

2 Literaturübersicht

2.1 Trypanosomosen

Bei der Familie der Trypanosomatidae handelt es sich um Protozoen des Stammes Flagellaten, der Ordnung Kinetoplastida. Innerhalb der Gattung *Trypanosoma* werden die beiden Gruppen Salivaria und Stercoraria unterschieden. Alle *Trypanosoma spp.*, die mit dem Speichel infizierter Insektenwirte übertragen werden (übertragungsfähige Stadien in/ an den Mundwerkzeugen und zum Teil in den Speicheldrüsen der Vektoren), gehören zur Gruppe der Salivaria; diejenigen, die durch den Kot infizierter Vektoren übertragen werden gehören zur Gruppe der Stercoraria (LUCIUS, 1997).

Innerhalb der für diese Arbeit bedeutenden Gruppe der Salivaria-Trypanosomen werden nach HOARE (1972) folgende Untergattungen, Spezies und Subspezies unterschieden (Tabelle 2.1).

Tabelle 2.1: Spezies und Subspezies der Gruppe der Salivaria-Trypanosomen (modifiziert nach STEPHEN, 1986)

| Untergattung | Spezies | Subspezies | Wirt |
|--------------|--|---|---|
| Duttonella | <i>T. vivax</i> <i>T. uniforme</i> | | Wiederkäuer, Equiden |
| Nannomonas | <i>T. congolense</i> <i>T. simiae</i> | | Wiederkäuer, Equiden, Karnivoren Schweine |
| Trypanozoon | <i>T. brucei</i> | <i>T. b. brucei</i> <i>T. b. gambiense</i> <i>T. b. rhodesiense</i> <i>T. b. evansi</i> <i>T. b. equiperdum</i> | Wiederkäuer, Equiden, Schweine, Nagetiere Menschen, Hunde, Schweine, Antilopen Menschen, Wiederkäuer, Schweine Wiederkäuer, Equiden, Hunde Equiden |
| Pycnomonas | <i>T. suis</i> | | Schweine |

Die Schlafkrankheit des Menschen wird durch die *T. brucei*-Subspezies (*T. brucei rhodesiense* und *T. brucei gambiense*) verursacht. Die Subspezies *T. b. brucei* ist ein Erreger der „Nagana“-Viehseuche. Haus-, Nutz- und Wildtiere spielen eine wichtige Rolle als Erregerreservoir der menschlichen Schlafkrankheit (MEHLITZ *et al.*, 1982; MEHLITZ, 1986; WHO, 1986; JORDAN, 1988).

2.1.1 Trypanosomen der Rinder in Afrika – die „Nagana“

Der Name „Nagana“ stammt aus der Sprache der Zulu Südafrikas und wird übersetzt als „Zustand des bedrückten Geistes“(COOK, 1994).

Die Trypanosomen, die die Nagana der Rinder in Afrika verursachen, entstammen den drei

| | | |
|-----------------|----------------------|------------------------------|
| Untergattungen: | Subgenus Duttonella | (<i>T. vivax</i>), |
| | Subgenus Nannomonas | (<i>T. congolense</i>) und |
| | Subgenus Trypanozoon | (<i>T. brucei</i>). |

Wurde früher die Nagana nur *T. brucei*-Infektionen zugeschrieben, gilt heute neben *T. vivax* *T. congolense* als der wichtigste Erreger (LUCIUS, 1997).

Die Nagana-Viehseuche ist eine der wirtschaftlich bedeutendsten Viehseuchen des afrikanischen Kontinents. Sie kommt in allen Verbreitungsgebieten der Tsetsefliege vor.

Der Krankheitsverlauf beim Rind zeichnet sich durch fortschreitenden Konditionsverlust, Abmagerung und Schwächezustände mit möglicher Todesfolge aus. Abhängig von Erreger und betroffener Rinderrasse gibt es akute und chronische Infektionen. Vor allem Zebu-Rinder und europäische Hochleistungsrassen sind hochempfindlich. Wildwiederkäuer und trypanotolerante Rinderrassen werden zwar ebenfalls infiziert, können die Infektion aber unter normalen Bedingungen begrenzen und entwickeln somit nur leichte klinische Symptome (STEPHEN, 1986; SEIFERT, 1992).

