

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Vermehrung von *T. congolense*-Primärisolaten

#### 4.1.1 Vermehrung der *T. congolense*-Primärisolate aus Samorogouan

Die Primärisolate SA 53, SA 267 und SA 268 ließen sich in *M. coucha* problemlos anzüchten. Von den Primärisolaten SA 82 und SA 95 konnte nur SA 95 in *M. coucha* vermehrt werden (Tab. 13).

Tab. 13: Infektiosität der *T. congolense*-Primärisolate aus Samorogouan für *M. coucha*

Primärisolat	Ort und Jahr der Isolierung	Infektiös für <i>M. coucha</i>	Trypanosomenart	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)
SA 53	Samorogouan, 1982	+	<i>T. congolense</i>	4 $\pm$ 0
SA 267	Samorogouan, 1989	+	<i>T. congolense</i>	6 $\pm$ 0
SA 268	Samorogouan, 1989	+	<i>T. congolense</i>	9,3 $\pm$ 3,2
SA 82	Samorogouan, Aug. 98	-	-	-
SA 95	Samorogouan, Aug. 98	+	<i>T. congolense</i>	6 $\pm$ 0

#### 4.1.2 Vermehrung der *T. congolense*-Primärisolate aus dem Forschungsprojekt „Epidemiology of drug resistance of animal trypanosomes in West Africa“ (BMZ-funded Special Project)

Alle fünf Trypanosomenstabilate aus der Querschnittsstudie konnten in *M. coucha* erfolgreich angezüchtet und vermehrt werden. Vier davon stellten sich im Blutausschick nach GIEMSA-Färbung morphologisch als reine *T. congolense*-Populationen dar, eine Population wurde der *T. brucei*-Gruppe zugeordnet. Die mittleren Präpatenzzeiten lagen zwischen sechs und 28

Tagen. Im Durchschnitt waren zwei Subpassagen nötig, bis die einzelnen Trypanosomenpopulationen so an *M. coucha* adaptiert waren, dass für die Initiierung von Standard-Maustesten ( $1-2 \times 10^5$  Trypanosomen/Maus) und DIITs ( $1-2 \times 10^5$  Trypanosomen/ml PSG) ausreichend hohe Parasitämien erreicht wurden (siehe Tab. 14).

Tab. 14: Übersicht über die in der Querschnittsstudie gewonnenen und in Berlin an *M. coucha* adaptierten Trypanosomenstämme

Trypanosomenpopulation	Kurzbezeichnung	Ort der Isolierung	Infektiös für <i>M. coucha</i>	Trypanosomenart	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)
MBOI/BK/98/01 18 (M)	DRI 18	Dieri (Orodara)	+	T.c.	7 $\pm$ 1,7
MBOI/BK/98/03 92 (M)	SRI 92	Samoghohiri (Orodara)	+	T.c.	28 $\pm$ 0
MBOI/BK/98/38 1640 (M)	SBA 1640	Sokouraba (Koloko)	+	T.c.	6,3 $\pm$ 0,6
MBOI/BK/98/38 1642 (M)	SBA 1642	Sokouraba (Koloko)	+	T.c.	6 $\pm$ 0
MBOI/BK/44 1950 (M)	KRA 1950	Kotoura (Koloko)	+	T.b.	6 $\pm$ 0

SD = Standardabweichung  
 T.c. = *T. congolense*  
 T.b. = *T. brucei*-Gruppe  
 (M) = mausadaptiert

Aus der Blockbehandlungsstudie wurden 24 Rinderblutstabilate und drei bereits maus-adaptierte Trypanosomenpopulationen in *M. coucha* i.p. inokuliert (siehe auch Tab. 11 und Tab. 12), von denen acht *T. congolense*-Populationen (29,6%, aus sechs Rinderblutstabilaten und zwei maus-adaptierten Trypanosomenpopulationen) erfolgreich isoliert, an *M. coucha* adaptiert und später getestet werden konnten (Tab. 15). Die Trypanosomenpopulation FAM 1788 aus Fama entstammte aus einer Direktinokulation in Mäuse in der Nachuntersuchung 6 Wochen nach der Isometamidiumblockbehandlung. Die anderen Trypanosomenstabilate waren jeweils am Tag der Blockbehandlung hergestellt worden. Bei drei Trypanosomenstämmen wurden längere mittlere Präpatenzzeiten von 18,5 Tagen (SRI 2179) bzw. 20 Tagen (MBI 2050) und 30 Tagen (DRI 13) festgestellt. Die übrigen mittleren

Präpatenzzeiten lagen im Durchschnitt zwischen acht und neun Tagen. Alle acht *T. congolense*-Populationen wurden im Standard-Maustest und im DIIT in der zweiten bis vierten Passagen getestet.

Tab. 15: Übersicht über die in der Blockbehandlungsstudie isolierten und in Berlin an *M. coucha* adaptierten *T. congolense*-Stämme

Trypanosomenpopulation	Kurzbezeichnung	Ort der Isolierung	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)
<i>T. congolense</i> -Populationen aus erfolgreich therapierten Rindern:			
MBOI/BK/98/03 2179	SRI 2179	Samoghohiri	18,5 $\pm$ 6,4
MBOI/BK/98/04 2130 (M)	TBU 2130	T.-Band.	9 $\pm$ 0
MBOI/BK/98/07 2050	MBI 2050	M'Bie	20 $\pm$ 0
<i>T. congolense</i> -Populationen aus <u>nicht</u> erfolgreich therapierten Rindern:			
MBOI/BK/98/01 13	DRI 13	Dieri	30 $\pm$ 0
MBOI/BK/98/04 2054	TBU 2054	T.-Band.	9 $\pm$ 0
MBOI/BK/98/04 2114	TBU 2114	T.-Band.	8 $\pm$ 0
MBOI/BK/98/44 2343	KRA 2343	Kotoura	8 $\pm$ 0
MBOI/BK/98/41 1788 (M)	FAM 1788	Fama	9,3 $\pm$ 4,0

