

Diagnostik-Leitfaden „Helminthen“ Hunde und Katzen

Anlage zur ESCCAP-Empfehlung „Helminthen“



Diagnostik-Leitfaden „Helminthen“ bei Hunden und Katzen

Anlage zur ESCCAP-Empfehlung „Helminthen“
Februar 2009

Inhalt

1.	Kotuntersuchungstechniken bei Hund und Katze	3	...
1.1	Makroskopische Untersuchung	3	
1.2	Mikroskopische Untersuchung mit Anreicherung	3	
1.3	Aussagekraft koproskopischer Untersuchungen	3	
1.3.1	Negativer Befund	3	
1.3.2	Positiver Befund	3	
2.	Koproskopische Untersuchung	4	
2.1	Kombiniertes Sedimentations-Flotationsverfahren mit Zinksulfatlösung oder Zinkchlorid-Kochsalzlösung	4	
2.2	Durchführung der Untersuchung Ansetzen der Probe	5	
2.3	Mikroskopische Untersuchung	7	
2.4	Kommerzielle Untersuchungskits zur Kotuntersuchung	7	
3.	Diagnose von Herzwurminfektionen (<i>Dirofilaria immitis</i>)	8	
3.1	Antigennachweis im Blut	8	
3.2	Mikroskopischer Mikrofilariennachweis	8	

1. Kotuntersuchungstechniken bei Hund und Katze

1.1 Makroskopische Untersuchung

Jede Kotprobe wird vor der Verarbeitung zunächst makroskopisch auf ausgeschiedene Helminthen (z.B. Spulwürmer, Proglottiden von Bandwürmern) oder Blut untersucht.

1.2 Mikroskopische Untersuchung mit Anreicherung

Die mikroskopische Untersuchung dient dem Nachweis von Ausscheidungsprodukten (Eier, Eipakete, Larven, Oozysten).

Je nach wirkendem Prinzip wird unterschieden zwischen:

- Flotationsverfahren
- Sedimentationsverfahren
- Kombiniertes Sedimentations-Flotationsverfahren

Da in dem kombinierten Verfahren eine größere Kotmenge verarbeitet werden kann, ist die Nachweissicherheit (Sensitivität) besonders bei schwachem Befall höher. Daher wird dieses Verfahren zur Routineuntersuchung empfohlen.

1.3 Aussagekraft koproskopischer Untersuchungen:

1.3.1 Negativer Befund

Die Tatsache, dass keine Parasitenstadien im Kot gefunden wurden, schließt bei typischen klinischen Symptomen eine (z.B. noch präpatente) parasitäre Infektion nicht aus. In solchen Fällen können weitergehende Untersuchungen wie z. B. Antikörpernachweise angezeigt sein.

1.3.2 Positiver Befund

Grundsätzlich ist auch das Ergebnis der Kotuntersuchung ein Laborbefund, der möglichst im Zusammenhang mit der klinischen Beurteilung gesehen werden sollte. Bei Vorliegen typischer klinischer Symptome ist der Nachweis von Parasitenstadien im Kot hinweisend auf die Krankheitsursache. Weitergehende klinische oder labordiagnostische Untersuchungen können u.U. die Diagnose sichern.

Aufgrund der humanhygienischen Bedeutung ist der positive Befund mit Zoonoseerregern (z.B. Spulwürmer, Hakenwürmer, Bandwürmer der Familie Taeniidae / *Echinococcus*) in jedem Fall von Bedeutung.

Bei Hunden und Katzen, die in der Familie oder im Haus gehalten werden, wird vom Tierbesitzer bei positiven Befunden meist aus hygienischen Gründen eine Behandlung gewünscht.

2. Koproskopische Untersuchung

2.1 Kombiniertes Sedimentations-Flotationsverfahren mit Zinksulfatlösung oder Zinkchlorid-Kochsalzlösung

Bei dieser Methode sedimentieren Parasitenstadien zuerst in Wasser, anschließend flotieren sie wegen ihres geringeren spezifischen Gewichtes in Salzlösungen mit höherem spezifischen Gewicht.