2.1.2 Epidemiologie der Nagana

Die Trypanosomose der Rinder (2.1.3) wird hauptsächlich von *T. vivax* und *T. congolense* hervorgerufen, wohingegen einer Infektion mit den *T. brucei*-Unterarten (*T. b. rhodesiense*, *T. b. gambiense*) eher eine Bedeutung als Reservoir der menschlichen Schlafkrankheit zukommt. Hochgradig resistente Wildwiederkäuer beherbergen die Trypanosomen; sie können als Alternativwirte die Tsetsefliege infizieren und damit zum Überleben der Glossinen und zur Persistenz der Seuche am infizierten Standort beitragen (MOLYNEUX, 1982; MEHLITZ, 1986).

Trypanosomen haben durch die Bildung der „surface coat“ und variabler Antigentypen die besondere Fähigkeit entwickelt, die Immunabwehr des Wirtes zu umgehen, sowie Infektionen durch Ausbildung verschiedener Antigenvarianten in chronische Stadien zu überführen, so dass die Entwicklung wirksamer Schutzimpfungen bisher daran gescheitert ist (TEALE, 1993).

Die Pathogenität der drei Trypanosoma-Arten für die Rinder ist von mehreren Einflussfaktoren, wie Virulenz des Erregerstammes, Anzahl der übertragenen Trypanosomen, Umweltfaktoren, der übertragenden Glossinenspezies, anderen gleichzeitig auftretenden Infektionen und der genetisch determinierten Empfänglichkeit der jeweiligen Rinderrasse

abhängig. Auch das Alter und die Kondition der Wirtstiere spielen für den Verlauf eine Rolle (URQUHART, 1980).

Von MURRAY *et al.* (1979) wurden besonders deutliche Krankheitserscheinungen vor allem bei Import- und Kreuzungsrindern oder bei stark beanspruchten Tieren beobachtet, wohingegen schwere Auswirkungen bei autochthonen Rinderrassen seltener auftraten.

Diese afrikanischen taurinen Rinderrassen zeigen oft nur latente Infektionsverläufe („Trypanotoleranz“, 2.5.2).

Weiterhin konnte ein Alterseinfluss der Rinder auf die Trypanosomenspezies festgestellt werden; während in Gebieten mit hohen Tsetsepopulationen die Infektionen bei über zwei Jahre alten Rindern mit 84% zugunsten von *T. congolense* ausfielen, lag das Verhältnis bei Rindern unter zwei Jahren zugunsten von *T. vivax* (ROWLANDS *et al.*, 1993).

Bei Untersuchungen in Zaire war auffällig, dass Rinder ein Drittel seltener mit *T. vivax* als mit *T. congolense* infiziert waren. Die Autoren zogen daraus die Schlussfolgerung, dass das Rind gegenüber *T. vivax*-Infektionen eher eine Kontrolle über die Entwicklung einer Infektion ausübt als bei *T. congolense*-Infektionen. Diese Ergebnisse konnten in einer Feldstudie in Gambia von MATTIOLI *et al.* (1998) bestätigt werden.

Bei Saugkälbern wurde ein Schutz gegenüber Trypanosomeninfektionen über die Mutter oder über eine „Immunität“ vermutet, der nach der Absetzphase verlorengeht (TRAIL *et al.*, 1994).

Der Stellenwert der Pathogenität innerhalb von Trypanosomenspezies differiert in verschiedenen Ländern; während *T. congolense* in Ostafrika als pathogenste Art beschrieben ist, wird diese Rolle in Westafrika von *T. vivax* eingenommen (MORRISON *et al.*, 1981; WELLDE *et al.*, 1989).