ISMM = Isometamidium  
T.-Band. = Toussian-Bandougou  
SD: Standardabweichung  
(M): mausadaptiert

## 4.2 Untersuchungen zur Medikamentenempfindlichkeit

### 4.2.1 Ergebnisse des Standard-Maustests (SMT)

#### 4.2.1.1 Verhalten der *T. congolense*-Referenzklone im SMT

Die *T. congolense*-Referenzklone mit bekannter Medikamentenempfindlichkeit wurden in den Konzentrationen 0/0,25/1/5/10/15/20 mg/kg Isometamidium und 0/3,5/7/14/21/35 mg/kg Diminazen getestet. Die Resultate der einzelnen Mausteste, zusammen mit den aus der Literatur bekannten Ergebnissen, wurden analysiert und anschließend eine Einteilung der Referenzklone in „sensitiv“ und „resistent“ vorgenommen. Diese Einteilung war Maßstab für die Beurteilung der Trypanozidempfindlichkeit der anschließend untersuchten *T. congolense*-Stämme aus der Provinz Kéné Dougou. Ein Referenzklon wurde gegenüber einer bestimmten Wirkstoffkonzentration als sensitiv charakterisiert, wenn ein Behandlungserfolg von mindestens 80% (d.h. vier von fünf *Mastomys* erfolgreich therapiert) erreicht wurde. Dies entspricht der Definition von HAWKING (siehe 2.5.1.2) für die Kurative Dosis,  $CD_{80}$  für Mäuse.

Die vier *T. congolense*-Referenzklone (IL 1180, IL 2642, IL 3000, IL 3338) wurden im Standard-Maustest im Bezug auf ihre Isometamidium- und Diminazenempfindlichkeit untersucht (Tab. 16 und Tab. 17). Die Ergebnisse (Tab. 16) zeigen, dass sich bei einer Behandlung von 1 mg/kg Isometamidium die sensitiven eindeutig von den resistenten Referenzklonen unterscheiden lassen. *Mastomys*, 24 Stunden nach Infektion mit IL 1180 und IL 2642 mit 1 mg/kg Isometamidium behandelt, zeigten in den nachfolgenden 30 Tagen keine patenten Trypanosomeninfektionen mehr (100% Behandlungserfolg). Die Klone IL 1180 und IL 2642 sind somit bei 1 mg/kg Isometamidium sensitiv. Mit IL 3000 und IL 3338 infizierte *Mastomys* wurden innerhalb der folgenden Untersuchungstage wieder trypanosomenpositiv (0% Behandlungserfolg) und sind daher bei 1 mg/kg Isometamidium resistent.

Tab. 16: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Referenzklone im Standard-Maustest

Referenzklon	Isometamidium (mg/kg)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)
Isometamidiumsensitive Referenzklone:				
IL 1180	0	4/4		4,0 $\pm$ 0
	0,25	2/6	67	8,0 $\pm$ 0
	1,0	0/6	100	
IL 2642	0	3/3		7,6 $\pm$ 1,9
	0,25	0/5	100	
	1,0	0/5	100	
Isometamidiumresistente Referenzklone:				
IL 3000	0	3/3		4,0 $\pm$ 0
	1,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0
	5,0	1/5	80	4,0 $\pm$ 0
	10,0	1/5	80	4,0 $\pm$ 0
	15,0	1/5	80	4,0 $\pm$ 0
	20,0	1/5	80	4,0 $\pm$ 0
IL 3338	0	3/3		4,3 $\pm$ 0,6
	1,0	5/5	0	5,0 $\pm$ 1,7
	5,0	4/5	20	11,0 $\pm$ 2,0
	1,0	3/5	40	5,3 $\pm$ 2,1
	15,0	2/5	60	5,0 $\pm$ 2,8
	20,0	1/5	80	6,0 $\pm$ 0

\* = Anzahl parasitämscher/inokulierter *Mastomys*

Die Diminazenergebnisse der Referenzklone sind in Tab. 17 dargestellt. Die Tabelle zeigt, dass bei 14 mg/kg Diminazen die Klone IL 1180 und IL 3000 sensitiv sind, während IL 3338 resistent ist. Klon IL 2642 zeigte in den Konzentrationen 14 und 21 mg/kg ein uneinheitliches Verhalten. In mehreren Versuchsdurchläufen wurden geringe Therapieerfolge (60%), aber auch Behandlungserfolge von 80% erreicht (Werte in Klammern entsprechen Versuchswiederholungen). Die Sensitivitätsgrenze lässt sich hier nicht eindeutig bei 14 mg/kg Diminazen festlegen, sondern umfasst die Stufen 14, 21 und 35 mg. Der Klon IL 3338 zeigte eine ausgeprägte Diminazenresistenz. In der höchsten Behandlungsstufe von 35 mg/kg Diminazen wurden noch zwei *Mastomys* der Gruppe positiv (60% Behandlungserfolg), während bei dieser Konzentration die anderen drei Klone IL 1180, IL 2642, IL 3000 bereits sensitiv reagierten (mindestens 80% Behandlungserfolg).

