

Biologische Helminthenkontrolle bei Weidetieren mit nematophagen Pilzen

Hubertus Hertzberg

Problemstellung: Aufgrund ihrer weiten Verbreitung und der erheblichen Pathogenität einiger Spezies stellen gastrointestinale Nematoden bei Weidetieren ein Gesundheitsrisiko dar. Die Kontrolle dieser Parasiten basiert seit mehreren Jahrzehnten nahezu ausschliesslich auf dem Einsatz von Entwurmungsmitteln (Anthelminthika). Diese Tatsache hat speziell bei den Magen-Darm-Nematoden (MDN) der kleinen Wiederkäuer und bei den kleinen Strongyloiden des Pferdes weltweit zu einer erheblichen Resistenzentwicklung geführt, von denen im Falle der ovinen MDN sämtliche kommerziell verfügbaren Anthelminthika-Klassen betroffen sind. Da sich praxisreife Alternativstrategien für die Parasitenbekämpfung bisher nicht ausreichend etablieren konnten, führt die verschärfte Resistenzlage zu einem Anstieg des (häufig nutzlosen) Medikamenteneinsatzes. Von dieser Entwicklung sind die ökologisch wirtschaftenden und konventionellen Betriebe gleichermaßen betroffen.

Vor allem im Hinblick auf eine Erweiterung der Prophylaxemöglichkeiten in Ökobetrieben wird die Suche nach Alternativen zum Anthelminthika-Einsatz derzeit erheblich vorangetrieben. Eine noch in Entwicklung befindliche Methode basiert auf dem Einsatz natürlich vorkommender nematophager Pilze, die eine erhebliche Reduktion des Infektionsdruckes auf der Weide bewirken können.

Lebensweise nematophager Pilze: Zum Lebensraum nematophager Pilze zählt ein weites Spektrum von natürlichen, wie auch landwirtschaftlich genutzten Bodentypen sowie abgestorbenes organisches Material. In Humus und Kompost sind sie weitverbreitet anzutreffen. Derzeit sind etwa 150 Arten dieser Pilze beschrieben, welche systematisch v.a. den Deuteromyceten (*Fungi imperfecti*) zuzuordnen sind. Nematophage Pilze nutzen Nematoden entweder als ausschliessliche Lebensgrundlage oder als Ergänzung einer vorwiegend saprophytischen Lebensweise.

Ansätze für die Parasitenkontrolle: Bei den MDN der Wiederkäuer und Pferde findet die Entwicklung vom Ei bis zum infektiösen dritten Larvenstadium im Kot statt. Die biologische Kontrolle der MDN zielt auf die Reduktion der Anzahl infektiöser Larven im Kot, bevor sie die Vegetation erreichen. Dieser kontaminationsprophylaktische Ansatz unterscheidet sich grundlegend von dem der Anthelminthika, deren Wirkung auf die im Wirtstier befindliche Parasitenpopulation abzielt. Eine wichtige Voraussetzung für eine effektive Bekämpfung der sich entwickelnden Parasitenlarven ist die Präsenz einer hohen Pilzdichte im frisch abgesetzten Kot. Die Verabreichung der Sporen mit dem Futter ist daher der einzige Weg, um die gewünschte Sporendichte im Kot zu erzielen. Dieser Ansatz setzt die Fähigkeit der Sporen, die Magen-Darmpassage beim Weidetier zu überstehen, voraus. Die einzige, bisher identifizierte Pilzart, die sowohl die Passage im Tier überlebt, als auch eine gute Kontrollaktivität im Kot aufweist ist *Duddingtonia flagrans*.

Wirkungsweise von *Duddingtonia flagrans*: Nach der Ausscheidung der Sporen wird der Kot mit dem *Duddingtonia*-Myzel kolonisiert, wobei die Ausscheidungsdichte der Sporen diesen Prozess entscheidend beeinflusst. *D. flagrans* wächst im Kot vergleichsweise langsam und stark temperaturabhängig. Das Wachstumsoptimum

liegt bei 30°C. Neben den Konidien (Exosporen) besitzt *D. flagrans* dickwandige und damit sehr beständige Dauerformen (Chlamydosporen), die innerhalb der Hyphen gebildet werden und verantwortlich sind für die gute Überlebensfähigkeit des Pilzes während der Magen-Darmpassage.