Auch nach LEAK *et al.* (1996) sind *T. vivax*-Infektionen in Westafrika vorherrschend und haben fatale Folgen bis hin zu Todesfällen, während für *T. congolense* ein chronischer Verlauf beschrieben wird. SEKONI *et al.* (1990b) bestätigten chronische Krankheitsverläufe für *Trypanosoma congolense* in Westafrika, mit jedoch schwerwiegenden klinischen Symptomen wie Fieber und Anämie. Während LEAK *et al.* (1996) in Ost- und Zentralafrika für *T. vivax*-Infektionen nur milde Krankheitserscheinungen beschrieben, gab es dennoch auch aus Ostafrika Berichte über *T. vivax*-Infektionen mit akuten, ohne Behandlung tödlichen, meist hämorrhagischen Verlaufsformen (MORRISON *et al.*, 1981; MWONGELA *et al.*, 1981). Auch *T. congolense* Infektionen können in sechs bis acht Wochen zum Tod führen. Während *T. brucei* von MORRISON *et al.* (1981) allgemein als die am wenigsten pathogenste Spezies für Rinder angesehen wurden, fanden WAISWA *et al.* (1996) bei ihren Untersuchungen an experimentell infizierten Rindern schwere klinische Symptome, die ebenfalls teilweise zum Tode führten. Weitere tödliche Verläufe mit ZNS Beteiligung wurden von WELLDE *et al.* (1989b) und OTESILE *et al.* (1991) beschrieben.

2.1.3 Pathologie und Klinik

Nach dem Stich einer infizierten Tsetsefliege am Vertebratenwirt kann es zu einer lokalen Hautreaktion, dem sogenannten „Schanker“ kommen. Es folgt eine Anschwellung der abführenden Lymphknoten, begleitet von einem Temperaturanstieg, als erste immunologische Abwehrreaktion. Einige Tage später setzt die Parasitämie ein, um nach Erreichen eines Gipfels wieder abzufallen. In dem letztgenannten Stadium kann ein Nachweis der Parasiten im Blut negativ ausfallen. Nach einigen Tagen kommt es zu einem erneuten Anstieg der Parasitenzahl im Blut.

Die Erkrankung kann akut bis zum Eintreten des Todes nach einer Inkubationszeit von zwei bis drei Wochen subakut oder aber chronisch verlaufen (URQUHART, 1980).

Nach WELLDE *et al.* (1981) wird der akute Verlauf häufiger von *T. vivax* als von *T. congolense* hervorgerufen. Die hämolytische *T. vivax*-Form verursacht eine hämorrhagische Septikämie, die im Verlauf einer hohen Parasitämie, begleitet von hohem Fieber, zum Tode führen kann. Infektionen mit *T. congolense* können zur Ausbildung einer Jugendresistenz führen; überlebt das Tier ohne Behandlung, erliegen diese Tiere seltener einer Neuinfektion als Alttiere. Allerdings ist ihre Entwicklung und Reproduktionsrate beeinträchtigt (WELLDE *et al.*, 1981, 1989a,c).

Der chronische Verlauf, der auch in der Folge einer akuten Infektion entstehen kann, ist typisch für autochthone Rassen des Tsetsegürtels (westafrikanische Taurine). Sporadisches Fieber, raues Haarkleid, moderate Anämie, Ödeme am Kehlgang und Tritel, Abmagerung, entzündliche Augenveränderungen, unkoordinierter Gang durch Meningitis, Myokarditis und Festliegen wurden von GOODWIN (1970), STEPHEN (1970) und WELLDE *et al.* (1974) beschrieben.

Weitere Krankheitserscheinungen betreffen die Geschlechtsorgane. Als Folge der Infektion kann es zu Aborten, Fertilitätsstörungen, Sterilität, Nebenhodendegenerationen und Aspermie kommen (KAAYA und ODUR-OKELO, 1980; MOLYNEUX und ASHFORD, 1983). MORRISON *et al.* (1981) berichteten ebenfalls von Spätfolgen bei überlebenden Tieren wie Unfruchtbarkeit und Wachstumsdepressionen. In einer Studie von SEKONI *et al.* (1990a) wurden die Geschlechtsorgane *T. congolense* und *T. vivax*-infizierter Bullen post mortem untersucht und degenerative Veränderungen und Läsionen an Hoden und Nebenhoden diagnostiziert, wobei die Läsionen durch *T. congolense* schwerwiegender waren.

