; NILSSON 1995; PROUDMAN et al. 1998; BOSWINKEL et al. 2007; TROTZ-WILLIAMS et al. 2008; VERONESI et al. 2009; BACK et al. 2013).

PROUDMAN et al. (1998) belegten, dass 22% der spastischen Koliken und 81% der Ileumanschoppungen Bandwurm-assoziiert waren und dass das Risiko für das

Aufgetreten spastischer Koliken mit zunehmender Infektionsintensität stieg, wobei als Maß für den Infektionsgrad die Höhe der IgG(T)-Antikörper galt. Eine hohe Zahl intestinal nachgewiesener *A. perfoliata* ging in einer schwedischen Studie zwar mit dem Schweregrad histopathologischer Gewebsveränderungen, jedoch ohne Anwesenheit von Koliksymptomen einher (NILSSON 1995). Gleiches bestätigte auch eine Studie an Schlachtpferden (PEARSON et al. 1993). Auch Untersuchungsergebnissen von RODRIGUEZ-BERTOS et al. (1999) zufolge stieg mit zunehmender Schwere der intestinalen Gewebsläsionen die Zahl nachgewiesener *A. perfoliata*, weshalb diese Autoren eine damit einhergehende intestinale Störung als möglichen Grund für eine Kolik sehen.

Im Rahmen einer explorativen Laparotomie an Kolikpferden stellten sich gemäß verschiedener Fallberichte eine Invaginatio caecalis, caecocolica resp. ileocaecalis bei gleichzeitiger Anwesenheit zahlreicher *A. perfoliata* im Blinddarm der Pferde heraus (BEROZA 1983; OWEN et al. 1989). Eine Fall-Kontroll-Studie von VERONESI et al. (2009) brachte für Kolikpatienten eine Seroprävalenz von 51,4% hervor, während 14,8% der Kontrollpferde seropositiv waren. In dieser Studie hatten Pferde mit positivem Antikörpertest ein 4,2-fach und bei positiver Koproscopie ein 2,8-fach höheres Kolikrisiko. Einen Zusammenhang zwischen einer Bandwurminfektion und Kolik vermuteten auch die Autoren einer holländischen Studie, in der im Serum von Kolikpferden signifikant höhere Konzentrationen an *A. perfoliata*-Antikörpern nachgewiesen werden konnten als in der dazugehörigen Kontrollgruppe (BOSWINKEL et al. 2007). Diese erhöhten Antikörpertiter zeigten sich ebenfalls bei nekroptisch untersuchten Pferden mit nachweislich vorhandenen Bandwürmern im Ileozäkalbereich. Diese Beobachtung konnten TROTZ-WILLIAMS et al. (2008) in eigenen serologischen, aber auch koprologischen Untersuchungen nicht bestätigen. Eine Studie aus Schweden konnte die Assoziation zur Kolik nur für *A. perfoliata* positive, fäkale Eizahlen herstellen, jedoch nicht für die Anwesenheit zirkulierender Anti-12/13 kDa-IgG(T) im Blut (BACK et al. 2013).

### *Immunologie*

Immunglobuline vom Typ G (IgG) scheinen im Zusammenhang mit einem Bandwurmbefall eine bedeutende Rolle zu spielen. PROUDMAN und TREES untersuchten die humorale Immunantwort des Pferdes auf eine Infektion mit *A. perfoliata* und konnten eine positive Korrelation zwischen den IgG(T)-Antikörpern auf 12/13 kDa-Komponenten der E/S-Antigene und der Intensität einer *A. perfoliata*

Infektion zeigen. Die Höhe des IgG(T)-Spiegels scheint damit ein Maß für die Befallsstärke darzustellen (PROUDMAN und TREES 1996a,b). Auf Grundlage dieser Erkenntnis wurde in einer weiteren Studie analysiert, ob das Alter der Pferde auf den Gehalt dieser Immunglobuline und demnach auf den Grad der Infektion Einfluss nimmt, wobei diese Altersabhängigkeit triphasisch verlief:

- IgG(T)-Maximum in der Gruppe der halb- bis zweijährigen Pferde
- anschließender Abfall und Plateauphase in der Gruppe der 3- bis 15-Jährigen
- erneuter Anstieg in der Gruppe der > 15 Jahre alten Pferde (PROUDMAN et al. 1997).

Demnach wiesen dieser Studie zufolge Jungpferde in einem Alter von bis zu 2 Jahren den stärksten und Pferde im Alter zwischen 3 und 15 Jahren den niedrigsten Befall mit *A. perfoliata* auf.

Konträr zu dieser altersabhängigen Befallsstärke stehen einige Jahre später die Ergebnisse von BEHRENS (2001), die hinsichtlich ihrer serologischen Untersuchungen keinen signifikanten Unterschied innerhalb der Altersklassen feststellen konnte. Und auch BOSWINKEL et al. (2007) sahen keinen Zusammenhang zwischen dem Alter des Pferdes und den Antikörper-Titern.

PITTAWAY et al. (2014) führten Untersuchungen zu weiteren Immunglobulinen durch, wobei die Messungen neben den IgG(T) auch Immunglobuline vom Typ A und E umfassten. Während sich die IgA-Werte zwischen mit *A. perfoliata*-infizierten und bandwurmfreien Pferden nicht unterschieden, zeigten sich die Immunglobuline vom Typ G(T) und E vor allem bei einem Befall mit *A. perfoliata*. Zudem erhielten PITTAWAY et al. (2014) durch die Entnahme von Gewebeproben Hinweise auf eine lokale Immunreaktion, die mit erhöhten Mengen an IgG(T) und IgE in der zäkalen Darmmukosa infizierter Pferde einherging.

Ausdruck einer Immunreaktion waren auch die sinkenden Antikörper-Titer Bandwurm-infizierter Pferde, die sich ab dem ersten Tag der anthelminthischen Behandlung in einer Studie von ABBOTT et al. (2008) abzeichneten und ab dem Zeitpunkt der Reinfektion wieder anstiegen.

### Diagnose

Obwohl die Eier der Anoplocephalidae per se leicht zu identifizieren sind, gestaltet sich der Nachweis einer Bandwurminfektion oft schwierig. Die Eier von *A. perfoliata* liegen im Pferdekot nicht gleichmäßig verteilt vor und werden zum Teil in graviden Proglottiden ausgeschieden (NILSSON et al. 1995; WILLIAMSON et al. 1998). Dieses Erkenntnis wirkte lange Zeit als stark limitierender Faktor für die Bestimmung einer intestinalen Bandwurminfektion über klassische koproskopische Eizählmethoden, da trotz der hohen Spezifität die Sensitivität bei lediglich 23% lag (NILSSON et al. 1995). Um die Nachweissicherheit zu erhöhen, wurden daher modifizierte Eizählmethoden mit erhöhten Mindestkotmengen entwickelt (ANDERSEN et al. 2013b). Das Vermögen der koproskopischen Methoden, Bandwurmeier zu erkennen, erhöht sich zudem mit zunehmender Befallsintensität (WILLIAMSON et al. 1998). Die kombinierte Sedimentation-Flotation mit zwei Zentrifugationsschritten von jeweils 10 Minuten unter Verwendung von 15g Kot und Zuckerlösung (spezifisches Gewicht: 1,26) erwies sich bei REHBEIN et al. (2011) als überlegen gegenüber anderen Kombinationen mit Kochsalz- oder Zinksulfatlösung.

Ein Kopro-Antigen-ELISA, mit dem Bandwurm-spezifische exkretorische/sekretorische Proteine (E/S-Antigene) im Kot infizierter Pferde nachgewiesen werden können, wurde durch KANIA und REINEMEYER (2005) entwickelt.

SKOTAREK et al. (2010) validierten in einer Studie die beschriebenen diagnostischen Nachweisverfahren einer Bandwurminfektion, wobei der Kopro-Antigentest zu einer Sensitivität von 74% und einer Spezifität von 92% kam. Zudem zeigte dieser Test eine positive Korrelation mit der intestinalen Bandwurmbürde (SKOTAREK et al. 2010).

Ebenso befinden sich PCR-Verfahren in der Entwicklung, die den Nachweis von *A. perfoliata*-DNA aus dem Kot von Pferden möglich machen sollen (DROGEMULLER et al. 2004).

Serodiagnostisch haben sich IgG(T)-AK im Zusammenhang mit einer *A. perfoliata*-Infektion als sehr empfindlich und spezifisch erwiesen (PROUDMAN et al. 1996). Kürzlich wurden Ergebnisse zu einem ELISA-Verfahren für den Nachweis von Bandwurm-spezifischen IgG(T) aus Speichelproben englischer Schlachtpferde veröffentlicht (LIGHTBODY et al. 2016). Die Sensitivität für diesen Test lag bei 83% und war damit vergleichbar zu der aus dem serologischen Enzymimmunoassay (Sensitivität 85%). Dieser Speicheltest (Equisal<sup>®</sup>) ist mittlerweile auch kommerziell in Deutschland erhältlich. Die Probenentnahme ist durch die einfache Handhabung auch problemlos durch den Pferdebesitzer selbst möglich.

### 2.4.3 Stamm Arthropoda (Gliederfüßer)

Klasse Insecta (Insekten)  
Ordnung Diptera (Zweiflügler)  
Unterordnung Brachycera (Fliegen)  
Familie Oestridae  
Gattung *Gasterophilus*  
Art *Gasterophilus intestinalis*

Die vorliegende Arbeit widmet sich in erster Linie den Helminthosen des Pferdes, an dieser Stelle sei jedoch kurz auf die gastrische Myiasis des Pferdes eingegangen.

Unter den Arthropoden sind aus der Familie der *Oestridae* die Magenfliegen, vor allem *Gasterophilus intestinalis*, beim Pferd von klinischer Relevanz. Befruchtete Fliegenweibchen legen ihre Eier in den Sommermonaten im Fell der Pferde ab. Nach peroraler Aufnahme der Larven entwickeln sich über mehrere Wochen hinweg die Zweit- und Drittlarven, deren Prädilektionsstelle der Pferdewagen darstellt (DEPLAZES et al. 2013). Erst mit der nächsten Weideperiode erfolgt die Ausscheidung der Larven mit dem Kot. Als weitere Übertragungsmöglichkeit können die Larven der Magenfliegen den Wirt auch auf perkutanem Weg infizieren.

REHBEIN et al. konnten ein saisonales Auftreten larvaler *Gasterophilus* im Magen geschlachteter Pferde beobachten. L2 und L3 waren im Zeitraum November bis Dezember nachweisbar. Pferdewägen, die ausschließlich L3 beherbergten, zeigten sich dagegen von Dezember bis Juli (REHBEIN et al. 2013). Insgesamt betrug die Prävalenz von *G. intestinalis* in dieser Studie 2,25%.

Ein Befall des Pferdewagens mit den Larven von *G. intestinalis* hat normalerweise nur wenig pathogene Wirkung (DEPLAZES et al. 2013). Die Larven können aber auch atypisches Migrationsverhalten zeigen (LAPOINTE et al., 2003; DART et al. 1987; WADDELL 1972).

Eine Assoziation zur Kolik ist unklar und wird von REINEMEYER und NIELSEN (2009) als eher unwahrscheinlich erachtet. Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang kommen aus Fallberichten, in denen Ulzerationen der Magenschleimhaut auf die Anwesenheit von Dasseliegenlarven zurückgeführt wurden (LAPOINTE et al., 2003; DART et al. 1987; WADDELL 1972). Eine aufgrund einer akuten Kolik in der Pferdeklinik der Universität Montreal hospitalisierte Zuchtstute wurde infolge einer

infausten, septischen Peritonitis euthanasiert. Die Obduktion ergab eine tiefe fokale, mukosale Penetration der rechten ventralen Kolonlängslage, deren Submukosa eine Dasselfliegenlarve beherbergte (LAPOINTE et al. 2003).

## 2.5 Diagnostik von Endoparasiten

### 2.5.1 Koproscopische Methoden

#### 2.5.1.1 Nachweis endoparasitärer Eier im Kot

Der Nachweis endoparasitärer Eier über koproscopische Verfahren beruht auf den Prinzipien der Flotation, Sedimentation oder einer Kombination aus beiden. Dabei kommen Anreicherungsmedien zum Einsatz, die aufgrund ihrer spezifischen Dichte sowie der nachzuweisenden Eier entweder den Auftrieb oder aber das Absinken der Parasiteneier bedingen. Eine breite Palette an kommerziell erhältlichen Testkits steht für diese Zwecke zur Verfügung. Eier von MDS, *Strongyloides*, Spul- sowie Bandwürmern, aber auch protozoäre Entwicklungsstadien wie Oozysten und Sporozysten lassen sich qualitativ und quantitativ mit Flotationsverfahren nachweisen. Als Flotationsgrundlage dienen Lösungen, die ein hohes spezifisches Gewicht aufweisen und Eier mit niedrigerer Dichte an die Oberfläche flotieren lassen.

Im Umkehrschluss lassen sich bestimmte parasitäre Entwicklungsstadien nachweisen, die ein höheres spezifisches Gewicht als ihr Anreicherungsmedium besitzen und damit in der Kot-Wasser-Suspension absinken. Nach diesem Prinzip der Sedimentation lassen sich zum Beispiel Trematodeneier der Gattung *Fasciola* sowie Entwicklungsstadien bestimmter Protozoen, zum Beispiel Oozysten von *Eimeria leuckarti* (DEPLAZES et al. 2013), nachweisen.

Die Kombination beider genannter Verfahren ist für den Nachweis von Nematoden, Cestoden, Trematoden und einige protozoäre Stadien geeignet. Aus Gründen der Zeitersparnis haben sich bei den beschriebenen Verfahren integrierte Zentrifugationsschritte bewährt. Unter Verwendung einer Zuckerlösung erwies sich die kombinierte Sedimentation-Flotation mit zwei integrierten Zentrifugationsschritten (spezifisches Gewicht: 1,26) als überlegen gegenüber anderen Kombinationen mit Kochsalz- oder Zinksulfatlösung (REHBEIN et al. 2011).

### *McMaster*

Die Eizählung nach McMaster stellt ein quantitatives Verfahren dar, bei dem der Probenansatz unter Verwendung einer definierten Menge Kot (4g) erfolgt. Die Fäzes werden mit gesättigter Kochsalzlösung vermischt, durch ein Teesieb gefiltert und erneut mit NaCl bis zur Marke 60 ml versetzt. Nach gründlicher Durchmischung folgt der Transfer der Kot-Kochsalz-Suspension in die McMaster-Zählkammer, in der bei 5-minütiger Standzeit vorhandene Eier flotieren können. Anschließend werden die Eier unter dem Mikroskop bei 40-100-facher Vergrößerung ausgezählt (SCHNIEDER 2006).

### *FLOTAC/Mini-FLOTAC*

Das FLOTAC<sup>®</sup>-Verfahren beruht auf einem relativ neuen Diagnostikinstrument und geht mit einer vergleichsweise hohen Sensitivität einher (CRINGOLI et al. 2010). Es basiert auf dem Prinzip der Flotation und weist eine Nachweisgrenze von 1 Ei pro Gramm Kot auf. Die Kotprobe wird dabei unter Verwendung von 10 Gramm Kot angesetzt und anschließend mit Leitungswasser vermischt. Nach Filtrierung der Kotsuspension und anschließender Zentrifugation einer definierten Flüssigkeitsmenge, wird das Sediment mit einer Flotationslösung, z.B. gesättigter NaCl-Lösung, versetzt. Auf diesem Weg treiben vorhandene Eier in den flüssigen Teil auf. Die NaCl-Mischung wird zu gleichen Teilen in die zwei Kammern des FLOTAC<sup>®</sup>-Apparates pipettiert, zentrifugiert und anschließend die flotierten Eier unter dem Mikroskop ausgezählt. Nach CRINGOLI et al. (2010) erreicht die FLOTAC<sup>®</sup>-Methode besonders bei niedrigen fäkalen Eizahlen von bis zu 500 Eiern pro Gramm Kot eine hohe Sensitivität. Ohne integrierten Zentrifugationsschritt und damit praktikabler, benutzerfreundlicher und zeitsparender kommt ein modifiziertes FLOTAC<sup>®</sup>-Verfahren, Mini-FLOTAC<sup>®</sup>, aus (BARDA et al. 2014), das zudem der McMaster-Technik hinsichtlich der Bestimmung von Strongylideneiern beim Pferd überlegen war (NOEL et al. 2017)

#### 2.5.1.2 Larvenkultur (Koprokultur)

Die Anzucht von Drittlarven eignet sich für die Differenzierung von Strongyliden- als auch *Strongyloides*-Larven (DEPLAZES et al. 2013).

Die klassische koproskopische Eizählung führt lediglich zu der allgemeinen Aussage über das Vorhandensein von MDS-Eiern. Eine Differenzierung in kleine oder große Strongyliden ist auf diesem Wege nicht beziehungsweise nicht sicher möglich (REINEMEYER und NIELSEN 2014). Da sich zudem die Erstlarven der kleinen und großen Strongyliden morphologisch sehr ähneln, ist eine exakte Identifizierung dieser Stadien schwer möglich. Etabliert hat sich das Anlegen von Larvenkulturen mit anschließender Differenzierung der Drittlarven anhand morphologischer Gesichtspunkte, die dem Identifikationsschlüssel von LICHTENFELS et al. (2008) entnommen werden können. Hierbei werden die Wurmeier enthaltenen Fäzes über einen Zeitraum von 7 bis 10 Tagen im Inkubationsschrank bei 25°C bebrütet (DEPLAZES et al. 2013) und damit optimale Bedingungen für die Entwicklung der Drittlarven geschaffen. Nach Immobilisation der L3 können diese anschließend unter dem Mikroskop differentialdiagnostisch bestimmt werden. Auf diese Weise lassen sich große und kleine Strongyliden anhand morphologischer Kriterien voneinander unterscheiden. Eine weitere Differenzierung in die jeweilige Art lässt sich nur bei den großen Strongyliden erreichen. Dagegen kann zwischen den vielen unterschiedlichen Gattungen und Arten der Cyathostominae nicht unterschieden werden (ANDERSEN et al. 2013b).

Die Methode der Koprokultur macht zwar eine Quantifizierung der Larven möglich, jedoch besteht kein linearer Zusammenhang zwischen der Larvenanzahl und der Zahl adulter *S. vulgaris* im Darm (NIELSEN et al. 2010).

In einer Vergleichsstudie zur Evaluation der konventionellen PCR-Methode für den Nachweis von *S. vulgaris* war die PCR der Larvenkultur deutlich überlegen. So erkannte die PCR im direkten Vergleich mit den Ergebnissen der Larvenkultur knapp dreimal mehr Infektionen mit *S. vulgaris* (BRACKEN et al. 2012). Und auch die Studienergebnisse von KASPAR et al. (2017) zeigten eine signifikant verbesserte Detektionsrate von *S. vulgaris* mit Hilfe der Real-time PCR im direkten Vergleich zum herkömmlichen Nachweis via Larvenkultur.

### 2.5.2 Molekulardiagnostik

Diagnostische Aussagen lassen sich grundsätzlich über molekulardiagnostische Techniken ableiten. Diese Verfahren sind zumeist experimenteller Natur, für den Praxisgebrauch aber nicht ausreichend etabliert. Einen Überblick über aktuelle

Studienergebnisse sind in diesem Zusammenhang bereits an entsprechender Stelle dieser Arbeit vorgestellt worden (vgl. Kapitel 2.4.1.1.1, 2.4.1.1.2, 2.4.1.2, 2.4.2).

## 2.6 Therapie und Management von parasitären Infektionen

### 2.6.1 Anthelminthische Wirkstoffe

Pferde, bei denen der Verdacht auf eine Endoparasitose besteht, werden durch die Gabe adäquater Anthelminthika kuriert.

#### *Nematoden*

Zur Therapie Nematoden-infizierter Pferde eignen sich Anthelminthika aus der Gruppe der makrozyklischen Laktone, der Benzimidazole, der Tetrahydropyrimidine sowie der Piperazine.

Die Wirkung der makrozyklischen Laktone (Ivermectin, Moxidectin) gründet sich auf die hohe Affinität des Pharmakons gegenüber inhibitorischen Glutamat-gesteuerten Chloridionen-Kanälen. Durch die irreversible Öffnung dieser Kanäle dringen Chloridanionen vermehrt in die Zelle ein und bewirken so eine Hyperpolarisation der neuronalen Zellmembran mit folgeschwerer, schlaffer Paralyse des Parasiten (RICHTER und UNGEMACH 2014). Adulte wie auch larvale Nematodenstadien werden durch den therapeutischen Einsatz sämtlicher beim Pferd zugelassenen makrozyklischen Laktone (ML) erfasst mit Ausnahme der Cyathostominae im encystierten Larvenzustand (RICHTER und UNGEMACH 2014). Im Vergleich zu Ivermectin können diese eingekapselten Stadien gut und zufriedenstellend durch den Wirkstoff Moxidectin bekämpft werden (REINEMEYER et al. 2015). Die ML eignen sich ebenfalls für die Behandlung von Arthropoden wie *Gasterophilus* spp. .

Anthelminthika wie Benzimidazole hemmen die Polymerisation von Mikrotubuli (DEPLAZES et al. 2013). In mehreren Studien an natürlich oder experimentell infizierten Pferden zeigte eine an fünf aufeinanderfolgenden Tagen erfolgte Behandlung mit Fenbendazol auch gute Wirksamkeit gegenüber den hypobiotischen Larven der kleinen Strongylyden (DUNCAN et al. 1998; LOVE 2003; STEINBACH et al. 2003). Diese Behandlung erwies sich im Vergleich zur einmaligen Gabe eines Moxidectin-haltigen Präparates als weniger effektiv gegenüber den Eiern, den Luminal- als auch den encystierten Mukosalstadien Benzimidazol-resistenter, kleiner

Strongyliden (REINEMEYER et al. 2015).

Vor dem Hintergrund verbreiteter Benzimidazolresistenzen bei den kleinen Strongyliden (vgl. Kapitel 2.6.2) stellt Pyrantel aus der Gruppe der Tetrahydropyrimidine eine gute Alternative dar. Wie Acetylcholin wirkt es an der neuromuskulären Endplatte, ist jedoch um ein Vielfaches potenter und führt zu einer spastischen Lähmung des Parasiten infolge einer depolarisierenden neuromuskulären Blockade (RICHTER und UNGEMACH 2014). Pyrantel ist bei peroraler Anwendung effektiv gegen adulte und larvale Luminalstadien der meisten Magen-Darm-Nematoden, dagegen sprechen Zwergfadenwürmer auf eine Pyranteltherapie nicht ausreichend an (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2006). Ebenso wird ein nur unzureichender Effekt gegenüber den histotropen Entwicklungsstadien sowie den larvalen Wanderstadien beschrieben (RICHTER und UNGEMACH 2014).

Piperazine wirken an GABA-gesteuerten Chloridkanälen und führen zu einer Paralyse der Darmnematoden (DEPLAZES et al. 2013). Die Wirksamkeit betrifft die Pferdespulwurmarten, zum Teil auch die großen und kleinen Strongyliden sowie *Oxyuris equi* (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2016).

### *Cestoden*

Mittel der Wahl bei der Behandlung einer manifesten Anoplocephalidose ist der Wirkstoff Praziquantel, der das Integument des Bandwurms schädigt und durch die Öffnung von Calciumkanälen eine hyperkontraktile Motilitätsstörung mit spastischer Paralyse des Parasiten verursacht (RICHTER und UNGEMACH 2014). Neben der Verfügbarkeit als Monopräparat liegt Praziquantel auch als Kombination mit einem ML vor. Alternativ dazu eignet sich Pyrantel als Tetrahydropyrimidin, welches jedoch nur in höherer Dosierung eine Teilwirkung auf Anoplocephaliden hat (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2011). In einer Studie von ABBOTT et al. (2008) wiesen Bandwurm-infizierte Pferde deutlich länger sinkende Antikörpertiter bei Verwendung einer Kombination aus Praziquantel und Ivermectin auf als bei alleiniger Gabe eines Ivermectin-Präparates.

### *Trematoden*

Hinsichtlich der therapeutischen Möglichkeit zur Bekämpfung einer Fasciolose herrscht in Deutschland Therapienotstand (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2006). Zugelassene Benzimidazole haben zwar adultizide Wirkung gegen Leberegel, ihr Einsatz erfordert jedoch hohe Dosen, um ein Absterben dieser Trematoden zu gewähren (RICHTER und UNGEMACH 2014). Es bedarf daher der Umwidmung wirksamer, aber für das Pferd nicht zugelassener Arzneimittel. Salicylanilide wie Closantel und das chlorierte Thio-Benzimidazol Triclabendazol haben sich in diesem Zusammenhang bewährt (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2006).

### 2.6.2 Resistenzproblematik

Die stark frequenten Entwurmungsregimes führten zu einer weitestgehenden Eradikation von *S. vulgaris* in der Pferdepopulation, jedoch zeigte sich als Kehrseite des „interval dose regime“ von DRUDGE und LYONS (1966) eine zunehmende Ausbildung von Anthelminthikaresistenzen (AR), die die kleinen Strongyliden gemäß vieler Veröffentlichungen gegenüber den Benzimidazolen (CHAPMAN et al. 1991; KAPLAN 2002; WIRTHERLE et al. 2003; TRAVERSA et al. 2009) sowie dem Pyrantel (TRAVERSA et al. 2009) und der Pferdespulwurm *P. equorum* (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007) gegenüber ML zeigen.

Wirkstoffe aus der Gruppe der ML schienen hinsichtlich einer Resistenzentwicklung einige Zeit nicht von Belang zu sein. COLES et al. (2003) sahen den fehlenden pharmakologischen Effekt von Ivermectin gegenüber den mukosalen Larvenstadien der kleinen Strongyliden als möglichen Grund für diese Resistenzfreiheit. Weitere Studien lieferten jedoch später Hinweise auf eine ungenügende Wirksamkeit von Ivermectin und Moxidectin gegenüber den kleinen Strongyliden (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007; MOLENTO et al. 2008; LYONS et al. 2011).

Im Jahr 2007 kam zudem der erste deutsche Hinweis auf eine Anthelminthikaresistenz, die *P. equorum* gegenüber Ivermectin zeigte (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2007).

Und auch Moxidectin scheint zunehmend ineffektiv gegen den Pferdespulwurm zu sein (BOERSEMA et al. 2002; TRAILL 2008).

Im Vergleich dazu sind die großen Strongyliden von einer AR offenbar bisher nicht betroffen und weiterhin voll empfänglich für die für das Pferd zur Verfügung stehenden Wirkstoffe (NIELSEN 2015).

Vor dem Hintergrund dieser zunehmenden Resistenzen wurden neue Therapieansätze diskutiert, die unter anderem den Gedanken eines selektiven anthelminthischen Entwurmungsregimes aufgriffen (DUNCAN und LOVE 1991). Nach diesem Prinzip werden nur diejenigen Pferde eines Betriebes in die Behandlung einbezogen, deren Eizahl im Kot einen je nach Autor definierten Grenzwert überschreitet (GOMEZ und GEORGI 1991; DUNCAN und LOVE 1991; BECHER et al. 2010). Niedrigausscheider bleiben nach diesem Konzept unbehandelt und können so durch den reduzierten Selektionsdruck zur Obstruierung resistenter Würmer beitragen.

NIELSEN et al. (2012) sehen in diesem selektiven Ansatz jedoch die Gefahr erneut ansteigender Prävalenzen von *S. vulgaris*. In einer dänischen Studie zeigte sich eine Betriebsprävalenz von 83,3% für selektiv entwurmende Betriebe und 38,9% für Höfe, deren Entwurmungsmanagement nicht auf der fäkalen Eizählung basierte (NIELSEN et al. 2012a). Analog dazu lagen die Zahlen auf Tierebene in dieser Studie bei 15,4% resp. 7,7%. Auch aus Italien kamen erste Hinweise, dass dieser Parasit epidemiologisch und pathogenetisch wieder vermehrt an Bedeutung gewinnen könnte (PILO et al. 2012). BRACKEN et al. (2012) erhielten mittels konventioneller PCR eine unerwartet hohe Einzeltier-Prävalenz von 12,1%. Obwohl diese Studie nicht als Fall-Kontroll-Studie konzipiert war, zeigte keines der *S. vulgaris* positiv getesteten Pferde Anzeichen einer Kolik oder sonstige klinische Symptome (BRACKEN et al. 2012). Ähnlich hohe Prävalenzzahlen liefert eine kürzlich veröffentlichte brasilianische Studie, in der 12% aller untersuchten Pferde *S. vulgaris*-positiv waren (TEIXEIRA et al. 2014). Diese Ergebnisse beruhten auf Sektionsbefunden.

Der stark niedrigfrequente resp. auf die Behandlungsnotwendigkeit beschränkte Einsatz von Wirkstoffen im Rahmen dieses selektiven Behandlungsregimes birgt grundsätzlich zudem die Gefahr von durch migrierende Parasitenstadien verursachten Schäden (ERTELT et al. 2016).

Entwarnung hinsichtlich eines potentiell zunehmenden Vorkommens von *S. vulgaris* in Deutschland kann gegenwärtig zwar nicht gegeben werden, jedoch berichten Autoren, die den Einfluss der selektiven Entwurmung auf die Prävalenz von MDS untersuchten,

durchweg von niedrigen Prävalenzwerten (GREITE 2013; MENZEL 2013; SCHNEIDER et al. 2014). In jedem Fall wird zumindest für selektiv entwurmende Pferdebetriebe ein gutes Monitoring empfohlen, um besonders pathogene Parasiten wie *S. vulgaris* ausreichend zu überwachen NIELSEN et al. (2014b).

Als mögliche Gegenmaßnahmen zur Senkung von Anthelminthika-Resistenzen beim Pferd beschreiben ERTELT et al. (2016):

- Reduzierung der Behandlungsfrequenz bei Fohlen und Jungpferden
- strategische Intervall-Behandlungen (Rotation der Wirkstoffklassen, Kombination von Wirkstoffen, sinnvolle Auswahl des Behandlungszeitpunktes, Bestandssynchronisation)
- selektive Entwurmungen.

Zuchtselektive Maßnahmen sowie der Einsatz von Vakzinen werden in diesem Zusammenhang ebenfalls diskutiert, sind für das Pferd jedoch nicht oder nicht ausreichend untersucht (ERTELT et al. 2016). Das Prinzip, die Wirkstoffklassen jährlich zu wechseln, hält NIELSEN (2015) für keine wirksame Strategie, um Anthelminthikaresistenzen zu vermeiden. Vielmehr provoziert dieses Vorgehen die Entstehung von Multiresistenzen (NIELSEN 2015).

