

VORWORT

Der Habilitationsschrift liegen vierzehn Mitteilungen zu Grunde. Einleitend wird auf die Bedeutung der afrikanischen Trypanosomen bei Mensch und Tier und auf die Problematik der Entwicklung von Medikamentenresistenzen bei Trypanosomen in Rindern verwiesen. Inhaltlich gliedert sich die Arbeit in vier Abschnitte, die folgende thematische Zielsetzungen haben:

1. Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen in afrikanischen Rinderherden.
(Mitteilungen 1-5)
2. Charakterisierung der Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen in Mäusen und Rindern.
(Mitteilungen 6-7)
3. Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung von *in-vitro*-Verfahren zur Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen.
(Mitteilungen 8-9)
4. Überprüfung des Therapieerfolgs von Trypanosomeninfektionen in Rindern mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR).
(Mitteilungen 10-14)

Zielsetzung, Versuchsdurchführung und die wesentlichen Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen werden in Abfolge der Mitteilungen nochmals kurz dargestellt und anschließend übergreifend diskutiert. Bezüglich der verwendeten Methoden und Materialien wird auf die **Mitteilungen 1-14** im Anhang verwiesen. Die sich aus den Untersuchungen ergebenden Erkenntnisse und Empfehlungen für zukünftige Behandlungs- und Bekämpfungsstrategien werden in den Schlussfolgerungen behandelt.

**PUBLIKATIONEN,
DIE BESTANDTEIL DER HABILITATIONSSCHRIFT SIND**

Mitteilung 1:

Clausen, P.-H., I. Sidibe, I. Kaboré and B. Bauer (1992): Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high natural tsetse fly challenge in the pastoral zone of Samorogouan, Burkina Faso. *Acta Trop.* **51**, 229-236.

Mitteilung 2:

Afewerk, Y., P.-H. Clausen, G. Abebe, G. Tilahun, D. Mehlitz (2000): Multiple-drug resistant *Trypanosoma congolense* populations in village cattle of Metekel district, north-west Ethiopia. *Acta Trop.* **76**, 231-238.

Mitteilung 3:

Tewelde, N., G. Abebe, M. Eisler, J. McDermott, M. Greiner, Y. Afework, M. Kyule, S. Münstermann, K.-H. Zessin, P.-H. Clausen (2004): Application of field methods to assess isometamidium resistance of trypanosomes in cattle in western Ethiopia. *Acta Trop.* **90**, 163-170.

Mitteilung 4:

McDermott, J., T. Woitag, I. Sidibé, B. Bauer, B. Diarra, D. Ouédraogo, M. Kamuanga, A. Peregrine, M. Eisler, K.-H. Zessin, D. Mehlitz, P.-H. Clausen (2003): Field studies of drug-resistant cattle trypanosomes in Kéné Dougou Province, Burkina Faso. *Acta Trop.* **86**, 93-103.

Mitteilung 5:

Olila, D., J.J. McDermott, M.C. Eisler, E.S. Mitema, R.J. Patzelt, P.-H. Clausen, C.J. Poetzsch, K.-H. Zessin, D. Mehlitz, A.S. Peregrine (2002): Drug sensitivity of trypanosome populations from cattle in a peri-urban dairy production system in Uganda. *Acta Trop.* **84**, 19-30.

Mitteilung 6:

Knoppe, T.N., B. Bauer, J.J. McDermott, A.S. Peregrine, D. Mehlitz, P.-H. Clausen (2006): Isometamidium sensitivity of *Trypanosoma congolense* stocks from cattle in West Africa tested in mice and the drug incubation infectivity test. *Acta Trop.* **97**, 108-116.

Mitteilung 7:

Eisler, M.C., J. Brandt, B. Bauer, P.-H. Clausen, V. Delespaux, P.H. Holmes, A. Ilemobade, N. Machila, H. Mbwambo, J. McDermott, D. Mehlitz, G. Murilla, J.M. Ndung'u, A.S. Peregrine, I. Sidibé, L. Sinyangwe, S. Geerts (2001): Standardised tests in mice and cattle for the detection of drug resistance in tsetse-transmitted trypanosomes of African domestic cattle. *Vet. Parasitol.* **97**, 171-182.