Tab. 17: Diminazempfindlichkeit der *T. congolense*-Referenzklone im Standard-Maustest

Referenzklone	Diminazaceturat (mg/kg)	Infektiosität*	Behandlungs- erfolg (%)	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)
Diminazensensitiver Referenzklon:				
IL 1180	0	3/3		5,3 $\pm$ 1,5
	3,5	2/5	60	13,0 $\pm$ 4,2
	7,0	0/5	100	
	14,0	0/5	100	
	21,0	1/5	80	17,0 $\pm$ 0
	35,0	1/5	80	6,0 $\pm$ 0
Resistenzklone unbekannter Diminazempfindlichkeit:				
IL 2642	0	3/3		6,0 $\pm$ 1,4
	3,5	5/5	0	8,0 $\pm$ 2,6
	7,0	2/5	60	4,0 $\pm$ 0
	14,0	2/5 (1/5)	60 (80)	6,5 $\pm$ 3,5
	21,0	2/5 (1/5)	60 (80)	7,7 $\pm$ 2,1
	35,0	1/5	80	3,0 $\pm$ 0
IL 3000	0	3/3		4,0 $\pm$ 0
	3,5	3/5	40	7,3 $\pm$ 3,1
	7,0	3/5	40	9,5 $\pm$ 3,1
	14,0	0/5	100	
	21,0	1/5	80	4,0 $\pm$ 0
	35,0	0/5	100	
Diminazenresistenter Referenzklon:				
IL 3338	0	3/3		4,3 $\pm$ 0,6
	3,5	n.d.		
	7,0	5/5	0	12,2 $\pm$ 8,1
	14,0	4/5	20	8,0 $\pm$ 2,5
	21,0	4/5	20	14,5 $\pm$ 7,0
	35,0	2/5	60	17,5 $\pm$ 5,0

\* = Anzahl parsitämischer/inokulierter *Mastomys*  
n.d. = nicht durchgeführt

#### 4.2.1.2 Festlegung der Kriterien zur Beurteilung „sensitiver“ bzw. „resistenter“ Trypanosomenpopulationen

Die Ergebnisse der Referenzklone für Isometamidium im Standard-Maustest zeigen, dass bei 1 mg/kg Isometamidium zwischen sensitiven und resistenten Klonen unterschieden werden kann. Anhand der Resultate der Referenzklone sollen nachfolgend die *T. congolense*-Stämme aus der Provinz Kéné Dougou beurteilt werden. Die verschiedenen

*T. congolense*-Populationen werden anhand dieses Schemas untersucht und entsprechend ihres Verhaltens bei 1 mg/kg Isometamidium in „resistent“ oder „sensitiv“ eingeteilt. Für Diminazen liegt die zwischen sensitiv und resistent diskriminierende Dosierung in Mäusen bei 14 mg/kg. Die Einordnung der *T. congolense*-Stämme erfolgt gemäß ihrer Eigenschaften nach Behandlung mit 14 mg/kg Diminazen.

#### 4.2.1.3 Verhalten der *T. congolense*-Stämme aus Samorogouan im SMT

Tab. 18 zeigt die Isometamidiumempfindlichkeit der in Samorogouan isolierten *T. congolense*-Populationen.

Tab. 18: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme aus Samorogouan im Standard-Maustest (SMT)

Trypanosomen-population	Jahr der Isolierung	ISMM (mg/kg)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)	ISMM-Empfindlichkeit im SMT
SA 53	1982	0	3/3		4,6 $\pm$ 1,2	R
		1,0	5/5	0	8,0 $\pm$ 4,6	
		5,0	1/5	80	16,0 $\pm$ 0	
		10,0	1/5	80	4,0 $\pm$ 0	
		20,0	n.d.			
SA 267	1989	0	3/3		5,0 $\pm$ 2,1	R
		1,0	5/5	0	5,0 $\pm$ 0	
		5,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0	
		10,0	5/5	0	6,0 $\pm$ 1,4	
		20,0	5/5	0	7,8 $\pm$ 2,6	
SA 268	1989	0	3/3		10,6 $\pm$ 6,9	R
		1,0	5/5	0	7,8 $\pm$ 2,0	
		5,0	5/5	0	6,0 $\pm$ 3,1	
		10,0	5/5	0	8,2 $\pm$ 3,8	
		20,0	5/5	0	11,4 $\pm$ 4,3	
SA 95	1998	0	3/3		5,0 $\pm$ 0	R
		1,0	5/5	0	7,6 $\pm$ 5,8	
		5,0	n.d.			
		10,0	3/5	60	15,0 $\pm$ 3,0	
		20,0	n.d.			

\* = Anzahl parasitämischer/inokulierter Mäuse  
 ISMM = Isometamidium  
 n.d. = nicht durchgeführt  
 SD = Standardabweichung  
 R = resistent

Infektionen mit den vier Trypanosomenpopulationen SA 53 (PINDER und AUTHIE, 1982), SA 267, SA 268 (CLAUSEN et al., 1989) und SA 95 (BMZ Special Project, 1998) konnten in *M. coucha* nach Behandlung mit 1 mg/kg Isometamidium nicht eliminiert werden. Sie sind somit isometamidiumresistent. Erst in höheren Dosierungen wurden Unterschiede in der Medikamentenempfindlichkeiten erkennbar. Bei einer Behandlung mit 10 mg/kg Isometamidium war SA 53 sensitiv (80% Behandlungserfolg), die drei anderen Stämme SA 95 (60% Behandlungserfolg), SA 267 und SA 268 (jeweils 0% Behandlungserfolg) blieben jedoch resistent.