Für das erwachsene Pferd als derzeit sinnvoll erachtet und empfohlen werden gezielte, bestandssynchrone Behandlungen, die bei einem regelmäßigen Monitoring strategisch und unter besonnenem Einsatz von Wirkstoffen erfolgen sollen (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2011; ERTELT et al. 2016).

### *Resistenzermittlung*

Für die Ermittlung einer vorliegenden AR gegen MDS kommen verschiedene diagnostische Verfahren zum Einsatz, unter denen der Eizahlreduktionstest (EZRT) beim Pferd als Goldstandard angesehen wird (KAPLAN 2002). Die Anwendung dieser Methode ist auf Betriebsebene zu sehen, während parasitisch erkrankte Pferde von den Empfehlungen zur Vermeidung resistenter Wurmpopulationen ausgenommen sind (NIELSEN 2015).

Die Eiausscheidung wird anhand der fäkalen Eizahl vor der Gabe eines ausgewählten Anthelminthikums gemessen. Beträgt die prozentuale Reduktion der Eizahl 14 Tage nach der Behandlung weniger als 90 resp. 95%, gilt dies als Hinweis für das Vorliegen einer AR (NIELSEN 2015). Einige Autoren empfehlen zur Sicherheit eine zusätzliche Eizählung 4-5 Wochen nach erfolgter Behandlung (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2012; VAN DOORN 2012).

### 2.6.3 Kontrolle von Endoparasiten beim Pferd

Eine bedeutende Gegenmaßnahme in der Bekämpfung von Pferdehelminthen ist es, den Parasiten so weit wie möglich ihr Biotop zu verleiden und damit eine Minimierung der Weidekontamination zu erzielen. Eine gründliche Weide- und Stallhygiene ist daher unerlässlich und wird von VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. (2011 und 2012) wie folgt empfohlen:

- regelmäßige Stallreinigung und –desinfektion
- tägliches Ausmisten der Stallboxen und Kompostieren des Mistes
- Einhalten einer adäquaten Weidebesatzdichte (1000 kg KGW / ha)
- regelmäßiges Absammeln des Kotes von den Weideflächen (2-3x / Woche)
- Entfernung der Geilstellen
- Wechselbeweidung mit Rindern und Schafen
- Weidepflege (Eggen, Abschleppen)
- Weidewechsel
- alternative Weidenutzung.

Die Ermittlung der Eizahl im Kot der Pferde verfolgt nach NIELSEN et al. (2015) nicht das Ziel, nach Würmern zu suchen. Vielmehr geht es bei der Erhebung koproskopischer Befunde darum, Resistenzen im Betrieb zu erkennen, zum anderen aber auch um die Identifizierung von niedrig-, moderat- und starkausscheidenden Pferden. Es konnte belegt werden, dass die individuelle Höhe der Eiausscheidung von einer Weideperiode zur nächsten beständig blieb (NIELSEN et al. 2006). Das Konzept der so genannten ‚selektiven Entwurmung‘ basiert auf der Identifizierung der jeweils hoch- und geringgradig Strongylideneier ausscheidenden Individuen und der ausschließlichen Behandlung Ersterer (BECHER et al. 2010). Unter diesen Umständen

kann die Frequenz der Antiparasitikagaben für Pferde, die einen großen Beitrag zur Weidekontamination beitragen, gezielt erhöht und gleichzeitig der Einsatz der Wirkstoffe reduziert werden, indem die Behandlung von Niedrigausscheidern auf ein Minimum oder Null reduziert wird. Allerdings ist die selektive Entwurmung nur für die Anwendung bei adulten Pferden, deren Immunreaktion gegen MDS bereits voll ausgebildet ist, geeignet (NIELSEN 2015; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2011). Alternativ kann auf Basis eines regelmäßigen Monitorings der Betriebe sowie integrativer Kontrollmaßnahmen (z.B. Hygiene) durch zielgerichtete anthelminthische Behandlung vorgegangen werden. Dabei ist es wichtig den Infektionsstatus der jeweiligen Altersgruppe und die Wirksamkeit der verwendeten Wirkstoffe auf den Betrieben zu erfassen (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2011).

Viele Pferdebesitzer entwurmen jedoch nach wie vor engmaschig und ohne vorherige Diagnostik. Nach Untersuchungen von KAPLAN (2002) waren mehr als 50% der beprobten Pferde frei von Strongylideneiern, weshalb hohe Entwurmungsfrequenzen als nicht mehr zeitgemäß angesehen werden und sich zudem negativ auf die Ausbildung einer Immunität auswirken können (KAPLAN 2002).

### **3 Material und Methoden**

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Verbrauchsmaterialien

##### 3.1.1.1 Blutentnahme und Serumgewinnung

- Nobaglove Einmalhandschuhe, Gr. M, Softnitril, puderfrei, Fa. NOBA Verbandmittel Danz GmbH und Co KG, Wetter, Deutschland
- Nobatop 12, Vliesstoffkompressen, 10x10 cm, Fa. NOBA Verbandmittel Danz GmbH und Co KG, Wetter, Deutschland
- Alkohol, Hospisept, Fa. Lysoform Dr. Hans Rosemann GmbH, Berlin, Deutschland
- Sterican Einmal-Injektionskanülen, 18G, Braun, Melsungen, Deutschland
- Spritzen, 20 ml / Luer Solo, Braun, Melsungen, Deutschland

- Serumröhrchen, 10 ml, 101x16,6 mm, Z, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- EDTA-Röhrchen, 4 ml, 75x12 mm, K3E, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Micro Tubes, 1,5 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Transferpipetten (Einmalgebrauch), 3,5 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Isotonische Natriumchlorid-Lösung ad us. vet., 0,9%, 1000 ml, Fa. AlleMan Pharma GmbH, Rimbach, Deutschland
- Heparin-Natrium Braun "Multi" Injektionsflasche zu 20 ml, 10.000 I.E./ml, Fa. Braun, Melsungen, Deutschland
- LABSOLUTE Cryoröhrchen, PP, 2 ml, Fa. Th. Geyer, Renningen, Deutschland

#### 3.1.1.2 Kotprobenentnahme

- curaVet SuperSense Rektalhandschuhe, PE, 95 cm, Gr. L, Fa. WDT, Garbsen, Deutschland
- Gleitgel, 1000 ml, Fa. Rebopharm Arzneimittelvertriebsgesellschaft, Bocholt, Deutschland
- Urinbecher mit Schraubdeckel, Uritop S, PP, 100 ml, Fa. B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
- Nobaglove Einmalhandschuhe, Gr. M, Softnitril, puderfrei, NOBA Verbandmittel Danz GmbH und Co KG, Wetter, Deutschland

#### 3.1.1.3 Koproscopische Untersuchungen

- Rotiprotect-Nitril Einmalhandschuhe, Gr. M, puderfrei, Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland
- ASSISTENT Zungenspatel aus Holz (Einmalgebrauch), Fa. Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH und Co KG, Sondheim/Rhön, Deutschland
- DURAN Becherglas, 250 ml, Fa. Schott AG, Mainz, Deutschland
- Messzylinder/Standzylinder, PP, 100 ml, Fa. VITLAB GmbH, Grossostheim, Deutschland
- Transferpipetten (Einmalgebrauch), 3,5 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland

- Falcon-Röhrchen (Zentrifugenröhrchen), 15 ml, 120x17 mm, PP, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Honiggläser (250 ml) mit Plastikschraubverschluss, unbekannter Hersteller
- gesättigte Kochsalzlösung
- handelsübliches Teesieb, Maschenweite 0,8mm, unbekannter Hersteller
- handelsübliche Sägespäne, unsterilisiert
- DURAN Petrischalen, 10 cm Durchmesser, Fa. Schott AG, Mainz, Deutschland
- Spritzflasche, 1000 ml, unbekannter Hersteller
- ASSISTENT Objektträger, geschnitten, Fa. Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH und Co KG, Sondheim/Rhön, Deutschland
- Kolbenhubpipette, Range 10-100 µl, Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Pipettenspitzen, 10 µl, farblos, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- SafeSeal Reagiergefäße, 1,5 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland

#### 3.1.1.4 DNA-Isolation

- Nucleospin° 8 Kit vacuum processing Testkit, Fa. Machery-Nagel GmbH & Co KG, Düren, Dt. (T1-buffer, Proteinkinase K, BQ1 binding buffer, BW-Wash buffer, B5-Wash buffer, Elution buffer BE)
- Ethanol Ph.Eur.Reinst 99,5%, Fa. Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Dt.
- Pistille, Kunststoff (grün, rot, blau)
- Multipette° X-Stream von Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Dt.
- Pipettenaufsatz 0,2 ml, Fa. Eppendorf, AG, Hamburg, Dt.
- Kolbenhubpipette (Range 10-100µl), Fa. Eppendorf
- Kolbenhubpipette (Range 100-1000 µl), Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Dt.
- Pipettenspitzen Safe Seal Tips Professional, Fa. Biozym Scientific GmbH, Oldenburg, Dt.
- Multipette° X-Stream von Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Dt.
- Pipettenspitzenaufsätze 0,2 ml, 10 ml, 25ml, Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Dt.
- Nucleo Spins° (Tissue binding strips), Fa. Machery-Nagel GmbH & Co KG, Karlsruhe, Dt.
- Roti° Nukleinsäurefrei, Fa. Roth
- Micro Tube Racks
- Tubes, Fa. Machery-Nagel GmbH & Co KG, Düren, Deutschland

### 3.1.1.5 PCR

- Eppendorf-Tubes 2 ml und 1,5 ml, “SafeSeal”, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Mini-Eppendorf-Tubes klein: “Multiply”, 0,2 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland (2x für die Primer, der Rest jeweils für die Larvenansätze)
- Pipettenspitzen (Filtertips) Safe Seal Tips Professional, Fa. Biozym Scientific GmbH, Oldenburg, Dt.
- Kolbenhubpipetten (Ranges 0-10µl, 10-100µl, 100-1000µl), Fa. Eppendorf
- Mastermix-Kit GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix A6002, Fa. Promega, Madison, WI, USA (für den allgemeinen Nachweis von 28S-Nematoden-DNA und für den spezifischen Nachweis von *S. vulgaris*-DNA):
  - Aqua dest. → Aqua dest. Nuklease-frei und autoklaviert, DEPC-behandeltes Wasser, 1 ml Tubes, Fa. Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland
  - Puffer: “5x Phusion HF buffer”, Fa. Thermo Scientific, Waltham, USA
  - dNTPs: 10 mM dNTP-Mix, Fa. Thermo Scientific, Waltham, USA
  - Forward- und Reverse-Primer (Pan-Nematoden-spezifische 28S-Vorwärts- bzw. Rückwärts-Primer und *S. vulgaris*-spezifische Vorwärts- bzw. Rückwärts-Primer), 10 µM
  - DNA-Polymerase “Phusion Hot Start II”, Fa. Thermo Scientific, Waltham, USA
- DNA von *S. vulgaris*-Larven (Positivkontrolle), Gluck Equine Research Institute, Prof. Martin Nielsen, University of Kentucky, Lexington
- Larvale DNA mit der Proben-ID „85“ (Positivkontrolle)
- 96-well-PCR-Platte, Fa. Biozym Scientific GmbH, Oldenburg, Dt.
- Schutzfolie für 96-well-Platte “Opti-Seal”, Optical Disposable Adhesive, Fa. BIOplastics, Landgraaf, Niederlande

### 3.1.2 Gerätschaften

- Laborzentrifuge Z 300, Fa. Hermle Labortechnik, Wehingen, Deutschland

- Laborzentrifuge Rotofix 32, Typ 1205, Fa. Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
- Gefrierschrank
- Präzisionswaage, Fa. Sartorius, Göttingen, Deutschland
- FLOTAC & Larvengewinnung: Multifuge X3R (Kühlzentrifuge), ThermoFisher Scientific, Fa. Thermo Electron LED GmbH, Osterode, Deutschland
- FLOTAC<sup>®</sup>-Kammern (Vet. Parasitology, Naples)
- Lichtmikroskop BH-2, Fa. Olympus AG, Tokio, Japan
- Klimalagerschrank KBF 720 (Brutschrank), Fa. Binder, Tuttlingen, Deutschland
- Vortexmischer, Fa. Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland
- Thermoblock „Tmix“, Fa. Analytik Jena AG, Jena, Deutschland
- Vakuumstation (Fa. Machery-Nagel GmbH & Co KG, Düren, Deutschland)
- Mini-Zentrifuge, Model GMC-060, Fa. Neolab, Heidelberg, Deutschland

### 3.1.3 Dokumentation und Auswertung

- Google Docs Formular
- Google Docs Tabelle und Excel für Mac 2011 Version 14.4.0
- SPSS Statistics 23.0 und 24.0 für OS X 10.11 und OS X 10.12.1
- Fotobox zur Gelbildanfertigung → Gbox, Fa. SynGene Europe, Cambridge, United Kingdom
- „GeneSnap“ Software, Fa. SynGene Europe, Cambridge, United Kingdom

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Auswahl der Fälle und Kontrollen

Kriterien für die Auswahl der Kolikfälle beinhalteten anamnestische Angaben wie Scharren, Schwitzen, Schauen nach der Flanke, Zähneknirschen, Wälzen, Niederstürzen, Flehmen, Tritte gegen den Bauch, Entlastungshaltungen und / oder lange Liegephasen des Pferdes.

Die Kontrollen wurden aus dem Patientengut der Klinik für Pferde am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin generiert. Diese sollten sich annähernd im gleichen Alter wie die Fälle befinden und umfassten Pferde mit orthopädischen und

nicht-Kolik-assoziierten Erkrankungen. Oft handelte es sich bei den Kontrollpferden um aufgrund einer Lahmheit oder Sportverletzung vorgestellte Tiere.

Insgesamt wurden 312 Koliker und 308 Kontrollen beprobt.

Unter allen Kolikern wurden im Rahmen der späteren statistischen Auswertung folgende Diagnosen unterschieden:

- Obstipationen Dickdarm / Dünndarm
- Verlagerungen Dickdarm / Dünndarm
- Spastische Kolik
- Meteorismus
- Strangulationskolik
- Enteritis / Colitis
- PMÜ / EGUS
- Kolik unklarer Genese
- Sonstige

Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass Dünndarmverlagerungen keine Verlagerungen per se, sondern Verdrehungen im Sinne eines Volvulus oder hernienbedingte Inkarzerationen umfassten. Die Variable „Sonstige“ umfasste Diagnosen, bei denen die Kolik fremdkörperbedingt oder aber nicht primär intestinaler Ursache war (insbesondere Erkrankungen des Urogenital- bzw. Reproduktionstraktes und der Leber).

### 3.2.2 Probenentnahmen

Sämtliche Blut- und Kotuntersuchungen bei den Kolik- als auch Kontrollpferden gehörten zum Standarduntersuchungsgang aller in die Klinik eingestellten Pferde.

#### 3.2.2.1 Blutentnahme

Von jedem Kolik- respektive Kontrollpferd wurde Blutserum für die spätere serologische Diagnostik entnommen. Nach Desinfektion der Punktionsstelle wurden mittels einer Einmalkanüle der Größe 18G 20 ml Vollblut in eine gleichvolumige Spritze

überführt und das Blut von dort in ein Serum- und anschließend EDTA-Röhrchen überführt. Bei Kolikpatienten, die eine Infusionstherapie erhielten, wurde nach Verwerfen der ersten 10 bis 20 ml Blut entsprechend verfahren. Es folgte eine mindestens 30-minütige Standzeit des Serumröhrchens bei Zimmertemperatur. Anschließend erfolgte die Abtrennung des Serums durch zehnminütige Zentrifugation mit 901g bei 2500 Umdrehungen pro Minute. Der Überstand wurde mit einer Einmal-Pasteurpipette abgenommen und das Serum in Eppendorfgefäßen aliquotiert. Bis zur Analyse blieben diese aliquoten Teile bei -20°C eingefroren. Ein Teil des gefrorenen Serums diente der späteren Durchführung einer Serumelektrophorese, bei der die einzelnen Serumproteine durch das Laborteam der Pferdeklinik elektrophoretisch aufgetrennt wurden.

In seltenen Fällen (Einlieferung am Wochenende oder nachts) wurde das Serum auch bereits zuvor durch die diensthabenden Tierärzte der Pferdeklinik gewonnen und bis zum Folgetag im Kühlschrank bei +6°C aufbewahrt.

### 3.2.2.2 Kotprobenentnahme

Zu jedem Kolikuntersuchungsgang gehört eine rektale Untersuchung (RU), sofern es die Grösse des Pferdes zulässt. Im Rahmen dieser RU wurde der Kot mittels eines mit Gleitgel versehenen Rektalhandschuhs entnommen oder – weitaus häufiger – aus der Patientenbox gesammelt. Der Zeitraum zwischen letzter Entwurmung und Kotprobenentnahme blieb dabei unberücksichtigt. Bei Pferden, die keinen Kot in der Ampulla recti aufwiesen, musste entsprechend auf Kotabsatz gewartet werden. In diesen Fällen wurde der möglichst frisch abgesetzte Kot unter größtmöglicher Vermeidung von Kontamination vom Boden der Patientenbox aufgehoben, genauer aus der Mitte des Kothaufens, die keinen Kontakt zur Umgebungseinstreu aufwies. Gleiches erfolgte in Fällen, bei denen die Besitzer mit einer rektalen Kotprobenentnahme nicht einverstanden waren. Selten erfolgte die Kotgewinnung auch während einer Laparotomie. Bei zwei verstorbenen, hochgradig obstipierten Kolikern konnte der Kot auch post mortem im Rahmen einer von den Besitzern gewünschten Obduktion entnommen werden. Die Aufbewahrung der Fäzes erfolgte in zwei Plastikbechern (Urinbecher) mit Schraubdeckelverschluss, wovon der erste Becher (Kotprobe 1) mit mindestens 10 Gramm Kot für die Eizählung (vgl. Kapitel 3.2.4.2) befüllt wurde und der zweite (Kotprobe 2) mit mindestens 50 Gramm Kot dem

späteren Anlegen einer Larvenkultur (vgl. Kapitel 3.2.4.3) diene. Für Fäzes, die nicht sofort parasitologisch untersucht wurden, erfolgte die Lagerung bis zur Diagnostik in einem Kühlschrank bei +6°C (nur Kotprobe 1).

Innerhalb der Kontrollgruppe wurde hinsichtlich der Entnahmemethode gleichermaßen verfahren.

### 3.2.3 Serodiagnostik

Für die spätere Ermittlung der Prävalenz von Antikörpern gegen larvale *S. vulgaris* respektive gegen *A. perfoliata* wurden die Seren auf Trockeneis zur Bestimmung der ELISA-Werte an zwei kooperierende Institute verschickt. Der Nachweis von Antikörpern gegen die Larven von *S. vulgaris* erfolgte im *Gluck Equine Research Center* unter Anwendung des von ANDERSEN et al. (2013a) entwickelten Anti-SvSXP-ELISA (Martin Nielsen, DVM, Ph.D, DipEVPC, University of Kentucky, Lexington).

Die Bestimmung der spezifischen IgG(T)-Antikörper gegen *A. perfoliata*-E/S-Proteine fand ebenfalls in einem ELISA-Test an der University of Bristol, School of Clinical Veterinary Sciences statt (Doug Wilson, BVM&S, MVSc, PhD, MRCVS, Langford, Bristol).

### 3.2.4 Koproskopische Untersuchungen

Nach der Kotprobenentnahme folgte

- die makroskopische Untersuchung der Fäzes
- die Ermittlung der fäkalen Eizahl pro Gramm Kot
- die Anzucht von Drittlarven mit anschließender Extraktion der Larven-DNA.

#### 3.2.4.1 Makroskopische Untersuchung der Fäzes

Der Kot wurde auf Form, Konsistenz und Beimengungen untersucht. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf das Vorkommen eliminerter, parasitärer Gebilde (Larven, adulte Würmer, Proglottiden von Bandwürmern) gerichtet.

### 3.2.4.2 Eizählung mittels FLOTAC<sup>®</sup>-Verfahren

Die Mehrheit der Kotproben wurde durch das Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin untersucht. Nur ein kleiner Teil erfolgte durch die Autorin selbst. Die Helmintheneier wurden unter Anwendung der von CRINGOLI et al. (2010) beschriebenen FLOTAC<sup>®</sup>-Methode gemäß Standardprotokoll ausgezählt. Dieses Verfahren basiert auf dem Prinzip der Flotation bei einer Nachweisgrenze von 1 Ei pro Gramm Kot.

Je Pferd wurden hierfür 10 g Kot abgewogen und diese Menge in ein Honigglas überführt. Durch die Zugabe von 90 ml Leitungswasser ließ sich nach Homogenisierung mittels eines Holzspatels eine Kotsuspension herstellen. Diese Suspension wurde anschließend durch ein handelsübliches Teesieb gegossen und das Filtrat in einem weiteren Glas aufgefangen. Mittels einer Einwegpipette folgte der Transfer von 11 ml gewonnenen Filtrats in ein Falcon-Röhrchen. Dieses Röhrchen wurde mit der entsprechenden Patienten-ID versehen und für 2 Minuten mit 503g bei 1500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Durch Dekantieren konnte im Anschluss das Sediment von dem Überstand getrennt werden. 11 ml einer Flotationslösung (gesättigte Natriumchloridlösung) wurden mit einer Einwegpipette aufgezogen, dem Sediment beigefügt und beides miteinander vermischt. Beide Kammern des FLOTAC<sup>®</sup>-Apparates (vgl. Abbildung 1) wurden gleichmäßig mit je 5 ml dieser Lösung befüllt, durch Drehen der Lesescheibe verschlossen und für 5 Minuten mit 224g bei 1000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Im Anschluss konnten die Eier in beiden Kammern mikroskopisch erfasst werden, wobei jedes gezählte Ei einem Wert von 1 Ei pro Gramm Kot (EpG) für die jeweilige Kotprobe entsprach.

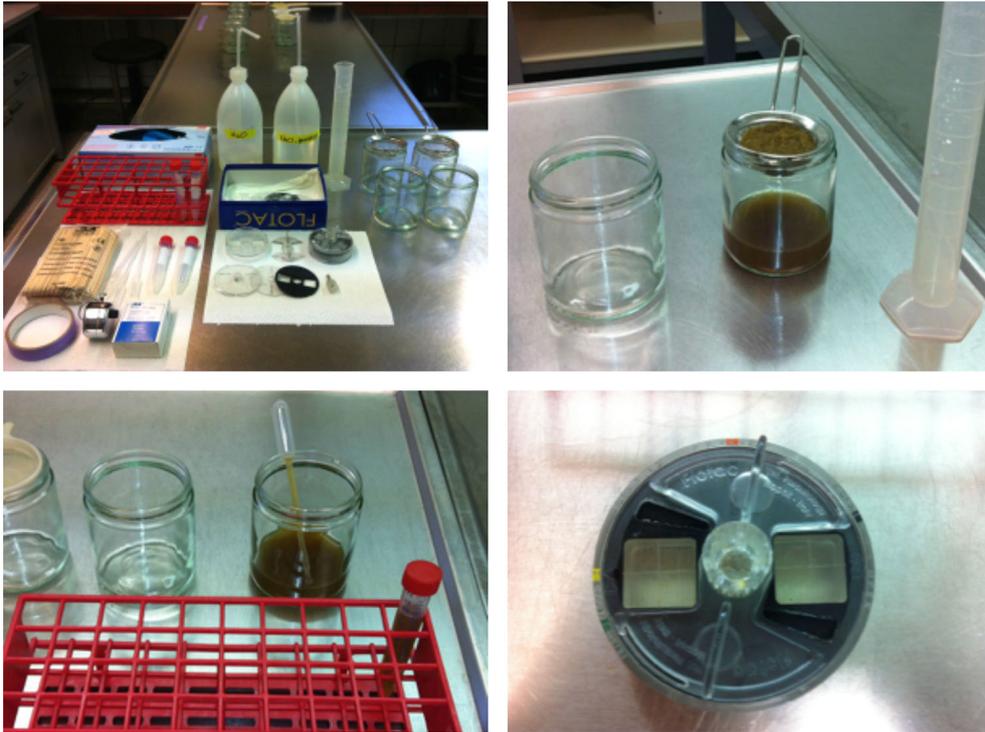


Abbildung 1: Eizählung mittels FLOTAC<sup>®</sup>-Verfahren.

### 3.2.4.3 Anlegen von Larvenkulturen

Eine Larvenkultur (Koprokultur) wurde nur ab einem EpG-Wert von 1 angelegt. Negative FLOTAC-Befunde blieben demnach von der Koprokultur ausgeschlossen. Für die ersten 142 Koliker resp. Kontrollen wurden diese Kotkulturen durch das parasitologische Institut der Freien Universität angelegt. Die Durchführung aller folgenden Larvenkulturen erfolgte bis zum Studienende durch die Autorin selbst.

Hierfür wurden mindestens 50 Gramm körper- beziehungsweise zimmerwarmen Kotes abgewogen und in ein handelsübliches, mit der Patienten-ID beschriftetes Honigglas überführt. Die Fäzes wurden mittels eines Holzspatels aufgelockert. Besonders dünnbreiiger bis flüssiger Kot konnte durch Zugabe von Sägespäne etwas gebunden werden. Jedes Glas wurde locker mit einem Plastikdeckel versehen und anschließend für 7 bis 10 Tage bei +25°C im Brutschrank inkubiert (vgl. Abbildung 2).



Abbildung 2: Koprokulturen im Inkubationsschrank.

#### 3.2.4.4 Larvenauswanderung

Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurde der aufgelockerte Kot mit einem sauberen Einmalhandschuh leicht angepresst, das Glas mit Leitungswasser bis zum Rand befüllt und dieses mit einer Petrischale abgedeckt. Beides wurde nun vorsichtig gestülpt und die Petrischale mittels einer Spritzflasche bis zur Hälfte mit Leitungswasser befüllt. Bei Zimmertemperatur folgte eine 12- bis maximal 24-stündige Standzeit der mit Wasser versetzten und vorab bebrüteten Kotkultur (vgl. Abbildung 3).



Abbildung 3: Gestülpte Kotkulturen.

Nach Ablauf dieser Zeit wurde die gesamte Flüssigkeit mittels einer Einmal-Transferpipette aus der Petrischale abgenommen und in ein Falcon-Röhrchen überführt. Die hier verteilten Larven wurden vom Leitungswasser getrennt, das heißt für 5 Minuten mit 1753g bei 2800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, anschließend der Überstand dekantiert und das zurückbleibende Larvenpellet per Einmal-Pasteurpipette in ein mit der Patienten-ID versehenes Eppendorfgesäß gefüllt. Bis zur DNA-Extraktion blieben diese bei -20°C eingefroren.

### 3.2.5 Qualitativer Nachweis von Nematoden-DNA

#### 3.2.5.1 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion diente als vorbereitender Schritt für die spätere Identifizierung von *S. vulgaris*- als auch mukosalen Cyathostomienlarven.

Die Isolierung der genomischen Larven-DNA erfolgte unter Anwendung eines DNA-Extraktionskits der Firma Machery-Nagel GmbH & Co KG (NucleoSpin®Tissue).

Jedes Larvenpellet wurde vorbereitend bei Zimmertemperatur aufgetaut und mechanisch mit einem sterilen Kunststoffpistill zerstampft. Es folgte die Überführung von 180 µl T1-Puffer in jedes Larventube mit anschließender Durchmischung im Vortexer. Mit dem Zusatz von je 25 µl Proteinase K wurde jede Probe über Nacht auf einem Thermoblock bei 56°C und 600 Umdrehungen pro Minute inkubiert. Das Binden freier DNA an die Silica-Membran mit anschließender Aufreinigung der Nukleinsäure folgte nach Angaben des Herstellers. Die DNA wurde sodann mit jeweils 50 µl BE-Puffer versetzt und durch das Anlegen von Unterdruck in der Vakuumstation von der Membran eluiert.

#### 3.2.5.2 28S-PCR zum allgemeinen Nachweis von Nematoden-DNA

Vor Einsatz in der Real-time PCR wurde die aufgereinigte Larven-DNA in einer konventionellen PCR getestet. Die Reaktion erfolgte mit „Phusion Hot Start II“-Polymerase.

Für jeden 20 µl Ansatz wurden hierfür benötigt:

- 12,4 µl Aqua dest. (Nuklease-frei)
- 4 µl Pufferlösung
- 0,4 µl dNTPs
- 0,5 µl Primer-fwd (Vorwärtsprimer, DEMELER et al. 2013):
  - GGCGAGTGAACGGGGAGAAGCCCAGCGCTGAA
- 0,5 µl Primer-rev (Rückwärtsprimer, DEMELER et al. 2013):
  - TTTCTTCACAGTACTTGTGGCTATCGAATT
- 0,2 µl Phusion (PCR-Polymerase)
- 2 µl Larven-DNA als Template.

Im Falle der Negativkontrolle ersetzen 2 µl Aqua dest. das DNA-Template. Als Positivkontrolle fungierte larvale DNA von *S. vulgaris*, die freundlicherweise durch das Gluck Equine Research Center (Prof. Martin Nielsen, University of Kentucky, Lexington) gestellt wurde.

In einigen Ansätzen, in denen die larvale *S. vulgaris*-DNA als Positivkontrolle nicht mehr ausreichte, wurde diese durch eine PCR-positive Probe aus dem eigenen Patientengut ersetzt. Hierbei handelte es sich um die Proben-ID 85.

Nachfolgend fand die PCR-Reaktion im Thermocycler statt. Nach initialer Denaturierung wurde in 35 Zyklen folgendes Temperatur- und Zeitprofil umgesetzt:

- Denaturierung bei 95°C für 30 Sekunden
- Primer-Annealing bei 55°C für 30 Sekunden
- Primer-Elongation bei 72°C für 1 Minute.

Anschließend folgte die finale Elongation bei 72°C für 5 Minuten und die finale Kühlphase bei 12°C.

Die PCR-Produkte (Amplifikate) wurden in einer anschließenden Agarose-Gelelektrophorese nach ihrer Größe und ihrem molekularem Gewicht identifiziert.

### 3.2.5.3 Real-time PCR zum spezifischen Nachweis von *S. vulgaris*-DNA

Um zu wissen, bei welcher Temperatur die Polymerase später bei der spezifischen *S. vulgaris*-PCR arbeiten soll, wurde im Vorfeld eine Gradienten-PCR durchgeführt.

8 Proben wurden dafür im Doppelansatz vorbereitet, das heißt je Probe:

- 19 µl Mastermix
- + 1 µl DNA-Template (hier: *S. vulgaris*-DNA).