2.1.4 Wirtschaftliche Bedeutung der Nagana

Der laut Schätzungen für das Jahr 2000 (JEUNE ARIQUE, 1998) zwölf Millionen Menschen umfassende Sahelstaat Burkina Faso zählt zu der Gruppe der „Least Developed Countries“ und ist eines der neun ärmsten Länder der Welt (MUNZINGER-ARCHIV, 1997). Über 80% der Bevölkerung bestreiten ihre Existenz durch Land-, Forst- und Viehwirtschaft.

Neben Baumwolle ist die Lebewidvehvermarktung die wichtigste Exportquelle. Nur 13% der Fläche des Landes ist geeignet für Ackerbau, 22% steht als Weideland zur Verfügung (MUNZINGER ARCHIV, 1997). Die Landbestellung ist kaum mechanisiert; bei dieser Form der Landbestellung wird dem Einsatz von Zugtieren ein großer Stellenwert beigemessen. Die landwirtschaftlich nutzbaren Gebiete liegen in den niederschlagsreicheren semiariden und subhumiden Gebieten im Süden und Südwesten und damit im Verbreitungsgebiet der Tsetsefliege. Der regierungsseitigen Förderung der Ansiedlung von Pastoralisten in diese fruchtbaren Gebiete steht das dortige Trypanosomoserisiko entgegen. Nach Angaben von KAMUANGA *et al.* (2001) befinden sich 63% des nationalen Rinderbestandes, was einer Anzahl von ca. 2,7 Millionen Rinder entspricht, in diesen Gebieten.

Bei dem Einfluss der Nagana auf die kleinbäuerliche Landwirtschaft muss zwischen direkten und indirekten Auswirkungen unterschieden werden.

Direkte Auswirkungen basieren auf Tierverlusten, verminderten Milch- und Fleischerträgen sowie kostenintensivem Trypanozideinsatz. Nach Schätzungen von GEERTS und HOLMES (1998) werden jährlich 35 Millionen US\$ für Trypanozide ausgegeben. Die Kosten für Trypanozide nehmen nach Angaben von OUEDRAOGO (2001) 75% der jährlichen Ausgaben für Tier-Medikamente ein. Weitere direkte Auswirkungen lassen sich an den Produktivitätsparametern Erstkalbealter, Geburtsraten, Zwischenkalbeintervallen und Abkalberaten festmachen (D'IETEREN *et al.*, 1998). In mehreren Studien über die ökonomischen Auswirkungen der Trypanosomose wurden um 1 bis 12% erniedrigte Abkalberraten in trypanotoleranten Rinderrassen und um 11 bis 22% in den empfänglichen Rinderrassen beobachtet. Die Kälbermortalitätsrate erreichte 10% in den toleranten und sogar bis 20% in den empfänglichen Rassen. Milchleistungseinbußen lagen in einem Bereich von 10 bis 26% (SWALLOW, 1997). In einer Studie, die vor und nach Tsetsekontrollmaßnahmen in Burkina Faso durchgeführt wurde, schätzten die Viehhalter die Mortalitätsrate ihrer Rinder, bedingt durch Trypanosomeninfektionen, vor den Kontrollmaßnahmen auf über 60% (KAMUANGA *et al.*, 1998). Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die schon genannte Zugleistung. Direkte Einflüsse zeigen sich in einer bis zu 38% geringeren effektiven Arbeitsleistung von Rindern in Gebieten unter hohem Risiko.

Indirekte Auswirkungen beruhen auf der teilweisen Unmöglichkeit der Haltung zeboider Zugtiere. Nach Berechnungen der FAO (1994) könnte in betreffenden Gebieten durch den Einsatz eines Zuggespannes das zehnfache von dem, was mit Handarbeit erzielt wird, erwirtschaftet werden. Weiterhin wird geschätzt, dass - ohne Trypanosomoserisiko - ein Dreifaches des aktuellen Rinderbestandes gehalten werden könnte, was einer Aufstockung von 90 Millionen Rindern entspräche.