In Tab. 19 ist die Diminazenempfindlichkeit der *T. congolense*-Populationen aus Samorogouan im Standard-Maustest dargestellt. Von den vier Trypanosomenpopulationen zeigten drei (SA 267, SA 268 und SA 95) eine eindeutige Diminazenresistenz. SA 267 und SA 268 wurden nicht in einer Konzentration von 14 mg/kg, jedoch in den beiden höheren Konzentrationen von 21 und 35 mg/kg untersucht. Dort zeigten sie Behandlungserfolge zwischen 0-20% und wurden deshalb als diminazenresistent bezeichnet.



Tab. 19: Diminazenempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme aus Samorogouan im Standard-Maustest (SMT)

Trypanosomen- population	Diminazen (mg/kg)	Infektiosität*	Behandlungs- erfolg (%)	Mittl. Präpatenz- zeit in Tagen (±SD)	Diminazen- empfindlichkeit im SMT
SA 53	0	3/3		5,0 ± 1,4	
	7,0	2/5	60	4,0 ± 0	
	14,0	1/5	80	6,0 ± 0	?
	21,0	1/5 (3/5) (4/5)	80 (40/20)	5,9 ± 2,1	
	35,0	1/5 (2/5) (3/5)	80 (60/40)	4,1 ± 1,1	
SA 267	0	3/3		5,0 ± 0	
	7,0	2/5	60	8,5 ± 4,9	
	14,0	n.d.			
	21,0	5/5	0	9,6 ± 3,4	R
SA 268	0	3/3		5,0 ± 1,7	
	7,0	5/5	0	6,8 ± 1,6	
	14,0	n.d.			
	21,0	4/5	20	12,3 ± 2,5	R
SA 95	0	3/3		5,0 ± 0	
	7,0	n.d.			
	14,0	5/5	0	5,4 ± 0,5	R
	21,0	5/5	0	8,6 ± 2,5	
	35,0	n.d.			

\* = Anzahl parasitämischer/inokulierter Mäuse  
n.d. = nicht durchgeführt  
SD = Standardabweichung  
R = resistent  
? = fraglich

Ähnlich wie der Referenzklon unbekannter Diminazenempfindlichkeit IL 2642 zeigte die *T. congolense*-Population SA 53 im ersten Versuchsdurchlauf kein Ergebnis, das eine Charakterisierung in sensitiv oder resistent ermöglichte. Die Versuchswiederholungen sind in Tab. 20 dargestellt. In den Dosierungen von 21 und 35 mg/kg konnten Behandlungserfolge von 20 bis 80% erreicht werden. Für SA 53 kann daher keine eindeutige Klassifizierung vorgenommen werden.

Tab. 20: Ergebnisse aus den Versuchswiederholungen des Standard-Maustests für SA 53

Trypanosomen- population	Diminazen (mg/kg)	Infektiosität* (Be- handlungserfolg) 1. Durchlauf	Infektiosität* (Be- handlungserfolg) 2. Durchlauf	Infektiosität* (Be- handlungserfolg) 3. Durchlauf
SA 53	0	3/3	3/3	3/3
	7,0	2/5 (60%)	2/5 (60%)	n.d.
	14,0	1/5 (80%)	n.d.	0/5 (0%)
	21,0	4/5 (20%)	1/5 (80%)	3/5 (40%)
	35,0	1/5 (80%)	3/5 (40%)	2/5 (60%)

\* = Anzahl parasitämischer/inokulierter Mäuse

n.d. = nicht durchgeführt

Zusammenfassend ist zu sagen, dass auf Grund der erarbeiteten Medikamentenempfindlichkeitsparameter alle vier der untersuchten *T. congolense*-Populationen aus Samorogouan isometamidiumresistent und drei von den vier untersuchten Population diminazenresistent getestet wurden.

#### 4.2.1.4 Verhalten der *T. congolense*-Stämme aus dem Forschungsprojekt „Epidemiology of drug resistance of animal trypanosomes in West Africa“ (BMZ-funded Special Project) im SMT

Anhand des Schemas zur Einteilung in „sensitiv“ oder „resistent“ wurde der Standard-Maustest zur Untersuchung der *T. congolense*-Stämme aus dem Forschungsprojekt auf zwei Behandlungsgruppen und eine Kontrollgruppe verringert. Dadurch wurden, ohne dass die Aussagefähigkeit des Tests gemindert wurde, deutlich weniger Versuchstiere pro Test benötigt und eine Zeit- und Arbeitersparnis erzielt.

Tab. 21: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme (Querschnittsstudie) im Standard-Maustest

Trypanosomen-population	ISMM (mg/kg)	Infektiosität*	Behandlungserfolg(%)	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen ( $\pm$ SD)	ISMM-Empfindlichkeit im SMT
DRI 18	0	2/3		7,0 $\pm$ 4,2	
	1,0	5/5	0	5,2 $\pm$ 1,8	R
	10,0	4/5	20	10,8 $\pm$ 4,7	
SRI 92	0	3/3		4,0 $\pm$ 0	
	1,0	5/5	0	6,4 $\pm$ 4,3	R
	10,0	4/5	20	10,0 $\pm$ 9,5	
SBA 1640	0	3/3		4,0 $\pm$ 0	
	1,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0	R
	10,0	3/5	40	8,0 $\pm$ 4,0	
SBA 1642	0	3/3		8,0 $\pm$ 3,5	
	1,0	5/5	0	7,2 $\pm$ 1,6	R
	10,0	4/5	20	11,0 $\pm$ 2,8	

\* = Anzahl parasitämischer/inokulierter Mäuse  
SD = Standardabweichung  
ISMM = Isometamidium  
R = resistent