Proben, die in der allgemeinen 28S-PCR positiv waren, wurden anschließend in einer Spezies-spezifischen Real-time PCR auf das Vorliegen larvaler *S. vulgaris*-DNA untersucht. Jeder 20 µl Ansatz wurde dafür mittels des GoTaq® qPCR Master Mix Kits der Firma Promega hergestellt und enthielt:

- 10 µl PCR-Master-Reaktionsgemisch
- 8 µl DEPC-Wasser
- 0,5 µl Primer-fwd (Vorwärtsprimer, NIELSEN et al. 2012b):
  - 5' -GTATACATTAATAGTGTCCCCATTCTAG-3'
- 0,5 µl Primer-rev (Rückwärtsprimer, NIELSEN et al. 2012b):
  - 5' -GCAAATATCATTAGATTTGATTCTTCCG-3'
- 1 µl Larven-DNA als Template.

Durch die sehr UV-Licht-empfindliche Polymerase wurde dieser Master Mix stringent unter Ausschluss von Tageslicht angesetzt. Als Positivkontrolle diente auch hier larvale DNA von *S. vulgaris* aus dem Gluck Equine Research Center (Prof. Martin Nielsen, University of Kentucky, Lexington). Für die Negativkontrolle ersetzte 1 µl DEPC-Wasser das DNA-Template.

Die PCR-Reaktion fand nachfolgend im Thermocycler mit 50 Zyklen und einer Annealingtemperatur von 61°C statt.

Fraglich-positive Amplifikate wurden auf einem 2%-igen Agarosegel dargestellt.

#### 3.2.5.4 Gelelektrophorese

Die Amplifikationsprodukte aus dem vorangegangenen PCR-Prozess wurden elektrophoretisch aufgetrennt, wobei die Wahl der Gel-Konzentrationsstufe von dem jeweiligen Trennbereich der zu erwartenden Fragmentgröße abhing. Verwendet wurde 1,5%-iges Gel für den allgemeinen Nachweis von Nematoden-DNA resp. 2%-iges Gel für den Nachweis von *S. vulgaris*-DNA. Für die Herstellung des Gels diente Agarosepulver, das in TAE-Puffer durch sanftes Schwenken grob gelöst und anschließend bis zur makroskopischen Klarheit in der Mikrowelle aufgeköcht wurde. In eine adäquat große Gelkammer wurden Kämme benötigter Größe gesetzt und 100 ml der warmen, aber nicht mehr heißen Agarose nach Zusatz von 10 µl Gelladepuffer „GR-Green“-Substanz in diese Kammer gegossen. Die Agarose härtete für etwa 20 bis 30 Minuten bei Zimmertemperatur aus, wurde anschließend in eine Gelelektrophoresekammer gesetzt und mit TAE-Puffer überschichtet. Jedes Amplifikat sowie eine Positiv- und Negativkontrolle wurde zur späteren Visualisierung mit 5 µl Gelladepuffer vermischt und in eine Geltasche pipettiert. Zusätzlich kamen 5 µl Referenzmarker für den Vergleich von Kontroll- und Probenbanden zum Einsatz. Durch Anlegen einer Spannung von 80 bis 90 Volt wurde der Lauf der PCR-Produkte in der Gelmatrix gestartet. Die Visualisierung der Nukleinsäuren erfolgte in einer Fotobox mit hochauflösender 3,8-MP-Kamera (vgl. Abbildung 4). Ein entsprechendes Softwareprogramm diente der weiteren Bildbearbeitung (GeneSnap, SynGene). Ergab der Vergleich von Probenbande und Positivkontrolle eine identische Größe, konnte die Probe als positiv angenommen werden. Die Negativkontrolle diente der Überprüfung, ob der Ansatz kontaminationsfrei durchgeführt wurde.

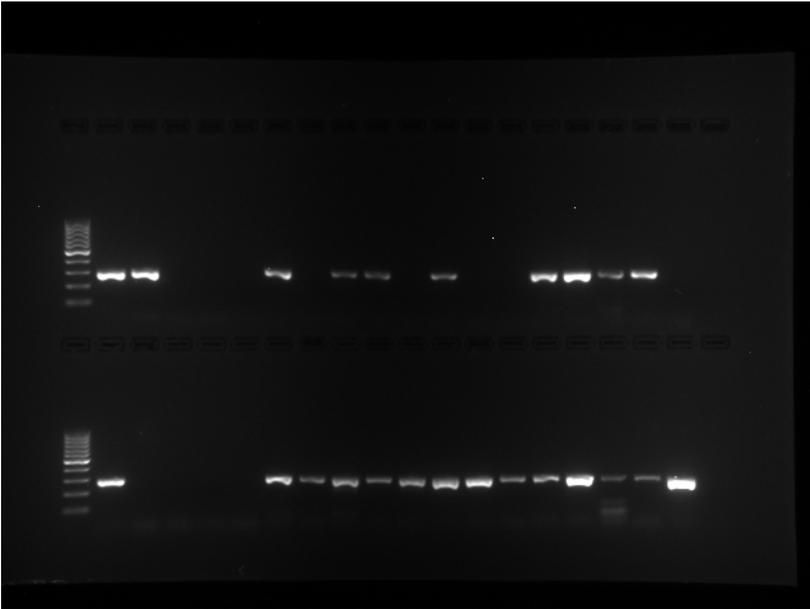


Abbildung 4: Beispiel für ein Gelbild, Proben 397-494, 2x 20er-Kamm. Obere Reihe v. links nach rechts: Marker, PK, 17 Proben, NK. Untere Reihe v. links nach rechts: Marker, PK, 17 Proben, NK.

### 3.2.6 Reverse-Line-Blot-Analyse (RLB)

Aliquots der extrahierten und gereinigten Larven-DNA wurden unter Lagerung auf Trockeneis in die Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Teramo geschickt (Prof. Donato Traversa DVM, PhD, DipIEVPC, Faculty of Veterinary Medicine, Teaching Veterinary Hospital, 64100, Teramo, Italy). Der dort etablierte RLB-Assay (TRAVERSA et al. 2007) zielte auf die Identifizierung der häufigsten beim Pferd parasitierenden Cyathostominae-Spezies ab.

### 3.2.7 Fragebogen

Da jeder Koliker bei Einlieferung in die Klinik vorwiegend in Begleitung seines Besitzers war, gelang es, die vorformulierten Fragen vor Ort zu klären. Erlaubte es die Situation nicht oder handelte es sich um Kontrollpferde, wurden die Fragebogendaten zu einem späteren Zeitpunkt telefonisch erhoben. In seltenen Fällen erreichten die Fragebögen den Besitzer auf postalischem Weg.

Jeder Fragebogen (vgl. Anhang) thematisierte neben den Variablen Alter, Geschlecht und Rasse auch Aspekte des jeweiligen Entwurmungsregimes sowie Angaben zu

Symptomen, die für eine vorherrschende Parasitose sprechen können (Durchfall, Abmagerung, rezidivierende Kolik, Husten, Leistungsinsuffizienz). Für eine ergänzende Studie von ERTELT et al. (2015) wurden im Fragebogen zusätzlich Daten zum Haltungsmangement der Pferde erfasst.

### 3.2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm „IBM SPSS Statistics 23.0 und 24.0“ für OS X 10.11 und OS X 10.12.1. Alle statistischen Tests wurden unter Annahme einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% durchgeführt.

Für die deskriptive Analyse kategorialer Daten kamen Häufigkeitstabellen, Balken-, Kreisdiagramme und Kreuztabellen sowie die Angabe der Lagemaße zum Einsatz. Für Assoziationsanalysen nominalskalierten Daten (z.B. Rasse, Alter, Geschlecht, serologische und koproscopische Ergebnisse, Symptome, Diagnosen) wurde der  $\chi^2$ -Test (= Chi-Quadrat-Test) angewendet, ggf. auch der Exakte Test nach Fisher, sofern die Voraussetzungen für einen Chi-Quadrat-Test nicht gegeben waren. Ein logistisches Regressionsmodell kam an geeigneter Stelle ergänzend zum Einsatz (vgl. Kapitel 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10), insbesondere bei Erreichen signifikanter bzw. annähernd signifikanter Ergebnisse im Chi-Quadrat-Test (Schwellenwert:  $p < 0,2$ ).

Bei der Überprüfung auf das Vorliegen normalverteilter Daten wurden Schiefe, Kurtosis, Median und Mittelwert herangezogen, aber auch Grafiken (Histogramme, Q-Q-Plots und Boxplots) oder Testverfahren wie der Shapiro-Wilk- oder Kolmogorov-Smirnov-Test wurden mit in die Beurteilung einbezogen. Quantifizierbare, normalverteilte Daten wurden für einen Mittelwertvergleich parametrisch mit dem T-Test ausgewertet, nicht-normalverteilte Daten dagegen nicht-parametrisch im Mann-Whitney-U-Test untersucht, wobei für beide Testverfahren jeweils eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % angenommen und die Daten gegebenenfalls vorher log-transformiert wurden.

Insgesamt umfasste die Datenerhebung 620 Pferde, darunter 312 aus der Gruppe der Koliker (Kodierung 1) und 308 aus der Gruppe der Kontrollpferde (Kodierung 2). Die Altersstruktur der beprobten Tiere wurde getrennt nach Fohlen (< 1 Jahr), 1-3-Jährigen sowie adulten Pferden ( $\geq 3$  Jahren). Rassen wurden in Warmblut, Vollblut, Kaltblut, Pony und Traber kategorisiert, das Geschlecht in weiblich, männlich und männlich-

kastriert (vgl. Tabelle 3).

Tabelle 3: Kategoriale Zuordnung der Variablen Rasse, Alter und Geschlecht.

Variable	Kategoriale Zuordnung
<b>Altersklasse</b>	1 = Fohlen (< 1 Jahr) 2 = 1-3-Jährige 3 = Adulte (≥ 3 Jahre)
<b>Rasse</b>	1 = Warmblut 2 = Vollblut 3 = Kaltblut 4 = Pony 5 = Traber
<b>Geschlecht</b>	1 = Stute 2 = Wallach 3 = Hengst

Der Grad der Eiausscheidung wurde in niedrig (EpG = 1-199), moderat (200-499) und hoch (EpG ab 500) kategorisiert.

Hinsichtlich der serologischen *S. vulgaris*-Untersuchungen wurde der Datensatz zur Unterscheidung in positive und negative Proben so gefiltert, dass OD-Werte von bis zu 13,47% der Positivkontrolle (PK) als eindeutig negativ und OD-Werte oberhalb dieser validierten Toleranzgrenze als eindeutig positiv angenommen und ausgewertet wurden (NIELSEN et al. 2015a; ANDERSEN et al. 2013a). Um eine mögliche Assoziation zwischen *S. vulgaris* und einer Kolik zu prüfen, wurden die OD-Werte im Mann-Whitney- beziehungsweise T-Test analysiert. Dabei sollte der Frage nachgegangen werden, ob sich die mittleren *S. vulgaris*-Antikörperkonzentrationen bei Pferden mit Kolik signifikant von den Titern jener Pferde, die nicht an einer Kolik litten, unterscheiden. Lagemaße, Grafiken und Normalverteilungstests deuteten in beiden Gruppen auf nicht-normalverteilte Daten hin, sodass sich für den Vergleich der OD-Mittelwerte nur nicht-parametrische Testverfahren eigneten. Eine log-Transformation der Daten wurde aufgrund der teilweise negativen oder nullwertigen OD-Werte nicht durchgeführt.

Für den serologischen Bandwurmnachweis wurde zur Unterscheidung positiver und negativer Proben eine etablierte Toleranzgrenze von 25 ELISA-Einheiten verwendet (PITTAWAY et al. 2014). Lagemaße, Grafiken und der Test auf Normalverteilung

(Kolmogorov-Smirnov) sprachen sowohl in der Gruppe der Koliker als auch in der Kontrollgruppe für nicht-normalverteilte Daten. Gleiche Verhältnisse ergaben sich nach Filtern eines extremen Ausreissers [ID 312A, IgG(T) = 2271,7 ELISA-Einheiten]. Nach log-Transformation der Daten und Filtern des Ausreissers stellten sich die Daten in der Gruppe der Koliker im Histogramm annähernd normalverteilt dar. Die Kontrollgruppe zeigte dagegen eine rechtsschiefe Verteilung im Histogramm und vermehrt Ausreisser im Q-Q-Plot. Median und Mittelwert lagen in beiden Gruppen relativ nah beieinander. Aus diesen Gründen kam die Anwendung nicht-parametrischer Tests zum Einsatz.

Die Ergebnisse aus der Real-time PCR wurden kodiert dargestellt und unter Verwendung von 3 Ausprägungen mit nominalem Datenniveau ausgewertet (0 = negativ, 1 = positiv, 2 = fraglich). Für 17 Pferde existierte trotz positiven Einachweises keine Larvenkultur. Das Ergebnis wurde als positiv bewertet, wenn sowohl in der Gelelektrophorese als auch in der Real-time PCR DNA von *S. vulgaris*-Larven nachweisbar war. Als fraglich-positiv stellten sich Befunde heraus, wenn die Ergebnisse der Real-time PCR und der Gelelektrophorese voneinander abwichen. Ob die Ergebnisse aus der Real-time PCR möglicherweise mit der Kolik assoziiert sind, wurde unter Zuhilfenahme des  $\chi^2$ -Testes ausgewertet. Da nicht alle Voraussetzungen für die Anwendung eines  $\chi^2$ -Testes erfüllt waren (2 Zellen mit erwarteter Häufigkeit <5), wurde zusätzlich der Exakte Test nach Fisher angewendet.

Für die Prävalenzermittlung und Differenzierung der kleinen Strongyloiden kam ein Balkendiagramm zum Einsatz. Für jede der 13 möglichen Cyathostominenspezies wurde eine eigene Variable erstellt und das Mehrfachantwortset nach der Methode multipler Dichotomien definiert. Ein möglicher Zusammenhang zur Kolik wurde in einer 2x2-Felder-Tafel untersucht und im Chi-Quadrat-Test ausgewertet.

Klinische Symptome, die auf das Vorliegen einer Parasitose deuten können, umfassten Husten, Durchfall, Abmagerung, Leistungsinsuffizienz und rezidivierende Kolik. Jeder Pferdebesitzer konnte im Fragebogen Angaben zu diesen Symptomen machen, wobei Mehrfachantworten möglich waren. Für jedes der 5 möglichen Symptome wurde eine Variable in der Datendatei erstellt und das Mehrfachantwortset nach der Methode multipler Dichotomien definiert. Weiterhin wurde untersucht, ob und inwieweit die einzelnen Symptome in Wechselwirkung mit den Ergebnissen der fäkalen Eizählung bzw. den serologischen ELISA-Testergebnissen standen. Die Auswertung erfolgte anhand einzelner Chi-Quadrat- resp. Fisher's Exakt-Tests oder im logistischen

Regressionsmodell.

Für alle Koliker wurde für jede der möglichen Diagnosen eine eigene Variable erstellt und ein Mehrfachantwortset nach der Methode multipler Dichotomien definiert. Dieses Set beinhaltete die Variablen:

- Obstipationen Dickdarm / Dünndarm
- Verlagerungen Dickdarm / Dünndarm
- Spastische Kolik
- Meteorismus
- Strangulationskolik
- Enteritis / Colitis
- PMÜ / EGUS
- Kolik unklarer Genese
- Sonstige

Im Fokus der Überprüfung eines parasitären Zusammenhangs standen vier dieser Diagnosen (vgl. Tabelle 4), die gegen das qualitative Ergebnis der jeweiligen serologischen respektive koprologischen Untersuchung geprüft wurden. Alle anderen Kolikursachen waren von der statistischen Datenanalyse ausgeschlossen. Im Zusammenhang mit den Bandwurmuntersuchungen wurden Obstipationen zusätzlich in Kolon-, Zäkum-, Ileum- und Jejunumanschnitten strukturiert.

Tabelle 4: Kategoriale Zuordnung der Diagnosen (n = 164).

<b>Variable</b>	<b>Kategoriale Zuordnung</b>
<b>Diagnose</b>	1 = Obstipationen des Dickdarms / Dünndarms 2 = Spastische Kolik 3 = Nicht-Lipom-assoziierte Strangulationskolik 4 = Enteritis / Colitis

Die kleinste Einheit des im Fragebogen erfassten Zeitraums zur letzten Entwurmung betrug eine, die größte acht Wochen. Es wurden 3 Kategorien gebildet, mit

- Entwurmung vor < 1 Woche
- Entwurmung vor 1-8 Wochen
- Entwurmung vor  $\geq$  8 Wochen.

Zur Auswertung kamen 597 Werte. Bei den fehlenden Werten handelte es sich um jene, bei denen keine Angaben zur letzten Entwurmung vorlagen. Ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Zeitraum der letzten Entwurmung und der Kolik wurde allgemein in einer Kreuztabelle überprüft und im Chi-Quadrat-Test ausgewertet.

Die Intensität der Koliksymptome wurde in folgende drei Kategorien unterteilt:

- 1 = geringgradig (ggr.)
- 2 = mittelgradig (mgr.)
- 3 = hochgradig (hgr.).

In der einfaktoriellen Analyse (Chi-Quadrat-, Fisher's Exakt-Test) erfolgte die Untersuchung auf Abhängigkeit zu den koprologischen als auch serologischen Testergebnissen.

Mittels der Serumelektrophorese konnten das Totalprotein im Serum der Pferde gemessen und die einzelnen Proteinfractionen gesondert erfasst werden (Albumin,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Globuline). Der Vergleich der Mittelwerte erfolgte entweder aufgrund normalverteilter Daten mittels des parametrischen T-Tests oder im nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test.

## **4 Ergebnisse**

### 4.1 Rasse-, Alters- und Geschlechterverteilung

#### *Rasse*

Mit 60% (n = 368) dominierten Pferde der Rasse Warmblut. Am zweithäufigsten vertreten waren Ponys (n = 146, 23,8%), gefolgt von Vollblütern (n = 48, 7,8%),

Trabern (n = 37, 6%) und Kaltblütern (n = 14, 2,3%). 7 Pferde blieben ohne Angabe einer Rasse.

Die Rasseverteilung zwischen Kolikern und gesunden Pferden zeigt das Balkendiagramm (vgl. Abbildung 5). Unter allen Kolikern waren Warmblutrassen (WB) und Traber (T) etwas häufiger und Kaltblutpferde (KB) nahezu doppelt so häufig vertreten als in der Kontrollgruppe. Die Variablen Rasse und Kolik waren im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant miteinander assoziiert ( $p = 0,168$ ). Im logistischen Regressionsmodell konnte dagegen für die Rasse „Pony“ ein signifikanter Gruppenunterschied berechnet werden. Das relative Risiko (Odds Ratio) für das Auftreten einer Kolik lag für diese Rasse gegenüber Warmblutpferden bei 0,655 ( $p = 0,032$ , vgl. Tabelle 6). Im Umkehrschluss liess sich für die Rasse Warmblut ein Odds Ratio von 1,526 berechnen ( $1/0,655$ ).

Tabelle 5: Anteil „Ponys“ vs. „übrige Rassen“ mit/ohne Kolik.

Ponys	Kolik		
	Ja	Nein	
Ja	62	84	146
Nein	248	219	467
$\Sigma$	310	303	

Formel zur Berechnung des Relativen Risikos (Odds Ratio, OR) für das Auftreten einer Kolik am Beispiel der Rasse „Pony“:

$$\text{OR} = \frac{(\text{Anteil Exponierte in Fällen})}{(\text{Anteil Exponierte in Kontrollen})} = \frac{\frac{62}{248}}{\frac{84}{219}} = 0,65$$

Tabelle 6: Rasse als Risiko für eine Kolik (logistische Regression bei Referenzkategorie Warmblut).

Rasse	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
		Untere	Obere	
Vollblut	0,816	0,447	1,490	0,509
Kaltblut	1,597	0,525	4,856	0,409
Pony	0,665	0,445	0,964	0,032
Traber	1,164	0,589	2,303	0,662

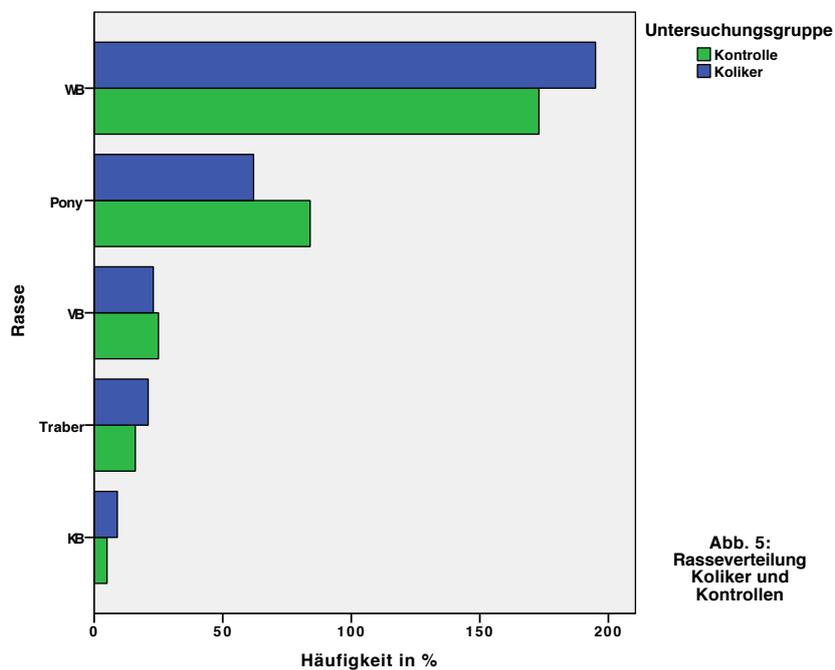
Abb. 5:  
Rasseverteilung  
Koliker und  
Kontrollen

Abbildung 5: Rasseverteilung Koliker / Kontrollen (Koliker n = 310, Kontrollen n = 303).

*Alter*

Das Alter aller Pferde betrug im Mittel  $12 \pm 7$  Jahre und reichte von 19 Tagen bis 36 Jahren bei einem Median von 11 Jahren. Das mittlere Alter der Pferde unterschied sich zwischen Kolikern und Kontrollen nicht signifikant voneinander (T-Test:  $p = 0,8$ ).

Die Gruppe der adulten Pferde machte mit 94,7% ( $n = 586$ ) die Mehrheit aller Pferde aus. Ein- bis dreijährige Tiere kamen zu 4,4% ( $n = 27$ ), Fohlen zu 1% ( $n = 6$ ) vor.

Der Frage nach einer möglichen Assoziation zwischen den Altersklassen und der Kolik wurde im  $\chi^2$ -Test (= Chi-Quadrat-Test) nachgegangen, wobei hier wie zu erwarten keine Signifikanz erreicht wurde ( $p = 0,818$ ). Die Altersverteilung innerhalb der Kolikgruppe zeigte einen sehr starken Shift in Richtung adulte Pferde (95,2%) und die Gruppe der Fohlen war mit einem Prozent eindeutig unterrepräsentiert.

*Geschlecht*

Nahezu die Hälfte aller Pferde waren Wallache ( $n = 307$ , 49,5%). Die Anzahl an Stuten und Hengsten betrug 269 (43,4%) und 44 (7,1%), respektive.

Der Anteil an Stuten, Wallachen und Hengsten war in der Gruppe der Koliker und in der Kontrollgruppe in etwa gleich hoch. Das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf die Frage, ob es sich um ein Kolik- oder Kontrollpferd handelte ( $\chi^2$ -Test :  $p = 0,995$ ). Die Geschlechterverteilung wies insgesamt eine starke Unterrepräsentation von männlich-unkastrierten Pferden auf (7,1%), während Wallache fast die Hälfte (49,5%) aller Koliker ausmachten.

## 4.2 Fäkale Eizählung

*Deskriptive Statistik*

Insgesamt lagen zur Auswertung der Kotprobenbefunde 620 gültige Werte vor, darunter 312 von Kolikern und 308 von Kontrollen. Allgemein wiesen 263 Pferde (42,4%) Eier von Helminthen auf, 357 Pferde (57,6 %) waren dagegen negativ. Das Spektrum aller nachgewiesenen Parasiteneier umfasste MDS, *A. perfoliata*, *Parascaris* spp. sowie *O. equi*.

Eier von MDS wurden am häufigsten nachgewiesen und erreichten Werte von 0 bis 1282 Eiern pro Gramm Kot. Die Einzeltierprävalenz lag für alle Pferde bei 41,8% (n = 259), für Koliker bei 40,7% (n = 127) und für Kontrollen bei 42,9% (n = 132). Ein positiver Nachweis von MDS-Eiern wurde für jede Altersgruppe erhoben, wobei die entsprechenden Pferde zwischen 0,5 bis 36 Jahre alt waren (Mittelwert: 11,5; Median: 11,0; Standardabweichung 7,1) .

Da das Ergebnis der Prävalenz wesentlich von dem Intervall zwischen letzter Entwurmung und der Kotprobennahme beeinflusst werden kann, wurden zusätzlich nur diejenigen Pferde in die Analyse einbezogen, bei denen die letzte Entwurmung mindestens 8 Wochen zurücklag. Pferde, bei denen laut Besitzeraussage der Zeitpunkt der letzten Entwurmung nicht mehr ermittelt werden konnte, wurden von der Auswertung ausgeschlossen. Unter diesen Voraussetzungen kamen insgesamt 412 Pferde zur Prüfung. Die entsprechenden Prävalenzen sind in Tabelle 7 dargestellt.

Am zweithäufigsten wurden Eier von *A. perfoliata* sowie *Parascaris* spp. nachgewiesen. Die Eizahlen für *A. perfoliata* bewegten sich in einer Größenordnung von 0 bis 27 Eiern pro Gramm Kot. Die Höhe aller nachgewiesenen Spulwurmeier variierte zwischen 0 und 41 Eiern pro Gramm Kot. Die Prävalenzen von *A. perfoliata*-sowie *Parascaris* spp.-Eiern fielen beidesamt sehr niedrig aus und lagen unter Einbeziehung aller Pferde jeweils bei 0,8% (n = 5), für Koliker bei 0,6% (n = 2) und für Kontrollen bei 1% (n = 3). Bandwurmeier konnten für Pferde im Alter zwischen 2 und 24 Jahren (Mittelwert: 9,6; Median: 3,0; Standardabweichung 9,9) und Spulwurmeier für 1- bis 4-jährige Pferde (Mittelwert: 2,0; Median: 1,0; Standardabweichung 1,4) nachgewiesen werden.

Ein Kontrollpferd wies 7 Oxyureneier im Kot auf.

Tabelle 7: Prävalenzen nachgewiesener Helmintheneier (letzte Entwurmung:  $\geq 8$  Wochen,  $n = 412$ ).

Nachweis von Parasiteneiern	Einzeltierprävalenz in % [95%-Konfidenzintervall]		
	Gesamtpatientengruppe	Koliker	Kontrollen
Helmintheneier	50,5 [45,9 ; 55,2]	49,5 [41,8 ; 56,3]	51,4 [45,1 ; 57,6]
MDS	50,2 [45,7 ; 54,9]	49,5 [41,6 ; 56,3]	50,9 [44,7 ; 57,2]
<i>A. perfoliata</i>	1 [0,2 ; 2]	0,5 [0 ; 1,6]	1,4 [0 ; 3,3]
<i>Parascaris</i> spp.	0,5 [0 ; 1,2]	0 [0 ; 0]	0,9 [0 ; 2,3]

#### Explorative Statistik

Zwischen den Kolik-Fällen und Kontrollen gab es hinsichtlich der Höhe der mittleren Eizahl für keine der nachgewiesenen Parasiteneier einen signifikanten Unterschied im Mann-Whitney-Test [ $p(\text{MDS}) = 0,47$ ;  $p(\text{MDS bei letzter Entwurmung} \geq 8 \text{ Wochen}) = 0,62$ ;  $p(A. \text{ perfoliata}) = 0,64$ ;  $p(A. \text{ perfoliata bei letzter Entwurmung} \geq 8 \text{ Wochen}) = 0,37$ ;  $p(\text{Parascaris sp.}) = 0,64$ ;  $p(\text{Parascaris spp. bei letzter Entwurmung} \geq 8 \text{ Wochen}) = 0,18$ ]. Für keine der detektierten Helmintheneier konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem qualitativen Testergebnis und der Kolik hergestellt werden ( $\chi^2$ - resp. Fisher's Exakt-Test jeweils  $p > 0,05$ ).

Der Einfluss der Variablen Rasse, Alter, Geschlecht und Zeitpunkt der letzten Entwurmung auf den Nachweis von Helmintheneiern im Kot wurde im Chi-Quadrat-Test überprüft, wobei hinsichtlich der MDS-Eier nur der Zeitpunkt der letzten Entwurmung ein hoch signifikantes Ergebnis lieferte ( $p < 0,01$ ). Rasse, Alter und Geschlecht waren unabhängig von dem Ergebnis der koproskopischen Eizählung (Rasse:  $p = 0,39$ ; Alter:  $p = 0,165$ ; Geschlecht:  $p = 0,364$ ), auch bei geschichtetem Gruppenvergleich [Rasse / Alter / Geschlecht (Koliker / Kontrollen):  $p$  jeweils  $> 0,05$ ]. In das multifaktorielle logistische Regressionsmodell wurden die Kovariaten „letzte

Entwurmung“ sowie „Alter“ aufgenommen. Hier zeigte sich für vor mehr als 8 Wochen entwurmete Pferde gegenüber vor weniger als einer Woche entwurmtten Tieren eine rund 4,2-fach höhere Wahrscheinlichkeit für einen positiven Nachweis von MDS-Eiern im Kot ( $p = 0,002$ ). Zusätzlich war das Risiko für einen MDS-Ei-positiven Befund für 1 bis 3-jährige Pferde im Vergleich zu adulten Tieren um rund 2,8-fach erhöht ( $p = 0,016$ ). Der Nachweis von Bandwurmeiern im Kot war unabhängig von den Variablen, dagegen hatten Rasse und Alter einen signifikanten Einfluss auf das Vorhandensein von *Parascaris* spp.-Eiern im Kot ( $p = 0,002$  resp.  $0,04$ ). Diese beiden Kovariaten wurden in ein multifaktorielles logistisches Regressionsmodell aufgenommen. Vollblüter hatten gegenüber Warmblutpferden ein rund 16-fach ( $p = 0,034$ ) und die Gruppe der 1 bis 3-jährigen Pferde im Vergleich zu den adulten Tieren ein rund 35-fach ( $p < 0,01$ ) erhöhtes Risiko für einen Spulwurmei-positiven Kotprobenbefund.

