

**Per E-mail wurden die unten aufgeführten 12 Labore mit folgendem Text angeschrieben:**

Sehr geehrte Damen und Herren,

ich würde mich sehr freuen, wenn Sie mir mitteilen könnten, ob Sie eine quantitative Eizählung nach McMaster (modifiz. McMaster) für Pferde in Ihrem Labor anbieten, da ich dazu auf Ihrer Internetseite nichts finden konnte. [Falls auf der Internetseite angeboten, natürlich ohne diesen Textteil]

Sollten Sie dies nicht anbieten, würde es mich auch interessieren, ob es wesentliche (medizinische, labortechnische) Gründe dafür gibt.

Bieten Sie es an, wäre ich Ihnen sehr dankbar, wenn Sie mir folgende Fragen beantworten könnten:

Wie läuft die Durchführung der (modifiz). McMaster Methode zur Eizählung beim Pferd bei Ihnen ab?

Wenn Modifizierung, welche Art der Modifizierung ist gemeint?

Wie setzen Sie die Proben an?

Welche Flotationslösung und -dauer verwenden Sie?

Verwenden Sie herkömmliche Zählkammern, wenn ja welche, oder verwenden Sie Geräte wie z.B. Flotac®?

Wie schätzen Sie selbst Sensitivität, Effektivität und Variabilität Ihres Verfahrens bei niedrigen Eizahlen 20-500 EpG ein?

Ich arbeite gerade an einem ausführlichen Vortrag über Endo-Parasitenbehandlung beim Pferd und habe alle mir bekannten veterinärmedizinischen Labore in Deutschland in gleicher Form angeschrieben. Interessant wäre vermutlich auch für Sie ein Ergebnis dieser Anfrage. Ich werde Sie, falls gewünscht darüber anschließend informieren. Alle Antworten werden anschließend anonymisiert zusammengefaßt.

Über eine, gerne auch ausführliche Antwort, würde ich mich sehr freuen.

Mit freundlichen Grüßen  
Eva Miersch

Dr. Eva Miersch, Tierärztliche Praxis, Vinzenz-Grewe-Str. 22 , 51491 Overath, +49 177 30 35 607, www.tierarzt-miersch.de, e.miersch@t-online.de

**1. Angeschriebene veterinärmedizinische Labore:**

Alomed - Radolfzell	info@alomed.de
Freie Universität Berlin Insitut für Parasitologie u. Tropenveterinärmedizin	gvsamson@vetmed.fu-berlin.de
Justus Liebig Universität Giessen Institut für Parasitologie	vet-parasitologie@vetmed.uni-giessen.de
Laboklin – Bad Kissingen	E-mail nur möglich über Internetseite
Labor Dr. Böse - Hildesheim	mail@labor-boese.de
Ludwig- Maximillian Universität München Veterinärwissenschaftliches Departement Vergl. Tropenmedizin u. Parasitologie	sekretariat@trpa.vetmed.uni- muenchen.de
MVZ Diamedis Sennestadt	Info@diamedis.eu
Synlab - Leverkusen	leverkusen@synlab-vet.de
Tierärztliche Hochschule Hannover Institut für Parasitologie	sylvia.gotzmann@tiho-hannover.de (Sekretariat Parasitologie)
Tierärztliches Labor Freiburg PD Dr. Dr. Barutzki	info@labor-freiburg.de
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig Institut für Parasitologie	daugschieß@vetmed.uni-leipzig.de
VetMed IDEXX	vetmedlabor@idexx.com