Für Isometamidium wurden die Konzentrationen 0/1/10 mg/kg gewählt. Diminazen wurde in den Konzentrationen 0/14/21 mg/kg getestet. Alle vier *T. congolense*-Populationen der Querschnittsstudie waren im Standard-Maustest isometamidiumresistent (0% Behandlungserfolg bei 1 mg/kg, Tab. 21). Auch in der höheren Dosis von 10 mg/kg blieben sie resistent (20-40% Behandlungserfolg). Im Standard-Maustest für Diminazen waren die Trypanosomenpopulationen der Querschnittsstudie ebenfalls resistent (0-40% Behandlungserfolg bei 14 mg/kg, Tab. 22), was sie auch in der höheren Konzentration von 21 mg/kg blieben. Es wurden allerdings graduelle Resistenzunterschiede zwischen SRI 92 und SBA 1640 (0% Behandlungserfolg) und DRI 18 und SBA 1642 (40-60% Behandlungserfolg) sichtbar.

Tab. 22: Diminazenenempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme (Querschnittsstudie) im Standard-Maustest

Trypanosomenpopulation	Diminazenen (mg/kg)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	Mittl. Präpatenzzeit in Tagen (±SD)	Diminazenenempfindlichkeit im SMT
DRI 18	0	2/3		7,0 ± 4,2	R
	14,0	4/5	20	16,0 ± 2,7	
	21,0	3/5	40	19,6 ± 11,9	
SRI 92	0	3/3		4,0 ± 0	R
	14,0	5/5	0	9,4 ± 8,3	
	21,0	5/5	0	7,8 ± 2,2	
SBA 1640	0	3/3		4,0 ± 0	R
	14,0	5/5	0	7,0 ± 3,7	
	21,0	5/5	0	7,6 ± 5,1	
SBA 1642	0	3/3		8,0 ± 3,5	R
	14,0	3/5	40	11,3 ± 5,0	
	21,0	2/5	60	6,0 ± 0	

\* = Anzahl parasitämscher/inokulierter Mäuse  
SD = Standardabweichung  
R = resistent

Die in der Blockbehandlungsstudie isolierten *T. congolense*-Populationen wurden im Standard-Maustest auf ihre Isometamidiumempfindlichkeit untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tab. 23 zusammengefasst.

Die fünf *T. congolense*-Populationen, die aus nicht erfolgreich therapierten Rindern isoliert wurden, waren im SMT isometamidiumresistent. Die drei *T. congolense*-Populationen aus Rindern mit Therapieerfolg, MBI 2050, TBU 2130 und SRI 2179, erwiesen sich im Standard-Maustest ebenfalls als resistent. In der höheren Konzentration von 10 mg/kg Isometamidium war einer der acht Stämme (TBU 2054) sensitiv (80% Behandlungserfolg). Die anderen sieben Stämme blieben resistent und zeigten Behandlungserfolge zwischen 0-60% (3x 0%; 1x 20%; 2x 40%, 1x 60%).

Tab. 23: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme (Blockbehandlungsstudie) im Standard-Maustest

Trypanosomen- population	ISMM (mg/kg)	Infektio- sität*	Behandlungs- erfolg (%)	Mittl. Präpatenz- zeit in Tagen ( $\pm$ SD)	ISMM-Empfindlichkeit im SMT
<i>T. congolense</i> -Populationen aus erfolgreich therapierten Rindern:					
MBI 2050	0	3/3		5,3 $\pm$ 0,6	
	1,0	5/5	0	6,0 $\pm$ 1,0	R
	10,0	3/5	40	9,3 $\pm$ 5,9	
TBU 2130	0	3/3		4,0 $\pm$ 0	
	1,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0	R
	10,0	5/5	0	12,2 $\pm$ 11,6	
SRI 2179	0	3/3		4,3 $\pm$ 0,6	
	1,0	5/5	0	8,0 $\pm$ 8,9	R
	10,0	2/5	60	13,0 $\pm$ 2,8	
<i>T. congolense</i> -Populationen aus nicht erfolgreich therapierten Rindern:					
DRI 13	0	3/3		5,3 $\pm$ 2,3	
	1,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0	R
	10,0	4/5	20	6,5 $\pm$ 3,1	
TBU 2054	0	2/3		7,0 $\pm$ 0	
	1,0	5/5	0	7,4 $\pm$ 1,7	R
	10,0	1/5	80	12,0 $\pm$ 0	
TBU 2114	0	3/3		6,6 $\pm$ 4,6	
	1,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0	R
	10,0	5/5	0	8,0 $\pm$ 5,5	
KRA 2343	0	3/3		4,0 $\pm$ 0	
	1,0	5/5	0	4,0 $\pm$ 0	R
	10,0	5/5	0	5,6 $\pm$ 3,0	
FAM 1788	0	3/3		6,5 $\pm$ 0,7	
	1,0	5/5	0	7,0 $\pm$ 0	R
	10,0	3/5	40	17,3 $\pm$ 10,5	

\* = Anzahl parasitämischer/inokulierter Mäuse  
 ISMM = Isometamidium  
 SD = Standardabweichung  
 R = resistent