Pferde mit niedriger MDS-Eizahl waren zu 80,1% und diejenigen mit moderater Eiausscheidung zu 13,6% vertreten, wobei in die explorative Statistik nur diejenigen Pferde inbegriffen waren, deren letzte Entwurmung mindestens 8 Wochen zurücklag und bei denen MDS-Eier im Kot nachgewiesen werden konnten ( $n = 206$ ). Pferde, bei denen mehr als 500 Eier im Kot erfasst wurden, machten einen relativen Anteil von 6,3% aus. Unter allen starkausscheidenden Pferden befanden sich fast doppelt so viele Koliker als Kontrollen. Die Variable „Grad der Eiausscheidung“ wurde allgemein auf Abhängigkeit zur Kolik geprüft, der Gruppenunterschied war jedoch nicht signifikant (Chi-Quadrat-Test:  $p = 0,511$ ).

#### 4.3 Seroprävalenz von Anti-*S. vulgaris*-IgG

Die OD-Werte für Anti-*S. vulgaris*-IgG reichten unter Einbeziehung aller gültigen Werte ( $n = 609$ ) von -24,39 bis 106,46 % der Positivkontrolle (Mittelwert 13,08, Median 3,48, Standardabweichung 23,53).

Das 80. Perzentil lag bei einem OD-Wert von 23,42 % der Positivkontrolle. Oberhalb dieses Perzentils befanden sich 60 Koliker und 62 Kontrollen.

Unter Berücksichtigung eines validierten ELISA Cut off-Wertes von 13,47% der Positivkontrolle betrug die Seroprävalenz 32,3% ( $n = 196$ ), womit rund ein Drittel aller in der vorliegenden Arbeit beprobten Pferde als positiv gegenüber larvalem *S. vulgaris*-

Antigen betrachtet werden konnten. Für Koliker lag diese Prävalenz auf Einzeltierebene bei 31,3%, für Kontrollpferde bei 33,3% (vgl. Tabelle 8). Bei Adjustierung der Daten auf Fälle, deren letzte Entwurmung vor mindestens 8 Wochen erfolgte, ergab sich für die Gesamtpatientengruppe eine annähernd gleiche Prävalenz von 32,4% (vgl. Tabelle 8).

Tabelle 8: Darstellung der ermittelten Seroprävalenzen von *S. vulgaris* unter Berücksichtigung eines validierten ELISA Cutoff-Wertes von 13,47% der PK.

	<b><i>S. vulgaris</i>-Seroprävalenz in % [95%-Konfidenzintervall]</b>		
<b>Letzte Entwurmung</b>	<b>Gesamtpatientengruppe</b>	<b>Koliker</b>	<b>Kontrollen</b>
Unabhängig (n = 607)	32,3 [28,5 ; 36,4]	31,3 [26,1 ; 36,5]	33,3 [28,1 ; 38,8]
≥ 8 Wochen (n = 401)	32,4 [28,1 ; 37]	29 [22,6 ; 35,6]	35,6 [28,9 ; 42,3]

Im Mann-Whitney-Test deutete der höhere Rang in der Kontrollgruppe zunächst auf einen kleinen Unterschied zwischen den Gruppen hin. Das heißt, Kontrollpferde hatten auf der verwendeten Skala einen tendenziell höheren OD-Mittelwert als Koliker. Dieser Unterschied erwies sich jedoch als nicht signifikant ( $p = 0,271$ ). Für *S. vulgaris* gab es daher statistisch keinen Anhalt auf unterschiedliche Antikörperkonzentrationen zwischen Kolikern und Kontrollen. Auch unter den als seropositiv angenommenen Pferden ergab der Mann-Whitney-Test zwischen Kolikern und Kontrollen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Höhe der Antikörperkonzentrationen (etablierte ELISA-Toleranzgrenze von 13,47% der PK:  $p = 0,761$ ). Ein Zusammenhang zwischen den qualitativen ELISA-Ergebnissen und der Kolik zeigte sich auch nach binärer Kodierung nicht (Cutoff von 13,47:  $p = 0,587$  bzw.  $p = 0,161$  bei letzter Entwurmung  $\geq 8$  Wochen). Gleiche Ergebnisse lieferte die ergänzende Analyse der Daten in der logistischen Regression.

Um nur die höchsten OD-Werte zwischen den Gruppen zu vergleichen, wurden die Daten oberhalb des 80. Perzentils mit dem Mann-Whitney-Test ausgewertet. Auch hier

wichen die mittleren *S. vulgaris*-Antikörperlevel in der Gruppe der Koliker nicht signifikant von denen in der Kontrollgruppe ab.

Es ergab sich eine allgemeine Abhängigkeit zwischen dem qualitativen Nachweis von Eiern der MDS und den *S. vulgaris*-ELISA-Testergebnissen (Chi-Quadrat-Test bei validiertem ELISA Cutoff-Wert von 13,47%:  $p = 0,035$ ). Unter allen seronegativen Pferden wiesen 38,4% MDS-Eier auf, dagegen hatten nahezu die Hälfte (47,4%) aller seropositiven Pferde Eier von Magen-Darm-Strongyliden im Kot. Das relative Risiko (OR) für einen seropositiven Befund war bei MDS-Ei-positiven Pferden höher als bei Pferden ohne Nachweis von MDS-Eiern (Odds Ratio = 1,4). Nach Adjustierung der Daten nach dem Zeitraum der letzten Entwurmung ( $\geq 8$  Wochen) wurde dieser Zusammenhang statistisch noch signifikanter ( $p = 0,02$ ) und das Odds Ratio erhöhte sich auf rund 1,7 (vgl. Tabelle 9). Gleiche Ergebnisse ergaben sich in der logistischen Regressionsanalyse.

*Tabelle 9: Einfluss vorhandener Magen-Darm-Strongylideneier auf seropositive Ergebnisse des Anti-S.vulgaris-ELISA ( $\chi^2$ -Test).*

Zeitpunkt der letzten Entwurmung	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
		Untere	Obere	
Unabhängig (n = 607)	1,446	1,025	2,039	0,035
$\geq 8$ Wochen (n = 401)	1,668	1,093	2,547	0,017

Da die koproskopische Eizählung lediglich die Aussage über das Vorhandensein von MDS-Eiern erlaubt, jedoch eine Differenzierung in kleine und große Strongyliden nicht sicher möglich ist, wurden die serologischen Testergebnisse zusätzlich auf einen Zusammenhang zu den qualitativen Ergebnissen aus der Real-time PCR untersucht. Hier ergab der Fisher's Exakt-Test eine allgemeine Unabhängigkeit zwischen den Merkmalen (bei validiertem ELISA Cutoff-Wert von 13,47%:  $p = 0,714$  resp.  $p = 0,417$  bei letzter Entwurmung  $\geq 8$  Wochen). Insgesamt 2 von 8 PCR-positiven resp. 1 von 3 fraglich-positiven Pferden waren auch gleichzeitig seropositiv und nur 1 von 6 PCR-positiven Pferden, die vor mindestens 2 Monaten entwurmt wurden, wies einen

positiven Antikörpernachweis auf.

#### 4.4 Seroprävalenz von Anti-*A. perfoliata*-IgG(T)

Die Auswertung des Anti-*A. perfoliata*-ELISA umfasste insgesamt 619 gültige IgG(T)-Werte. Diese reichten von 0 bis 2271,7 ELISA-Einheiten bei einem Mittelwert von 17,46 (Median 3,4 Standardabweichung 98,31 Einheiten). Das 80. Perzentil lag bei einem Wert von 12,5 Einheiten. Oberhalb dieses 80. Perzentils befanden sich 63 Koliker und 60 Kontrollen.

Unterhalb der etablierten Toleranzgrenze von 25 ELISA-Einheiten befanden sich 553 Pferde (89,3%), die damit als negativ angenommen wurden. Seropositive Ergebnisse lieferten insgesamt 66 Pferde, davon 33 Koliker und 33 Kontrollen. Damit liegt die ermittelte Seroprävalenz von *A. perfoliata* bei 10,7% aller Pferde, für Koliker bei 10,6% und bei 10,7% für Kontrollpferde (vgl. Tabelle 10).

Tabelle 10: Darstellung der ermittelten Seroprävalenzen von *A. perfoliata* unter Berücksichtigung eines validierten ELISA Cutoff-Wertes von 25 ELISA-Einheiten.

Letzte Entwurmung	<i>A. perfoliata</i> -Seroprävalenz in % [95%-Konfidenzintervall]		
	Gesamtpatientengruppe	Koliker	Kontrollen
Unabhängig (n = 617)	10,7 [8,4 ; 13,1]	10,7 [7,3 ; 14,3]	10,7 [7,5 ; 14,4]
≥ 8 Wochen (n = 409)	10,8 [7,7 ; 13,9]	10,4 [6,2 ; 14,8]	11,1 [7,1 ; 15,7]

Im nicht-parametrischen Mann-Whitney-Test deutete sich ein Unterschied an, wobei Koliker höhere mittlere Ränge aufwiesen als Kontrolltiere. Dieser Unterschied erreichte jedoch keine Signifikanz ( $p = 0,548$  resp.  $0,6$ ).

Unter allen seropositiven Tieren wiesen Koliker höhere mittlere Antikörperwerte ohne

Erreichen einer Signifikanz auf (Mann-Whitney-Test:  $p = 0,133$ ).

Der Vergleich der höchsten IgG(T)-Werte zwischen den Gruppen erfolgte durch Datenanalyse aller Werte, die sich oberhalb des 80. Perzentils befanden. Auch hier deutete sich in der Gruppe der Koliker ein möglicher Unterschied an (Rang 64,5 gegen Rang 59,38), dies jedoch, ohne Signifikanz zu erlangen ( $p = 0,425$ ).

Ein Zusammenhang zwischen den qualitativen ELISA-Ergebnissen und der Kolik zeigte sich nach binärer Kodierung nicht (Cutoff von 25 ELISA-Einheiten:  $p = 0,9$  bzw.  $p = 0,8$  bei letzter Entwurmung  $\geq 8$  Wochen).

Der Frage nach einer möglichen Abhängigkeit zwischen den Ergebnissen des ELISA-Tests und dem Nachweis von *A. perfoliata*-Eiern im Kot wurde mit dem Exakten Fisher-Test nachgegangen. Unter allen Bandwurmei-positiven Pferden ( $n = 5$ ) waren 4 Pferde seropositiv und nur ein Pferd seronegativ. Die allgemeine Abhängigkeit erwies sich als hoch signifikant (validierte Toleranzgrenze von 25 ELISA-Einheiten:  $p = 0,001$ ). Die Wahrscheinlichkeit (Odds Ratio) für einen seropositiven Befund war für Pferde mit Bandwurmeiern im Kot gegenüber Pferden mit negativem Befund sowohl im Exakten Test nach Fisher als auch in der logistischen Regressionsanalyse um rund 35-fach erhöht (vgl. Tabelle 11). Eine Adjustierung der Daten auf Entwurmungen, die mehr als 8 Wochen zurücklagen, entfiel aufgrund der geringen Fallzahlen nachgewiesener Bandwurmeier. Auch ein Vergleich der mittleren Antikörpertiter zeigte starke Unterschiede zwischen Bandwurmei-positiven und –negativen Pferden. Während die mittleren Antikörpergehalte bei einem positiven Nachweis von Bandwurmeiern im Kot bei rund 559 ELISA-Einheiten (Median: 108, Standardabweichung: 966) lagen, wiesen Pferde ohne diese Eier eine mittlere IgG(T)-Konzentration von 13 ELISA-Einheiten auf (Median: 3,4, Standardabweichung: 35,3). Im Mann-Whitney-Test erwies sich dieser Unterschied als hoch signifikant ( $p = 0,006$ ).

Tabelle 11: Einfluss vorhandener Bandwurmeier auf die Seropositivität des Anti-A.perfoliata-ELISA (Exakter Test nach Fisher und logistische Regression).

Nachweis von Bandwurmeiern	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
		Untere	Obere	
Exakter Test nach Fisher	35,484	3,904	322,486	0,001
Logistische Regressionsanalyse	35,355	3,890	321,315	0,002

#### 4.5 Real-time PCR zum qualitativen Nachweis larvaler *S. vulgaris*-DNA

Zur Auswertung kamen 177 Koprokulturen, von denen für 4% (n = 7, davon 3 Koliker und 4 Kontrollen) *S. vulgaris*-DNA nachgewiesen werden konnte (vgl. Tabelle 12). Für alle in dieser Studie beprobten Pferde liegt die Gesamtprävalenz von in der Real-time PCR nachgewiesenen *S. vulgaris* demnach bei 1,1%.

1,7% (n = 3, davon 1 Koliker und 2 Kontrollen) der Kulturen waren fraglich-positiv und 94,4% (n = 167, davon 83 Koliker und 84 Kontrollen) PCR-negativ.

Beide statistischen Tests kamen zu dem Ergebnis, dass die PCR-Ergebnisse unabhängig von der Kolik waren ( $\chi^2$ -Test: p = 0,7 bzw. p = 0,4 bei letzter Entwurmung  $\geq$  8 Wochen; Fisher's Exakt-Test: p = 1 bzw. p = 0,7 bei letzter Entwurmung  $\geq$  8 Wochen).

Tabelle 12: Darstellung der molekular diagnostisch (Real time-PCR) ermittelten Prävalenz von *S. vulgaris*-Larven.

	Nachweis larvaler <i>S. vulgaris</i> -DNA in % [95%-Konfidenzintervall]		
Letzte Entwurmung	Gesamtpatientengruppe	Koliker	Kontrollen
Unabhängig (n = 177)	4 [1,3 ; 6,7]	3,4 [0 ; 7,6]	4,4 [1 ; 9,1]
≥ 8 Wochen (n = 146)	4,1 [1,3 ; 7,7]	2,8 [0 ; 7,3]	5,4 [1,2 ; 11,4]

#### 4.6 Reverse Line Blot (RLB)

Nach in-vitro-Anzucht der Larven wurde die DNA in einem RLB-Assay qualitativ auf das Vorkommen kleiner Strongyloiden untersucht und die einzelnen Cyathostomina-Spezies molekular diagnostisch analysiert. Alle 13 der durch diesen Test erfassbaren Cyathostomina-Arten konnten in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden. Unter allen Pferden mit positivem Nachweis von MDS-Eiern im Kot und einer letzten Entwurmung, die mindestens 8 Wochen zurücklag, konnten 195 gültige Werte analysiert werden. Darunter waren 41,5% der Pferde im RLB-Test negativ und 58,5% positiv (vgl. Tabelle 13). Unter Anwendung desselben Filters wurden die einzelnen Ausscheidungskategorien mit in die Bewertung einbezogen. Es zeigte sich, dass die Nachweisrate von Cyathostomina-Larven unter allen moderatausscheidenden (n = 28) sowie starkausscheidenden (n = 12) Pferden jeweils 100% betrug. Dagegen waren unter den Pferden mit einer niedrigen Eizahl von 1-199 Eiern im Kot lediglich 47,7% RLB-positiv und 52,3% RLB-negativ. Bei Herabsetzen der Eiausscheidungsgrenze erhöhte sich die Nachweisgrenze, wobei Pferde mit Eizahlen ab 50 pro Gramm Kot (n = 77) zu 94,8% RLB-positiv waren.

Eine mögliche Wechselwirkung zwischen einem positivem Nachweis kleiner Strongyloidenlarven und einer Kolik wurde in einer 2x2-Felder-Tafel untersucht, wobei der Chi-Quadrat-Test zu keinem signifikanten Testergebnis kam (p = 0,7).

Unter den Pferden mit positivem Nachweis kleiner Strongyloidenlarven und einer letzten Entwurmung von mehr als 8 Wochen waren die folgenden fünf Spezies in der

vorliegenden Arbeit nach absteigender Reihenfolge am prävalentesten (vgl. auch Abbildung 6):

- *Cylicocyclus nassatus* (96,4%) und *Cylicostephanus longibursatus* (96,4%)
- *Cylicostephanus calicatus* (94,2%)
- *Cyathostomum pateratum* (92,8%) und *Cylicocyclus goldi* (92,8%).

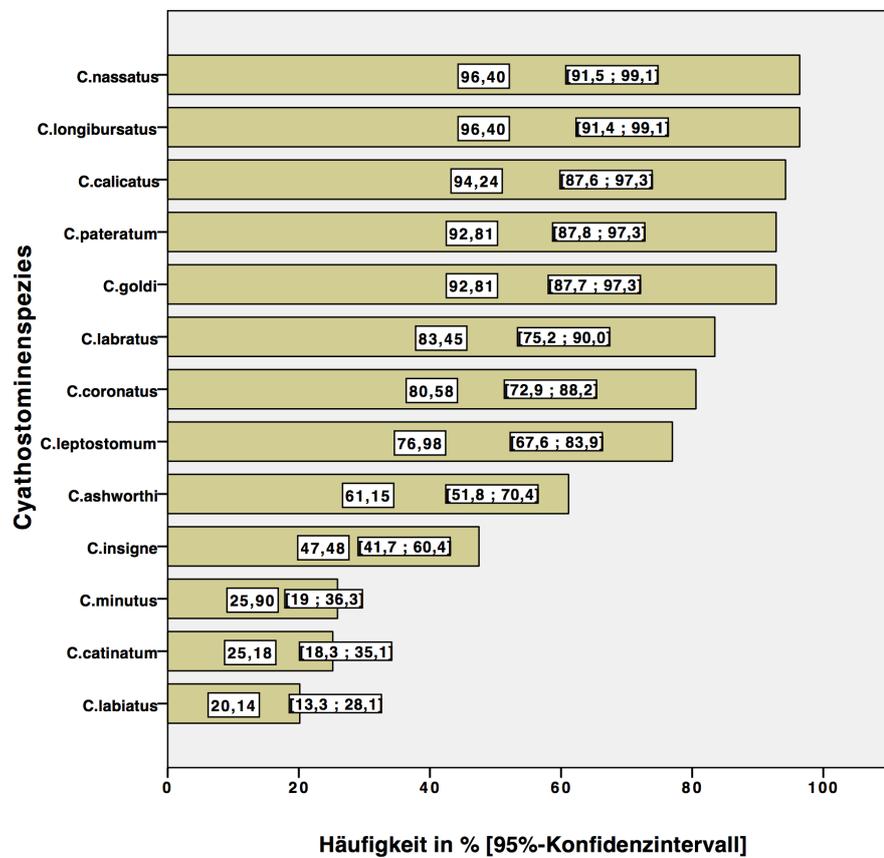


Abbildung 6: Differenzierung und Häufigkeitsverteilung der nachgewiesenen Cyathostominenspezies (Reverse Line Blot).

Tabelle 13: : Nachweis kleiner Strongylidenlarven unter Berücksichtigung der Höhe der Eiausscheidung (\*bei letzter Entwurmung  $\geq 8$  Wochen und positivem MDS-Einachweis).

Eier pro Gramm Kot (EpG)	Gruppe	n	Einzeltierprävalenz in %
<b>&gt; 0</b>	Gesamt*	195	58,5
	Koliker*	90	60
	Kontrolle*	105	57,1
<b>1 - 49</b>	Gesamt*	118	34,7
	Koliker*	55	34,5
	Kontrolle*	63	34,9
<b>1 – 199 (Niedrigausscheider)</b>	Gesamt*	155	47,7
	Koliker*	71	49,3
	Kontrolle*	84	46,4
<b>50 - Maximum</b>	Gesamt*	77	94,8
	Koliker*	35	100
	Kontrolle*	42	90,5
<b>200 – 499 (Moderatausscheider)</b>	Gesamt*	28	100
	Koliker*	12	100
	Kontrolle*	16	100
<b><math>\geq 500</math> (Starkausscheider)</b>	Gesamt*	12	100
	Koliker*	7	100
	Kontrolle*	5	100

#### 4.7 Parasitenverdächtige klinische Symptome

26,3% (n = 82) aller Koliker zeigten parasitenverdächtige Symptome (Husten, Durchfall, Abmagerung, Leistungsinsuffizienz und / oder rezidivierende Kolik; vgl. Kapitel 3.2.8). Besitzer, deren Kolikpferde vor mindestens 8 Wochen entwurmt wurden und mindestens eins dieser Symptome aufwiesen (n = 53), gaben am häufigsten rezidivierende Kolik (77,4%) und am zweithäufigsten Abmagerung (17%) an. Eine Übersicht über die weitere Häufigkeitsverteilung aller Koliker mit parasitenverdächtigen Symptomen sowie Werte unter Berücksichtigung der letzten Entwurmung zeigt Tabelle 14.

*Tabelle 14: Häufigkeitsverteilung aller Koliker mit parasitenverdächtigen Symptomen.*

	Anteil aller Koliker mit parasitenverdächtigen Symptomen in %				
Letzte Entwurmung	Husten	Durchfall	Abmagerung	Rezidivierende Kolik	Leistungsinsuffizienz
Unabhängig (n = 82)	12,2	8,5	22	68,3	4,9
≥ 8 Wochen (n = 53)	9,4	9,4	17	77,4	3,8

Wenngleich der Exakte Test nach Fisher keine Signifikanz erreichte ( $p = 0,1$ ), so zeigten Pferde mit dem Symptom Durchfall eine höhere Wahrscheinlichkeit für einen positiven Nachweis von MDS-Eiern im Kot. Das Odds Ratio lag in diesem Fall bei 3,3 (vgl. Tabelle 15). Für alle anderen Symptome (Husten, rezidivierende Kolik, Abmagerung, Leistungsinsuffizienz) war das OR für einen positiven MDS-Einachweis nicht erhöht. In der logistischen Regression waren die p-Werte der einzelnen Variablen ebenfalls nicht signifikant, jedoch hatten Pferde mit Durchfall auch hier eine erhöhte Chance für einen MDS-Ei-positiven Kotprobenbefund als Pferde ohne dieses Symptom (OR = 1,979;  $p = 0,386$ ).

Vor dem Hintergrund einer möglichen Cyathostominose-Erkrankung wurde zusätzlich der Zeitpunkt erfasst, an dem die betroffenen Pferde sowohl Durchfall als auch positive

MDS-Ei-Befunde zeigten (vgl. Tabelle 16).

Tabelle 15: Einfluss vorhandener Symptome auf den Nachweis von Magen-Darm-Strongylideneiern im Kot (Chi-Quadrat-Tests).

Parasitenverdächtige Symptome	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
		Untere	Obere	
Husten	0,608	0,260	1,421	0,247
Durchfall	3,335	0,854	13,022	0,103
Rezidivierende Kolik	1,103	0,614	1,982	0,743
Abmagerung	0,925	0,437	1,955	0,837
Leistungsinsuffizienz	1,167	0,352	3,865	1,000

Tabelle 16: Zeitpunkt, Alter und Entwurmung aller Pferde mit Durchfall und gleichzeitig positivem Nachweis von MDS-Eiern im Kot (n = 7).

Datum	Anzahl Pferde (n)	MDS-Eier pro Gramm Kot	Alter in Jahren	Letzte Entwurmung in Wochen	Verwendeter Wirkstoff
22.04.2013	1	22	19	≥ 8	Pyrantel
16.09.2013	1	2	29	≥ 8	Ivermectin
04.11.2013	2	1	15	≥ 8	Ivermectin
		2	36	≥ 8	Moxidectin
25.11.2013	1	2	15	≥ 8	Ivermectin
07.03.2014	1	4	25	< 1	Ivermectin
29.04.2014	1	1	9	≥ 8	Keine Angabe

Keines der Pferde, die in der Reverse Line Blot-Analyse positiv waren, litt jedoch an Durchfall.

Die parasitenverdächtigen Symptome waren nicht signifikant mit dem *S. vulgaris*-Befund assoziiert, weder hinsichtlich des Vorhandenseins von *S. vulgaris*-spezifischen Antikörpern im Serum der Pferde noch in Bezug auf den Nachweis larvaler *S. vulgaris*-DNA (einzelne einfaktorielle Chi-Quadrat- resp. Fisher's Exakt-Tests sowie multifaktorielle logistische Regression).

Aufgrund der sehr geringen Fallzahlen an Bandwurm- resp. Spulwurm-positiven Kotprobenbefunden war die Berechnung des Odds Ratio für viele Symptome nicht möglich. Es erwies sich, dass keines der möglichen Symptome signifikant mit dem Nachweis von Bandwurm- resp. Spulwurmeiern und auch nicht mit einem positiven Anti-*Anoplocephala*-Antikörper-Nachweis assoziiert war, jedoch hatten Pferde mit dem Symptom Abmagerung eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für einen positiven Nachweis von *Anoplocephala*-Eiern im Kot (Odds Ratio = 4,957,  $p = 0,224$ , Tabelle 17). Dagegen war das Chancenverhältnis für einen seropositiven Befund zwischen abmagernden Pferden und Pferden ohne Gewichtsverlust in etwa ausgeglichen (OR = 1,058,  $\chi^2$ -Test).

Die Zusammenhangsüberprüfung zwischen dem Symptom Durchfall und dem Nachweis von *Parascaris*-Eiern erreichte keine Signifikanz (Exakter Test nach Fisher:  $p = 0,08$ ), jedoch in der multifaktoriellen logistischen Regression einen hochsignifikanten  $p$ -Wert von 0,005. Für an Durchfall erkrankte Pferde war die Wahrscheinlichkeit für einen positiven Nachweis von Spulwurmeiern im Kot in der einfaktoriellen Analyse 16,5-fach und in der logistischen Regression 74-fach erhöht (vgl. Tabellen 18 und 19).

Tabelle 17: Einfluss vorhandener Symptome auf den Nachweis von Bandwurmeiern im Kot ( $\chi^2$ -Test).

Parasitenverdächtige Symptome	Gleichzeitig pos. Nachweis von Bandwurmeiern	p-Wert	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	
				Untere	Obere
Husten (n = 26)	0	1,000	n.mgl.	-	-
Durchfall (n = 10)	0	1,000	n.mgl.	-	-
Rezidivierende Kolik (n = 56)	0	1,000	n.mgl.	-	-
Abmagerung (n = 30)	1	0,224	4,957	0,537	45,769
Leistungsinsuffizienz (n = 11)	0	1,000	n.mgl.	-	-

Tabelle 18 Einfluss vorhandener Symptome auf den Nachweis von Spulwurmeiern im Kot (Exakter Test nach Fisher).

Parasitenverdächtige Symptome	Gleichzeitig pos. Nachweis von Spulwurmeiern	p-Wert	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	
				Untere	Obere
Husten (n = 26)	0	1,000	n.mgl.	-	-
Durchfall (n = 10)	1	0,080	16,528	1,677	162,891
Rezidivierende Kolik (n = 55)	0	1,000	n.mgl.	-	-
Abmagerung (n = 30)	0	1,000	n.mgl.	-	-
Leistungsinsuffizienz (n = 11)	0	1,000	n.mgl.	-	-

Tabelle 19: Einfluss vorhandener Symptome auf den Nachweis von Spulwurmeiern im Kot (logistische Regressionsanalyse).

Parasitenverdächtige Symptome	p-Wert	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	
			Untere	Obere
Husten	0,999	n. mgl.	-	-
Durchfall	0,005	74,0	3,696	1481,556
Rezidivierende Kolik	0,997	n. mgl.	-	-
Abmagerung	0,998	n. mgl.	-	-
Leistungsinsuffizienz	0,999	n. mgl.	-	-

#### 4.8 Diagnosen

Bei nahezu der Hälfte aller Koliker wurden Obstipationen des Dick- oder Dünndarms (45,3%) diagnostiziert und 24,8% wiesen Verlagerungen des Dick- oder Dünndarms auf. Für 18,6% der Pferde war die Kolik auf eine primäre Magenüberladung (PMÜ) oder auf Ulzerationen der Magenschleimhaut (EGUS) zurückzuführen, wobei Letztere in 9,3% aller Koliker vorkamen. Die Häufigkeitsverteilung aller Diagnosen ist in Abbildung 7 dargestellt.

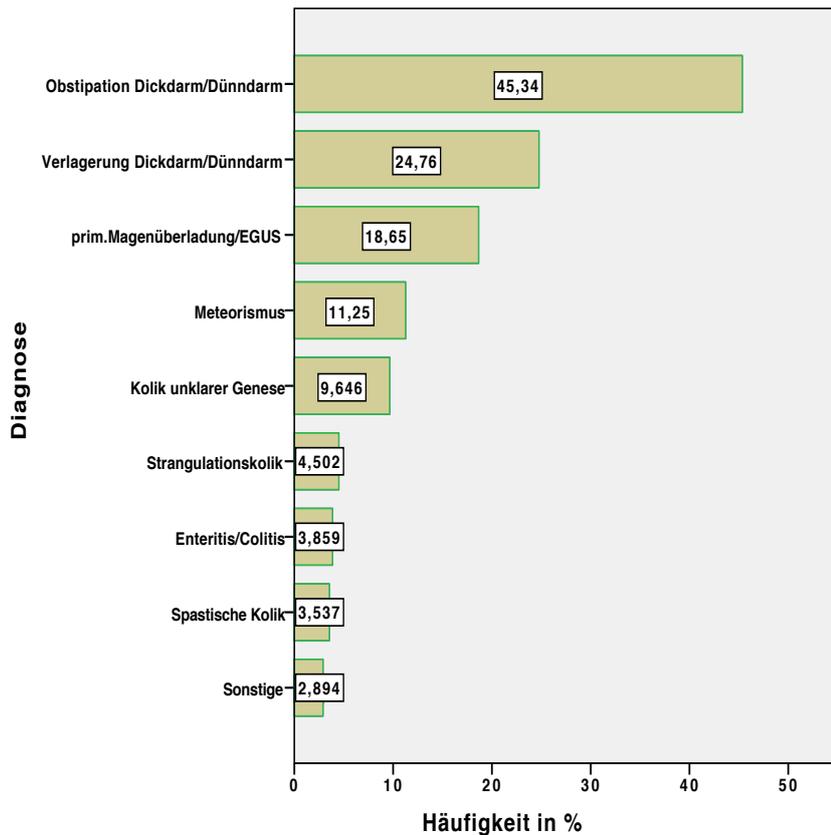


Abb. 9: Häufigkeitsverteilung Diagnosen (Koliker, n= 311)

Abbildung 7: Häufigkeitsverteilung Diagnosen (Koliker, n = 311).

### *Koproskopischer Einachweis*

Für alle Koliker kam bei der Überprüfung auf einen Zusammenhang zwischen den Variablen „Diagnose“ und „koproskopischer Nachweis von MDS-Eiern“ der Exakte Test nach Fisher gerade so zu keinem signifikanten Ergebnis ( $p = 0,054$ ) und auch die logistische Regression erreichte hierfür keine Signifikanz. Ebenfalls nicht mit der Diagnose assoziiert war der Nachweis von Bandwurm- respektive Spulwurmeiern. Zwischen den vier Untergruppen der Obstipationen und dem Nachweis von Bandwurmeiern ergab sich kein signifikantes Ergebnis (Exakter Test nach Fisher:  $p = 0,167$ ). Jedoch zeigte sich in der logistischen Regression, dass Pferde mit einer jejunal lokalisierten Anschoppung gegenüber Pferden mit einer Obstipation des Colon ascendens resp. descendens mit einer 17-fach höheren Wahrscheinlichkeit einen positiven Nachweis von Bandwurmeiern im Kot zeigen ( $p = 0,053$ ).