Auch die Herdenzusammensetzung ist beeinflusst: die Notwendigkeit, auf leistungsfähigere Zebu-Rinder zu verzichten und auf trypanotolerante Rinderrassen auszuweichen, stellt eine nachhaltige Beeinträchtigung der landwirtschaftlichen Entwicklung dar (SWALLOW, 1997). Schätzungen über Verluste durch Trypanosomosen im landwirtschaftlichen Bereich liegen zwischen ca. einer Billion US\$ pro Jahr (KRISTJANSON, 1996) und - inklusive der indirekten Verluste - vier Milliarden US\$ (FAO, 1994).

Ausmaß und Folgen der Trypanosomose der Rinder werden durch das Auftreten medikamentenresistenter Trypanosomenpopulationen verschärft (PINDER und AUTHIE, 1984; CLAUSEN *et al.*, 1992).

Diverse erfolgversprechende integrierte Tsetse- und Trypanosomosebekämpfungskampagnen fanden nach Abschluss der jeweiligen Studien oft nicht die nötige Akzeptanz und Unterstützung, um die bereits erreichten Ziele dauerhaft zu halten (KAMUANGA *et al.*, 2001). Dem Einsatz von Chemotherapeutika wird daher innerhalb dieser Gebiete noch immer der höchste Stellenwert beigemessen. Entscheidend ist, die Effektivität der vorhandenen Trypanozide zu erhalten und weitergehende Resistenzentwicklungen zu verhindern.

2.2 Die Erreger der Nagana

Bei den Blutformen der Nagana-Erreger handelt es sich um langausgezogene, meist leicht gekrümmte Einzeller von 10 bis 30 μm Länge, mit einem Zellkern, einer für die Bewegung verantwortlichen am Hinterende entspringenden Geißel, einem Basalkörperchen nahe dem Ursprung der Geißel und einem Kinetoplast, meist hinter dem Zellkern gelegen.

Die am Hinterende entspringende Geißel ist mit dem Parasitenkörper durch einen Plasma-saum (undulierende Membran) verbunden und verläuft bis zum Vorderende und - abhängig von der Art - mit einem freien Stück darüber hinaus (HOARE, 1949; JORDAN, 1986) (Abbildung 2.1).

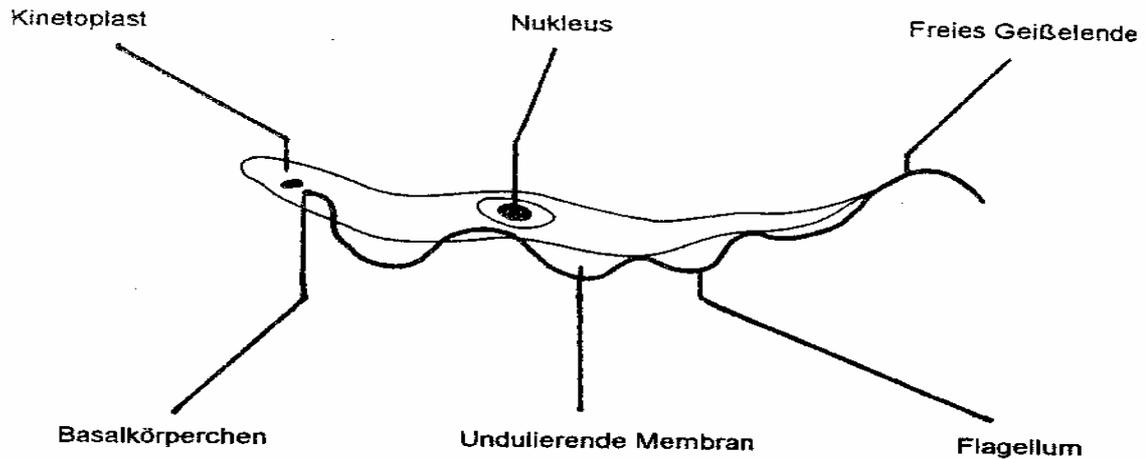


Abbildung 2.1: Morphologie eines Trypanosoms (nach HOARE, 1949)

2.2.1 *T. congolense*

T. congolense aus der Untergattung Nannomonas gilt als der wichtigste Erreger der Nagana. Das Wirtstierspektrum umfaßt alle Arten von Wildwiederkäuern und Hauswiederkäuern, sowie Raubtiere.