#### 4.2.2 Ergebnisse des „Drug Incubation Infectivity Tests“ (DIIT)

Im „Drug Incubation Infectivity Test“ (DIIT) wurde die Medikamentenempfindlichkeit der einzelnen Trypanosomenpopulationen durch ihre Infektiosität für Mäuse nach Inkubation in verschiedenen Medikamentenkonzentrationen gemessen. Es wurde ein ähnlicher Maßstab wie beim Standard-Maustest für die Einteilung in „sensitiv“ oder „resistent“ angesetzt. Für die Einteilung der *T. congolense*-Stämme aus Kéné Dougou in „sensitiv“ oder „resistent“ wurden an Hand des Verhaltens der Referenzklone bekannter Trypanozidempfindlichkeit die Medikamentendosierungen ausgewählt, bei der die trypanozidsensitiven Referenzklone, nach Inkubation in dem entsprechenden Trypanozid, in mindestens 80% der inokulierten *Mastomys* keine patente Trypanosomeninfektion innerhalb des 30tägigen Untersuchungszeitraumes zeigen (mindestens 80% Behandlungserfolg), während die trypanozidresistenten Referenzklone in den *Mastomys* eine patente Trypanosomeninfektion entwickeln (weniger als 80% Behandlungserfolg).

##### 4.2.2.1 Verhalten der *T. congolense*-Referenzklone im DIIT

Nach einer Inkubation in 50 ng/ml Isometamidium zeigten die untersuchten Referenzklone anschließend deutliche Unterschiede in ihrer Fähigkeit, *M. coucha* zu infizieren. Tab. 24 zeigt, dass die in der Literatur beschriebenen isometamidiumsensitiven Referenzklone IL 1180 und IL 2642 nach Inkubation in Isometamidium fast vollständig ihre Fähigkeit verloren, *Mastomys* zu infizieren (mindestens 80% Behandlungserfolg). Die isometamidiumresistenten Referenzklone dagegen behielten nach Inkubation in beiden Konzentration (50 und 500 ng/ml ISMM) noch ihre volle Infektionsfähigkeit (0% Behandlungserfolg).

Tab. 24: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Referenzklone im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Referenzklon	ISMM-Konzentration (ng/ml)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	ISMM-Empfindlichkeit im DIIT
Isometamidiumsensitive Referenzklone:				
IL 1180	0	3/3		
	0,5	5/5	0	
	5,0	2/5	60	
	50,0	1/5	80	S
	500,0	0/5	100	
IL 2642	0	3/3		
	0,5	1/5	80	
	5,0	0/5	100	
	50,0	0/5	100	S
	500,0	0/5	100	
Isometamidiumresistente Referenzklone:				
IL 3000	0	3/3		
	0,5	5/5	0	
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	5/5	0	
IL 3338	0	3/3		
	0,5	n.d.	0	
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	5/5	0	

\* = Anzahl parasitämscher/inokulierter Mäuse  
n.d. = nicht durchgeführt  
R = resistent  
S = sensitiv

Das Verhalten der vier Referenzklone nach Diminazeninkubation ist in Tab. 25 dargestellt. Die Ergebnisse der *T. congolense*-Referenzen im DIIT für Diminazen zeigten, dass sich der sensitive IL 1180 bei einer Konzentration von 5 µg/ml Diminazen von dem resistenten IL 3338 unterscheidet. Nach Inkubation in 5 µg/ml verlor IL 1180 vollständig seine Fähigkeit, *Mastomys* zu infizieren (100% Behandlungserfolg). Der resistente Referenzklon IL 3338 behielt seine Infektiosität (40% Behandlungserfolg). Die beiden Klone mit unbekannter

Diminazenenempfindlichkeit waren nach Inkubation in 5 µg/ml diminazensensitiv (mindestens 80% Behandlungserfolg).

Tab. 25: Diminazenenempfindlichkeit der *T. congolense*-Referenzklone im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Referenzklone	Diminazen-Konzentration (µg/ml)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	Diminazenenempfindlichkeit im DIIT
Diminazensensitiver Referenzklon:				
IL 1180	0	3/3		
	0,1	4/5	20	
	0,5	4/5	20	
	1,0	4/5	20	
	5,0	0/5	100	S
	10,0	0/5	100	
Resistenzklone unbekannter Diminazenenempfindlichkeit:				
IL 2642	0	3/3		
	0,1	4/5	20	
	0,5	4/5	20	
	1,0	1/5 (3/5)	80 (40)	
	5,0	0/5	100	S
	10,0	0/5	100	
IL 3000	0	3/3		
	0,1	4/5	20	
	0,5	4/5	20	
	1,0	2/5	60	
	5,0	1/5	80	S
	10,0	0/5	100	
Diminazenresistenter Referenzklone:				
IL 3338	0	3/3		
	0,1	n.d.		
	0,5	n.d.	0	
	1,0	3/5	40	
	5,0	3/5	40	R
	10,0	5/5	0	

\* = Anzahl infizierter / inokulierter Mäuse

n.d. = nicht durchgeführt

R = resistent

S = sensitiv



Die beiden Stämme mit unbekannter Diminazempfindlichkeit IL 2642 und IL 3000 zeigten nach Inkubation in 5 µg/ml ein diminazensensitives Verhalten (mindestens 80% Behandlungserfolg).

#### 4.2.2.2 Verhalten der *T. congolense*-Stämme aus Samorogouan im DIIT

Die Ergebnisse des DIITs für Isometamidium (Tab. 26) zeigen, dass die *T. congolense*-Populationen aus Samorogouan nach einer Inkubation von 50 ng/ml Isometamidium zum größten Teil ihre Infektiosität behielten (0-40% Behandlungserfolg) und deshalb resistent sind. Auch in der höheren Konzentration von 500 ng/ml blieben drei (SA 53, SA 267 und SA 268) der vier Stämme resistent. Lediglich der jüngste, zuletzt isolierte SA 95 (von 1998) war sensitiv bei dieser Konzentration.