Mitteilung 8:

Clausen, P.-H., C. Pellmann, A. Scheer, U. Tietjen, G. Schares, B. Bauer, A.S. Peregrine and D. Mehlitz (2000): Application of *in vitro* methods for the detection of drug resistance in trypanosome field isolates. Proceedings of the workshop on drug delivery and resistance in the context of integrated disease management, held 31 May–4 June 1999, Nairobi, Kenya. Newsletter on Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors **2**, 9-12.

Mitteilung 9:

Clausen, P.-H., F.H. Leendertz, A. Blankenburg, U. Tietjen, D. Mehlitz, I. Sidibe, B. Bauer (1999): A drug incubation glossina infectivity test (DIGIT) to assess the susceptibility of *Trypanosoma congolense* bloodstream forms to trypanocidal drugs (Xenodiagnosis). *Acta Trop.* **72**, 111-117.

Mitteilung 10:

Clausen, P.-H., A. Wiemann, R. Patzelt, D. Kakaire, C. Poetzsch, A. Peregrine, and D. Mehlitz (1998): Use of a PCR assay for the specific and sensitive detection of *Trypanosoma* spp. in naturally infected dairy cattle in peri-urban Kampala, Uganda. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **849**, 21-31.

Mitteilung 11:

Clausen, P.-H., C. Waiswa, E. Katunguka-Rwakishaya, G. Schares, S. Steuber, D. Mehlitz (1999): Polymerase chain reaction and DNA probe hybridization to assess the efficacy of diminazene treatment in *Trypanosoma brucei*-infected cattle. *Parasitol. Res.* **85**, 206-211.

Mitteilung 12:

Clausen, P.-H., G. Schares, R.J. Patzelt, C.J. Poetzsch, A. Scheer, D. Kakaire, D. Olila, A.S. Peregrine, J. McDermott and D. Mehlitz (2001): PCR and DNA-probe hybridization to assess the efficacy of therapeutic and prophylactic isometamidium treatment in *Trypanosoma* spp.- infected dairy cattle in peri-urban Kampala, Uganda. Proceedings of the 25th International Council for Trypanosomosis Research and Control (ISCTRC) Meeting. Mombasa, Kenya, 1999, OAU/STRC, Publication No. **120**, 429-434.

Mitteilung 13:

Gall, Y., T. Woitag, B. Bauer, I. Sidibe, J. McDermott, D. Mehlitz, P.-H. Clausen (2004):
Trypanocidal failure suggested by PCR results in cattle field samples. *Acta Trop.* **92**,
7-16.

Mitteilung 14:

Gall, Y., T. Woitag, B. Bauer, I. Sidibe, J. McDermott, M. Eisler, D. Mehlitz and
P.-H. Clausen (2003): Detection of trypanocide failure in cattle: diagnostic potential of
PCR compared to parasitological methods. Proceedings of the joint DFID Animal
Health Programme/ICPTV Workshop on Recent Advances in the Control of Human
and Animal Trypanosomiasis: Diagnosis, Epidemiology, Modelling and Decision
Support, held 1-3 April 2003 at the Fairview Hotel, Nairobi, Kenya. Newsletter on
Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors **8**, 36-38.

1 Einleitung und Ziel der Untersuchungen

Die Trypanosomen der Menschen und die ihrer Nutztiere sind von wesentlicher Problematik für die gesundheitliche und wirtschaftliche Entwicklung der Bevölkerung in weiten Teilen der tropischen und subtropischen Regionen Afrikas. Sie werden hervorgerufen durch Trypanosomen (Hämoflagellaten, Trypanosomatidae, Ordnung Kinetoplastida) und hauptsächlich durch Tsetsefliegen (Glossinidae, Ordnung Diptera) zyklisch-alimentär übertragen.