Der Vorteil dieser Kombinationsmethode ist die höhere Empfindlichkeit durch Untersuchung einer größeren Menge Kot (bis 20 g). Grundsätzlich gilt, je größer die Kotmenge, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, Parasitenstadien nachweisen zu können (höhere Sensitivität, d.h. weniger falsch negative Befunde).

Zur ausreichenden Nachweissicherheit sollten mindestens je 4-5 g Kot (ca. Walnussgröße) von 3 an aufeinander folgenden Tagen gesammelten Kotproben untersucht werden.



Ansetzen der Flotationslösungen gem. Mengenangaben in Tab. 1, Überprüfen der Dichte mit Dichtespindel oder, falls diese nicht verfügbar, bis sich ungelöstes Salz am Boden absetzt.

Benötigtes Material:

- 5-20 g Kot
- Mörser und Pistill
- Kaffeesieb
- Becherglas (250 ml)
- Spritzflasche aus Plastik
- Drahtöse (rechtwinklig abgebogen, Durchmesser ca. 6 mm)
- Zentrifugengläser (15 ml)
- Zentrifuge
- Objektträger
- Deckgläser
- Mikroskop
- Flotationslösung
- Dichtespindel zum Überprüfen der Dichte der angesetzten Lösung

2.2 Durchführung der Untersuchung:

Ansetzen der Probe

Zunächst erfolgt eine Sedimentation mit Leitungswasser:



1
Kot in ein Sieb geben, u.U. bei sehr fester Konsistenz vorher mit Wasser in Mörser mit Pistill verrühren.



2
Kot-Wasser-Suspension durch Sieb in das Becherglas gießen, Kot mit hartem Wasserstrahl aus der Spritzflasche durch Teesieb spritzen (dabei darf kein Material verloren gehen) bis das Becherglas gefüllt ist.



3
Mindestens 30 Minuten (aber nicht länger als 1,5 Std.) sedimentieren lassen.



4
Überstand in einem Schwung ohne abzusetzen abgießen (oder mit einer Wasserstrahlpumpe absaugen), bis ca. 1 ml, max. 2 ml Sediment übrig bleibt.



5
Anschließend folgt die Flotation:
Das gesamte Sediment in Zentrifugenröhrchen überführen und dieses mit Flotationslösung auffüllen.



6



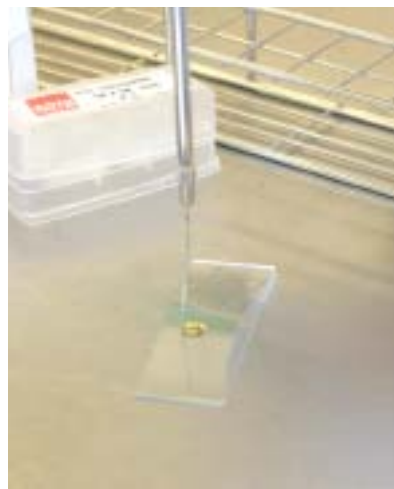
Zentrifugieren des Röhrchens für 3-5 Minuten bei 300 x g (entspricht je nach Zentrifuge etwa 1000 - 1500 U/min).

Um die nach der Zentrifugation an der Oberfläche des Probenröhrchens schwimmenden Parasitenstadien mikroskopisch zu untersuchen gibt es mehrere Möglichkeiten:

- Aufsetzen eines Deckgläschens auf das randvoll aufgefüllte Zentrifugenröhrchen vor der Zentrifugation (Deckglas ist in Kontakt mit der Oberfläche der Flotationslösung, mit Deckglas zentrifugieren) oder
- Aufsetzen eines Deckglases nach dem Zentrifugationsschritt, dazu muss das Röhrchen nach der Zentrifugation vollständig bis zu einem Meniskus auf der Oberfläche aufgefüllt, das Deckglas aufgelegt und einige Minuten weitere Flotationszeit abgewartet werden.

Dann kann das Deckglas abgenommen, auf einen Objektträger gelegt und mikroskopisch untersucht werden. Die flotierten Parasitenstadien werden dabei mit der an der Unterseite des Deckglases haftenden Flüssigkeit auf den Objektträger überführt. Die Zentrifugation mit Deckglas funktioniert am besten mit Zuckerlösung.