### Serologie

Zur *S. vulgaris*- respektive *A. perfoliata*-Serologie konnte unter Anwendung des jeweiligen validierten Cut-off-Wertes für keine der Diagnosen ein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden (*S. vulgaris*:  $p = 0,168$ ; *A. perfoliata*:  $p = 0,509$ ). Für *S. vulgaris* kam ergänzend eine logistische Regression zum Einsatz, die auch hier keine Signifikanz erreichte.

### Real-time PCR und Reverse Line Blot

Kein signifikanter Zusammenhang ergab sich im Exakten Test nach Fisher zwischen den Ergebnissen der Real-time PCR resp. RLB-Analyse und der Diagnoseart ( $p = 1$  resp.  $p = 0,112$ ).

### 4.9 Anthelminthika-induzierte Kolik

Unter allen Pferden befanden sich mehr als doppelt so viele Koliker wie Kontrollen, wenn der Zeitraum zur letzten Entwurmung weniger als 1 Woche betrug. Der  $\chi^2$ -Test erreichte für die 2x3-Felder-Tafel gerade so keine Signifikanz ( $p = 0,05$ ). Die Wechselwirkung zwischen der letzten Entwurmung und Kolik lieferte dagegen im logistischen Regressionsmodell für Entwurmungen, die innerhalb der letzten 7 Tage erfolgten, ein signifikantes Ergebnis ( $p = 0,025$ ). Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Kolik war für vor weniger als einer Woche entwurmete Pferde im Vergleich zu Tieren, deren letzte Entwurmung mindestens 8 Wochen zurücklag, um das 2,4-fache erhöht (vgl. Tabelle 20).

Tabelle 20 Signifikanz der Wechselwirkung zwischen letzter Entwurmung und Kolik ( $n = 597$ , logistische Regression bei Referenzkategorie  $\geq 8$  Wochen).

Zeitraum letzte Entwurmung	p-Wert	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	
			Untere	Obere
< 1 Woche	0,025	2,424	1,120	5,247
1-8 Wochen	0,257	1,240	0,855	1,798

Zusätzlich wurde der zuletzt verwendete Wirkstoff in das Regressionsmodell aufgenommen. Für Entwurmungen, die vor weniger als 1 Woche erfolgten, ergab sich hiernach ein statistisch noch signifikanter p-Wert von 0,01. Das Kolikrisiko war für diese Pferde 2,8-fach höher als bei Pferden, die vor mehr als 8 Wochen anthelminthisch behandelt wurden. Ebenfalls ergab sich eine hoch signifikante Assoziation zwischen dem zuletzt verwendeten Wirkstoff und der Kolik. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Kolik war hierbei um das rund 4,2-fache erhöht, wenn Moxidectin im Vergleich zu Ivermectin als Monopräparat Anwendung fand ( $p = 0,006$ ). Bei Pferden, die erst kürzlich entwurmt wurden, war dieser Zusammenhang jedoch statistisch nicht mehr signifikant.

Das bei vor weniger als 7 Tagen entwurmten Pferden ( $n = 22$ ) am häufigsten eingesetzte Anthelminthikum war Ivermectin aus der Gruppe der ML in Form eines Monopräparates (vgl. Tabelle 21). Benzimidazole kamen bei diesen Pferden nicht zum Einsatz

Tabelle 21: Absolute Häufigkeit und Zeitpunkt der eingesetzten Wirkstoffe für Pferde mit Koliksymptomen.

Wirkstoff	Zeitpunkt der letzten Entwurmung (n)			Gesamt
	< 1 Woche	1-8 Wochen	≥ 8 Wochen.	
Moxidectin	1	5	13	19
Ivermectin	12	37	95	144
Pyrantel	6	11	25	42
Kombination Ivermectin und Praziquantel	2	14	24	40
Benzimidazole	0	6	8	14
Kombination Moxidectin und Praziquantel	0	3	1	4
Praziquantel	0	0	1	1
Naturbasis	0	0	4	4

## 4.10 Kolikgrad

Für *S. vulgaris* waren die serologischen Ergebnisse des Antikörpernachweises im  $\chi^2$ -Test unabhängig von dem Grad der Kolik (bei validiertem Cutoff-Wert von 13,47% der Positivkontrolle:  $p = 0,8$ ). Auch zwischen den Ergebnissen aus der Real-time PCR für den Nachweis larvaler *S. vulgaris*-DNA und der Kolikintensität ergab sich aus dem  $\chi^2$ -Test als auch Fisher's Exakt-Test kein signifikanter Zusammenhang ( $p = 0,9$ ).

Für *A. perfoliata* waren unter allen seronegativen Kolikern weniger Pferde von mittel- und hochgradiger Kolik betroffen als bei den seropositiven Kolikern. Besonders deutlich wurde dieser Unterschied bei Vorliegen hochgradiger Koliksymptome. Hier zeigten nur 8,7% aller seronegativen Koliker hochgradige Koliksymptome, aber fast doppelt so viele (15,2%) unter den seropositiven Kolikern. Dieser Unterschied erreichte jedoch keine Signifikanz (Fisher's Exakt-Test bei validiertem Cutoff-Wert von 25 Einheiten:  $p = 0,227$ ). Allerdings zeigte sich in der logistischen Regressionsanalyse, dass Pferde mit mittelgradiger Kolik eine 2-fach ( $p = 0,097$ ) und Pferde mit hochgradiger Kolik eine 2,3-fach ( $p = 0,131$ ) höhere Wahrscheinlichkeit für einen seropositiven Befund hatten als Pferde, die an geringgradiger Kolik litten. Das Odds Ratio erhöhte sich zudem auf 2,4 resp. 3,1 bei Adjustierung der Daten auf den Zeitraum der letzten Entwurmung  $\geq 8$  Wochen (vgl. Tabelle 22).

Tabelle 22: Zusammenhang *A. perfoliata*-Seropositivität und Kolikgrad bei letzter Entwurmung  $\geq 8$  Wochen (logistische Regression bei Referenzkategorie ‚ggr. Kolik‘)

Kolikgrad	p-Wert	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	
			Untere	Obere
<b>mittelgradig</b>	0,102	2,425	0,840	7,003
<b>hochgradig</b>	0,083	3,141	0,859	11,478

Zwischen den Ergebnissen der fäkalen Eizählung und dem Kolikgrad konnte keine signifikante Abhängigkeit zwischen den Merkmalen beobachtet werden (Chi-Quadrat- resp. Fisher's Exakt-Test: MDS:  $p = 0,6$ ; *A. perfoliata*:  $p = 0,4$ ; *P. equorum*:  $p = 0,7$ ). Auch eine mögliche Wechselwirkung zwischen den Ergebnissen des RLB-Tests und der Kolikintensität erwies sich im Exakten Test nach Fisher als nicht signifikant ( $p = 0,199$ ). Für Letztere kam ergänzend eine logistische Regression zum Einsatz, die ebenfalls für keine der Kategorien ein signifikantes Testergebnis lieferte.

#### 4.11 Serumelektrophorese (SEP)

##### *S. vulgaris*-Serologie und Nachweis larvaler *S. vulgaris*-DNA (Real time-PCR)

Bis auf die  $\alpha$ -Fraktion wurden alle Parameter im T-Test ausgewertet.

Die mittleren Gehalte des Totalproteins und der  $\beta$ -Globuline waren bei *S. vulgaris*-seropositiven Pferden signifikant höher als bei den seronegativen Tieren ( $p < 0,01$ ) und der mittlere A/G-Quotient bei seropositiven Pferden signifikant niedriger als bei Pferden, die keine Spezies-spezifischen Antikörper im Serum aufwiesen ( $p = 0,028$ ).

Zwischen Pferden, bei denen *S. vulgaris*-DNA in der Real-time PCR nachgewiesen werden konnte und Pferden, die in dieser PCR negativ waren, unterschieden sich die Mittelwerte der einzelnen Serumproteine nicht signifikant voneinander.

##### *Eier von Magen-Darm-Strongyliden und Nachweis kleiner Strongylidenlarven (RLB)*

Der Mittelwertvergleich der einzelnen Proteinfractionen zwischen Pferden mit positivem Cyathostominennachweis resp. positivem Einachweis und RLB-negativen resp. MDS-Ei-negativen Pferden erreichte im T-Test keine statistische Signifikanz.

##### *A. perfoliata*-Serologie

Auch hier zeigten sich zwischen seropositiven und seronegativen Pferden weder im Mann-Whitney-U- noch T-Test signifikante Unterschiede hinsichtlich der Höhe der einzelnen mittleren Proteinfraction-Konzentrationen.

#### 4.12 Zusammenfassende Bewertung und Schlussfolgerungen

Warmblüter hatten gegenüber Ponys ein signifikant 1,5-fach höheres Kolikrisiko.

Die Koproprävalenz für vor mehr als 8 Wochen entwurmte Pferde lag für Eier der Magen-Darm-Strongyliden bei 50,2%, während Bandwurm- resp. Spulwurmeier zu 1 resp. 0,5% vorkamen. Die Chance für einen MDS-Ei-positiven Befund war für vor mehr als 8 Wochen entwurmte Pferde signifikant 4,2-fach erhöht im Vergleich zu Pferden, die kürzlich anthelmintisch behandelt wurden. Lag eine Entwurmung weniger als eine Woche zurück, zeigte sich für diese Pferde ein signifikant 2,8-fach höheres Kolikrisiko als für Tiere, die wenigstens 8 Wochen zuvor eine Wurmkur erhielten. Junge Pferde im Alter von 1 bis 3 Jahren zeigten ein signifikant erhöhtes Risiko für die Anwesenheit von MDS-, aber auch Spulwurmeiern im Kot als adulte Pferde.

Der *Anti-SvSXP*-ELISA ergab für alle beprobten Pferde eine Seroprävalenz von 32,3% und die Anwesenheit von MDS-Eiern im Kot hing signifikant mit der Seropositivität dieses Assays zusammen. Auch der Nachweis von Bandwurmeiern im Kot war hoch signifikant mit den positiven Testergebnissen der Bandwurmserologie assoziiert. Die Seroprävalenz für *Anti-A.perfoliata-IgG(T)* betrug für alle untersuchten Pferde 10,7%. Zudem ergab sich für Pferde mit mittel- und hochgradiger Kolik ein signifikant 2- resp. 2,3-fach höheres Risiko für einen positiven *Anti-A.perfoliata-IgG(T)*-Test als für Pferde, die an geringgradiger Kolik litten. Unter allen angesetzten Larvenkulturen konnte mit dem Verfahren der Real-time PCR für 4% dieser Proben larvale DNA von *S. vulgaris* nachgewiesen werden – bemessen an der Zahl aller in der vorliegenden Arbeit untersuchten Pferde betrug die Prävalenz 1,1%. Der mittlere Gehalt an TP und  $\beta$ -Globulinen war bei *S. vulgaris*-seropositiven Pferden signifikant höher als bei jenen Pferden mit seronegativem Befund.

Unter allen mit MDS-Eiern befallenen Pferden waren in 58,5% kleine Strongylidenlarven prävalent.

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen die Schwierigkeit der Erfassung (prä-)patenter Helmintheninfektionen und deren Zusammenhang zur Kolik. Während sich für einige Helmintheneier die Prävalenzdaten weitestgehend mit denen anderer Autoren aus Deutschland decken (GROSCHKE 2000; WIRTHERLE 2003; FRITZEN 2005; HINNEY 2008; MENZEL 2013; HONEDER 2015), konnte keine Beziehung zwischen den Ergebnissen dieser koproscopischen Untersuchungen und einer Kolik hergestellt werden. Ebenso musste die Hypothese eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem Auftreten abdomineller Schmerzen und den *S. vulgaris*- sowie *A. perfoliata*-Antikörpern abgelehnt werden. Aufgrund des unbekanntes, tatsächlichen

Infektionsstatus der Pferde darf dieser fehlende Zusammenhang jedoch nicht als status quo angenommen werden.

## 5 Diskussion

Die Kenntnis der Prävalenz der häufigsten beim Pferd parasitierenden Würmer ist wichtig, um die Bedeutung daraus resultierender Erkrankungen einschätzen zu können. Anhand von Kot- und Blutuntersuchungen konnte die vorliegende Arbeit einen neuen Beitrag zur Häufigkeit von Pferdehelminthen bei Kolikpferden leisten. Besonders hervorzuheben ist beispielsweise die unerwartet hohe Seroprävalenz von *S. vulgaris*, wodurch die Notwendigkeit regelmäßiger epidemiologischer Studien verdeutlicht wird, um u.a. das Verständnis der Rolle dieses großen Palisadenwurms in der Genese der Kolik zu erweitern.

### 5.1 Rasse, Alter und Geschlecht

In der vorliegenden Studie gehörten 60% aller Pferde der Rasse Warmblut an (Koliker 62,9%). Die zweithäufigste Rasse war mit 23,8% durch die Gruppe der Ponys vertreten (Koliker 20%), gefolgt von Vollblutpferden mit einem relativen Anteil von 7,8% (Koliker 7,4%). Diese Werte stimmen weitestgehend mit denen von GROSCHE (2000) überein, bei der Kolikpferde zu 66,1% Warmblüter, 21,7% Ponys und 10,6% Vollblüter waren.

Nur die Rasse „Pony“ hatte einen signifikanten Einfluss auf das Kolikrisiko, wobei Warmblüter gegenüber Ponys ein rund 1,5-fach erhöhtes Risiko hierfür aufwiesen. Auch die Ergebnisse von GROSCHE (2000) demonstrierten einen Zusammenhang zwischen der Rasse Warmblut und Kolik. In dieser Studie waren Warmblüter ähnlich überrepräsentiert wie in der vorliegenden Arbeit, jedoch wurde die erhöhte Kolikanfälligkeit der Warmblüter mittels relativer Häufigkeiten und nicht anhand der Berechnung eines Odds Ratio erklärt.

In anderen Studien konnte dagegen eine Assoziation zwischen der Rasse des Pferdes und einer Kolik insbesondere für Vollblüter hergestellt werden (REEVES et al. 1996; COHEN und PELOSO 1996; TINKER et al. 1997; COHEN et al. 1999; VOIGT et al. 2009). ABUTARBUSH et al. (2005), deren Daten retrospektiv über einen Zeitraum von 10 Jahren erfasst wurden, sahen dagegen keinen rassespezifischen Zusammenhang zur Kolik. Die Divergenz der Ergebnisse könnte in der unterschiedlichen geografischen

Verbreitung der Rassen begründet liegen, sodass es je nach Region zu einer verhältnismäßig starken Über- bzw. Unterrepräsentation der einzelnen Rassen kommt.

Angaben zur Wechselwirkung mit dem Geschlecht des Pferdes sind über mehrere Studien hinweg uneinheitlich.

Während die Studie von GROSCHE (2000) für Stuten und jene von COHEN und PELOSO (1996) für Wallache eine erhöhte Kolikanfälligkeit zeigte, war das Auftreten von Kolik unabhängig vom Geschlecht. Diese Beobachtung ist damit zu erklären, dass bei der Auswahl der Kontrollpferde weitestgehend versucht wurde, je Merkmalsausprägung auf dieselbe Anzahl wie in der Gruppe der Koliker zu kommen. Von analytischem Belang kann daher nur die Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppe der Kolikpferde sein. Hengste waren dabei mit 7,1% deutlich unterrepräsentiert und Wallache mit fast 50% vertreten. Letztere Beobachtung korrespondiert folglich mit der von COHEN und PELOSO (1996).

Ein Alterszusammenhang zur Kolik wird von vielen anderen Autoren beobachtet (COHEN und PELOSO 1996; REEVES 1996; TINKER et al. 1997; GROSCHE 2000). Auch aus den vorliegenden Untersuchungen kann auf eine Altersdisposition geschlossen werden, da die Verteilung innerhalb aller Koliker inhomogen war und ein starker Shift in Richtung adultem Alter bei einem Median von 11 Jahren bestand.

## 5.2 Prävalenz von Helmintheneiern

Die Ermittlung der Prävalenz von Helmintheneiern erfolgte auf Tierebene bei einer Nachweisgrenze von 1 Ei pro Gramm Kot. Eier von MDS waren bei 50,2% aller untersuchten Pferde zu finden, wenn der Abstand zwischen Kotprobennahme und letzter Entwurmung größer gleich 8 Wochen betrug. Pferde, die vor mehr als 8 Wochen entwurmt wurden, hatten überdies ein 4,2-fach sowie signifikant höheres Risiko für einen Befall mit MDS-Eiern als kürzlich entwurmt Pferde. Diese Beobachtung zeigt die Bedeutung anthelminthischer Behandlungen für die Prävention von Endoparasiten auf. Daneben hatten auch Pferde aus der Gruppe der 1- bis 3-Jährigen ein 2,8-fach signifikant erhöhtes Risiko für einen positiven Kotprobenbefund (MDS) als adulte Tiere. Diese höhere Wahrscheinlichkeit MDS-Eier auszuscheiden kann in einer geringeren resp. unzureichenden Immunität der Jungtiere begründet liegen (KLEI und CHAPMAN 1999). So hatten auch in einer Studie von HINNEY (2008) Jährlinge gegenüber adulten

Pferden ein mehr als 11-fach höheres Risiko für einen positiven Nachweis von MDS-Eiern im Kot.

Zwischen Kolikern und Kontrollen waren die Prävalenzwerte in etwa gleich verteilt (Kolikern: 49,5%; Kontrollen: 51,4%). Diese Daten unterscheiden sich nicht wesentlich von den Prävalenzwerten, die FRITZEN (2005), GROSCHE (2000) und MENZEL (2013) ermittelt haben (54,9% resp. 56,9% resp. 57%). Eine weitaus höhere Einzeltierprävalenz von über 60% wiesen Pferde in der Arbeit von HINNEY (2008) und HONEDER (2015) auf. WIRTHERLE (2003) kam dagegen zu einer niedrigeren Prävalenz von Strongylideneiern, die bei 39,8% lag. Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass sich Unterschiede in den Prävalenzen nicht nur aus der Frage ergeben, ob die Daten auf Einzeltier- oder Betriebsebene erhoben werden, sondern vor allem auch dadurch, welche Bestimmungsmethoden zum Einsatz kommen. So erfolgte die Eizählung in der Studie von WIRTHERLE (2003) nach der McMaster-Methode bei einer Sensitivität von 50 Eiern pro Gramm Kot. Ein Befall unterhalb dieser Nachweisgrenze könnte damit unentdeckt geblieben sein und in der Folge die Maskierung einer potentiell höheren Prävalenz erwirkt haben. Hinzu kommt, dass das Alter der in der hier vorliegenden Studie untersuchten Pferde mit im Median 11 Jahren vergleichsweise hoch lag.

Wesentlicher Einflussfaktor auf das Ergebnis der fäkalen Wurmeizahl sind die Umstände der Kotprobenaufbewahrung und –entnahme (UHLINGER 1993), die zu Variabilitäten in der tatsächlichen Höhe der Eizahl führen können. Vom Boden gewonnener Kot eignet sich ebenso für die Analyse der Eizählung wie rektal entnommene Fäzes. Die koproskopische Untersuchung sollte dabei innerhalb der ersten 12 Stunden nach Defäkation erfolgen (NIELSEN et al. 2010). Weiterhin kam dieselbe Studie zu dem Ergebnis, dass zusätzlich im Kühlschrank gelagerte Proben für mindestens 120 Stunden keine Veränderungen ihrer Eizahlen aufwiesen. Dagegen konnte belegt werden, dass sowohl heiße Temperaturen nahe 40°C als auch frostige Kälte einen signifikanten Abfall der Eizahlen zur Folge hatten. Durch eine mechanische, kristallisationsbedingte Zerstörung der Eier konnte in dieser Studie bereits innerhalb der ersten 12 Stunden nach Einfrieren der Proben ein drastischer Rückgang der Eizahlen verzeichnet werden. Für die Mehrheit unserer Kotproben konnte diese von NIELSEN et al. (2010) empfohlene Lagerungsdauer und –temperatur eingehalten werden. Nur einige wenige Proben wichen davon ab. Dies betraf vor allem jene Pferde, die am Vorabend Kot abgesetzt und zum Zeitpunkt der Probennahme am

nächsten Tag bereits aus der Klinik entlassen wurden. Vor allem besonders warme Tage stellen in diesem Zusammenhang ein Risiko für den vorzeitigen Schlupf der Larven aus ihren Eiern dar, was möglicherweise in falsch-negativen Befunden oder niedrigeren Eizahlen münden konnte. Eiverluste und eine damit einhergehende geringere Sensitivität können daher nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Zudem wird die hohe Sensitivität der FLOTAC<sup>®</sup>-Methode nach CRINGOLI et al. (2010) besonders bei niedrigen fäkalen Eizahlen von bis zu 500 Eiern pro Gramm Kot erreicht.

Nach UHLINGER (1993) können negative Kotprobenbefunde in einer sehr niedrigen Anzahl an Ei-ausscheidenden Adultwürmern begründet liegen sowie in einer ungenügenden Fruchtbarkeit derselben. Ebenso sollten unreife oder in Hypobiose befindliche Parasitenstadien bedacht werden (UHLINGER 1993). Das belegt unter anderem auch der Fallbericht von ERTELT et al. (2012), bei dem trotz vorhandener kleiner Strongyloidenlarven im Kot für alle untersuchten Pferde negative Eiausscheidungen befundet wurden.

Unregelmäßig ausscheidende Parasiten und präpatente Infektionen führen überdies zu falsch-negativen Ergebnissen. Vor allem der Nachweis von Bandwurmeiern im Kot gestaltet sich aufgrund der niedrigen Sensitivität als problematisch (TOMCZUK et al. 2014). Zusätzlich beinhaltete der Fragebogen bezüglich der letzten Entwurmung maximal die Kategorie „≥ 8 Wochen“, sodass unter den vermeintlich Kotproben-negativen Fällen möglicherweise infizierte, aber noch keine Ei-ausscheidenden Pferde beprobt wurden.

Bandwurmeier waren in der vorliegenden Arbeit in 1% aller untersuchten Pferde zu finden, sofern auch hier die letzte Entwurmung mindestens 8 Wochen zurücklag. Diese Zahl korrespondiert in etwa mit anderen deutschen Studien, bei denen ebenfalls niedrige Prävalenzen von unter 5% ermittelt werden konnten (WIRTHERLE 2003; FRITZEN 2005; HINNEY 2008; HONEDER 2015).

Die von REHBEIN et al. (2013) beschriebene Bandwurmprävalenz lag dagegen bei vergleichsweise hohen 28,5%, beruhte jedoch auf Daten, denen Sektionsbefunde zugrunde lagen und im Gastrointestinaltrakt direkt nachgewiesene immature und mature *A. perfoliata* umfassten. Dies verdeutlicht, dass starke Unterschiede in den Prävalenzen ganz wesentlich von dem jeweiligen Studiendesign abhängen und Prävalenzdaten durch multiple Faktoren zum Teil erheblich beeinflusst werden. So können Variabilitäten in den Prävalenzen auch von der Wurmzahl im Pferd abhängen

und hohe Wurmbürden zu deutlich sensitiveren Ergebnissen führen (NILSSON et al. 1995; SKOTAREK et al. 2010).

Die Prävalenzwerte für Spulwurmeier lagen in der vorliegenden Studie bei 0,5% aller untersuchten Pferde und korrespondieren mit den Daten von MENZEL (2013) und WIRTHERLE (2003). Dass Parascariosen vor allem sehr junge Pferde betreffen (DRUDGE und LYONS 1966), konnte anhand der vorliegenden Ergebnisse ebenfalls bestätigt werden. So hatten 1-3-Jährige gegenüber adulten Pferden ein signifikant höheres Risiko für Spulwurmeier im Kot und ausschließlich 1- bis 4-jährige Pferde waren von einem positiven Spulwurmbefund betroffen, wohingegen sich Eier von MDS über das gesamte Altersspektrum der beprobten Pferde zeigten.

Die relativ hohe Prävalenz von Spulwurmeiern, die sich bei FRITZEN (2005) und KÖHLER (2016) abzeichnete, ist möglicherweise durch den in ihren Studien vergleichsweise hohen resp. ausschließlichen Anteil an Fohlen und Jungpferden zu erklären. KÖHLER (2016) wies hinsichtlich eines Spulwurmbefalls eine beachtliche Verlaufsprävalenz von 95,6% nach, womit nahezu alle beprobten Fohlen infiziert zu sein scheinen. In der vorliegenden Arbeit war der Anteil an Fohlen mit 1% deutlich unterrepräsentiert und auch die Gruppe der 1-3-Jährigen machte gerade einmal 4,4% aller Pferde aus. Um trotz der geringen Fallzahlen zuverlässige Testergebnisse zu erhalten, wurde daher der Exakte Test nach Fisher angewendet. Dennoch sollten auch weitere mögliche Ursachen für die hier beobachteten niedrigeren Prävalenzwerte für Spul- und Bandwurmeier vorsichtig in Betracht gezogen werden. Grundsätzlich können neben dem Alter des Pferdes auch regionale Unterschiede, die Frequenz der Probennahme sowie Untersuchungen in ständig wechselnden und kleineren Beständen (KÖHLER 2016) als Ursache für starke Prävalenzvariabilitäten vermutet werden.

Nach derzeitigem Kenntnisstand ist dies die erste Studie, in der Hinweise dafür beschrieben werden, dass Vollblutpferde gegenüber Warmblütern einem signifikant höheren Risiko für Spulwurmeier im Kot ausgesetzt zu sein scheinen. Dieser Zusammenhang ist unklar, liegt aber vermutlich in einem unterschiedlichen Management dieser Rassen begründet.

Die Strongylideneizahl, getestet für die drei Ausscheidungskategorien, stand in der vorliegenden Studie nicht im Zusammenhang zur Kolik. Zu diesem Ergebnis kamen auch PROUDMAN et al. (1998).

Auch fand sich für keine der drei nachgewiesenen Helminthenspezies ein Anhalt für eine Assoziation zwischen dem qualitativen Einachweis und der Anwesenheit einer Kolik. In der vorliegenden Studie konnten jedoch nicht-patente Infektionen, die möglicherweise ursächlich an der Kolik beteiligt waren, nicht ermittelt werden.

Der Nachweis von Bandwurmeiern war in der vorliegenden Studie unabhängig von der Kolik. Zu diesem Ergebnis kamen auch andere Autoren (BOSWINKEL et al. 2007; TROTZ-WILLIAMS et al. 2008). Dagegen war Untersuchungen von BACK et al. (2013) zufolge die Wahrscheinlichkeit für einen Bandwurmei-positiven Befund für Pferde mit Kolik 16-fach höher war als für Pferde ohne Koliksymptomatik.

Letztlich kann die diagnostische Leistung der in der vorliegenden Arbeit angewendeten Methoden nicht oder nur unzureichend beurteilt werden, da das Studiendesign nicht auf einer Sektion der Pferde basierte, um den tatsächlichen Infektionsstatus der Pferde zu erfassen. Koproscopische, aber auch serologische Ergebnisse sind damit immer behutsam zu bewerten.

### 5.3 Seroprävalenz von Antikörpern gegen *S. vulgaris*

Die Untersuchungen des *Anti-SvSXP*-ELISA ergaben für alle beprobten Pferde eine Seroprävalenz von 32,3%. Zunächst deutete sich im Mann-Whitney-Test in den Gruppen ein kleiner Unterschied zwischen den mittleren Antikörperwerten an, wobei Kontrollen einen höheren Rang aufwiesen. Dieses Ergebnis könnte zu der Annahme führen, dass die höheren Antikörperspiegel in der Gruppe der Kontrollen möglicherweise eine bessere Immunität gegen die Larven von *S. vulgaris* indizieren und damit vor Kolik schützen. Von NIELSEN et al. (2014) kamen aber auch Hinweise für einen signifikanten Zusammenhang zwischen den ELISA-Werten und der larvalen *S. vulgaris*-Bürde im Pferd. Damit liesse sich ein Bezug zur tatsächlichen Anzahl an *S. vulgaris*-Larven im Pferd herstellen, jedoch können damit nicht die niedrigeren Ränge in der Kolikerguppe erklärt werden. Da sich der Gruppenunterschied zwischen den mittleren Antikörperspiegeln zudem als nicht signifikant erwies, kann für die vorliegende Arbeit keine Assoziation zwischen einer Kolik und der Höhe zirkulierender Antikörper gegen larvale *S. vulgaris* bestätigt werden. Daraus ist einerseits ableitbar, dass im Falle einer bestehenden Infektion der Infektionsgrad möglicherweise zu niedrig

war, um eine Kolik auszulösen. Auf der anderen Seite könnten gegenwärtige Infektionen mit den larvalen *S. vulgaris* aber auch ohne pathologische Gewebsbeziehungsweise Organschäden einhergegangen und damit ohne Folge einer Kolik geblieben sein. Zudem sollte trotz der Anwesenheit zirkulierender Antikörper der tatsächliche Infektionsstatus der Pferde hinterfragt werden. Einer Studie von NIELSEN et al. (2014d) zufolge sind seropositive Ergebnisse im Zusammenhang mit dem ELISA-Test ein Indiz dafür, dass das Pferd entweder gegenwärtig mit den Larven von *S. vulgaris* infiziert ist oder aber in den vorangegangenen 5 Monaten Kontakt mit ihnen hatte. Für die vorliegende Arbeit muss daher berücksichtigt werden, dass seropositive Kolikpferde zum Zeitpunkt der Blutentnahme nicht zwingend infiziert gewesen sein müssen, aber durchaus in der nahen Vergangenheit, genauer in den zurückliegenden 5 Monaten, Kontakt mit den Larven von *S. vulgaris* hatten. Dies würde die Hypothese der Unabhängigkeit zwischen dem Vorliegen einer Kolik und den ELISA-Ergebnissen bekräftigen. Ansteigende Antikörpergehalte sind auch auf eine zurückliegende Behandlung mit einem ML zurückzuführen und werden von NIELSEN et al. (2015b) mit einer verstärkten immunologischen Reaktion auf absterbende Larven von *S. vulgaris* erklärt. Dieser Effekt zeigte sich innerhalb der ersten 4 Wochen nach Ivermectingabe gegen die arteriellen Wanderstadien dieses großen Palisadenwurms (NIELSEN et al. 2015b).

Aus den statistischen Untersuchungen ergab sich weiterhin ein signifikanter Zusammenhang zwischen vorhandenen Eiern der MDS und seropositiven Befunden, wobei die Chance für ein seropositives ELISA-Ergebnis um 1,4- resp. 1,7-fach ( $p = 0,04$  respektive  $p = 0,02$ ) höher war als für Pferde, bei denen keine MDS-Eier im Kot nachgewiesen werden konnten.