Die trypomastigote *T. congolense*-Form im Blut befallener Säugetiere hat eine durchschnittliche Länge von 9 bis 18 μm . Eine freie Geißel ist nicht vorhanden. Der Kinetoplast liegt randständig. Die Körperform ist lanzettförmig mit einem stumpfen Hinterende und einem lang auslaufenden Vorderende. Im Blut bewegt sich *T. congolense* lebhaft auf einer Stelle.

Die trypomastigoten Formen im Blut befallener Säugetiere werden durch den Saugakt von der Glossine aufgenommen. Nach der Aufnahme in die Fliege vollzieht sich ein Gestaltwechsel in schlankere Formen. Es erfolgt eine Vermehrung durch binäre Teilung im Mitteldarm der Fliege. Von dort aus findet eine Wanderung durch den Oesophagus in die obersten Partien der Mundwerkzeuge statt. Dort findet die Umwandlung in die epimastigote und anschließend in die trypomastigote metazyklische Form statt. Diese zyklische Entwicklung in der Fliege in die wieder übertragungsfähige infektionstüchtige Form dauert zwei bis drei Wochen. Durch einen erneuten Saugakt kann durch den Stich der Tsetsefliege infizierter Speichel in das Wirtstier inokuliert werden.

Die Übertragung von *T. congolense* erfolgt über ein breites Spektrum von Glossinen-Arten der *Palpalis*-, *Morsitans*- und *Fusca*-Gruppe, so dass *T. congolense* im gesamten Verbreitungsgebiet der Tsetsefliege zu finden ist (LUCIUS, 1997).

2.2.2 *T. vivax*

T. vivax aus der Untergattung Duttonella ist über Afrika hinaus auch noch durch die Einschleppung infizierter Haustiere in Südamerika verbreitet. Die Übertragung kann sowohl zyklisch durch Tsetsefliegen als auch mechanisch durch Tabaniden oder andere Stechfliegen erfolgen. Das breite Wirtstierspektrum umfasst Wildwiederkäuer, Hauswiederkäuer und Equiden.

Die trypomastigote Blutform ist mit 18 bis 27 μm länger als *T. congolense*, mit einer langen freien Geißel und einer birnenförmigen Verbreiterung am Hinterende. Im Blut zeichnet sich dieser Erreger durch lebhaftes, zum Teil schnelle Vorwärtsbewegung aus. Die zyklische Entwicklung in der Tsetsefliege ist ausschließlich in den Mundwerkzeugen lokalisiert. Nach Anheftung der epimastigoten Formen mittels ihrer Geißel in Labrum und Hypopharynx findet dort die Vermehrung und Differenzierung zu trypomastigoten metazyklischen Formen statt. Dieser vereinfachte Entwicklungszyklus benötigt 5 bis 13 Tage. Während *T. vivax* in Südamerika ausschließlich mechanisch übertragen wird, ist in Afrika die zyklische Übertragung durch Tsetsefliegen wesentlich (LUCIUS, 1997).

2.2.3 *T. brucei*

Aus der Untergattung Trypanozoon stammen die schon beschriebenen - für die Schlafkrankheit des Menschen ursächlichen Subspezies *T. brucei rhodesiense* und *T. b. gambiense*, sowie die für die Nagana ursächliche Subspezies *T. brucei brucei* (im weiteren im Zusammenhang mit der Nagana nur noch *T. brucei* genannt). Die Differenzierung der human- und tierpathogenen Subspezies ist aufgrund der Rolle der Rinder als Erregerreservoir der Rhodesiense-Schlafkrankheit sehr wichtig. Ihr Vorkommen ist ausschließlich auf den Tsetsegürtel Afrikas beschränkt, da ihre Entwicklung an die Tsetsefliege gebunden ist. Die Subspezies *T. b. brucei* wird wie *T. b. rhodesiense* ebenfalls hauptsächlich durch Fliegen der *Morsitans*-Gruppe übertragen. Das Wirtsspektrum umfasst alle Huftiere sowie einige Karnivoren. Während die Infektion bei Rindern, Schafen und Ziegen meist symptomlos verläuft, ist der Verlauf bei Hunden, Pferden und Eseln oft tödlich.