Alternativ können nach der Zentrifugation ohne Deckglas mit einer rechtwinklig abgebogenen Drahtöse mehrere Tropfen von der gesamten Oberfläche der Kotsuspension auf einen Objektträger überführt und mikroskopiert werden.



Zu beachten ist, dass beim Abnehmen der Tropfen die Oberfläche der Suspension nicht durchstoßen werden sollte und die Öse zwischen verschiedenen Proben gereinigt (z.B. abgeflammt) werden muss.

2.3 Mikroskopische Untersuchung:

Die gesamte Fläche unter dem Deckglas wird untersucht. Zunächst kann man sich mit schwacher Vergrößerung (z.B. Okular 8 oder 10 x, Objektiv 4 oder 6 x) orientieren und anhand von kleinen Luftblasen oder Partikeln auf die richtige optische Ebene fokussieren. Danach kann mit stärkerer Vergrößerung (z.B. Okular 8 oder 10 x, Objektiv 10 oder 16 x) die gesamte Fläche des Deckglases durchgemustert werden.



Mit dieser Methode können sicher nachgewiesen werden:

Sämtliche Helmintheneier und die meisten Protozoenoozysten und -zysten.

Helmintheneier können allerdings nach längerem Aufenthalt in den Flotationslösungen kollabieren.

Unsicher ist der Nachweis von Nematodenlarven, Trematodeneiern (werden deformiert). Kein Nachweis gelingt für Protozoentrophozoiten und Amöbenzysten.

Gefundene Parasitenstadien werden entsprechend der Bildangaben in Lehrbüchern und Standardwerken zur Bestimmung identifiziert.

Tab. 1: Mengenangaben zur Herstellung geeigneter Flotationslösungen.

Flotationslösung	Menge	Volumen Wasser	Spezifisches Gewicht (Dichte)
Gesättigte Kochsalzlösung (NaCl)	340 g	1000 ml	Ca. 1,2
Zinkchlorid-Kochsalzlösung (ZnCl ₂ + NaCl)	275 g ZnCl ₂ 262 NaCl	1000 ml	1,3
Zinksulfatlösung (ZnSO ₄)	760 g ZnSO ₄	1000 ml	1,3
Zuckerlösung	550 g Zucker 7 ml Formalin (37%), zur Verhinderung von Bakterien- und Pilzwachstum	440 ml	1,3

2.4 Kommerzielle Untersuchungskits zur Kotuntersuchung

Zur Erleichterung der Kotuntersuchung sind verschiedene kommerzielle Kits zur Durchführung des Flotationsverfahrens im Handel (z.B. Parasiten-Diagnose-System, ParaTest, Fecalyzer), die mit fertigen Flotationslösungen (Dichte 1,2) und Untersuchungsgefäßen arbeiten.

Grundsätzlich sind diese gut geeignet zur Kotuntersuchung bei Hund und Katze und bestehen durch ihre Anwenderfreundlichkeit und Sauberkeit beim Umgang und der Untersuchung der Kotproben.

Man muss allerdings beachten, dass mit den Kits aufgrund der Art der Durchführung (z.B. Aufnahme der Kotprobe im Unterteil des Siebeinsatzes) und der Gefäßgrößen nur kleine Kotmengen verarbeitet werden können, sie daher nur für Fleischfresserproben geeignet sind und bei schwachem Befall im Vergleich zu der oben dargestellten Sedimentation-Flotation eine etwas geringere Nachweissicherheit (geringere Dichte, geringere untersuchte Kotmenge) besitzen. Zu beachten ist weiterhin, dass in der Regel keine makroskopische Kontrolle der Probe (z.B. auf Vorhandensein von Proglottiden) möglich ist, wenn die Tierbesitzer das Gefäß mit der Kotprobe bereits fertig verschlossen zur Untersuchung bringen. Die Untersuchungskosten sind bei Kits im Vergleich zur herkömmlichen Methode etwas höher und durch Verwendung von Einmalartikeln fällt mehr Plastikabfall an.