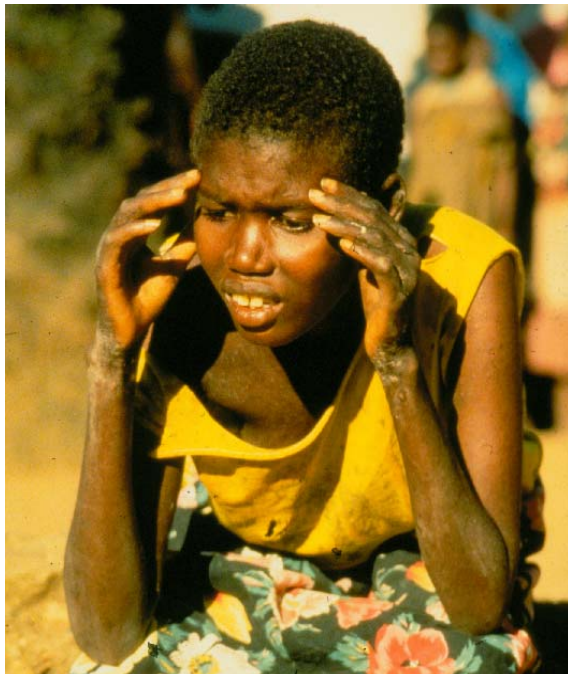


Abbildung 1. Schlafkrankheitspatientin in Angola (Aufnahme: August Stich, Missions-ärztliches Institut Würzburg, 1999)

Infektionen des Menschen werden durch *Trypanosoma brucei rhodesiense* und *T. b. gambiense* hervorgerufen. Sie führen zur sogenannten Schlafkrankheit, einer akut oder chronisch verlaufenden Allgemeininfektion, die unbehandelt zum Tode des Patienten führt. Zum Ende der Kolonialzeit war die Schlafkrankheit unter Kontrolle. Erst in den letzten Jahrzehnten ist es wieder zu dramatischen Ausbrüchen gekommen. Von den 55 Millionen Menschen, die heute unter Infektionsrisiko leben, sollen nach Schätzungen der

Weltgesundheitsorganisation (WHO) über 300.000 Menschen mit dem Erreger der Schlafkrankheit infiziert sein (Smith et al., 1998). Besonders betroffen sind derzeit Regionen, in denen aufgrund politischer Unruhen die medizinische Überwachung der exponierten Bevölkerung zum Erliegen gekommen ist (Nördliches Angola, Demokratische Republik Kongo, Nordwest-Uganda, Süd-Sudan).

Die Erreger der Schlafkrankheit können auch Haus- und Wildtiere infizieren, ohne dass es bei diesen zu deutlichen Krankheitssymptomen kommt. Tiere stellen somit ein mögliches Reservoir für die Erreger der Trypanosomen des Menschen dar. Aufgrund dieser Tatsache sollten neben Maßnahmen zur Bekämpfung der Schlafkrankheit auch die epidemiologische Bedeutung des domestizierten Tierreservoirs erfasst werden (Mehlitz, 1985).



Abbildung 2. Ein an Nagana akut erkranktes Zebu-Rind in Äthiopien

Die als Nagana bekannte Trypanosomose der Rinder wird durch *T. congolense*, *T. vivax* und *T. brucei* verursacht. Je nach Erregerart, Infektionsdruck und Belastung durch interferierende Infektionen mit Ekto- und Endoparasiten und Widerstandskraft der betroffenen Rinderrasse nimmt die Infektion einen akuten oder chronischen Verlauf (Seifert, 1992). Die akute Erkrankung mit hohem Fieber und hochgradiger Erschöpfung, begleitet von starker

Parasitämie führt nach wenigen Wochen meist infolge einer fortgeschrittenen Anämie zum Tod. Der chronische Verlauf geht einher mit sporadischem Fieber, rauem Haarkleid, Abmagerung und moderater bis starker Anämie und führt zu erheblichen Produktionsverlusten. Die Nagana beeinträchtigt die Milchleistung und Fleischproduktion und setzt die Zugleistung von Ochsen, sowie die Reproduktionsleistung in den betroffenen Rinderbeständen herab. Die Auswirkungen der Nagana tragen somit zu einer Verschlechterung der Ernährungssituation in Afrika bei.

In den 37 betroffenen Ländern südlich der Sahara werden von den 172 Millionen Rindern ca. 44,7 Millionen in Tsetsefliegengebieten gehalten (Gilbert et al., 2001). Eine erfolgreiche pan-afrikanische Tsetse- und Trypanosomosis-Ausrottungskampagne, wie von den Regierungschefs der afrikanischen Staaten anlässlich eines Treffens in Lomé, Togo, im Jahre 2000 gefordert, würde nach Schätzungen von Gilbert et al. (2001) zu einem Anstieg der Rinderpopulation um 90 Millionen Tiere führen. Bi- und multilaterale Geldgeber haben in der Vergangenheit zahlreiche Tsetsefliegenbekämpfungsprojekte finanziert, die aber nach Beendigung der externen Finanzierung immer wieder in sich zusammenbrachen. Die Tsetsefliegen konnten in den Projektgebieten zwar erfolgreich ausgerottet werden. Es kam jedoch nach Abschluß der Projektaktivitäten immer wieder zu einer Wiederbesiedlung der von Tsetsefliegen befreiten Gebiete.