D. flagrans gehört zu den räuberisch lebenden Pilzen und bildet nach Kontakt mit Nematoden dreidimensionale Fangnetze. Die Netzmaschen sind kontraktile und besitzen adhäsive Zonen. Unter anaeroben Verhältnissen sistiert die Netzbildung und auch eine starke Lichteinstrahlung hat in Verbindung mit erhöhten Temperaturen einen negativen Effekt auf die Pilzentwicklung. Der optimale Lebensraum für *D. flagrans* befindet sich daher vor allem in den gut belüfteten, lichtarmen Bereichen unmittelbar unter der Kotfladenoberfläche, wo gleichzeitig auch die höchste Dichte an MDN-Larven vorzufinden ist. Die im Kot umherwandernden Parasitenlarven verfangen sich in den Netzstrukturen und werden von den kontraktilen Elementen fixiert. Die Induktion der Netzbildung korreliert positiv mit der Anzahl und Beweglichkeit der Larven. Bereits eine Stunde nach der mechanischen Fixation wird die Aussenschicht der Larve (Kutikula) penetriert und nach weiteren 45 Minuten ein vegetativer Knoten im Körperinneren gebildet. Von diesem Knoten sprossen trophische Hyphen aus, die den Körper der Beute ausfüllen.

Parasitenkontrolle bei Weidetieren: Beim Rind wurde der nematophage Effekt von *D. flagrans* gegen MDN in verschiedenen *in-vitro*-Studien vor allem an den bedeutsamen Erregern *Ostertagia ostertagi* und *Cooperia oncophora* untersucht. Die erzielten Resultate weisen auf eine sehr hohe Wirkung von *D. flagrans* hin (80 - 90%). Die Ergebnisse der *in-vitro*-Untersuchungen wurden durch Studien an ausgebrachten Kotfladen weitgehend bestätigt. Die Wirkung von *D. flagrans* scheint dabei unabhängig von einem bestimmten Saisonzeitpunkt zu sein.

Der prophylaktische Einsatz von *D. flagrans* gegen MDN von Rindern wurde bisher in verschiedenen, in Nord- und Mitteleuropa durchgeführten, kontrollierten Weideversuchen geprüft. In diesen Studien erhielten die Rinder die Pilzsporen mit etwas Krafffutter über eine Periode von zwei bis drei Monaten. Die Studien deuten übereinstimmend auf eine erhebliche Reduktion der Weidekontamination mit infektiösen MDN-Larven in der zweiten Saisonhälfte hin. Die daraus resultierenden geringeren Wurmbürden hatten eine verminderte Eiausscheidung und eine bessere Gewichtsentwicklung der behandelten Tiere zur Folge.

Bei den Schafen und Ziegen ist die Suche nach alternativen Strategien zur Kontrolle der MDN besonders vordringlich, weil die weite Verbreitung von Anthelminthika-Resistenzen in einigen Regionen der Welt die notwendige Bekämpfung der Erreger schon jetzt nicht mehr zulässt. Die mit MDN-Larven von Schafen durchgeführten *in-vitro*-Studien weisen auf eine ähnlich gute Kontrollaktivität von *D. flagrans* hin wie beim Rind. Demgegenüber sind die Ergebnisse der bisher durchgeführten Feldversuche mit weidenden Schafen noch sehr variabel und teilweise unbefriedigend. Derzeit wird in weiteren Untersuchungen unter Verwendung höherer und über einen längeren Zeitraum applizierter Sporendosen an der Etablierung eines tragfähigen Dosierungskonzeptes gearbeitet.

Bei Pferden deuten die bisher vorliegenden Daten darauf hin, dass die grossen und kleinen Strongyloiden, als wichtigste Parasitengruppe, im mitteleuropäischen Raum sehr wirkungsvoll mit *D. flagrans* kontrolliert werden können.

Die in der Schweinehaltung problematischsten Parasiten (Spulwürmer, Peitschenwürmer) sind aufgrund ihrer Entwicklungsweise in der Aussenwelt für die *Duddingtonia*-Strategie nicht empfänglich. Bei diesen Parasiten bleibt das infektiöse Larvenstadium im Ei eingeschlossen, wo es für den Fangmechanismus von *D. flagrans* nicht erreichbar ist.