3. Diagnose von Herzwurminfektionen (*Dirofilaria immitis*)

Herzwurminfektionen kommen bisher nicht als einheimische Infektion in Deutschland vor. Es ist jedoch unstrittig, dass die in Deutschland vorkommenden Mückenarten als Vektor für die Übertragung von *D. immitis* in Frage kommen. Da die Infektion in vielen Ländern Süd- und Osteuropas vorkommt, wird sie häufig nach Aufenthalt von Hunden in diesen Ländern nach Deutschland mitgebracht. In diesen Fällen ist eine diagnostische Abklärung notwendig.

3.1 Antigennachweis im Blut

Da trotz Infektion bei bis zu 20 % der infizierten Tiere keine Mikrofilarien im Blut nachweisbar sind, empfiehlt die Amerikanische Herzwurmgesellschaft (American Heartworm Society) den Antigennachweis im Blut als Screening Methode der Wahl mit einer hohen Sensitivität. Kommerzielle Testkits sind verfügbar, um Antigen nachzuweisen. Spezifisches *Dirofilaria*-Antigen ist ab 5 Monate, Mikrofilarien ab 6,5 Monate nach der Infektion nachweisbar.

3.2 Mikroskopischer Mikrofilariennachweis:

Methoden ohne Anreicherung

Der direkte Nachweis ohne Anreicherung im giemsaagefärbten Blutaussstrich oder Nativpräparat (1 Tropfen EDTA-Blut mit 1 Tropfen physiologischer NaCl-Lösung vermischen, nach Auflegen eines Deckglases lassen sich mikroskopisch bewegliche Mikrofilarien erkennen) gelingt nur bei hoher Anzahl Mikrofilarien im Blut.

Methoden mit Anreicherung

a) Filter Test

Hierfür sind kommerzielle Tests erhältlich: 1 ml EDTA-Blut wird in einer Spritze mit 9 ml einer Erythrozytenlyserenden Lösung vermischt. Auf die Spritze wird ein Filteransatz mit einer Membranfilterscheibe aufgesetzt. Der Spritzeninhalt wird durch den Filter gepresst und mit 10-15 ml Wasser nachgespült. Der Filter wird auf einen Objektträger überführt, gefärbt und mikroskopisch auf Mikrofilarien untersucht.

b) Modifizierter Knott Test

1 ml EDTA-Blut mit 9 ml 2 %igem Formalin in einem 15 ml Zentrifugenröhrchen vermischen und anschließend bei 300 g (ca. 1000-1500 U/min.) für 5 Minuten zentrifugieren. Den Überstand bis auf 1 ml abgießen und mit einigen Tropfen 0,1 %iger Methylenblaulösung oder 0,2 %iger Methylgrünlösung versetzen. Das Sediment wird tropfenweise auf einen Objektträger überführt, mit einem Deckglas bedeckt und mikroskopisch untersucht. Mit dieser Methode können die Mikrofilarien verschiedener Filarienarten nicht unterschieden werden.

Literaturhinweise (Auswahl):

P. Deplazes (2006): *Helminthosen von Hund und Katze*. In: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Hrsg.: T. Schnieder. Parey Verlag. ISBN: 3-8304-4135-5.

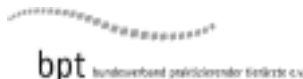
C. Bauer (2006): *Untersuchungsmethoden*. In: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Hrsg.: T. Schnieder. Parey Verlag. ISBN: 3-8304-4135-5.

Diagnostik-Leitfaden „Helminthen“ Hunde und Katzen

Anlage zur ESCCAP-Empfehlung „Helminthen“

Herausgeber:
ESCCAP Deutschland
c/o Pressebüro Vennebusch
Overbeckstraße 4, 49080 Osnabrück
Tel.: 0541 / 20 27 384
Fax: 0541 / 20 27 385
E-Mail: info@escap.de
Internet: www.escap.de

In Zusammenarbeit mit:
Bundestierärztekammer e.V. (BTK)
Bundesverband Praktizierender Tierärzte e.V. (bpt)
Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG)
Deutsche Gesellschaft für Kleintiermedizin der DVG (DGK-DVG)



Die Arbeit von ESCCAP wird durch Sponsoren ermöglicht.
Unser Dank gilt:

