



Vorkommen von *Echinococcus multilocularis* in der Fuchspopulation ausgewählter Landkreise in Niedersachsen

Uschi Nagel-Kohl¹, Christina Strube², Pavlo Maksimov³, Silke Braune¹, Patricia Kammeyer¹, Sven Kleinschmidt¹, Louise Prüfer¹, Martin Runge¹

¹Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Lebensmittel- und Veterinärinstitut Braunschweig/Hannover

²Institut für Parasitologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

³Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Institut für Epidemiologie, Insel Riems

Copyright: Vadim Gnidash – Fotolia.com

Einleitung:

In einer derzeit laufenden Studie soll geklärt werden, ob Änderungen in der Prävalenz von *E. multilocularis* in der Fuchspopulation festgestellt und die in vorherigen Untersuchungen ermittelte Ausbreitungstendenz bestätigt werden kann. Zudem sollen verschiedene Nachweismethoden auf ihre Routinetauglichkeit getestet werden. Die Untersuchungen starteten in der Jagdsaison 2018/19.

Hierfür wurden Landkreise ausgewählt, die gemäß den Untersuchungen bis 2005 (Keyserlingk-Eberius, M., 2008) eine niedrige Prävalenz (LK Salzgitter/Wolfenbüttel, 17 %), eine mittlere (Stadt/Region Hannover, 26 %) und eine relativ hohe Prävalenz (LK Göttingen, Gebiet des ehemaligen Landkreises Osterode/Harz, 35 %) aufwiesen.

Die Größe des jeweils notwendigen Stichprobenumfanges bei einem 90 % Konfidenzintervall wurde berechnet. Die Mindestanzahl zu untersuchender Füchse in der Stadt/Region Hannover soll demnach 190, im Landkreis Göttingen, Gebiet des ehemaligen Landkreises Osterode/Harz 178 und in Salzgitter/Wolfenbüttel 137 Tiere betragen.

Material und Methoden:



Abb. 1: Der Dünndarminhalt wird auf das Sieb 1 (Maschenweite 500 µm) gegeben.
Abb. 2: Anschließend wird der Dünndarminhalt durch Sieb 1 (Maschenweite 500 µm) und Sieb 2 (Maschenweite 150 µm) gesiebt.
Abb. 3: Sieb 2 wird nochmals separat gesiebt.
Abb. 4: Der Siebrückstand wird in eine Flasche überführt und für 15 Minuten sedimentiert.
Abb. 5: Nach dem Überführen in eine Petrischale folgt die Beurteilung unter der Stereolupe (10-40x).

Ergebnisse:

Mit Hilfe der vier eingesetzten Methoden wurden insgesamt 22 von 58 (37%) untersuchten Füchse als *E.-multilocularis*-positiv getestet (Abb. 5).

Die höchste Anzahl positiver Nachweise wurde mit der MC qPCR (n= 16) erzielt, gefolgt von der Siebmethode (n=12). Der Prozentsatz von *E.-multilocularis*-Trägern/-Ausscheidern beträgt 27,6 % bzw. 20,7 %. Mit den Methoden Flotation und IST wurden Nachweisraten von 3,4 % bzw. 1,7 % erzielt. Die Abbildungen 7-10 zeigen den mikroskopischen Nachweis von *E. multilocularis* in der IST und der Siebmethode.

Nur eine Probe konnte in allen vier und eine weitere in drei von vier (MC qPCR, Flotation und Siebmethode) Verfahren als *E.-multilocularis*-positiv übereinstimmend eingestuft werden (Abb. 5: Venn-Diagramm). Vier von insgesamt 22 positiven Proben wurden sowohl in der MC qPCR als auch in der Siebmethode als *E.-multilocularis*-positiv diagnostiziert. Bei zehn Füchsen konnte die Infektion nur mit der MC qPCR und bei sechs Tieren nur mit der Siebmethode nachgewiesen werden.

Diskussion:

Die Ergebnisse der unterschiedlichen Untersuchungsmethoden (Tab. 1) zeigen, dass die Nachweisrate von *E. multilocularis* methodenabhängig zu sein scheint. Das MC-qPCR-Untersuchungsverfahren wies die höchste Nachweisrate (27 %) auf, gefolgt von der Siebmethode (20,7 %). Die anderen beiden Verfahren IST und Flotation zeigen niedrigere Nachweisraten.

Für die Untersuchungen mittels Flotation mit anschließender Sanger-Sequenzierung standen nur geringe Kotmengen zur Verfügung, somit hat die ermittelte Nachweisrate eine eingeschränkte Aussage.

Die Gründe, warum überwiegend nur in einer Untersuchungsmethode der Nachweis von *E. multilocularis* gelang, könnten die im Kot befindlichen PCR-Inhibitoren, eine sehr geringe Wurmlast und das Vorliegen unterschiedlicher parasitärer Entwicklungsstadien in den einzelnen Darmabschnitten sein. Die zukünftigen Untersuchungen werden zeigen, ob die aufgezeigten Tendenzen sich bestätigen.