Morphologisch sind die drei Subspezies nicht zu unterscheiden. Drei morphologisch unterschiedliche trypomastigote Blutformen werden unterschieden: die „schlanke“ Form ist 20 bis 30 μm lang, mit einer über das Körperende hinausragenden Geißel und mit einem eiförmigen zentral gelegenen Zellkern, die „gedrungene“ Form misst nur 15 bis 25 μm , hat keine freie Geißel, sowie die sogenannte „intermediäre“ Form, die morphologisch dazwischen liegt. Im Blut sind schlängelnde Vorwärtsbewegungen auffällig.

Mit der Blutmahlzeit aufgenommene „gedrungene“ Formen differenzieren sich im Mitteldarm der Fliege zu prozyklischen trypomastigoten Formen.

Nach einer Vermehrungsphase durchbrechen sie die peritrophische Membran und siedeln sich im ektoperitrophischen Raum am Epithel des Mitteldarmes an. Dort erfolgt die Umwandlung in mesozyklische Formen. Nach einem erneuten Durchdringen der peritrophischen Membran wandern sie im Lumen des Darmtraktes durch den Kropf und Oesophagus bis in das Lumen der Speicheldrüsen (LUCIUS, 1997). Dort findet die Umwandlung in die epimastigote und anschließend in die trypomastigote metazyklische Form statt. Diese Entwicklung benötigt drei bis fünf Wochen und nur ein geringer Anteil der Fliegen ist befallen.

T. brucei ist der am wenigsten pathogenste Erreger der Nagana, spielt jedoch aufgrund der schon genannten morphologischen Ähnlichkeit und der damit verbundenen schwierigen Abgrenzung zu den beiden humanpathogenen Subspezies eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit der menschlichen Schlafkrankheit (LUCIUS, 1997).

2.3 Tsetsefliege – Vektor der Nagana-Viehseuche

2.3.1 Vorkommen

Die Verbreitung der Tsetsefliegen erstreckt sich über 36 afrikanische Länder südlich der Sahara (MBENGA, 1995) auf einer Fläche von zehn bis elf Millionen Quadratkilometern zwischen 14° nördlicher und 29° südlicher Breite (WHO, 1986; JORDAN, 1988; KUZOE, 1993) – dem „Tsetsegürtel“. Damit sind die humiden Zonen des afrikanischen Kontinents im Bereich der großen Flußsysteme zu beiden Seiten des Äquators von West- und Zentralafrika bis nach Ostafrika von Tsetsefliegen besiedelt. Die nördliche Grenze dieses Gebietes wird vom Senegal im Westen und vom südlichen Somalia im Osten gebildet. Die südliche Grenze überschneidet sich mit der Kalahari und namibischen Wüste und verläuft im Südosten entlang der afrikanischen Küste. Diese Fläche entspricht einem Drittel des afrikanischen Kontinentes (ILRAD, 1991).

Drei veterinärmedizinisch bedeutsame Glossinen-Arten (zwei Vertreter der *Palpalis*-Gruppe (*G. palpalis gambiensis* und *G. tachinoides*), ein Vertreter der *Morsitans*-Gruppe (*G. morsitans submorsitans*) sowie ein Vertreter der *Fusca*-Gruppe (*G. medicorum*) wurden im Untersuchungsgebiet der Provinz Kéné Dougou im Südwesten von Burkina Faso beschrieben (CHALLIER und LAVEISSIERE, 1973; FORD und KATONDO, 1977; KATONDO, 1984; BAUER *et al.*, 1995).

2.3.2 Klassifizierung und Taxonomie

Die Tsetsefliege mit der einzigen Gattung *Glossina* stammt aus der Familie der *Glossinidae* aus der Überfamilie der *Hippoboscoidea*.

Es handelt sich um obligatorische Blutsauger in beiden Geschlechtern an Landwirbeltieren und am Menschen, die durch den Saugakt tier- und menschenpathogene Protozoen der Gattung *Trypanosoma* übertragen können.