## 2. Rückmeldungen/ Ergebnisse:

2 Labore	bieten z. Zt. <u>kein</u> McMaster Verfahren an <b>2 verschiedene Antworten:</b>	<b>telefonische Nachfrage warum:</b> andere Schwerpunkte des Labors; Kotuntersuchung ist nur selten nachgefragter Randbereich
		<b>Führen die McMaster Methode nicht durch,</b> da sie aufgrund der geringen Sensitivität nicht zur Routinediagnostik geeignet ist. Die Verwendung der Methode ist nur sinnvoll, wenn größere Eizahlen als 500 EpG zu erwarten sind. Unter 500 EpG bekommt man keine zuverlässigen Ergebnisse. Wir setzen zur Routine Diagnostik ein modifiziertes Sedimentationsverfahren ein.
1 Labor	bieten modifiz. McMaster Verfahren an	<b>Art der Modifizierung:</b> hinsichtlich der Probenmenge, dazu aber keine genaueren Angaben <b>Durchführung:</b> Verwendung McMaster Zählkammer, genauere Angaben können nicht gemacht werden <b>untere sicher Nachweisgrenze:</b> 100 EpG/ OpG <b>telefonische Nachfrage:</b> alle weiteren Angaben wären Betriebsgeheimnis
1 Labor	bieten modifiz. McMaster Verfahren an	<b>Art der Modifizierung:</b> nach Eckert/ Schnieder <b>Durchführung:</b> 4g Kot in 20 ml 31% Natrium-Nitratlösung (Flotationslsg.) vermischen, ausgedrückt u. mit 60 ml Flotationslsg. aufgefüllt, vermischt, in McMaster Zählkammer mit 3 Kammern, 3-5min Flotation, mikroskopische Auszählung <b>methodenbedingte untere Nachweisgrenze:</b> 33 EpG <b>Besonderes:</b> Empfehlung der Tierärzte zum McMaster Verfahren: Als Ergänzung zum Sedimentation/ Flotationsverfahren
1 Labor	bieten modifiz. McMaster Verfahren an	<b>Art der Modifizierung:</b> <b>Durchführung:</b> 4g Kot in 20 ml gesättigter NaCl (Flotationslsg.) vermischen, durch Sieb und Trichter mit Flotationslsg. in Messzylinder gründlich durchspülen bis Zylinder auf 60 ml gefüllt ist. Suspension durchmischen mit Pipette mit je neuem 2 ml Aliquot Zählkammern befüllen, 3-5min Flotation, mikroskopische Auszählung; <b>Zählkammer:</b> FiBL Mc Master Kammer (Plastik) mit 2 Zählkammern <b>methodenbedingte untere Nachweisgrenze:</b> 50 EpG <b>Besonderes:</b> quantitative Eizählung nach McMaster als Alternative zum kombinierten Sedimentations-Flotationsverfahren
1 Labor	bieten modifiz. McMaster Verfahren an	<b>Art der Modifizierung:</b> <b>Durchführung:</b> 4g Kot in Natriumchlorid und Zinkchlorid Gemisch (Flotationslsg.); Durchführung wie in den gängigen parasitologischen Büchern zur McMaster Methode beschriebenen Verfahren; Flotation

		mit 2 Zählkammern, mikroskopische Auszählung <b>Besonderes:</b> zur Validierung wurde angegeben: bei EpG > 200 variiert die Eizahl, sinkt aber nicht unter 200 EpG
1 Labor	bieten modifiz. McMaster Verfahren an	<b>Art der Modifizierung:</b> Als „Modifizierung“ werden alle Methoden bezeichnet, die sich nicht strikt an die Erstveröffentlichung halten, z. B. bezügl. Menge/ Gewicht von Proben/ Flotationslösung, oder Zwischenschritten <b>Durchführung:</b> Die Proben werden gewogen, mit best. Menge Wasser suspendiert, gesiebt und zentrifugiert. Dann wird das Sediment mit gesättigter NaCl Lösung (Flotationslsg.) resuspendiert und die Suspension in die 2 Kammern gefüllt. Anschließend mikroskopiert (100fach Vergr.) und nach McMaster Formel mit Faktor 20 multipliziert um EpG zu erhalten; <b>Zählkammer:</b> Two-Chamber McMaster Counting Slides der Fa. Chalex Corporation <b>Besonderes:</b> Sensitivität angegeben mit 20 EpG, zusätzl. aber auch Verweis auf Vortrag Abstracts Kentucky dort Sensitivität mit 30 EpG angegeben; Bei Ersteinsendungen von Bestandsproben empfiehlt das Labor zusätzlich das Kombinierte Sedimentations/ Flotationsverfahren einzusetzen. Wenn gewünscht bietet das Labor auch eine Empfehlung für das weitere Vorgehen im Rahmen der selektiven Entwurmung an.
1 Labor	bieten modifiz. McMaster Verfahren an  <b>Berechnung: EpG/ OpG</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mittelwert aus Zählkammern/ Untersuchungen bilden</li> <li>• Volumen unter dem Zählfeld = 150 µl</li> <li>• eingeführtes Volumen in Zählkammer 1000µl = 1 ml</li> <li>• <math>x = \frac{\text{Mittelw.} \cdot 1000\mu\text{l}}{150\mu\text{l}}</math></li> <li>• <math>x = \text{Mittelwert} \cdot 6,667</math></li> <li>• in Ausgangssubstanz waren: 4g in 60ml, also 1g in 15ml <math>x(\text{in } 1\text{g}) = \text{Mittelw.} \cdot 6.667 \cdot 15</math> <math>x = \text{Mittelwert} \cdot 100</math></li> </ul> <b>EpG = Mittelwert * 100</b>	<b>Art der Modifizierung:</b> <b>Geeignete Flotationslösungen für Helmintheneier:</b> Gesättigte NaCl Lösung (400g / 1L H <sub>2</sub> O; Dichte 1,18), NaNO <sub>3</sub> Lösung (350g/ 1L H <sub>2</sub> O; 1,2), gesättigte ZnSO <sub>4</sub> Lsg. (704g/ 1L H <sub>2</sub> O; 1,3), ZnCl <sub>2</sub> u. NaCl (275g + 262g /1L H <sub>2</sub> O; 1,3), Zuckerlsg. (500g / 320 ml H <sub>2</sub> O; 1,3) <b>Durchführung:</b> 4g Kot mit 15 ml Floationslösung suspendieren; über Trichter u. Sieb in Meßzylinder überführen u. auf 60 ml mit Flotationslösung auffüllen. Suspension auf Magnetrührer mind. 2 min auf höchster Stufe mischen. Nach 2 min aus dem Zentralstrudel mit Pasteurpipette zweimal ca. 2 ml entnehmen. Den ersten Tropfen jeweils verwerfen und je ein Zählfeld der Mc Master Kammer luftblasenfrei mit 1 ml befüllen. Flotation mind. 2 min.; Mikroskopieren (100 fach Vergr.) <b>Zählkammer:</b> McMaster 2 Zählkammern <b>Untere Nachweisgrenze:</b> Bei niedrigen Eizahlen, können die Ergebnisse stärker variieren, hier liefern erst mehrmalige Untersuchungen sichere Ergebnisse. Das macht es auch bei Ringversuchen schwer, zwischen verschiedenen Laboren vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, wenn dafür „Musterproben“ mit einer zu geringen „Eidichte“ eingesetzt werden.