Im laufenden Projekt wurden bis jetzt 58 erlegte Füchse untersucht. 17 Tiere stammten aus der Stadt/Region Hannover, 9 Tiere aus dem Landkreis Göttingen, Gebiet des ehemaligen Landkreises Osterode/Harz und 32 Tiere aus dem Landkreis Salzgitter/Wolfenbüttel.

Alle Tiere wurden mit folgenden vier Methoden getestet:

- Intestinal Scraping Technique (IST, Amtliche Methodensammlung, Tackmann et al. 2006),
- modifizierte Siebmethode (OIE Manual 1996, Abbildungen 1-5),
- Extraktion aus 10 g Enddarm-Kot mit Magnetic Capture qPCR (MC qPCR, Isaksson et al. 2014) und
- modifizierte Sedimentations-Flotationsmethode (Flotation mit Zinksulfatlösung, Dichte = 1,3) mit anschließendem Speziesnachweis mittels PCR und Sequenzierung.

Tabelle 1: Untersuchungsergebnisse nach Methode

	Flotation auf Taenideneier und molekulare Speziesbestimmung	IST	Siebmethode	MC qPCR
Anzahl positiver Nachweise <i>E. multilocularis</i>	5 und 2	1	12 geringgradig (1-10): 9 mittelgradig (11-100): 2 hochgradig(> 100): 1	16 (CT: 13,99 – 41,77)
% positive Ergebnisse	8,6 und 3,4	1,7	20,7	27,58

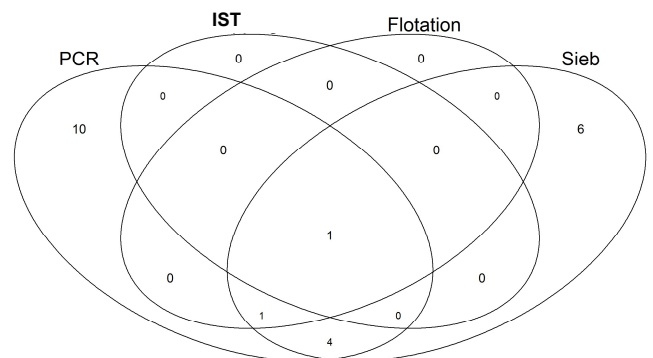


Abb. 5: Venn-Diagramm, Darstellung der positiven Tiere, stratifiziert nach der Untersuchungsmethode

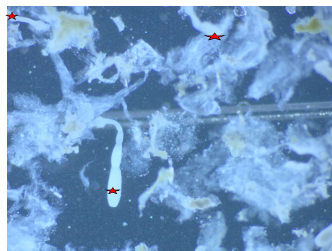


Abb. 7: *E. multilocularis*, 30x, Siebmethode

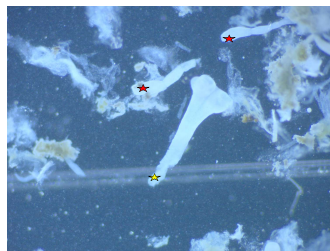


Abb. 8: *E. multilocularis*, *Mesocoeloides*, 30x, Siebmethode



Abb. 9: *E. multilocularis*, 10x, IST

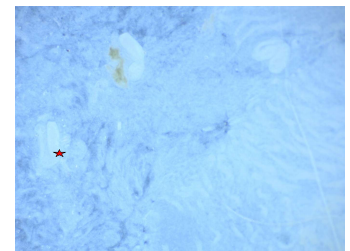


Abb. 10: *E. multilocularis*, 10x, IST

Danksagung:

Vielen Dank den MitarbeiterInnen des Lebensmittel- und Veterinärinstitutes BS/H am Standort Hannover für die engagierte Unterstützung, den beteiligten Landkreise für die gute Zusammenarbeit und dem Landesbetrieb Hessisches Landeslabor für Informationen zur Siebmethode.

Literaturverzeichnis:

- Isaksson M, Hagsstrom A, Armua-Fernandez M, Wahlstrom H, Agren E, Miller A, 2014: A semi-automated magnetic capture probe based DNA extraction and real-time PCR method applied in the Swedish surveillance of *Echinococcus multilocularis* in red fox (*Vulpes vulpes*) faecal samples. *Parasites & Vectors*. 7(1): 583. doi: 10.1186/s13071-014-0583-6. PubMed PMID: 25522844; PubMed Central PMCID: PMC4282741.
- Tackmann, K.; Mattis, R.; Conraths, F. J., 2006: Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes: evaluation of a protocol of the intestinal scraping technique, *J. Vet. Med. B* 53, 395–398
- Keyserlingk-Eberius, M., 2008: Das Fuchsbandwurm-Monitoring in Niedersachsen. Ein Überblick über 15 Jahre Untersuchungstätigkeit, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 3 (4): 421-428.
- OIE Manual 1996; Chapter 3.1.3: Echinococcosis/Hydatidosis: 192-197.