Potenzielle Nachteile der *Duddingtonia*-Strategie: Neben der Wirksamkeit gegen MDN wurden in weiteren Feldexperimenten von verschiedenen Arbeitsgruppen mögliche Auswirkungen auf die natürliche Nematodenfauna und in diesem Zusammenhang auf die Abbauvorgänge im Dung untersucht. Die bisher vorliegenden Daten geben erfreulicherweise keine Hinweise auf einen veränderten Umfang und Zusammensetzung der freilebenden Nematodenpopulation im Kot und auf Weiden, die von *Duddingtonia*-behandelten Tieren genutzt wurden. Nebenwirkungen bei den Weidetieren in Zusammenhang mit der Sporenanplikation wurden in keinem der bisher durchgeführten Versuche festgestellt.

Ausblick: Aus den bisher mit *D. flagrans* erzielten *in-vitro*- und *in-vivo*-Ergebnissen lässt sich für diese biologische Bekämpfungsstrategie ein hohes Erfolgspotenzial ableiten, welches in der Vergangenheit durch keine andere Alternativstrategie erreicht werden konnte. Ein erheblicher Vorteil ergibt sich aus der breiten Wirksamkeit auf zahlreiche Strongyliden-Arten verschiedener Weidetierspezies, wodurch die Herstellung standardisierter Produkte für die verschiedenen Tierarten erleichtert wird. Sämtliche bisher durchgeführte Untersuchungen basierten auf den aus Boden oder Kot gewonnenen, unveränderten *Duddingtonia*-Isolaten. Derzeit noch aktuelle Forschungsarbeiten umfassen die Auswahl der für den Einsatz in der Praxis geeignetsten Isolate, deren optimale Dosierung sowie die Prüfung der Aufrechterhaltung ihrer nematophagen Eigenschaften nach häufiger *in-vitro*-Passage (Isolat-Stabilität). Selektionsmassnahmen für eine gezielte Modifikation der biologischen Eigenschaften der *Duddingtonia*-Isolate erscheinen auf Grund der bisher erzielten Resultate nicht erforderlich zu sein. Wegen möglicher klimatischer Anpassungen der Pilze an bestimmte Regionen könnten lokal jedoch bevorzugt Isolate aus dem gleichen klimatischen Umfeld Anwendung finden. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der Abklärung möglicher Auswirkungen auf die Weide- und Bodenökologie bei einem längerfristigen Einsatz von *D. flagrans* auf den gleichen Flächen werden derzeit noch durchgeführt. Forschungsbedarf besteht weiterhin hinsichtlich der Optimierung der Applikation der *Duddingtonia*-Sporen. Die in den meisten Feldversuchen praktizierte tägliche Verabreichung der benötigten Sporenmengen kann unter der Voraussetzung eines engen Kontaktes zwischen dem Tierhalter und dem Tier als eine akzeptable Lösung angesehen werden (z.B. Milchschaafhaltung). In den Fällen, wo die Tiere auf mitunter betriebsfernen Flächen weitgehend sich selbst überlassen sind, müssen alternative Massnahmen zur Sporenanplikation gefunden werden. Derartige Alternativen umfassen die Integration der Sporen in sogenannte 'slow-release-devices', die ähnlich den im Pansen lokalisierten Anthelminthika-Boli täglich oder kontinuierlich die gewünschte Sporenration freigeben. Eine Alternative stellen Futterblöcke dar, in die die Sporen integriert werden könnten. Ein Nachteil dieses Ansatzes ist die Notwendigkeit der trockenen Lagerung der Blöcke, da der Zutritt von Feuchtigkeit eine Aussprossung der Chlamydosporen induziert, die sie nach einer Aufnahme durch das Tier unwirksam werden lässt.

Das Prinzip der biologischen Kontrollstrategie mit *D. flagrans* akzeptiert die Präsenz einer gewissen Grundkontamination mit infektiösen Larven auf den Futterflächen. Mit der Reduktion des Infektionspotenzials auf ein vertretbares Niveau wird ein Gleichgewicht zwischen Pathogen und Antagonist induziert, welches bei empfänglichen Tieren in einer Reduktion der Parasitenpopulation auf ein subklinisches und wirtschaftlich tolerierbares Niveau resultiert. Gleichzeitig ermöglichen es diese verminderten Wurmpopulationen dem Wirtstier dennoch, die für den Schutz in den nachfolgenden Lebensjahren dringend erforderliche spezifische Immunabwehr aufzubauen.