Tab. 26: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme aus Samorogouan im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Trypanosomen-population	Jahr der Isolierung	ISMM-Konzentration (ng/ml)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	ISMM-Empfindlichkeit im DIIT
SA 53	1982	0	3/3		
		5,0	5/5	0	
		50,0	3/5	40	R
		500,0	3/5	40	
SA 267	1989	0	3/3		
		5,0	5/5	0	
		50,0	5/5	0	R
		500,0	5/5	0	
SA 268	1989	0	3/3		
		5,0	5/5	0	
		50,0	4/5	20	R
		500,0	4/5	20	
SA 95	1998	0	3/3		
		5,0	n.d.		
		50,0	5/5	0	R
		500,0	1/5	80	

\* = Anzahl parasitämscher/inokulierter Mäuse  
n.d. = nicht durchgeführt  
R = resistent

Im DIIT für Diminazen (Tab. 27) waren drei (SA 267, SA 268 und SA 95) der vier *T. congolense*-Populationen aus Samorogouan diminazenresistent (0-40% Behandlungserfolg bei 5 µg/ml), während die älteste Trypanosomenpopulation SA 53 (1982 in Samorogouan isoliert) diminazensensitiv reagierte (100% Behandlungserfolg). In der höheren Konzentration von 10 µg/ml blieben SA 268 und SA 95 resistent, während SA 267 diminazensensitiv war.

Tab. 27: Diminazenempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme aus Samorogouan im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Trypanosomenpopulation	Jahr der Isolierung	Diminazen-Konzentration (µg/ml)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	Diminazenempfindlichkeit im DIIT
SA 53	1982	0	3/3		S
		0,1	5/5	0	
		0,5	5/5	0	
		1,0	2/5 (0/5)	40 (100)	
		5,0	0/5	100	
		10,0	0/5	100	
SA 267	1989	0	3/3		R
		0,1	5/5	0	
		0,5	5/5	0	
		1,0	5/5	0	
		5,0	5/5	0	
		10,0	1/5	80	
SA 268	1989	0	3/3		R
		0,1	4/5	20	
		0,5	5/5	0	
		1,0	5/5	0	
		5,0	3/5	40	
		10,0	5/5	0	
SA 95	1998	0	3/3		R
		0,1	n.d.		
		0,5	n.d.		
		1,0	n.d.		
		5,0	4/5	20	
		10,0	5/5	0	

\* = Anzahl parasitämscher/inokulierter Mäuse  
 Werte in Klammern = Versuchswiederholungen  
 n.d. = nicht durchgeführt  
 R = resistent  
 S = sensitiv

Zusammenfassend betrachtet zeigten alle vier *T. congolense*-Populationen aus Samorogouan, die über einen Zeitraum von 1982 bis 1998 isoliert wurden, eine deutliche Isometamidiumresistenz im DIIT. SA 267, SA 268 und SA 95 (jüngste Trypanosomenpopulation) wiesen zusätzlich auch eine Resistenz gegen Diminazen auf. SA 53 (älteste Trypanosomenpopulation) war die einzige, im DIIT diminazensensitive *T. congolense*-Population.

#### 4.2.2.3 Verhalten der *T. congolense*-Stämme aus dem Forschungsprojekt „Epidemiology of drug resistance of animal trypanosomes in West Africa“ (BMZ-funded Special Project) im DIIT

Ähnlich wie im Standard-Maustest wurden die Versuchsgruppen im DIIT für die Trypanosomenpopulationen aus dem Special Project auf zwei Untersuchungs- und eine Kontrollgruppe reduziert. Für Isometamidium wurden die Konzentrationen 0/50/500 ng/ml und für Diminazen die Konzentrationen 0/1/10 µg/ml ausgewählt.

Tab. 28: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme (Querschnittsstudie) im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Trypanosomenpopulation	ISMM-Konzentration (ng/ml)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	ISMM-Empfindlichkeit im DIIT
DRI 18	0	3/3		R
	50,0	5/5	0	
	500,0	2/5	60	
SRI 92	0	3/3		R
	50,0	5/5	0	
	500,0	5/5	0	
SBA 1640	0	3/3		R
	50,0	4/5	20	
	500,0	3/5	40	
SBA 1642	0	3/3		R
	50,0	5/5	0	
	500,0	3/5	40	

\* = Anzahl parasitämscher/inokulierter Mäuse  
R = resistent

Die Ergebnisse der *T. congolense*-Populationen aus der Querschnittsstudie (Tab. 28) zeigen, dass alle vier isometamidiumresistent sind (0-20% Behandlungserfolg bei 50 ng/ml). In der höheren Dosierung von 500 ng/ml blieben die Stämme isometamidiumresistent. Ein vergleichbares Verhalten zeigt sich auch im Test für Diminazen (Tab. 29). Alle untersuchten *T. congolense*-Populationen aus der Querschnittsstudie waren im DIIT diminazenresistent. In den Konzentrationen 1 bzw. 10 µg/ml konnten für die Trypanosomenpopulationen der Querschnittsstudie lediglich Behandlungserfolge zwischen 0-40% erreicht werden. Zusammenfassend betrachtet sind die *T. congolense*-Populationen aus der Querschnittsstudie im DIIT sowohl gegen Isometamidium als auch Diminazen resistent.