### 3. Zusammenfassung:

Vier Labore teilten mir mehrfach telefonisch oder per E-Mail mit, dass sie noch antworten wollten nur wären sie aus Zeitgründen noch nicht dazu gekommen, allerdings mochte ich zum Schluß nicht mehr weiter nach fragen. Zwei Labore gaben an keine koproscopische Untersuchung nach dem Mc Master Verfahren anzubieten. Alle anderen befragten Labore bieten das Verfahren zum größten Teil zum Nachweis von Helmintheneiern entweder nur bei Pferden, oder auch bei Rindern und Schafen/ Ziegen an. Zwei Labore gaben auch die Möglichkeit des Oozysten Nachweises der Kokzidiose mit dem McMaster Verfahren an.

Die Angabe „modifiziertes“ Mc Master Verfahren ergab keine allgemeine Aussage über die Durchführung, oder den Ablauf der Laboruntersuchung.

Bei den Angaben der Probenmenge herrschte mit 4g Kot eine überwiegend einheitliche Meinung. Nur ein Labor gab an die „Modifizierung“ bezüglich der Probenmenge durchgeführt zu haben, ohne allerdings die Menge angeben zu wollen.

Bei allen, die ausführlich die Durchführung beschrieben haben, wurde einheitlich die 4 g Kot zu Beginn mit geringer Flüssigkeitsmenge vermischt. Einige verwenden hier schon die auch später verwendete Flotationslösung, andere verwenden erst Wasser zur Suspendierung.

Bei der Verwendung der Flotationslösung werden gesättigte Kochsalzlösungen ebenso verwendet, wie Natriumchlorid/ Zinkchlorid Gemische, oder Natriumnitratlösungen. Teilweise wurden auch andere Flotationslösungs-Möglichkeiten aufgeführt, oder keine genauen Angaben gemacht. Anschließend weichen die Durchführungen der einzelnen Labore deutlich voneinander ab. In der Regel wird die Anfangssuspension durch ein Trichter und ein Sieb in ein Meßzylinder überführt. Die Überführung erfolgt durch Ausdrücken oder gründliches Durchspülen. Ein Labor zentrifugiert jetzt die geringe Menge der Suspension, die anderen füllen die Suspension in dem Meßzylinder auf ein Gesamtvolumen von 60 ml auf. Bei dem überwiegenden Teil wird jetzt die Suspension nun gut vermischt und die Proben zur Befüllung der Zählkammern entnommen. Ein Labor homogenisiert die Probe vorher 2 Minuten auf einem Magnetrührer und pipetiert die Zählkammer Volumina direkt aus dem Zentralstrudel auf dem Magnetrührer. Bei den Laboren die Angaben dazu gemacht haben wurde 2 Minuten, bzw. 3-5 Minuten Flotationszeit angesetzt.

Ein Labor verwendet ein Drei-Zählkammer Verfahren, die anderen -mit Angaben dazu- ein Zwei-Zählkammern Verfahren. Kein Labor verwendet teure Systeme wie Flotac® oder Fecpak®.

Verwirrung kam ein wenig auf bei dem Thema Sensitivität, Effektivität und Variabilität der McMaster Untersuchungsmethode.