Im Rahmen der Platzierung der biologischen Kontrolle von MDN in zukünftigen Bekämpfungskonzepten erscheinen Bestrebungen hinsichtlich eines vollständigen Ersatzes bisheriger konventioneller chemotherapeutischer Massnahmen unrealistisch. Vielmehr ist die biologische Kontrolle als eine Komponente im Rahmen eines integrierten Bekämpfungsansatzes zu betrachten, in dem neben dem Einsatz von Anthelminthika und weidehygienischen Massnahmen, auch zukünftige Entwicklungen wie Phytotherapie, Vakzinierung und die Zucht resistenter Wirtstiere eine Rolle spielen werden.

Der Zeitpunkt, an dem der *Duddingtonia*-Ansatz kommerziell verfügbar sein wird ist derzeit noch nicht absehbar. Da die *Duddingtonia*-Sporen zulassungsrechtlich voraussichtlich nicht als Arzneimittel angesehen werden, deutet dies mit einer hohen Wahrscheinlichkeit auf ein gegenüber einem regulärem Arzneimittel deutlich schnelleres Zulassungsverfahren hin.

Literaturangaben:

Fernandez, A. S., M., Larsen, P. Nansen, E. Henningsen, J. Grønvold, J. Wolstrup, S. A. Henriksen u. H. Bjorn (1999): The ability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to reduce the transmission of infective *Ostertagia ostertagi* larvae from faeces to herbage. *J. Helminthol.* **73**, 115-122.

Githigia, S. M., S. M. Thamsborg, M., Larsen, N. C. Kyvsgaard u. P. Nansen (1997): The preventive effect of the fungus *Duddingtonia flagrans* on trichostrongyle infections of lambs on pasture. *Int. J. Parasitol.* **27**, 931-939.

Grønvold, J., J. Wolstrup, P. Nansen u. S. A. Henriksen (1993). Nematode-trapping fungi against parasitic cattle nematodes. *Parasitol. Today.* **9**, 137-140.

Larsen, M., P. Nansen, J. Wolstrup, J. Grønvold, S. A. Henriksen u. A. Zorn (1995): Biological control of trichostrongyles in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. *Vet. Parasitol.* **60**, 321-330.

Larsen, M., P. Nansen, C. Grondahl, S. M. Thamsborg, J. Grønvold, J. Wolstrup, S. A. Henriksen u. J. Monrad (1996): The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. *Parasitology.* **113**, 1-6.

Larsen, M., M. Faedo, P.J. Waller u. D.R. Hennessy (1998): The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: Studies with *Duddingtonia flagrans*. *Vet. Parasitol.* **76**, 121-128.

Larsen, M. (2000): Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. *Parasitology.* **120**, S121-S131

Nansen, P., M. Larsen, J. Grønvold, J. Wolstrup, A. Zorn u. S. A. Henriksen (1995): Prevention of clinical trichostrongylidosis in calves by strategic feeding with the predacious fungus *Duddingtonia flagrans*. *Parasitol. Res.* **81**, 371-374.

Nansen, P., M. Larsen, A. Roepstorff, J. Grønvold, J. Wolstrup u. S. A. Henriksen (1996). Control of *Oesophagostomum dentatum* and *Hyostromylus rubidus* in outdoor-reared pigs by daily feeding with the microfungus *Duddingtonia flagrans*. *Parasitol. Res.* **82**, 580-584.

Waller, P.J., M. Larsen, M. Faedo u. D. R. Hennessy (1994): The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: in vitro and in vivo studies. *Vet. Parasitol.* **51**, 289-299.

Wolstrup, J., J. Grønvold, S. A. Henriksen, P. Nansen, M. Larsen, H. O. Bogh u. B. Ilsoe (1994): An attempt to implement the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* in biological control of trichostrongyle infections of first year grazing calves. *J. Helminthol.* **68**, 175-180.