Desweiteren sollte berücksichtigt werden, dass das SXP-Antigen von *S. vulgaris* (svSXP) nach ANDERSEN et al. (2013a) phylogenetisch eine enge Verwandtschaft mit dem SXP-Antigen der kleinen Strongyliden aufweist, weshalb das Risiko einer Kreuzreaktion zwischen diesen Antigenen besteht. Falsch-positive Ergebnisse können für die vorliegende Studie daher nicht ausgeschlossen werden. Bedacht werden sollte auch die Präpatenz, die für *S. vulgaris* nicht unbeachtlich ist. Infizierte Pferde können innerhalb der rund 6-monatigen Präpatenzperiode trotz negativer Kotprobenbefunde bereits hohe Antikörpertiter aufweisen.

Zwischen den mittels PCR nachgewiesenen *S. vulgaris*-Larven und der Seropositivität des ELISA konnte keine Beziehung hergestellt werden. Lediglich 1 von 6 PCR-positiven Pferden, die vor mindestens 8 Wochen anthelmintisch behandelt wurden, war gleichzeitig auch seropositiv. Aufgrund der etwa 6-monatigen Präpatenzzeit dieses Palisadenwurms (DUNCAN und DARGIE 1975) macht der Nachweis von *S. vulgaris*-Eiern im Kot eine innerhalb dieses Zeitraums zurückliegende Infektion mit diesen Strongylydenlarven sehr wahrscheinlich. Ferner bedeutet dies nach NIELSEN et al. (2014d), dass diese Pferde im ELISA seropositiv reagieren sollten. Aufgrund potentieller Störungen im ELISA-Test reagierten diese Proben möglicherweise falsch-negativ. Genauso kommen immunsupprimierte Pferde mit ausbleibender Immunreaktion gegen das SvSXP-Antigen der *S. vulgaris*-Drittlarven für die Divergenz dieser Testergebnisse in Betracht.

Falsch-positive Ergebnisse auf PCR-Ebene stellen ebenfalls eine Möglichkeit für diesen fehlenden Zusammenhang dar. Kreuzreaktionen mit anderen Pferdestrongylyden, zum Beispiel *S. edentatus*, *S. equinus* oder Arten der kleinen Strongylyden, sind einerseits denkbar. Dass es sich bei den restlichen 5 PCR-positiven Pferden jedoch um falsch-positive PCR-Befunde handeln könnte, ist aufgrund der hohen diagnostischen Sensitivität und Spezifität dieses Assays (NIELSEN et al. 2008) weitestgehend vernachlässigbar und als unwahrscheinlich anzusehen. Probenkontaminationen können darüber hinaus nicht ausgeschlossen werden, jedoch zeigten sich Negativkontrollen auch in der Gelelektrophorese negativ, weshalb dieser mögliche Störfaktor ebenfalls anzuzweifeln ist.

Angesichts der in dieser Studie sehr niedrigen koproskopischen Prävalenzen von *S. vulgaris* (4 resp. 1,1%) bei vergleichsweise hoher Seroprävalenz von 32,3% zeigt sich, dass die Erfassung (prä-)patenter Infektionen über die unterschiedlichen Testverfahren nicht einheitlich ist. Im ELISA sind Kreuzreaktionen mit den anderen *Strongylus*-Arten, ev. auch mit kleinen Pferdestrongylyden möglich (ANDERSEN et al. 2013a) und ebenso würden falsch-negative Ergebnisse der hier angewandten Real-time PCR die Imbalance zwischen koproskopischen und serologischen *S. vulgaris*-Befunden bedingen. Jene vermeintlich als negativ angenommenen Befunde können ihre Störfaktoren bereits in der Phase der Bebrütung, der DNA-Extraktion und / oder des PCR-Laufs haben (vgl. auch Kap. 5.6).

#### 5.4 Seroprävalenz von Antikörpern gegen *A. perfoliata*

In dieser Studie konnte belegt werden, dass der Nachweis von *A. perfoliata*-Eiern im Kot mit den seropositiven ELISA-Ergebnissen hoch signifikant assoziiert war. Die mittleren IgG(T)-Werte des ELISA waren im Vergleich zu Bandwurmei-freien Tieren signifikant höher. Zudem wiesen Bandwurmei-positive Pferde im Vergleich zu Pferden ohne Anwesenheit von *A. perfoliata*-Eiern im Kot ein rund 35-fach erhöhtes Risiko für einen gleichzeitig seropositiven Befund auf. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von BACK et al. (2013), bei denen sich für Pferde mit Bandwurmeiern gegenüber Bandwurmei-freien Pferden ebenfalls höhere OD-Werte zeigten.

Ein möglicher Zusammenhang zwischen einer Kolik und den Spezies-spezifischen Antikörpern gegen *A. perfoliata* wurde mit dem Mann-Whitney-Test ausgewertet. In keiner der Analysen konnte bestätigt werden, dass Pferde mit Kolik signifikant höhere ELISA-Werte hatten als Kontrollpferde, wenngleich Koliker durchweg höhere mittlere Ränge aufwiesen. Eine Assoziation zwischen den mittleren IgG(T)-Werten und der Anwesenheit einer Kolik konnte demnach nicht bestätigt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit der schwedischen Studie von BACK et al. (2013) überein, nicht jedoch mit denen anderer Autoren (PROUDMAN et al. 1998; BOSWINKEL et al. 2007; TROTZ-WILLIAMS et al. 2008), die für Koliker signifikant höhere Antikörperkonzentrationen aufzeigen konnten. TROTZ-WILLIAMS et al. (2008) legten allerdings ein gepaartes Fall-Kontroll-Studiendesign zu Grunde, wobei Fälle und Kontrollen für die Variablen Rasse und Geschlecht gematched wurden. Zudem stammten die entsprechenden Kontrollpferde aus demselben Betrieb und waren demnach den gleichen Parasiten ausgesetzt. TROTZ-WILLIAMS et al. (2008) konnten zwar ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem koprologischen oder serologischen Befund und der Kolik herstellen, jedoch wiesen Kontrollpferde hier signifikant höhere mittlere Serum-Antikörper auf. Möglicherweise reflektieren diese höheren IgG(T)-Werte in der Gruppe der Kontrollpferde eine bessere Immunität gegen *A. perfoliata*. In der vorliegenden Arbeit war es aus logistischen Gründen nicht möglich, jedem eingewiesenen Kolikpferd ein Kontrollpferd desselben Betriebs zuzuordnen, weshalb Fälle und Kontrollen gegenüber den verschiedenen Helminthen unterschiedlich exponiert waren. Trotz des relativ groß gewählten Stichprobenumfangs waren nur 33 Koliker und 32 Kontrollpferde serologisch Bandwurm-positiv. Möglicherweise erreichte der Test dadurch keine Signifikanz und die höheren Ränge in der Kolikergruppe deuten einen Trend an, der die Beobachtungen von BOSWINKEL et al. (2007) widerspiegelt. Auch hatten mittel-

und hochgradige Koliker im Vergleich zu Pferden mit geringer Koliksymptomatik in der vorliegenden Studie eine 2- resp. 2,3-fach höhere Wahrscheinlichkeit für einen seropositiven Befund.

In der Studie von PROUDMAN et al. (1998) stieg mit zunehmendem Infektionsgrad das Risiko für eine spastische Kolik, wobei als Maß für den Infektionsgrad der Gehalt an IgG(T)-Antikörpern diente. In der vorliegenden Arbeit konnte die Anzahl intestinal lokalisierter Bandwürmer nicht ermittelt werden, jedoch wurden die spezifischen Immunglobuline bestimmt. Der von PROUDMAN et al. beobachtete Zusammenhang konnte dennoch nicht bestätigt werden.

Es sollte berücksichtigt werden, dass die Seropositivität des Anti-*A. perfoliata*-ELISA nicht zwingend ein Indiz für eine akute Bandwurminfektion sein muss, sondern ebenso die Möglichkeit einer stattgehabten Infektion besteht. Bei aktueller Antigenkarenz, sprich Freiheit parasitärer Gebilde, ist demnach zwar mit einem Abfall der Antikörperkonzentrationen, aber dennoch mit seropositiven Ergebnissen zu rechnen.

Die anthelminthische Entfernung hoher Bandwurmbürden führte in einer Studie von BARRETT et al. (2005) zu hohen OD-Werten, sodass auch der Zusammenhang zwischen dem Einsatz anthelminthisch wirksamer Stoffe und hohen serologischen Antikörperkonzentrationen bedacht werden sollte. Demgegenüber steht der Abfall der Antikörperspiegel, der bei ABBOTT et al. (2003) ab dem 3. posttherapeutischen Monat, bei PROUDMAN et al. (1996b) dagegen sofort nach anthelminthischer Behandlung nachweisbar war.

#### 5.5 Nachweis larvaler *S. vulgaris*-DNA

In 4% aller angesetzten Kulturen konnte DNA von *S. vulgaris* nachgewiesen werden. 1,7% der Kulturen waren fraglich-positiv. Unter Berücksichtigung aller untersuchten Pferde betrug die Gesamtprävalenz für *S. vulgaris* 1,1%. Andere deutsche Studien konnten in 0,8% (HINNEY 2008) resp. 0,2% (SCHNEIDER et al. 2014) aller Strongyloiden-positiven Pferde *S. vulgaris* nachweisen, wobei die Datenerhebung dort nicht auf molekularer Ebene, sondern auf Grundlage einer mikroskopischen Larvendifferenzierung ermittelt wurde. In Dänemark lag die PCR-basierte Einzeltierprävalenz von *S. vulgaris*-Larven bei 12,1% (BRACKEN et al. 2012). Eine

weitaus niedrigere Prävalenz von 4,5% erreichte dieselbe Studie bei auf Larvenkulturen basierenden Daten. Demnach scheint nach BRACKEN et al. (2012) die konventionelle PCR der mikroskopischen Differenzierung in-vitro gezüchteter Larven überlegen zu sein. Diese Vermutung wird auch von KASPAR et al. (2017) gestützt, in deren kürzlich erschienener Publikation die Real-time PCR, verglichen mit aus Koprokulturen identifizierten Larven, eine signifikant verbesserte Nachweisrate zeigte.

In der vorliegenden Studie kam die Anwendung einer PCR zwar zum Einsatz und eine morphologische Identifizierung der Drittlarven blieb aus, dennoch erfolgte die Extraktion der genomischen DNA nicht aus den Strongylideneiern, sondern aus den in-vitro angezüchteten Drittlarven. Damit fand keine Umgehung der Larvenkultur statt, wie es bei BRACKEN et al. (2012) der Fall war. Mögliche Verluste durch Hemmung des Larvenschlupfs können daher nicht ausgeschlossen werden. Allerdings werden über die Anzucht der Drittlarven höhere DNA-Gehalte und somit eine höhere Sensitivität dieser Methode erreicht.

NIELSEN et al. (2010) beschrieben als mögliche Störgrösse für den Schlupf der Larven eine zu hohe relative Luftfeuchtigkeit. Eine Feuchtigkeitskontrolle ist in der vorliegenden Arbeit nicht durchgeführt worden, was den Aspekt einer möglichen Inhibierung der Larvenentwicklung unterstreicht. Daneben wiesen einige unserer Kulturen während der sieben- bis zehntägigen Inkubationszeit zum Teil starkes Pilzwachstum auf.

Bei durch Larvenkulturen erfassten Prävalenzdaten sollte daher auf eine gründliche Feuchtigkeits- und Pilzkontrolle (NIELSEN et al. 2010) geachtet und bei der Auswertung der Daten die vergleichsweise niedrigere Sensitivität bedacht werden (BRACKEN et al. 2012).

Wenngleich der  $\chi^2$ -Test zu dem Ergebnis der Unabhängigkeit zwischen Kolik und der Anwesenheit von *S. vulgaris*-DNA kam, deuten die ermittelten Werte aus der Real-time PCR möglicherweise einen steigenden Trend für die künftige Prävalenzentwicklung an. Auch die ermittelte Prävalenz der serologischen Testergebnisse könnte ein Hinweis auf die wieder zunehmende Bedeutung von *S. vulgaris* sein. Zudem kamen von PILO et al. (2012) in naher Vergangenheit Belege für die nach wie vor pathogenetisch wichtige Rolle dieses Palisadenwurms.

Wie bei allen Laboranalysen ist die Möglichkeit einer Probenkontamination und folglich eines falsch-positiven Ergebnisses nicht auszuschließen. Negativkontrollen, die in der

PCR liefen, blieben in unserer Arbeit jedoch auch in der Gelelektrophorese negativ, weshalb dieses Risiko für die vorliegende Studie als relativ niedrig angesehen wird.

Der derzeit diskutierte (NIELSEN 2012; GREITE 2013; SCHEUERLE et al. 2013; MENZEL 2014; HONEDER 2015) Zusammenhang zwischen selektiver Entwurmung und einem möglichen Prävalenzanstieg von *S. vulgaris* konnte in der vorliegenden Studie aufgrund der geringen Anzahl an auf diese Weise entwurmten Pferden (n = 7) nicht zufriedenstellend untersucht werden. Jedoch zeigten sich bei immerhin 32,3% dieser Pferde seropositive Befunde. Weiterführende Studien könnten hier großes Potential zur Aufklärung eines möglichen Zusammenhangs bieten.

#### 5.6 Reverse Line Blot (RLB)

Wie auch in einer Studie aus Deutschland, Italien und Großbritannien (TRAVERSA et al. 2010) konnten in der vorliegenden Arbeit alle 13 der durch den RLB-Test erfassbaren Spezies der Cyathostominae nachgewiesen werden.

Unter allen Pferden mit positivem Nachweis von MDS-Eiern im Kot waren nach in-vitro-Anzucht der Larven lediglich 58,5% der Tiere molekulardiagnostisch positiv. Trotz positiven Nachweises von MDS-Eiern im Kot könnte ein negativer Nachweis von kleinen Strongylidenlarven zum einen in der Sensitivität des RLB-Tests begründet liegen, zum anderen aber durch einen fehlerhaften Lauf desselben erklärt werden. Genauso müssen auch ein gehemmter Larvenschlupf während der Inkubationsphase (NIELSEN et al. 2010), eine gescheiterte Extraktion der Larven-DNA oder ein fehlerhafter PCR-Lauf in Betracht gezogen werden. Zudem sollte bedacht werden, dass Larvenkulturen jeweils ab einer Eizahl von 1 Ei pro Gramm Kot angelegt wurden. Unter diesen Kulturen befanden sich auch jene von Pferden mit einer niedrigen Eizahl von unter 200 Eiern pro Gramm Kot. Während der Nachweis von kleinen Strongylidenlarven für Pferde mit moderaten resp. hohen Eizahlen jeweils 100% betrug, zeigte sich für niedrigausscheidende Pferde (EpG 1-199) nur eine Nachweisrate von 47,7%. Diese erhöhte sich bei Herabsetzen der Eiausscheidungsgrenze auf einen Wert von 50 Eiern pro Gramm Kot. Pferde mit Eizahlen ab 50 pro Gramm Kot (n = 77) waren danach zu 94,8% RLB-positiv. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass bei Anwesenheit sehr niedriger Eizahlen

möglicherweise zu wenig DNA-Extrakt vorhanden gewesen sein könnte, was infolgedessen in einer niedrigeren Sensitivität resultierte.

## 5.7 Parasitenverdächtige Symptome

Unter allen Kolikern wiesen 26,3% (n = 82) der Pferde klinische Symptome auf, die auf einen Parasitenbefall hindeuten können. Unter diesen Symptomen waren rezidivierende Koliken am häufigsten (77,4%) und Abmagerungen am zweithäufigsten (17%) vertreten. Im Chi-Quadrat- / Exakten Test resp. in der logistischen Regression war keines der Symptome signifikant mit einem positiven MDS-Einachweis resp. mit *S. vulgaris* assoziiert, jedoch hatten Pferde mit dem Symptom Durchfall ein rund 3,4-fach höheres Risiko ( $p = 0,1$ ) für einen positiven Nachweis von MDS-Eiern im Kot und ein 16,5- resp. 74-fach erhöhtes Risiko ( $p = 0,08$  resp.  $p = 0,005$ ) für einen Spulwurmeipositiven Befund als Pferde, die nicht unter Durchfall litten.

Der Zusammenhang zwischen einer Durchfallerkrankung und dem Befall mit kleinen Strongyliden wurde bislang in vielen Studien und Fallberichten beschrieben (BLACKWELL 1973; PEREGRINE et al. 2006; WOBESER und TATARYN 2009). Keines der Pferde litt in der hier beschriebenen Arbeit an Durchfall bei gleichzeitig positivem Nachweis von Cyathostominenlarven. Jedoch ist ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von MDS-Eiern und dem Symptom Durchfall zu vermuten. Da es sich zudem bei nachgewiesenen MDS-Eiern in den meisten Fällen um Eier der kleinen Strongyliden handelt (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA 2007; HINNEY 2008; SCHNEIDER et al. 2014) und diese Beobachtung hier zumindest ab einer Nachweisgrenze von 50 Eiern bestätigt werden kann, sollte für die vorliegende Studie ein Zusammenhang zwischen einer möglicherweise existenten Cyathostominose und dem Symptom Durchfall nicht ausgeschlossen werden. Diese Erkrankung wird häufig gegen Ende des Winters (LOVE et al. 1999; SMETS et al. 1999; LYONS et al. 2000; ERTELT et al. 2012), aber auch von September bis Mai (PEREGRINE et al. 2006) beobachtet. Pferde mit Durchfall und gleichzeitig positivem Nachweis von MDS-Eiern zeigten sich auch in der vorliegenden Studie für die Monate September, November, März und April. Die Höhe der Eizahl fiel für diese Tiere durchweg sehr niedrig aus, was wie bereits erwähnt eine unzureichende Detektion der kleinen Strongylidenlarven zur Folge gehabt haben könnte. Zudem muss bedacht

werden, dass die Höhe der Eiausscheidung bei Jungtieren signifikant höher ist als bei älteren Tieren (KLEI und CHAPMAN 1999; WIRTHERLE 2003; CHAPMAN et al. 2003; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al. 2009). Bei den oben genannten Pferden handelte es sich größtenteils um Pferde höheren Alters. Auf der anderen Seite muss auch die saisondynamische Eiausscheidung bedacht werden, die in den Wintermonaten diskontinuierlich erfolgt, während es in der Weideperiode zu einer vermehrten Eiausscheidung kommt (OGBOURNE 1972). Desweiteren können nach LOVE et al. (1999) Anthelminthika, aber auch der Immunstatus des Pferdes an der Reaktivierung hypobiotischer Larvenstadien und folglich an der Auslösung einer Cyathostominose beteiligt sein. Aus diesem Grund wird auch vor dem Einsatz larvizider Anthelminthika im Frühjahr gewarnt, da dieser Zeitpunkt das Ende der larvalen Hypobiose reflektiert (STEINBACH 2003). Bis auf eine Ausnahme wurde in der vorliegenden Studie jedes an Durchfall leidende und MDS-Ei-positive Pferd vor mehr als 8 Wochen entwurmt, sodass eine anthelminthisch induzierte Cyathostominose bzw. Durchfallerkrankung als eher unwahrscheinlich anzunehmen ist. STEINBACH et al. (2006) beobachteten die klinische und histopathologische Auswirkung zweier für das Pferd zugelassener Anthelminthika. Während die Behandlung mit Moxidectin nur zu geringgradigen Veränderungen der Darmschleimhaut führte, zeigte sich ein ausgeprägter posttherapeutischer Effekt bei Anwendung einer an fünf aufeinander folgenden Gabe von Fenbendazol, der mit einer hochgradigen Gewebsalteration der intestinalen Mukosa einherging. Schwere, klinische Symptome einer larvalen Cyathostominose, zum Beispiel Durchfall, blieben jedoch aus (STEINBACH et al. 2006).

In einem Bericht über unerwünschte Arzneimittelwirkungen reagierten Pferde auf die kombinierte Gabe von Ivermectin und Praziquantel mit Durchfall und Fieber (WILKE, IBRAHIM und KLEE 2005), wobei der Infektionsstatus der betroffenen Pferde hierbei unbekannt war. Letztendlich lässt sich der tatsächliche Befall der Darmschleimhaut mit den Larven der kleinen Stronygliden ohne eine histopathologische Untersuchung nicht eruieren. Die Entnahme von Gewebeproben konnte in der vorliegenden Studie aus logistischen Gründen jedoch nicht durchgeführt werden.

Das Chancenverhältnis für einen seropositiven Befund (*A. perfoliata*) zwischen abmagernden Pferden und Pferden ohne Gewichtsverlust war in etwa ausgeglichen, aber Pferde mit dem Symptom Abmagerung hatten eine 4,9-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für einen positiven Bandwurmei-Befund. Aufgrund der sehr

geringen Fallzahlen, die sich für den positiven Nachweis von *A. perfoliata*- bzw. *Parascaris*-Eiern ergaben, lassen sich für die vorliegende Studie keine zuverlässigen Aussagen über den Zusammenhang zwischen der Pferdegesundheit und den Befunden der Eizählung treffen. Lediglich für 1 Kolikpferd konnte die Beobachtung einer Abmagerung bei gleichzeitig vorhandenen Bandwurmeiern gemacht werden. Genauso war nur ein Kolikpferd von Durchfall und nachgewiesenen Spulwurmeiern betroffen. Dennoch decken diese Beobachtungen sich mit Literaturangaben und den Beobachtungen anderer Autoren, bei denen ein Band- resp. Spulwurmbefall in Zusammenhang mit anorektischen Zuständen (BEROZA 1983) resp. diarrhoischen Stuhlentleerungen (DEPLAZES 2013) gebracht wird.

## 5.8 Diagnosen

Obstipationen des Dick- oder Dünndarms wurden mit 45,3% am häufigsten und Darmverlagerungen mit 24,8% am zweithäufigsten diagnostiziert. In dieser Studie konnte keine statistisch signifikante Beziehung zwischen der Diagnose und den jeweiligen koproskopischen respektive serologischen Testergebnissen hergestellt werden. Endoparasitäre Entwicklungsstadien zeigten sich auch in der Studie von GROSCHE (2000) unabhängig von der Kolikform. In der vorliegenden Arbeit wiesen jedoch Kolikpferde mit einer Jejunumobstipation gegenüber Kolikern mit einer Obstipation des Colon ascendens resp. descendens eine 17-fach höhere Wahrscheinlichkeit für einen Bandwurmei-positiven Kotprobenbefund auf, wenngleich dieses Ergebnis statistisch gerade so keine Signifikanz erreichte ( $p = 0,053$ ). Da die Fallzahlen für Bandwurm-positiv Ergebnisse in dieser Studie sehr gering ausfielen und lediglich ein Bandwurmei-positives Pferd von einer Jejunumobstipation betroffen war, bleibt die Aussagekraft für einen real anzunehmenden Zusammenhang in der vorliegenden Studie fraglich. Aus einem Fallbericht von JACH und ALLMELING (1990) kamen jedoch Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen einem Massenbefall mit *A. perfoliata* und einem jejunal lokalisierten Obturationsileus. Bei PROUDMAN et al. (1998) waren dagegen 81% der Ileumanschoppungen auf intestinal parasitierende *A. perfoliata* zurückzuführen, daneben waren 22% der spastischen Koliken Bandwurm-assoziert.

Ein anderer Zusammenhang ergab sich zwischen positiven MDS-Eibefunden und dem

Vorliegen einer Strangulationskolik. Pferde, bei denen Eier von MDS im Kot nachgewiesen werden konnten, hatten ein 7,6-fach erhöhtes Risiko, eine Strangulationskolik zu erleiden. Bei genauerer Betrachtung der Fälle zeigte sich für die Mehrheit dieser Strangulationskoliken jedoch ein Lipoma pendulans als Ursache (n =10), sodass dieses Resultat als kritisch und die medizinische Bedeutsamkeit als sehr schwach zu bewerten ist. Eine erneute Analyse mit den Kategorien „Lipom-assoziierte Strangulationskolik“ und „nicht-Lipom-assoziierte Strangulationskolik“ ergab im Chi-Quadrat-Test zwar erneut einen signifikanten Zusammenhang, jedoch nicht im Fisher's Exakt-Test. Da die Stichprobe sehr gering ausfiel und nicht alle Voraussetzungen für die Anwendung eines Chi-Quadrat-Testes gegeben waren, liefert der Exakte Test nach Fisher in diesem Zusammenhang die zuverlässigeren und glaubwürdigeren Ergebnisse.

Zwischen den *S. vulgaris*-spezifischen Antikörpern und den einzelnen Diagnosen gab es keinen signifikanten Zusammenhang. Dagegen waren nach NIELSEN et al. (2015) nicht-strangulierende intestinale Infarzierungen signifikant mit diesen spezifischen Antikörpern assoziiert.

#### 5.9 Anthelminthika-induzierte Kolik

Eine mögliche Wechselwirkung zwischen letzter Entwurmung und Kolik erreichte im multifaktoriellen Regressionsmodell für Entwurmungen, die weniger als 1 Woche zurücklagen, statistische Signifikanz. Innerhalb der letzten 7 Tage entwurmte Pferde hatten ein 2,8-fach höheres Kolikrisiko als Pferde, deren letzte Entwurmung mindestens 8 Wochen zurücklag. Der am häufigsten eingesetzte Wirkstoff bei vor weniger als einer Woche entwurmenen Pferden mit Koliksymptomen war Ivermectin als Monopräparat. Die Anwendung eines Moxidectin-haltigen Präparates führte in der vorliegenden Studie gegenüber der Gabe von Ivermectin zu einem rund 4,2-fach erhöhten Kolikrisiko. Bei Adjustierung der Daten auf Entwurmungen, die vor weniger als 1 Woche stattfanden, war diese Assoziation jedoch nicht mehr signifikant. BARRETT et al. (2005) beobachteten 8-12 Stunden nach Gabe einer Kombination aus Ivermectin und Praziquantel klinische Symptome, die sich in Form von Kolik und Durchfall zeigten. Diese Pferde waren auch serologisch Bandwurm-positiv, weshalb ein Bezug zu einer behandlungsbedingten Beseitigung hoher Bandwurmbürden

gezogen wurde (BARRETT et al. 2005). CRIBB et al. (2006) konnten nach anthelminthischer Gabe ebenfalls einen posttherapeutischen Effekt beobachten, der sich innerhalb von 24 Stunden in Form von Kolik und einer durch abgetötete adulte Askariden hervorgerufenen Dünndarmobstruktion darstellte.

In der vorliegenden Arbeit erfolgten die im Fragebogen erfassten Angaben zur letzten Entwurmung nicht im Tages- oder gar Stundenbereich, sondern die kleinste Einheit stellte hier die Kategorie „vor weniger als 1 Woche“ dar. Dadurch besteht die Möglichkeit, dass sich unter diesen Pferden jene befanden, die vor mehr als einem Tag entwurmt wurden und demnach ein Zusammenhang zur Anthelminthikagabe unwahrscheinlicher wird. Ein bedeutend kleiner gewählter Zeitraum hätte dieses Problem umgehen können und wäre vermutlich mit einer höheren Zuverlässigkeit des Testergebnisses einhergegangen. Jedoch war lediglich ein kürzlich entwurmtes Pferd an Durchfall erkrankt und dieses zudem seronegativ und unter den vor kurzem anthelminthisch behandelten Kolikern (n = 22) wies nur ein Pferd Antikörper gegen *A. perfoliata* auf.

Hinzu kommen neben der Anwendung anthelminthischer Wirkstoffe weitere Maßnahmen im Zuge therapeutischer resp. prophylaktischer Arzneimittelgaben, die kausal an einer Kolik beteiligt sein können und daher bedacht werden sollten. In der Humanmedizin sind neben Infektionen mit *Helicobacter pylori* nicht-steroidale Entzündungshemmer als prädominante Faktoren für die Entstehung von Magen-Darmulzerationen zu sehen (MALFERTHEINER et al. 2009). Für das Pferd kann die Anwendung von NSAIDs ebenfalls in schmerzhaften, gastrischen Schleimhautschäden resultieren (MAGDESIAN und SMITH 2009). Diesen Zusammenhang konnten MAC ALLISTER et al. (1993) für die in der Pferdepraxis häufig eingesetzten Wirkstoffe wie Phenylbutazon, Flunixin-Meglumin und Ketoprofen ebenfalls beobachten. Hinweise zu Kolikschmerzen infolge oraler Applikation von Meloxicam kommen auch aus einem Bericht von WILKE et al. (2007).

Daneben spielen Antibiotika aufgrund ihrer abtötenden Wirkung gegenüber residenten Darmkeimen in der Genese intestinaler Störungen eine Rolle. In diesem Zusammenhang wird vor allem über schwere Durchfallerkrankungen (FEY und SASSE 1997), weniger jedoch über Koliken berichtet. Je nach Schweregrad der damit einhergehenden, intestinalen Schleimhautschäden sind Letztere jedoch durchaus denkbar.

Kürzlich zurückliegende, medikamentöse Vorbehandlungen wurden während der Auswertung der Daten nicht berücksichtigt und könnten sich möglicherweise verzerrend auf die Ergebnisse dieser Studie ausgewirkt haben.

#### 5.10 Kolikgrad

##### *Strongyliden*

Weder die koproskopischen noch molekular diagnostischen Ergebnisse waren mit dem Grad der Kolik assoziiert.

Untersuchungen von NIELSEN et al. (2010) zufolge sind die Ei- resp. Larvenzahl nicht linear mit der vorherrschenden Wurmbürde im Tier korreliert. Zudem zeichnete sich in derselben Studie ab, dass Strongylideneizahlen unter 500 pro Gramm Kot tendenziell mit niedrigeren Wurmbürden zusammenhängen. Daraus kann indirekt abgeleitet werden, dass trotz vorhandener Eizahlen oder nachgewiesener MDS-Larven keine zuverlässige Aussage über den Grad einer möglichen parasitären Infektion getroffen werden kann. In der vorliegenden Arbeit wiesen über 90% aller Pferde Strongylideneizahlen unter 500 pro Gramm Kot auf. Möglicherweise war die Wurmbürde im Tier daher zu gering, um Einfluss auf die Kolik zu nehmen. Im Umkehrschluss muss jedoch auch bedacht werden, dass potentiell hohe Parasitenbürden im Pferd nicht zwingend mit pathologischen Schäden einhergehen und folglich auch kein Kolykauslöser sein müssen.

##### *Bandwürmer*

Ohne Erreichen statistischer Signifikanz hatten mittel- und hochgradige Koliker im Vergleich zu Pferden mit geringer Kolyksymptomatik eine 2- resp. 2,3-fach höhere Wahrscheinlichkeit für einen seropositiven Befund. Ohne Erfassung der tatsächlichen Bandwurmbürde können jedoch nur schwer Rückschlüsse gezogen werden, ob diese Beobachtung auf einen kausalen Zusammenhang hindeutet.

#### 5.11 Serumelektrophorese

Ein Zusammenhang zwischen dem qualitativen Nachweis von MDS-Eiern und den einzelnen Proteinfractionen konnte nicht gesehen werden. Jedoch war der mittlere

Gehalt des Totalproteins und der  $\beta$ -Globuline bei *S. vulgaris*-seropositiven Pferden signifikant höher als bei den seronegativen Tieren. Es sollte dabei jedoch berücksichtigt werden, dass für diese beiden Gruppen die entsprechenden mittleren Konzentrationen im Referenzbereich lagen. Hieraus kann konkludiert werden, dass der Gehalt an Totalprotein und  $\beta$ -Globulinen bei seropositiven Pferden allgemein zwar anzusteigen scheint, gesundheitliche Probleme sind dabei aber nicht zu erwarten. Dennoch spiegelt dieser Trend die Beobachtungen anderer Autoren wider (MAIR et al. 1993; LOVE 2002). Sowohl Infektionen mit großen als auch kleinen Strongyloiden können den Beschreibungen von LOVE (2002) zufolge Hyperbetaglobulinämien und erniedrigte A-G-Quotienten bedingen.

Wie bereits ausgeführt wurde die Wurmbürde der Pferde in der vorliegenden Arbeit nicht erfasst, sie war jedoch vermutlich eher niedrig und somit zu gering, um eine starke Erhöhung dieser Parameter nach sich zu ziehen. In der Norm befindliche Serumproteinwerte sollten demnach nicht zwingend den Ausschluss einer Strongyloideninfektion als Konsequenz haben.

Zudem reflektieren seropositive Befunde nicht unwiderlegbar eine aktuelle Infektion, sodass ein tatsächlicher Zusammenhang nur sehr schwer zu ergründen ist und aus wissenschaftlicher Sicht eine Bestätigung durch post mortem-Untersuchungen erfordert.

Zwischen Pferden, bei denen *S. vulgaris*-DNA in der Real-time PCR nachgewiesen werden konnte und Pferden, die in dieser PCR negativ waren, unterschieden sich die Mittelwerte der einzelnen Serumproteine nicht signifikant voneinander. Ein Beweis für die Wechselwirkung zwischen migrierenden *S. vulgaris*-Larven und pathologischen Schäden, die mit einer Veränderung der Serumproteinwerte einhergehen, kann damit nicht geliefert werden.

## 5.12 Fragebogen

Um valide Studienergebnisse zu erzielen, sollten vergleichbare Bedingungen zwischen den Fällen und den Kontrollen vorliegen. Am sinnvollsten erscheint hierbei die Analyse einer gepaarten Fall-Kontroll-Studie mit Auswahl eines Kontrolltieres, das aus demselben Betrieb wie das Kolikpferd stammt und keine starken Abweichungen

hinsichtlich Haltung, Entwurmung, Rasse, Alter und Geschlecht aufweist, da diese Faktoren die Aussagekraft zum Teil erheblich beeinflussen können. In der vorliegenden Arbeit war eine Selektion der Kontrollen auf diesem Weg logistisch nicht möglich. Diesem Problem wurde im Gegenzug mit einem entsprechend großen Stichprobenumfang von über 300 Pferden je Gruppe begegnet. Zusätzlich wurden für eine ergänzende Studie von ERTELT et al. (2015), die auf den Daten der vorliegenden Arbeit beruhte, Angaben zum Management aufgenommen. Hier zeigte sich, dass bestimmte Managementstrukturen eines Stalls wesentliches Potential für eine parasitäre Infektion bieten. Als Einflussfaktoren für das Vorkommen von MDS-Eiern im Kot konnten in dieser Studie der Zeitpunkt der letzten Entwurmung, der Zugang zu einer Koppel, das Pflügen der Koppel und das Düngen der Koppel mit Pferdemist genannt werden (ERTELT et al. 2015).

### 5.13 Ausblick

Schwierigkeiten bei der Erfassung präpatenter Helmintheninfektionen ergeben sich vor allem durch die migrierenden, großen und kleinen Strongylidenlarven, aber auch durch unregelmäßig ausscheidende Helminthen. Tierexperimentelle Arbeiten mit integrierten post mortem-Untersuchungen leisten hier sicherlich den größten Beitrag zur Aufklärung möglicher Zusammenhänge zwischen Kolik und tatsächlichem Infektionsstatus. Molekulare als auch nicht-molekulare Ergebnisse könnten durch Autopsie der beprobten Pferde, bei Abklärung einer möglichen Cyathostominose aber auch durch die begleitende Entnahme von Gewebeproben der intestinalen Schleimhaut intra vitam bestätigt werden. Belege dieser Art sind praktisch und ethisch jedoch nicht einfach zu erbringen.

Weiterführende Forschungsarbeiten ohne Sektionsvorhaben sollten zumindest auf einem Studiendesign basieren, bei welchem die Fälle und Kontrollen durch identische Haltungs- und Managementmodalitäten denselben Infektionsbedingungen ausgesetzt sind.

Darüberhinaus ist die Weiterentwicklung und Neu-etablierung diagnostischer Tests zur frühzeitigen Identifizierung Helminthen-infizierter Pferde, zum Beispiel anhand der

Gewinnung Spezies-spezifischer Antigene, wünschenswert.

## 6 Zusammenfassung

Die hier vorliegende Fall-Kontroll-Studie hatte zum Ziel, das Vorkommen der wichtigsten beim Pferd parasitierenden Helminthen an einer umfangreichen klinischen Patientengruppe von insgesamt 620 Pferden zu erfassen. Auf der Grundlage dieser Datenerhebung sollte ein möglicher Zusammenhang des parasitären Infektionsstatus zum Auftreten einer Kolik anhand von koprologischen, serologischen sowie klinischen Daten eruiert werden.

Die Altersstruktur aller beprobten Pferde lag im Mittel bei  $12 \pm 7$  Jahren, wobei mehrheitlich adulte Tiere (94,7%) Bestandteil der Untersuchungen waren. Dahingegen kamen ein- bis dreijährige Pferde und Fohlen zu 4,4% resp. 1% vor. Eier von Magen-Darm-Strongyliden (MDS) waren in 50,2% aller vor mindestens 8 Wochen entwurmten Pferde bei einem 95%-Konfidenzintervall (KI) von 45,7 bis 54,9% prävalent, Spul- und Bandwurmeier in 0,5% [KI: 0; 1,2] resp. 1% [KI: 0,2 ; 2] aller untersuchten Pferde. Eine Assoziation zwischen Kolik und dem Nachweis dieser Helmintheneier wurde hierbei nicht festgestellt.

Das Risiko für einen *S. vulgaris*-seropositiven Befund war für Pferde mit positivem Nachweis von MDS-Eiern im Kot um das 1,4- ( $p = 0,035$ ) resp. 1,7-fache ( $p = 0,017$ ) höher als bei Abwesenheit derselben Eier.

In der Reverse-Line-Blot-Analyse (RLB) konnte jede der durch diesen Test erfassbaren Cyathostominen-Spezies ermittelt werden, jedoch bestand auch hier kein Zusammenhang zur Kolik. Bei nur 58,5% aller Proben mit detektierten MDS-Eiern konnten Larven der kleinen Strongyliden in der RLB nachgewiesen werden. Ab einer Nachweisgrenze von 50 Eiern pro Gramm Kot lag diese Prävalenz bei 94,8%.

In den serologischen *S. vulgaris*- und *A. perfoliata*-Untersuchungen konnte statistisch kein Anhalt auf unterschiedliche Antikörper-Konzentrationen zwischen Kolikern und Kontrollen erbracht werden. 10,7% [KI: 8,4 ; 13,1] aller Pferde waren seropositiv für Anti-*A.perfoliata*-IgG(T). Während für immerhin 4% [KI: 1,3 ; 6,7] aller angesetzten Koprokulturen und 1,1% aller in der Studie beprobten Pferde in der Real-time PCR larvale DNA von *S. vulgaris* nachgewiesen werden konnte, zeigten sich zudem unerwartet hohe serologische Prävalenzwerte von beachtlichen 32,3% [KI: 28,5 ; 36,4] für diese Strongylidenart. Die Ergebnisse dieses *Anti-SvSXP*-ELISA deuten darauf hin, dass dieser Test zumindest großes Potential für die Detektion präpatenter Infektionen bietet, wenngleich Aussagen über eine akute Infektion dabei nur mit Vorsicht und unter

Einbeziehung weiterer laborparametrischer und klinischer Ergebnisse getroffen werden sollten. Ein signifikanter Zusammenhang zur Kolik konnte dabei nicht hergestellt werden. Hierbei sollte berücksichtigt werden, dass positive Befunde aufgrund der eingeschränkten Spezifität des angewandten Tests, aber auch unter Berücksichtigung möglicher Kreuzreaktionen nicht mit großer Sicherheit bestätigt werden können.

In der Serumelektrophorese hatten seropositive Pferde signifikant höhere Totalprotein- und  $\beta$ -Globulinwerte und einen niedrigeren A/G-Quotienten als Pferde mit negativem Nachweis von *Anti-S.vulgaris*-Antikörpern.

Ohne Signifikanz zu erreichen lag das Odds Ratio für einen positiven MDS-Eibefund für Pferde mit Durchfall im Vergleich zu Pferden ohne diese Symptomatik bei 1,9 ( $p = 0,386$ ). Obstipationen, die im Jejunum des Pferdes lokalisiert waren, gingen im Vergleich zu Verstopfungen des Colon ascendens resp. descendens mit einer 17-fach ( $p = 0,053$ ) höheren Wahrscheinlichkeit für einen Bandwurmei-positiven Befund einher. Ferner verdeutlicht diese Studie die Bedeutung von Wurmkuren im Kolikgeschehen, weshalb der Zeitpunkt der letzten Entwurmung anamnestisch nie außer Acht gelassen werden sollte. So hatten vor weniger als sieben Tage entwurmte Pferde gegenüber Pferden, die vor mehr als acht Wochen entwurmt wurden, eine 2,4-fach ( $p = 0,025$ ) erhöhte Chance für eine Kolik.

Abschließend sollte betont werden, dass die Erfassung präpatenter Infektionen bis heute eine große diagnostische Herausforderung bleibt, vor allem im Hinblick auf migrierende oder in Hypobiose befindliche Strongylidenlarven. Negative Kotprobenbefunde sollten und dürfen nicht zu der Annahme einer Parasitenfreiheit führen. Ohne vergleichende Sektionsuntersuchungen bleiben der tatsächliche Infektionsstatus und folglich die wirkliche Assoziation zur Kolik ungewiss. Weitere Fall-Kontroll-Studien würden daher einen wichtigen Beitrag zur Aufklärung des Zusammenhangs zwischen Kolik und einer parasitären Infektion leisten.

Für den praktizierenden Tierarzt sollte die endgültige Diagnose einer Parasitose im Kolikgeschehen demnach nicht auf den Ergebnissen eines einzigen Tests basieren. Vielmehr sollte diese nach Evaluierung verdächtiger klinischer sowie umfassender labordiagnostischer Befunde gestellt werden.

## 7 Summary

### Prevalence study of helminths of the colic patient

The objective of the present case-control study was to detect the occurrence of equine parasitic helminths in a comprehensive clinical patient group of a total of 620 horses. On the basis of this data collection it was aimed to determine a potential correlation of the parasitic infection to the occurrence of colic, based on coprological, serological and clinical data.

The age structure of the tested horses was at a median of  $12 \pm 7$  years whereby the majority in the study were adult animals (94.7%), as opposed to 1-3 years old horses and foals at 4.4% and 1% respectively. Eggs of gastrointestinal strongyles were present in 50.2% of all horses dewormed at least 8 weeks before, with a 95% confidence interval of 45.7 to 54.9%, ascarid and tapeworm eggs in 0.5% [CI: 0; 1.2] and 1% [CI: 0.2; 2] respectively, in all tested horses. An association between colic and the detection of these helminth eggs has not been established.

The risk of a *S. vulgaris*-seropositive finding in horses with presence of strongyle eggs in their faeces was higher by a factor of 1.4 ( $p = 0.035$ ) and 1.7 ( $p = 0.017$ ), than if the same eggs were not present.

In the reverse line blot analysis (RLB) every cyathostomin species detectable with that assay was present, however, there was no correlation to colic here either. Only in case of 58.5% of all samples with detected strongyle eggs larvae of the small strongylids could be identified in the RLB. From a detection limit of 50 eggs per gram faeces this prevalence was at 94.8%.

In the serologic *S. vulgaris* and *A. perfoliata* assays no statistical correlation could be established for the various antibody concentrations between the horses suffering from colic and the control group. 10.7% [CI: 8.4; 13.1] of all horses were seropositive for anti-*A.perfoliata*-IgG(T). While in 4% [CI: 1.3; 6.7] of all initiated coprocultures and in 1.1% of all horses tested in the study larval DNA of *S. vulgaris* has been found in the real-time PCR, unexpectedly high serological prevalence values have been found at a significant 32.3% [CI: 28.5; 36.4] for this strongyle species. The results of this *Anti-SvSXP*-ELISA indicate that this test has at least a significant potential in the detection of prepatent infections, even if statements about an acute infection should only be made with care, and by including further laboratory parametric and clinical results. A

significant correlation with colic could not be established hereby. It should further be considered that positive results could not be confirmed with high probability due to the limited specificity of the tests applied, but even with the consideration of potential cross reactions.

In the serum electrophoresis seropositive horses had significantly higher total protein and  $\beta$ -globulin values and a lower A/G-quotient than horses that tested negative for *anti-S. vulgaris* antibodies.

Without reaching statistical significance the odds ratio for a positive strongyle egg test in horses with diarrhoea in comparison to those without these symptoms was 1.9 ( $p = 0.386$ ). Obstipations localised in the jejunum of the horse usually had a 17 times ( $p = 0.053$ ) higher chance for testing positive for tapeworm eggs in comparison to those with constipation of the colon ascendens and descendens, respectively. Furthermore, this study points at the significance of deworming treatments in association with occurrence of colic. Herein horses dewormed less than 7 days before compared to horses that were dewormed more than 8 weeks ago, showed a 2.4 times ( $p = 0.025$ ) increased chance for colic. Accordingly, the time period between the onset of colic and the last deworming should always be considered in the patient history.

Finally, it should be emphasised that the detection of prepatent infections to date remains a diagnostic challenge, especially with regard to migrating or hypobiotic strongylid larvae. Faecal samples testing negative should not lead to the conclusion of the examined horse being parasite-free. Without comparative autopsy examinations the actual infection status and consequently the real association with colic remains uncertain. Further case-control studies are required to improve our understanding of the potential associations between colic and a parasitic infection.

Therefore, for the practicing veterinarian the final diagnosis of a parasitic colic event should not be based on the results of a single test. This should be rather established after the evaluation of clinical symptoms as well as comprehensive laboratory test results.

**Literaturverzeichnis**

- Abbott, J. B., Christley, R., Proudman, C. J., Love, S. (2003) Serum levels of IgG(T) specific for a 12/13 kDa excretory/secretory antigen associated with *Anoplocephala perfoliata* following praziquantel tapeworm treatment and natural reinfection. *Proceedings of the 42nd British Equine Veterinary Association Congress. Birmingham, UK, September 11 to 13, 2003*: p 278.
- Abbott, J. B., Mellor, D. J., Barrett, E. J., Proudman, C. J., & Love, S. (2008). Serological changes observed in horses infected with *Anoplocephala perfoliata* after treatment with praziquantel and natural reinfection. *Vet Rec*, 162, 50-53.
- Abutarbush, S. M., Carmalt, J. L., & Shoemaker, R. W. (2005). Causes of gastrointestinal colic in horses in western Canada: 604 cases (1992 to 2002). *Can Vet J*, 46, 800-805.
- Al Anazi, A. D., & Alyousif, M. S. (2011). Prevalence of non-strongyle gastrointestinal parasites of horses in Riyadh region of Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci*, 18, 299-303.
- Anders K., Hamann J., Grabner A (2008). Die larvale Cyathostominose des Pferdes. *Der Praktische Tierarzt*, 89, 393-397.
- Andersen, U.V. et al. (2013a): SvSXP: a *Strongylus vulgaris* antigen with potential for prepatent diagnosis. *Parasites & Vectors* 2013 6:84.
- Andersen, U. V., Howe, D. K., Olsen, S. N., & Nielsen, M. K. (2013b). Recent advances in diagnosing pathogenic equine gastrointestinal helminths: the challenge of prepatent detection. *Vet Parasitol*, 192, 1-9.
- Andersen, U. V., Reinemeyer, C. R., Toft, N., Olsen, S. N., Jacobsen, S., & Nielsen, M. K. (2014). Physiologic and systemic acute phase inflammatory responses in young horses repeatedly infected with cyathostomins and *Strongylus vulgaris*. *Vet Parasitol*, 201, 67-74.
- Back, H., Nyman, A., & Osterman Lind, E. (2013). The association between

- Anoplocephala perfoliata and colic in Swedish horses--a case control study. *Vet Parasitol*, 197, 580-585.
- Barda, B., Cajal, P., Villagran, E., Cimino, R., Juarez, M., Krolewiecki, A., Rinaldi, L., Cringoli, G., Burioni, R., Albonico, M. (2014). Mini-FLOTAC, Kato-Katz and McMaster: three methods, one goal; highlights from north Argentina. *Parasit Vectors* 7: 271.
- Barrett, E. J., Blair, C. W., Farlam, J., & Proudman, C. J. (2005). Postdosing colic and diarrhoea in horses with serological evidence of tapeworm infection. *Vet Rec*, 156, 252-253.
- Becher, A. M., Mahling, M., Nielsen, M.K., Pfister, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): an investigation into strongyle egg shedding consistency. *Vet Parasitol* 171(1-2): 116-122.
- Behrens, T. (2001). Bandwürmer (Anoplocephaliden) beim Pferd: Prävalenz in Norddeutschland sowie Eignung eines serologischen Nachweisverfahrens (ELISA) zur Diagnostik [Dissertation]. Hannover: Institut für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover.
- Beroza, G. A., Barclay, W. P., Phillips, T. N., Foerner, J. J., & Donawick, W. J. (1983). Cecal perforation and peritonitis associated with Anoplocephala perfoliata infection in three horses. *J Am Vet Med Assoc*, 183, 804-806.
- Bibliographisches Institut GmbH, Dudenverlag, 14197 Berlin, Geschäftsführung: Olaf Carstens, Mark van Mierle (2016) Kolik [Internet]. Zitiert am 21.11.2016. URL: <http://www.duden.de/rechtschreibung/Kolik>.
- Blackwell, N. J. (1973). Colitis in equines associated with strongyle larvae. *Vet Rec*, 93, 401-402.
- Boersema, J. H., Eysker, M., & Nas, J. W. (2002). Apparent resistance of Parascaris equorum to macrocyclic lactones. *Vet Rec*, 150, 279-281.
- Boswinkel, M., & Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. (2007). Correlation

- between colic and antibody levels against *Anoplocephala perfoliata* in horses in The Netherlands. *Tijdschr Diergeneeskd*, 132, 508-512.
- Bracken, M. K., Wohlk, C. B., Petersen, S. L., & Nielsen, M. K. (2012). Evaluation of conventional PCR for detection of *Strongylus vulgaris* on horse farms. *Vet Parasitol*, 184, 387-391.
- Bucknell, D. G., Gasser, R. B., & Beveridge, I. (1995). The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *Int J Parasitol*, 25, 711-724.
- Chapman, M. R., French, D. D., & Klei, T. R. (2003). Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana. *J Parasitol*, 89, 309-314.
- Chapman, M. R., Klei, T. R., & French, D. D. (1991). Identification of thiabendazole-resistant cyathostome species in Louisiana. *Vet Parasitol*, 39, 293-299.
- Clayton, H. M., & Duncan, J. L. (1977). Experimental *Parascaris equorum* infection of foals. *Res Vet Sci*, 23, 109-114.
- Clayton, H. M. and Duncan, J. L. (1979a). The migration and development of *Parascaris equorum* in the horse. *Int J Parasitol*, 9, 285-292.
- Clayton, H. M. and Duncan, J. L. (1979b). The development of immunity to *Parascaris equorum* infection in the foal. *Res Vet Sci*, 26: 383-384.
- Cohen, N. D., Matejka, P. L., Honnas, C. M., & Hooper, R. N. (1995). Case-control study of the association between various management factors and development of colic in horses. Texas Equine Colic Study Group. *J Am Vet Med Assoc*, 206, 667-673.
- Cohen, N. D., & Peloso, J. G. (1996). Risk factors for history of previous colic and for chronic, intermittent colic in a population of horses. *J Am Vet Med Assoc*, 208, 697-703.
- Cohen, N. D. (1997). Epidemiology of colic. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 13, 191-

201.

- Cohen, N. D., Gibbs, P. G., & Woods, A. M. (1999). Dietary and other management factors associated with colic in horses. *J Am Vet Med Assoc*, *215*, 53-60.
- Coles, G. C., Eysker, M., Hodgkinson, J., Matthews, J. B., Kaplan, R. M., Klei, T. R., & Sangster, N. C. (2003). Anthelmintic resistance and use of anthelmintics in horses. *Vet Rec*, *153*, 636.
- Cribb, N. C., Cote, N.M., Boure, L.P., Peregrine, A.S. (2006). Acute small intestinal obstruction associated with *Parascaris equorum* infection in young horses: 25 cases (1985-2004). *N Z Vet J* *54*(6): 338-343.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Maurelli, M. P., & Utzinger, J. (2010). FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nat Protoc*, *5*, 503-515.
- Cwiklinski, K., Kooyman, F. N., Van Doorn, D. C., Matthews, J. B., Hodgkinson, J. E. (2012). New insights into sequence variation in the IGS region of 21 cyathostomin species and the implication for molecular identification. *Parasitology* *139*(8): 1063-1073.
- Dart, A. J., Hutchins, D. R., & Begg, A. P. (1987). Suppurative splenitis and peritonitis in a horse after gastric ulceration caused by larvae of *Gasterophilus intestinalis*. *Aust Vet J*, *64*, 155-158.
- Demeler, J., Ramunke, S., Wolken, S., Ianiello, D., Rinaldi, L., Gahutu, J.B., Cringoli, G., von Samson-Himmelstjerna, G., Krucken, J. (2013). Discrimination of gastrointestinal nematode eggs from crude fecal egg preparations by inhibitor-resistant conventional and real-time PCR. *PLoS One* *8*(4): e61285.
- Deplazes P, Eckert J, von Samson-Himmelstjerna G, Zahner H (2013). *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*, 3. Auflage. Stuttgart: Enke-Verlag, S. 200-203, 240-256, 313-314, 325-326, 477-480, 514-520, 529, 532-534, 550.
- Dewes, H. F., & Townsend, K. G. (1990). Further observations on *Strongyloides westeri* dermatitis: recovery of larvae from soil and bedding, and survival in

- treated sites. *N Z Vet J*, 38, 34-37.
- Donoghue, E. M., Lyons, E. T., Bellaw, J. L., & Nielsen, M. K. (2015). Biphasic appearance of corticated and decorticated ascarid egg shedding in untreated horse foals. *Vet Parasitol*, 214, 114-117.
- Dowdall, S. M., Matthews, J. B., Mair, T., Murphy, D., Love, S., & Proudman, C. J. (2002). Antigen-specific IgG(T) responses in natural and experimental cyathostominae infection in horses. *Vet Parasitol*, 106, 225-242.
- Dowdall, S. M., Proudman, C. J., Klei, T. R., Mair, T., & Matthews, J. B. (2004). Characterisation of IgG(T) serum antibody responses to two larval antigen complexes in horses naturally- or experimentally-infected with cyathostomins. *Int J Parasitol*, 34, 101-108.
- Drogemuller, M., Beelitz, P., Pfister, K., Schnieder, T., von Samson-Himmelstjerna, G. (2004). Amplification of ribosomal DNA of Anoplocephalidae: *Anoplocephala perfoliata* diagnosis by PCR as a possible alternative to coprological methods. *Vet Parasitol* 124(3-4): 205-215.
- Drudge, J. H., & Lyons, E. T. (1966). Control of internal parasites of the horse. *J Am Vet Med Assoc*, 148, 378-383.
- Drudge, J. H. (1979). Clinical aspects of *Strongylus vulgaris* infection in the horse. Emphasis on diagnosis, chemotherapy, and prophylaxis. *Vet Clin North Am Large Anim Pract*, 1, 251-265.
- Duncan, J. L. (1974). *Strongylus vulgaris* infection in the horse. *Vet Rec*, 95, 34-37.
- Duncan, J. L., & Dargie, J. D. (1975). The pathogenesis and control of strongyle infection in the horse. *J S Afr Vet Assoc*, 46, 81-85.
- Duncan, J. L. and S. Love (1991). Preliminary observations on an alternative strategy for the control of horse strongyles. *Equine Vet J*, 23, 226-228.
- Duncan, J. L., Bairden, K., Abbott, E.M. (1998). Elimination of mucosal cyathostome larvae by five daily treatments with fenbendazole. *Vet Rec* 142(11): 268-271.

- English, A.W., (1979). The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland. 3. Seasonal variation in arterial populations of *Strongylus vulgaris*, and the prevalence of some helminths. *Aust Vet J* **55(7)**: 310-314.
- Ertelt A., von Samson-Himmelstjerna G., Schmitz R., Gehlen H. (2012). Rezidivierende Kolik durch kleine Strongyliden bei negativer Eiausscheidung – Fallbericht und Update aus klinischer Sicht. *Pferdeheilkunde*, *28*, 440-446.
- Ertelt A., Merle R., von Samson-Himmelstjerna G., Wolke N., Demeler J., Gehlen H. (2015). Managementfaktoren und deren Einfluss auf die Ausscheidung von Helmintheneiern bei Pferden. *Pferdeheilkunde*, *31*, 332-339.
- Ertelt A., von Samson-Himmelstjerna G., Gehlen H. (2016). Aktueller Stand der Anthelminthika-Resistenzen bei Endoparasiten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Situation in Deutschland. *Pferdeheilkunde*, *32*, 576-586.
- Fabiani JV, Lyons ET, Nielsen MK (2016). Dynamics of *Parascaris* and *Strongylus* spp. parasites in untreated juvenile horses. *Vet Parasitol* *230*: 62-66.
- Fey, K. und Sasse, H. H. L. (1997). Die Beeinflussung der Kotflora des Pferdes durch antibakteriell wirksame Substanzen - Eine Literaturstudie. *Pferdeheilkunde* **13**: 11-22.
- Fritzen, B. (2005). Untersuchungen zum Vorkommen von Anthelminthika-Resistenz in nordrhein-westfälischen Pferdebeständen [Dissertation]. Hannover: Institut für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, S. 96, 228.
- Gawor, J. J. (1995). The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Vet Parasitol*, *58*, 99-108.
- Gehlen, H. (2001). Venöse Blinddarmthrombose bei einem Pferd mit Rechtsherzversagen. *Pferdeheilkunde*, *17*, 122-126.
- Genchi, C. and G. Malnati (1976). "[Natural galactogenic infestation of the foal by *Strongyloides westeri*]." *Parassitologia*, *18*, 41-44.

- Goday, C. and Pimpinelli, S. (1986). Cytological analysis of chromosomes in the two species *Parascaris univalens* and *P. equorum*. *Chromosoma (Berl)* **94**: 1-10.
- Gomez, H. H. and J. R. Georgi (1991). Equine helminth infections: control by selective chemotherapy. *Equine Vet J* **23**(3): 198-200.
- Greite L. (2013). Untersuchungen zur Verbreitung von *Strongylus vulgaris* im Rahmen der selektiven Entwurmung bei Pferden in Süddeutschland [PhD]. München: Ludwig-Maximilians-Universität, S. 25, 32-40.
- Grosche, A. (2000). Kolik bei Pferden - Retrospektive Studie aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik Leipzig 1994-1998 [Dissertation]. Leipzig: Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.
- Hammerl, D., Hainisch, E., Tichy, A., Stanek, C. (2010). Häufigkeit und Verlauf von Kolikerkrankungen bei aus anderen Gründen hospitalisierten, primär kolikfreien Pferden. *Pferdeheilkunde*, **26**, 226-230.
- Harris, R., Sankar, K., Small, J. A., Suepaul, R., Stewart-Johnson, A., & Adesiyun, A. (2012). Prevalence and characteristics of enteric pathogens detected in diarrhoeic and non-diarrhoeic foals in trinidad. *Vet Med Int*, 2012, Article ID 724959, 9 Seiten.
- Hinney, B. (2008). Prävalenz von Helminthen und Risikofaktoren für ihre Befallsstärke bei Pferden in Brandenburg [Dissertation]. Berlin: Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin, S. 76-78, 83, 99.
- Honeder, A. (2015). Selektive anthelmintische Therapie bei Pferden im Raum Salzburg und Oberbayern. München: Veterinärwissenschaftliches Department der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, Lehrstuhl Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie.
- Hulten, C., Tulamo, R. M., Suominen, M. M., Burvall, K., Marhaug, G., & Forsberg, M. (1999). A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) -- a clinically useful

- inflammatory marker in the horse. *Vet Immunol Immunopathol*, 68, 267-281.
- Huskamp B, Kopf N, Scheidemann W, Schusser G F. (2005). Magen-Darm-Trakt. In Dietz O, Huskamp B, Hrsg. *Handbuch Pferdepraxis*, 3. Auflage. Stuttgart: Enke-Verlag, 431-526.
- Jabbar, A., Littlewood, D. T., Mohandas, N., Briscoe, A. G., Foster, P. G., Muller, F., von Samson-Himmelstjerna, G., Jex, A. R., Gasser, R. B. (2014). The mitochondrial genome of *Parascaris univalens*--implications for a "forgotten" parasite. *Parasit Vectors* 7: 428.
- Jach, T. and G. Allmeling (1990). Obturationsileus des Jejunums bei einer Traberstute aufgrund eines submukösen Hämatoms, hervorgerufen durch Massenbefall mit *Anoplocephala perfoliata*. *Pferdeheilkunde*, 6, 89-92.
- Jasko, D. J., & Roth, L. (1984). Granulomatous colitis associated with small strongyle larvae in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, 185, 553-554.
- Kania, S. A., & Reinemeyer, C. R. (2005). *Anoplocephala perfoliata* coproantigen detection: a preliminary study. *Vet Parasitol*, 127, 115-119.
- Kaplan, R. M. (2002). Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Vet Res*, 33, 491-507.
- Kaspar, A., Pfister, K., Nielsen, M. K., Silaghi, C., Fink., H., Scheuerle, M. C. (2017). Detection of *Strongylus vulgaris* in equine faecal samples by real-time PCR and larval culture - method comparison and occurrence assessment. *BMC Vet Res* 13(1): 19.
- Kester, W. O. (1975). *Strongylus vulgaris*-the horse killer. *Mod Vet Pract* 56(8): 569-572.
- Klei, T. R., & Chapman, M. R. (1999). Immunity in equine cyathostome infections. *Vet Parasitol*, 85, 123-133.
- Köhler, M. (2016). Epidemiologische, klinische und serologische Untersuchungen zum Verlauf von *Parascaris* spp.-Infektionen bei Fohlen [Dissertation]. Berlin:

Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin des Fachbereichs  
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin, S. 77, 120-121.

- König H. E., Gerhards H. (2010): Verdauungsorgane und Milz. In: H. Wissdorf, H. Gerhards, B. Huskamp, E. Deegen (Hrsg.): Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes. 3. Aufl. Hannover: M. & H. Schaper GmbH. S. 695.
- Kraft, W. and Dürr, U. (1999). Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Aufl. Stuttgart: 45-46, 72.
- Lapointe, J. M., Celeste, C., & Villeneuve, A. (2003). Septic peritonitis due to colonic perforation associated with aberrant migration of a *Gasterophilus intestinalis* larva in a horse. *Vet Pathol*, 40, 338-339.
- Leinemann, H. and M. Röcken (1996). Parasitärbedingte Perforation des Jejunums mit anschließender Abszedierung in das Mesojejunum bei einem Fohlen-Fallbericht. *Pferdeheilkunde*, 12, 87-89.
- Lichtenfels, J. R. (2008). Identification keys to strongylid nematode parasites of equids. Preface. *Vet Parasitol*, 156, 1-3.
- Lichtenfels, J. R., Kharchenko, V. A., & Dvojnok, G. M. (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Vet Parasitol*, 156, 4-161.
- Lightbody, K. L., Davis, P. J., Austin, C. J. (2016). Validation of a novel saliva-based ELISA test for diagnosing tapeworm burden in horses. *Vet Clin Pathol* 45(2): 335-346.
- Love, S. (2002). Parasite-associated gastrointestinal disease. In: Mair T, Divers T, Ducharme N, Hrsg. Manual of Equine Gastroenterology. London: W.B. Saunders. 53-61.
- Love, S. (2003). Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. *Vet Clin North Am Equine Pract* 19(3): 791-806.
- Love, S., Murphy, D., & Mellor, D. (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet*

- Parasitol*, 85, 113-121.
- Lucius, R. (2006). Immunbiologie von Parasiteninfektionen. In Hiepe T., Lucius R, Gottstein B., Hrsg. *Allgemeine Parasitologie mit den Grundzügen der Immunbiologie, Diagnostik und Bekämpfung, 1. Auflage*. Stuttgart, Parey-Verlag, 219-226.
- Lyons, E. T., Drudge, J. H., & Tolliver, S. C. (2000). Larval cyathostomiasis. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 16, 501-513.
- Lyons, E. T., & Tolliver, S. C. (2004). Prevalence of parasite eggs (*Strongyloides westeri*, *Parascaris equorum*, and strongyles) and oocysts (*Eimeria leuckarti*) in the feces of Thoroughbred foals on 14 farms in central Kentucky in 2003. *Parasitol Res*, 92, 400-404.
- Lyons, E. T., et al. (2011). Field tests demonstrating reduced activity of ivermectin and moxidectin against small strongyles in horses on 14 farms in Central Kentucky in 2007-2009. *Parasitol Res* 108(2): 355-360.
- MacAllister, C. G., Morgan, S. J., Borne, A. T., Pollet, R. A. (1993). Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. *J Am Vet Med Assoc* 202(1): 71-77.
- Magdesian KG, Smith BP. 2009. Colic. In Smith BP, Hrsg. *Large Animal Internal Medicine. 4. Auflage*. St. Louis (Missouri): Mosby Elsevier, 102-104.
- Malfertheiner, P., Chan, F. K. L., McColl, K. E. L. (2009). Peptic ulcer disease. *Lancet* 374: 1449-14461.
- Matthews, J. B., Hodgkinson, J. E., Dowdall, S. M., & Proudman, C. J. (2004). Recent developments in research into the Cyathostominae and Anoplocephala perfoliata. *Vet Res*, 35, 371-381.
- McWilliam, H. E., Nisbet, A. J., Dowdall, S. M., Hodgkinson, J. E., & Matthews, J. B. (2010). Identification and characterisation of an immunodiagnostic marker for cyathostomin developing stage larvae. *Int J Parasitol*, 40, 265-275.

- Menzel, M. (2013). Selektive Entwurmung der Pferde in einer Pferdepraxis: Einführung sowie wissenschaftliche und betriebswirtschaftliche Analyse [Dissertation]. München: Veterinärwissenschaftliches Department der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Menzel, M. (2014). Die praktische Umsetzung der Selektiven Entwurmung in einer oberbayerischen Pferdepraxis: Erste rückblickende Ergebnisse aus den Jahren 2011-2013. *Tagung der DVG-Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“*, Leipzig, 07/2014, ISBN 978-3-86345-209-4, S. 44-47.
- Merritt, A. M., Bolton, J. R., & Cimprich, R. (1975). Differential diagnosis of diarrhoea in horses over six months of age. *J S Afr Vet Assoc*, 46, 73-76.
- Miller, M. S. (2006). Akute-Phase-Proteine als diagnostische Parameter der perioperativen Phase beim Pferd (u.a. CRP und SAA) [Dissertation]. Gießen: Klinik für Pferde, -Chirurgie- mit Lehrschmiede und Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, klinische Pathophysiologie und klinische Laboratoriumsdiagnostik der Justus-Liebig-Universität Gießen.
- Molento, M. B., Antunes, J., Bentes, R. N., & Coles, G. C. (2008). Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Vet Rec*, 162, 384-385.
- Monahan, C. M., et al. (1994). Experimental immunization of ponies with *Strongylus vulgaris* radiation-attenuated larvae or crude soluble somatic extracts from larval or adult stages. *J Parasitol* 80(6): 911-923.
- Netherwood, T., Wood, J. L., Townsend, H. G., Mumford, J. A., & Chanter, N. (1996). Foal diarrhoea between 1991 and 1994 in the United Kingdom associated with *Clostridium perfringens*, rotavirus, *Strongyloides westeri* and *Cryptosporidium* spp. *Epidemiol Infect*, 117, 375-383.
- Nicholls, J. M., Clayton, H. M., Pirie, H. M., & Duncan, J. L. (1978). A pathological study of the lungs of foals infected experimentally with *Parascaris equorum*. *J Comp Pathol*, 88, 261-274.
- Nielsen, M. K., Haaning, N., & Olsen, S. N. (2006). Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Vet*

*Parasitol*, 135, 333-335.

- Nielsen, M. K., Peterson, D. S., Monrad, J., Thamsborg, S. M., Olsen, S. N., Kaplan, R. M. (2008). Detection and semi-quantification of *Strongylus vulgaris* DNA in equine faeces by real-time quantitative PCR. *Int J Parasitol* 38(3-4): 443-453.
- Nielsen, M. K., Baptiste, K. E., Tolliver, S. C., Collins, S. S., & Lyons, E. T. (2010). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Vet Parasitol*, 174, 77-84.
- Nielsen, M. K., Vidyashankar, A. N., Olsen, S. N., Monrad, J., & Thamsborg, S. M. (2012a). *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms-is it reemerging? *Vet Parasitol*, 189, 260-266.
- Nielsen, M. K., Olsen, S. N., Lyons, E.T., Monrad, J., Thamsborg, S. M. (2012b). Real-time PCR evaluation of *Strongylus vulgaris* in horses on farms in Denmark and Central Kentucky. *Vet Parasitol* 190(3-4): 461-466.
- Nielsen, M. K., Betancourt, A., Lyons, E. T., Horohov, D. W., & Jacobsen, S. (2013). Characterization of the inflammatory response to anthelmintic treatment of ponies with cyathostomiasis. *Vet J*, 198, 457-462.
- Nielsen M.K., Reinemeyer C.R., Sellon D.C. (2014a). Nematodes. In: Sellon D., Long, M., Hrsg. *Equine Infectious Diseases*, 2. Aufl. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 475-489.e4.
- Nielsen M. K., Pfister K., von Samson-Himmelstjerna G. (2014b). Selective therapy in equine parasite control-application and limitations. *Vet Parasitol*, 202, 95-103.
- Nielsen, M. K., Vidyashankar, A. N., Gravatte, H. S., Bellaw, J., Lyons, E. T., & Andersen, U. V. (2014c). Development of *Strongylus vulgaris*-specific serum antibodies in naturally infected foals. *Vet Parasitol*, 200, 265-270.
- Nielsen M. K., Vidyashankar A. N., Bellaw J., Gravatte H. S., Cao X., Rubinson E.F., Reinemeyer C. R. (2014d). Serum *Strongylus vulgaris*-specific antibody responses to anthelmintic treatment in naturally infected horses. *Parasitol Res*

114: 445-451.

- Nielsen, M. K., Wang, J., Davis, R., Bellaw, J. L., Lyons, E. T., Lear, T. L., Goday, C. (2014e). *Parascaris univalens*-a victim of large-scale misidentification? *Parasitol Res.* 113: 4485–4490.
- Nielsen, M. K. (2014f). Larval cyathostominosis. In S. B. McAuliffe, Hrsg. *Knottenbelt and Pascoe's Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse. 2. Auflage.* St. Louis (Missouri): Elsevier Saunders, 76-77.
- Nielsen, M.K. (2015). Internal Parasite Screening and Control. In: Sprayberry K.A. Robinson N.E. , Hrsg. *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine.* St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders. 7: 336–340.
- Nielsen, M. K., Jacobsen, S., Olsen, S. N., Bousquet, E., & Pihl, T. (2015a). Nonstrangulating intestinal infarction associated with *Strongylus vulgaris* in referred Danish equine cases. *Equine Vet J.*, 48, 376-379.
- Nielsen, M. K., Scare, J., Gravatte, H. S., Bellaw, J. L., Prado, J. C., & Reinemeyer, C. R. (2015b). Changes in Serum *Strongylus Vulgaris*-Specific Antibody Concentrations in Response to Anthelmintic Treatment of Experimentally Infected Foals. *Front Vet Sci, Vol 2: 17.*
- Nielsen, M. K., Donoghue, E. M., Stephens, M. L., Stowe, C. J., Donecker, J. M., & Fenger, C. K. (2015c). An ultrasonographic scoring method for transabdominal monitoring of ascarid burdens in foals. *Equine Vet J.*, 48, 380-386.
- Nilsson, O., Ljungstrom, B. L., Hoglund, J., Lundquist, H., & Uggla, A. (1995). *Anoplocephala perfoliata* in horses in Sweden: prevalence, infection levels and intestinal lesions. *Acta Vet Scand*, 36, 319-328.
- Noel, M. L., Scare, J. A., Bellaw, J. L., Nielsen M. K. (2017). Accuracy and Precision of Mini-FLOTAC and McMaster Techniques for Determining Equine Strongyle Egg Counts. *Journal of Equine Veterinary Science* 48: 182-187.
- Nunokawa, Y., et al. (1993). Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses. *Vet Med Sci*, 55, 1011-1016.

- Ogbourne, C. P. (1972). Observations on the free-living stages of strongylid nematodes of the horse. *Parasitology* **64**(3): 461-477.
- Ogbourne, C. P. (1975). Studies on the epidemiology of *Strongylus vulgaris* infection of the horse. *Int J Parasitol* **5**(4): 423-426.
- Owen, R. A., Jagger, D. W., & Quan-Taylor, R. (1989). Caecal intussusceptions in horses and the significance of *Anoplocephala perfoliata*. *Vet Rec*, **124**, 34-37.
- Pavone, S., et al. (2011). Pathological changes caused by *Anoplocephala perfoliata* in the mucosa/submucosa and in the enteric nervous system of equine ileocecal junction. *Vet Parasitol* **176**: 43-52.
- Pearson, G. R., Davies, L. W., White, A. L., & O'Brien, J. K. (1993). Pathological lesions associated with *Anoplocephala perfoliata* at the ileo-caecal junction of horses. *Vet Rec*, **132**, 179-182.
- Peregrine, A. S., McEwen, B., Bienzle, D., Koch, T. G., & Weese, J. S. (2006). Larval cyathostomiasis in horses in Ontario: an emerging disease? *Can Vet J*, **47**, 80-82.
- Pilo, C., Altea, A., Pirino, S., Nicolussi, P., Varcasia, A., Genchi, M., & Scala, A. (2012). *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900) in horses in Italy: is it still a problem? *Vet Parasitol*, **184**, 161-167.
- Pittaway, C. E., Lawson, A. L., Coles, G. C., & Wilson, A. D. (2014). Systemic and mucosal IgE antibody responses of horses to infection with *Anoplocephala perfoliata*. *Vet Parasitol*, **199**, 32-41.
- Proudman, C. J. (1992). A two year, prospective survey of equine colic in general practice. *Equine Vet J*, **24**, 90-93.
- Proudman, C. J., & Edwards, G. B. (1993). Are tapeworms associated with equine colic? A case control study. *Equine Vet J*, **25**, 224-226.
- Proudman, C. J., & Trees, A. J. (1996a). Use of excretory/secretory antigens for the

- serodiagnosis of *Anoplocephala perfoliata* cestodosis. *Vet Parasitol*, 61, 239-247.
- Proudman, C. J., & Trees, A. J. (1996b). Correlation of antigen specific IgG and IgG(T) responses with *Anoplocephala perfoliata* infection intensity in the horse. *Parasite Immunol*, 18, 499-506.
- Proudman, C. J., Holmes, M. A., Sheoran, A. S., Edwards, S. E., & Trees, A. J. (1997). Immunoepidemiology of the equine tapeworm *Anoplocephala perfoliata*: age-intensity profile and age-dependency of antibody subtype responses. *Parasitology*, 114 (Pt 1), 89-94.
- Proudman, C. J., French, N. P., & Trees, A. J. (1998). Tapeworm infection is a significant risk factor for spasmodic colic and ileal impaction colic in the horse. *Equine Vet J*, 30, 194-199.
- Puotunen-Reinert, A., Huskamp, B., (1985). Differentialdiagnostik beim Kolikpferd aus chirurgischer Sicht. *Pferdeheilkunde*, 1, 201-208.
- Reeves, M. J. (1996). Risk factors for equine acute abdominal disease (colic): Results from a multi-center case-control study. *Prev Vet Med* 26, 285-301.
- Rehbein, S., et al. (2011). Evaluation of a double centrifugation technique for the detection of *Anoplocephala* eggs in horse faeces. *J Helminthol* 85(4): 409-414.
- Rehbein, S., Visser, M., & Winter, R. (2013). Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. *Parasitol Res*, 112, 407-413.
- Reinemeyer, C. R., Smith, S. A., Gabel, A. A., & Herd, R. P. (1984). The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Vet Parasitol*, 15, 75-83.
- Reinemeyer, C. and Nielsen, M. (2007). Gastrointestinal nematodes. In: Sellon, D., Long, M. *Equine infectious diseases*. St. Louis (MO): Saunders, 480-490.
- Reinemeyer, C. R., & Nielsen, M. K. (2009). Parasitism and colic. *Vet Clin North Am*

*Equine Pract*, 25, 233-245.

Reinemeyer, C. R., Prado, J. C., Andersen, U. V., Nielsen, M. K., Schrick, B., & Kennedy, T. (2014). Effects of daily pyrantel tartrate on strongylid population dynamics and performance parameters of young horses repeatedly infected with cyathostomins and *Strongylus vulgaris*. *Vet Parasitol*, 204, 229-237.

Reinemeyer, C. R., Prado, J. C., Nielsen, M. K. (2015). Comparison of the larvicidal efficacies of moxidectin or a five-day regimen of fenbendazole in horses harboring cyathostomin populations resistant to the adulticidal dosage of fenbendazole. *Vet Parasitol* 214(1-2): 100-107.

Richter, A. and Ungemach, F.R. (2014). Anthelminthika. In: Löscher, Richter and Potschka, Hrsg. Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Stuttgart: Enke, 359-390.

Roumen, M. P., Borgsteede, F. H., & Vos, J. H. (2004). [Death by cyathostominosis]. *Tijdschr Diergeneeskd*, 129, 628-630.

Ryu, S. H., Jang, J. D., Bak, U. B., Lee, C., Youn, H. J., & Lee, Y. L. (2004). Gastrointestinal impaction by *Parascaris equorum* in a Thoroughbred foal in Jeju, Korea. *J Vet Sci*, 5, 181-182.

Sann H. 2010. Nozizeption und Schmerz. In: von Engelhardt W, Hrsg. *Physiologie der Haustiere*. 3. Auflage. Stuttgart: Enke-Verlag, 75-78.

Scheuerle M.C., Schneider S., Greite L., Becher A.M., Pfister K. (2013). *Strongylus vulgaris* - eine Gefahr für die selektive Entwurmung in Deutschland? *Tagung der DVG-Fachgruppe "Parasitologie und Parasitäre Krankheiten"*, Gießen, 69-70.

Schmäsche, R. (2014). Die koproskopische Diagnostik von Endoparasiten in der Veterinärmedizin. Hannover: Schlütersche, 71-78.

Schneider, S., Pfister, K., Becher, A., Scheuerle, M. C. (2014). Strongyle infections and parasitic control strategies in German horses — a risk assessment. *Vet Res*, 10:262.

- Schnieder, T. (2006). Veterinärmedizinische Parasitologie. Stuttgart, Parey, S. 93, 306-309, 310-331, 334-337.
- Skotarek, S. L., Colwell, D. D., & Goater, C. P. (2010). Evaluation of diagnostic techniques for *Anoplocephala perfoliata* in horses from Alberta, Canada. *Vet Parasitol*, 172, 249-255.
- Slocombe, J. O. and McCraw, B.M. (1973). Gastrointestinal nematodes in horses in Ontario. *Can Vet J* 14(5): 101-105.
- Smets, K., Shaw, D. J., Deprez, P., & Vercruyssen, J. (1999). Diagnosis of larval cyathostomiasis in horses in Belgium. *Vet Rec*, 144, 665-668.
- Srihakim, S., & Swerczek, T. W. (1978). Pathologic changes and pathogenesis of *Parascaris equorum* infection in parasite-free pony foals. *Am J Vet Res*, 39, 1155-1160.
- Steinbach, T. (2003). Untersuchungen zur Bedeutung anthelminthischer Behandlungen bei der Auslösung von Symptomen einer larvalen Cyathostomiose. [Dissertation]. Gießen: Institut für Parasitologie und der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik, S. 90, 100, 112-113, 119, 124-127.
- Steinbach, T., Bauer, C., Sasse, H., Baumgartner, W., Rey-Moreno, C., Hermosilla, C., Damriyasa, I. M., Zahner, H. (2006). Small strongyle infection: consequences of larvicidal treatment of horses with fenbendazole and moxidectin. *Vet Parasitol* 139(1-3): 115-131.
- Stratford, C. H., McGorum, B. C., Pickles, K. J., & Matthews, J. B. (2011). An update on cyathostomins: anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine Vet J Suppl*, 133-139.
- Taylor PM & Clarke KW. (1999). Handbook of Equine Anaesthesia. 1. Aufl. London: W.B. Saunders, 138.
- Teixeira, W. F., Felippelli, G., Cruz, B. C., Maciel, W. G., Favero, F. C., Gomes, L. V., . . . Costa, A. J. (2014). Endoparasites of horses from the Formiga city, located

- in center-west region of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 23, 534-538.
- Tinker, M. K., White, N. A., Lessard, P., Thatcher, C. D., Pelzer, K. D., Davis, B., & Carmel, D. K. (1997). Prospective study of equine colic incidence and mortality. *Equine Vet J*, 29, 448-453.
- Tolliver, S. C., Lyons, E. T., & Drudge, J. H. (1987). Prevalence of internal parasites in horses in critical tests of activity of parasiticides over a 28-year period (1956-1983) in Kentucky. *Vet Parasitol*, 23, 273-284.
- Tomczuk, K., Kostro, K., Szczepaniak, K. O., Grzybek, M., Studzinska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczen-Karczmarz, M. (2014). Comparison of the sensitivity of coprological methods in detecting *Anoplocephala perfoliata* invasions. *Parasitol Res*, 113, 2401–2406.
- Trails, P. (2008). *Parascaris equorum* resistance to moxidectin? *Vet Rec*, 162, 491.
- Traversa, D., Iorio, R., Klei, T. R., Kharchenko, V. A., Gawor, J., Otranto, D., & Sparagano, O. A. (2007). New method for simultaneous species-specific identification of equine strongyles (nematoda, strongylida) by reverse line blot hybridization. *J Clin Microbiol*, 45, 2937-2942.
- Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Milillo, P., Schurmann, S., Barnes, H., . . . Cobb, R. (2009). Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. *Parasites & Vectors*, 2 (Suppl 2), S2.
- Traversa, D., Milillo, P., Barnes, H., von Samson-Himmelstjerna, G., Schurmann, S., Demeler, J., . . . Boeckh, A. (2010). Distribution and species-specific occurrence of cyathostomins (Nematoda, Strongylida) in naturally infected horses from Italy, United Kingdom and Germany. *Vet Parasitol*, 168, 84-92.
- Trotz-Williams, L., Physick-Sheard, P., McFarlane, H., Pearl, D. L., Martin, S. W., & Peregrine, A. S. (2008). Occurrence of *Anoplocephala perfoliata* infection in horses in Ontario, Canada and associations with colic and management practices. *Vet Parasitol*, 153, 73-84.

- Uhlinger, C. (1990). Effects of three anthelmintic schedules on the incidence of colic in horses. *Equine Vet J*, 22, 251-254.
- Uhlinger, C. (1993). Uses of fecal egg count data in equine practice. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 15, 742-749.
- van Doorn, D. C., et al. (2012). Searching for ivermectin resistance in Dutch horses. *Vet Parasitol*, 185, 355-358.
- Veronesi, F., Diaferia, M., & Fioretti, D. P. (2009). Anoplocephala perfoliata infestation and colics in horses. *Vet Res Commun*, 33 Suppl 1, 161-163.
- Voigt, A., Saulez, M. N., Donnellan, C. M., & Gummow, B. (2009). Causes of gastrointestinal colic at an equine referral hospital in South Africa (1998-2007). *J S Afr Vet Assoc*, 80, 192-198.
- von Samson-Himmelstjerna G. (2006). Helminthosen der Equiden. In: Schnieder T, Hrsg. Veterinärmedizinische Parasitologie. 6. Aufl. Stuttgart: Parey, 303-358.
- von Samson-Himmelstjerna G., Fritzen B., Demeler J., Schurmann S., Rohn K., Schnieder T., Epe C. (2007). Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of Parascaris equorum egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Vet Parasitol*, 144, 74-80.
- von Samson-Himmelstjerna, G., Traversa, D., Demeler, J., Rohn, K., Milillo, P., Schurmann, S., . . . Boeckh, A. (2009). Effects of worm control practices examined by a combined faecal egg count and questionnaire survey on horse farms in Germany, Italy and the UK. *Parasites & Vectors*, 2 (Suppl 2), S3.
- von Samson-Himmelstjerna, G., et al. (2011). Empfehlungen zur nachhaltigen Kontrolle von Magen-Darmwurminfektionen beim Pferd in Deutschland. *Pferdeheilkunde*, 27, 127-140.
- von Samson-Himmelstjerna, G. (2012). Anthelmintic resistance in equine parasites –

- detection, potential clinical relevance and implications for control. *Vet Parasitol*, 185, 2-8.
- von Samson-Himmelstjerna, G. (2013). Aktuelle Empfehlungen zu Therapie und Kontrolle von Wurminfektionen beim Pferd, *synlab Fortbildungsveranstaltung*, 25.9.2013, Klinik für Pferde der FU Berlin.
- von Samson-Himmelstjerna, G. (2016). Wurminfektionen beim Pferd: Aktuelle Problematik und Empfehlungen für eine nachhaltige sowie gesundheitserhaltende Kontrolle. *Tierärztl. Umschau* 71: 247-256.
- Waddell, A. H. (1972). The pathogenicity of *Gasterophilus intestinalis* larvae in the stomach of the horse. *Aust Vet J*, 48, 332-335.
- Wikipedia (2016) Gensonde [Internet]. Zitiert am 28.11.2016. URL: <https://de.wikipedia.org/wiki/Gensonde>.
- Wilke, A., et al. (2007). Unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) bei Pferden. *Deutsches Tierärzteblatt*, 12/2007, 1530-1532.
- Williamson, R. M., Beveridge, I., & Gasser, R. B. (1998). Coprological methods for the diagnosis of *Anoplocephala perfoliata* infection of the horse. *Aust Vet J*, 76, 618-621.
- Wirtherle, N. (2003). Untersuchungen zur Verbreitung von Anthelminthikaresistenzen bei Pferden in Niedersachsen. [Dissertation]. Hannover: Institut für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, S. 62-63, 73, 78-79, 112, 132-133.
- Wobeser, G., & Tataryn, A. (2009). Cyathostominosis in a horse from Saskatchewan. *Can Vet J*, 50, 1099-1100.
- Wright (1972). Verminous Arteritis as a Cause of Colic in the Horse. *Equine Vet J*, 4, 169-174.

**Anhang**

# Studie zur Prävalenz von Helminthen beim Kolikpatienten

---

## *Fragebogen*

### Untersuchungsgruppe:

- Koliker       Kontrolle

### Einsender:

Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin

### Tierhalter:

---

Datum der Probennahme:

---

### Untersuchungsmaterial:

- Kot       Parasitenteile

### Rasse:

- Warmblut       Vollblut       Kaltblut       Pony  
 Traber

### Alter in Jahren:

- <1       1-3       ≥3

Geschlecht:

- Stute             Wallach             Hengst

Letzte Entwurmung:

- <1 Woche             1-8 Wochen             >8 Wochen

Verwendetes Medikament:

- Ivermectin             Moxidectin             Praziquantel             Fenbendazol  
 Pyrantel

Symptome:

- Abmagerung             Durchfall             Husten             Rezidivierende Kolik  
 Leistungsinsuffizienz

Anzahl der Pferde im Bestand:

- <5             5-10             11-20             21-30             31-50             >50

Anzahl der Fohlen im Bestand:

- 0             <5             5-10             11-20             >20

Bestandssynchrone Entwurmung:

- Ja             Nein

Entwurmungsintervall (alle... Monate):

- 3             4-6             7-8             9-12             nie

Häufigkeit des Abäppelns (Paddock/Weide):

- täglich             wöchentlich             monatlich             halbjährlich

jährlich

Koppeldichte:

1-3       4-8       9-15       >15

Paddockdichte:

1-3       4-8       9-15       >15

Wechsel der Weiden pro Saison (alle... Monate):

2       3       4-5       6-12       nie

Größe der Koppel (in m<sup>2</sup>):

<200       200-1000       1000-5000       >5000

Beweidung mit anderen Tierarten:

Esel       Kühe       Schafe       Ziegen       Schweine

Sonstiges Management:

pflügen     grubbern     kalken       mähen       düngen       schleppen

## Publikationen

### *Arbeiten in Koautorenschaft*

Ertelt A, Merle R, von Samson-Himmelstjerna G, Wolke N, Demeler J, Gehlen H (2015): Managementfaktoren und deren Einfluss auf die Ausscheidung von Helmintheneiern bei Pferden. *Pferdeheilkunde*, 31, 332–339.

Ertelt A, Merle R, von Samson-Himmelstjerna G, Wolke N, Demeler J, Gehlen H (2015): Management factors and their impact on helminthic fecal egg count in horses. *Pferdeheilkunde*, 31, 332–339.

### *Vorabveröffentlichung von Teilergebnissen aus dieser Arbeit*

Ertelt A, Merle R, von Samson-Himmelstjerna G, Wolke N, Demeler J, Gehlen H (2015): Managementfaktoren und deren Einfluss auf die Ausscheidung von Helmintheneiern bei Pferden. *Pferdeheilkunde*, 31, 332–339.

Ertelt A, Merle R, von Samson-Himmelstjerna G, Wolke N, Demeler J, Gehlen H (2015): Management factors and their impact on helminthic fecal egg count in horses. *Pferdeheilkunde*, 31, 332–339.

Ertelt A., von Samson-Himmelstjerna G., Gehlen H. (2016). Aktueller Stand der Anthelminthika-Resistenzen bei Endoparasiten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Situation in Deutschland. *Pferdeheilkunde*, 32, 576-586.

Ertelt A., von Samson-Himmelstjerna G., Gehlen H. (2016). Current state of anthelmintic resistance in horses with a special focus on the situation in Germany. *Pferdeheilkunde*, 32, 576-586.

## Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt **Frau Professor Dr. Heidrun Gehlen**, in deren Haus ich meine Doktorarbeit durchführen durfte und die allzeit ein offenes Ohr für meine Anliegen hatte. Weiterhin danke ich **Frau Dr. Antonia Ertelt** für die stets freundliche Betreuung.

**Herrn Professor Dr. Georg von Samson-Himmelstjerna** möchte ich ganz herzlich für seine Kooperation und das Überlassen des Diagnostiklabors danken.

**Frau Prof. Dr. Janina Demeler** danke ich für ihre zielgerichteten Anregungen und produktiven Ratschläge.

**Herrn PD Dr. rer. nat. Jürgen Krücken** sei Dank für die freundliche Korrespondenz und das Korrekturlesen.

**Dr. Martin Nielsen** (Gluck Equine Research Institute, University of Kentucky, Lexington), **Dr. Doug Wilson** (University of Bristol, School of Clinical Veterinary Sciences, Langford, Bristol) sowie **Dr. Donato Traversa** (Faculty of Veterinary Medicine, Teaching Veterinary Hospital, Teramo, Italy) gebührt mein besonderer Dank für ihren überaus freundlichen Einsatz, dieses Projekt diagnostisch zu unterstützen.

Vielen Dank an das Team der Diagnostik und Serologie aus dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der FU Berlin, hier insbesondere an **Frau Bartmann, Frau Seidel, Frau Hoffmann-Köhler** sowie **Frau Ramünke**.

Für die stets liebe und vertrauensvolle Betreuung in statistischen Fragestellungen möchte ich meinen Dank auch besonders an **Frau Dr. Merle** aus dem Institut für Veterinär-Epidemiologie und Biometrie der FU Berlin richten.

Meinem Ehemann möchte ich ganz besonders dafür danken, dass er mir in jeder Situation die nötige Motivation und Kraft gegeben und mir für diese Arbeit unermüdlich den Rücken freigehalten hat.

**Selbständigkeitserklärung**

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

Berlin, den 18.09.2019

Nadine Wolke