Sensitivität ist ein qualitatives Bewertungskriterium. Ist die Anzahl falsch negativer Proben umso geringer, umso höher ist die Sensitivität einer Laboruntersuchungsmethode anzusehen. Die Effektivität ist ein quantitatives Bewertungskriterium und beschreibt den Anteil der in der Probe gefundenen Untersuchungsobjekte, in diesem Fall der Parasiteneier, in Relation zur wirklich vorhandenen Anzahl. Die Variabilität beschreibt die Abweichungen in mehrfach durchgeführten Untersuchungen einer identischen Probe.

Von keinem Labor wurde diese Frage beantwortet. Vermutlich mochte kein Labor eine Einschätzung der eigenen Mc Master Methode zu diesen Parametern abgeben.

Es gibt mit Mc Master Zählkammern eine methodenbedingte, untere Nachweisgrenze. Diese liegt bei drei Zählkammern bei 33 EpG, bei zwei Zählkammern bei 50 EpG. [EpG = Anz. Eier/ Anz. Zählkammern 3 (2) x 100]

Die untere Nachweisgrenze wurde teilweise als Sensitivität angegeben.

Ein Labor hat im Anhang der Antwortmail, einen eigenen Untersuchungsbericht mitgeschickt, in dem ausführlich auf diese Thematik bei einem kombinierten Sedimentations-/ Flotationsverfahren, unter Berücksichtigung der Homogenisierung und nicht durchgeführter Homogenisierung der Kotprobe eingegangen worden ist. Als Ergebnis dieser Studie läßt sich zusammenfassen, dass sich bei einer Untersuchung von Proben a 10g mittels komb. Sedimentations-/Flotationsverfahren keine Verbesserung in der Variabilität durch Homogenisierung erreichen ließ. Im Gegensatz dazu bei der Untersuchung von Teilproben a 3g Kot mittels McMaster Verfahren sich vermutlich eine signifikante Verbesserung der Variabilität durch vorherige Homogenisierung der Kotprobe einstellen würde. Begründet wurde dies damit, daß die Eiverteilung in einer Kotprobe durch die Probenmenge beeinflusst wird.

Erwähnenswert sind auch noch die unterschiedlichen Angaben, die freiwillig zum Thema Beratung der Tierärzte/ Kunden angegeben wurden.

Ein Labor empfiehlt den Tierärzten zusätzlich zum McMaster Verfahren besser eine Kombination mit Sedimentation/ Flotationsverfahren/ Mc Master um auch eventuell in der Probe vorhandene andere Parasiten zu erkennen.

Ein Labor bietet nach eigener Angabe die quantitative Eizählung nach McMaster als Alternative zum kombinierten Sedimentations-Flotationsverfahren an.

Ein Labor differenziert, indem es bei Ersteinsendungen von Bestandsproben für die Mc Master Untersuchung, den Kunden empfiehlt zusätzlich das Kombinierte Sedimentations/ Flotationsverfahren einzusetzen. Wenn gewünscht bietet das selbe Labor auch eine Empfehlung für das weitere Vorgehen im Rahmen der selektiven Entwurmung an. Ein Labor bietet das McMaster Verfahren nicht an, mit der Begründung, daß sie die Sensitivität der Methode für Proben mit unter 500 EpG als zu niedrig für eine Routinediagnostik ansehen.

## **VIELEN, VIELEN DANK...**

möchte ich allen beteiligten Laboren sagen. Während ich mich für einen Vortrag in die Problematik der Pferde - Entwurmungs - Praxis heute und in die eventuell möglichen Alternativen einarbeitete, tauchten bei mir immer mehr Fragen auf - teilweise auch mehr als Antworten.

Diese Umfrage hat mich unter anderem sehr interessiert und wie ich zum Glück feststellte auch viele Mitarbeiter der angeschriebenen Labore, mit denen ich in den letzten Tagen telefonieren durfte, oder mehrfachen E-Mail Kontakt hatte. Die entstandene Übersicht erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, aber ich habe versucht alles so korrekt wieder zu geben, wie es mir zugetragen wurde.

Aus der für mich großen Diskrepanz der Angaben, ergibt sich bei dem einen oder anderen vielleicht noch der eine, oder andere Denkanstoß, oder vielleicht sogar ein wissenschaftlicher Ansatz, worüber ich mich sehr freuen würde.

Bei mir sind inzwischen aus den vielen, zusammengetragenen Erkenntnissen der letzten Monate zu dem Thema Pferde Entwurmungspraxis ein paar Vortragstermine im nächsten Jahr entstanden. Ich hoffe, dass dadurch zukünftig auch bei Ihnen in den Laboren wieder mehr koproskopische Untersuchungen der Pferde angefordert werden.

Mit freundlichen Grüßen

(Eva Miersch)