Tab. 29: Diminazenempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme (Querschnittsstudie) im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Trypanosomenpopulation	Diminazen-Konzentration (µg/ml)	Infektiosität*	Behandlungserfolg (%)	Diminazenempfindlichkeit im DIIT
DRI 18	0	3/3		
	1,0	4/5	20	R
	10,0	4/5	20	
SRI 92	0	3/3		
	1,0	5/5	0	R
	10,0	3/5	40	
SBA 1640	0	3/3		
	1,0	5/5	0	R
	10,0	5/5	0	
SBA 1642	0	3/3		
	1,0	5/5	0	R
	10,0	4/5	20	

\* = Anzahl parasitämischer/inokulierter Mäuse

R = resistent

Die untersuchten *T. congolense*-Populationen aus der Blockbehandlungsstudie wurden im DIIT für Isometamidium untersucht (Konzentrationen 0/5/50/500 ng/ml). Die Ergebnisse in Tab. 30 zeigen, dass alle acht Stämme gegen Isometamidium resistent sind. Nach Inkubation in 50 ng/ml zeigten sich Behandlungserfolge zwischen 0-20%. In der höheren Konzentration war die Trypanosomenpopulation TBU 2054, ähnlich wie schon im Standard-Maustest, als einzige der acht *T. congolense*-Populationen, sensitiv gegenüber 500 ng/ml Isometamidium.

Tab. 30: Isometamidiumempfindlichkeit der *T. congolense*-Stämme (Blockbehandlungsstudie) im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Trypanosomenpopulation	ISMM-Konzentration (ng/ml)	Infektiosität***	Behandlungserfolg (%)	ISMM-Empfindlichkeit im DIIT
<i>T. congolense</i> -Populationen aus erfolgreich therapierten Rindern:*				
MBI 2050	0	3/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	4/5	20	R
	500,0	4/5	20	
TBU 2130	0	3/3		
	5,0	4/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	5/5	0	
SRI 2179	0	2/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	3/5	40	
<i>T. congolense</i> -Populationen aus nicht erfolgreich therapierten Rindern:**				
DRI 13	0	3/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	3/5	40	
TBU 2054	0	3/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	1/5	80	
TBU 2114	0	3/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	5/5	0	
KRA 2343	0	3/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	4/5	20	R
	500,0	5/5	0	
FAM 1788	0	3/3		
	5,0	5/5	0	
	50,0	5/5	0	R
	500,0	5/5	0	

\* = Rind war 2 Wochen nach Blockbehandlung trypanosomennegativ

\*\* = Rind war 2 Wochen nach der Blockbehandlung erneut trypanosomenpositiv

\*\*\* = Anzahl infizierter / inokulierter Mäuse

R = resistent

#### 4.2.3 Übersicht der ermittelten Medikamentenempfindlichkeiten aller untersuchten *T. congolense*-Stämme im SMT und DIIT

In Tab. 31 sind zusammenfassend die Ergebnisse der untersuchten *T. congolense*-Stämme im Standard-Maustest und Drug Incubation Infectivity Test für Isometamidium und Diminazen dargestellt.

Tab. 31: Medikamentenempfindlichkeit aller untersuchten *T. congolense*-Stämme im Standard-Maustest (SMT) und im Drug Incubation Infectivity Test (DIIT)

Trypanosomen- population	Zeit/Ort der Isolierung	Empfindlichkeit im Standard-Maustest		Empfindlichkeit im DIIT	
		ISMM	DIM	ISMM	DIM
SA 53	1982 (Samogouan)	R	?	R	S
SA 267	1989 (Samorogouan)	R	R	R	R
SA 268	1989 (Samorogouan)	R	R	R	R
SA 95	1998 (Samorogouan)	R	R	R	R
DRI 18	1998 (Querschnittsstudie)	R	R	R	R
SRI 92	1998 (Querschnittsstudie)	R	R	R	R
SBA 1640	1998 (Querschnittsstudie)	R	R	R	R
SBA 1642	1998 (Querschnittsstudie)	R	R	R	R
DRI 13	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
MBI 2050	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
TBU 2130	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
TBU 2054	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
TBU 2114	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
SRI 2179	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
FAM 1788	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.
KRA 2343	1998 (Blockbehandlungsstudie)	R	n.d.	R	n.d.

n.d. = nicht durchgeführt  
R = resistent  
S = sensitiv

? = fraglich  
ISMM = Isometamidium  
DIM = Diminazen

Insgesamt 16 *T. congolense*-Stämme, isoliert aus Rinderherden der Provinz Kéné Dougou (Burkina Faso) wurden in beiden Testsystemen untersucht. Mit Ausnahme der Trypanosomenpopulation SA 53 (isometamidiumresistent in beiden Testen, fragliche Diminazenenempfindlichkeit im SMT und sensitive Diminazenenempfindlichkeit im DIIT) waren die 1982 bzw. 1998 isolierten *T. congolense*-Populationen sowohl im SMT als auch im DIIT resistent gegenüber Isometamidium und Diminazenen. 13 jüngere *T. congolense*-Populationen, die 1998 im Rahmen des Forschungsprojektes „Epidemiology of drug resistance of animal trypanosomes in West Africa“ (BMZ-Special Project) isoliert wurden, waren ebenfalls sowohl im SMT als auch im DIIT isometamidiumresistent. Die Diminazenenempfindlichkeit wurde bei fünf (SA 95, DRI 18, SRI 92, SBA 1640, SBA 1642) der 1998 isolierten Trypanosomenpopulationen untersucht. Alle fünf Stämme waren in beiden Tests resistent. Somit waren alle in dieser Arbeit untersuchten *T. congolense*-Populationen aus Primärisolaten in den jeweiligen Testen gegen das jeweilige Trypanozid resistent. Lediglich eine Trypanosomenpopulation (SA 53 im DIIT) war diminazensensitiv.