Die Entwicklung eines Impfstoffes ist bis heute an der bemerkenswerten Fähigkeit der Trypanosomen zur Antigenvarianz gescheitert. Die verstärkte Nutzung und Verbreitung trypanotoleranter westafrikanischer tauriner Rinderrassen könnte als alternative biologische Methode zur Verhütung der klinischen Trypanosomose und damit verbundenen wirtschaftlichen Verlusten für den Tierbesitzer angesehen werden (Hörchner, 1983). Trotz einer vergleichbaren Produktivität (bezogen auf Biomasse pro Fläche) tendieren die Tierhalter in Westafrika jedoch mehr und mehr dazu, die kleinwüchsigen autochthonen Rinder durch die

großrahmigen trypanosensiblen Zeburinder zu ersetzen (Jabbar et al., 1998). Ein höherer Marktpreis, eine größere Milchleistung pro Tier und eine bessere Eignung zur Zuganspannung sind die Hauptgründe für diese Entwicklung. Der Anteil trypanotoleranter Rinder an der gesamten Rinderpopulation südlich der Sahara wird heute deshalb auf unter 10% (oder 15 Millionen Tiere) geschätzt (Murray et al., 2004).

Aufgrund eines fehlenden Impfstoffes, der Nachhaltigkeitsprobleme von Tsetsefliegenbekämpfungsprogrammen und des geringen Interesses für trypanotolerante westafrikanische Rinderrassen kamen der Chemotherapie und -prophylaxe in den Endemiegebieten in den letzten 40 Jahren die bedeutendsten Rollen in der Bekämpfung der Nagana zu. Bedingt durch die geringe Anzahl der zur Verfügung stehenden Wirkstoffe, durch ihren langjährigen und oft fehlerhaften Einsatz und durch ihre hohe strukturelle Ähnlichkeit sind inzwischen Resistenzen gegenüber allen im Handel befindlichen Trypanoziden nachgewiesen worden (Peregrine, 1994).

Trotz der ungebrochenen Nachfrage ist der afrikanische Markt für Trypanozide mit einem geschätzten Jahresumsatz von 30 Millionen US-Dollar relativ unbedeutend. Die Investitionskosten für die Entwicklung und Zulassung neuer Trypanozide sollen sich heute auf über 250 Millionen US-Dollar für ein Medikament belaufen (Holmes et al., 2004). Somit ist auch in naher Zukunft nicht mit der Zulassung neuer Wirkstoffe für den afrikanischen Nutztiersektor zu rechnen. Da eine nachhaltige Vektorenkontrolle (Tsetsefliegenbekämpfung) wohl auch mittelfristig ein ungelöstes Problem darstellen wird, ist für den strategischen Einsatz der verbliebenen Trypanozide eine genaue Kenntnis über das Vorkommen und die Verbreitung von Resistenzen bei Trypanosomen unabdingbar. Hierzu bedarf es verlässlicher und aussagekräftiger Untersuchungsmethoden. Da die vorliegenden Berichte zumeist nur auf der Untersuchung weniger Trypanosomenpopulationen basieren, waren bisher keine Aussagen

über die regionale Verbreitung und Bedeutung von Chemoresistenzen bei Trypanosomen in Afrika möglich (Geerts and Holmes, 1998).

Ziel dieser Untersuchungen war es, die Verbreitung von Medikamentenresistenzen bei Trypanosomen in Rinderherden an verschiedenen Standorten in Ost- und Westafrika zu bestimmen. Parasitologische und molekularbiologische Methoden waren im Rahmen dieser Untersuchungen auf ihre diagnostischen Möglichkeiten und Grenzen zur Darstellung chemoresistenter Trypanosomen in Rindern zu überprüfen. Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen waren Empfehlungen für zukünftige Strategien zur Bekämpfung der Nagana zu formulieren.