Die Einteilung des Genus *Glossina* erfolgt nach dem Habitat und nach morphologischen Merkmalen; es werden drei Hauptgruppen mit insgesamt 23 Arten und 31 Unterarten beschrieben (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2: Taxonomie der Tsetsefliegenarten und Unterarten (GLASGOW, 1970)

| Morsitans-Gruppe | Palpalis-Gruppe | Fusca-Gruppe |
|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| <i>G. morsitans submorsitans</i> | <i>G. fuscipes fuscipes</i> | <i>G. fusca fusca</i> |
| <i>G. morsitans centralis</i> | <i>G. fuscipes quanzensis</i> | <i>G. fusca congolensis</i> |
| <i>G. morsitans morsitans</i> | <i>G. fuscipesmartinii</i> | |
| <i>G. austeni</i> | <i>G. palpalis palpalis</i> | <i>G. nigrofusca nigrofusca</i> |
| | <i>G. palpalis gambiensis</i> | <i>G. nigrofusca hopkinsi</i> |
| <i>G. pallidipes</i> | <i>G. tachionoides</i> | <i>G. medicorum</i> |
| <i>G. swynnertoni</i> | <i>G. pallicera pallicera</i> | <i>G. tabaniformis</i> |
| | <i>G. pallicera newsteadi</i> | |
| <i>G. longipalpis</i> | <i>G. caliginea</i> | <i>G. schwetzi</i> |
| | | <i>G. brevipalpis</i> |
| | | <i>G. longipennis</i> |
| | | <i>G. frezili</i> |
| | | <i>G. severini</i> |
| | | <i>G. haningtoni</i> |
| | | <i>G. fuscipleuris</i> |
| | | <i>G. vanhoofi</i> |
| | | <i>G. nashi</i> |

Der *Morsitans*-Gruppe gehören fünf Arten und drei Unterarten an. Vertreter dieser Gruppe sind während der Regenzeit vor allem in der Buschsavanne anzutreffen, während sie sich in der Trockenzeit in die Nähe von Flußläufen zurückziehen. *Glossina morsitans* ist als Überträger der menschlichen Schlafkrankheit sowie als Hauptüberträger der Trypanosomose der Tiere der wichtigste Vertreter dieser Gruppe.

Zu der *Palpalis*-Gruppe, den sogenannten „Flußfliegen“, gehören ebenfalls fünf Arten und sieben Unterarten. Sie sind vor allem auf ein Habitat der Vegetationszone entlang von Flußläufen in Regenwaldgebieten im Tiefland sowie in der Baumsavanne beschränkt.

Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe sind *Glossina palpalis*, *G. tachionoides*, *G. fuscipes* und *G. pallicera* als Überträger der Trypanosomose sowie als Überträger der menschenpathogenen Subspezies *T. b. gambiense* und *T. b. rhodesiense* (JORDAN, 1986).

Der *Fusca*-Gruppe, die sogenannten „Waldfliegen“, werden 13 Arten und vier Unterarten zugeordnet, deren Vorkommen auf Tiefland-Regenwaldgebiete beschränkt ist. Auch Arten der *Fusca*-Gruppe sind bekannt für die Übertragung der Spezies *T. brucei* (JORDAN, 1986).

2.3.3 Morphologie und Biologie

Die Tsetsefliegen haben eine Länge zwischen 7 bis 14 mm und weisen eine bräunlich-graue bis gelb-braune Färbung auf. In Ruhestellung werden die Flügel scherenartig so über dem Hinterleib zusammengefaltet, dass sie ihn beidseitig überragen. Der typische Stechrüssel (Proboscis) mit den seitlich daran liegenden Palpen wird waagrecht nach vorn getragen und ragt über den Kopf hinaus, so dass sich der Eindruck einer herausgestreckten Zunge ergibt, woraus sich wahrscheinlich der Gattungsname ergeben hat (Glossa lateinisch = Zunge). Wesentliche Unterscheidungsmerkmale sind ein beilförmig gestaltetes Segment, welches durch den Venenverlauf in den Flügeln gebildet wird, sowie gefiederte, dorsal der Arista aufsitzende Haare (LUCIUS, 1997). (Abbildung 2.2).

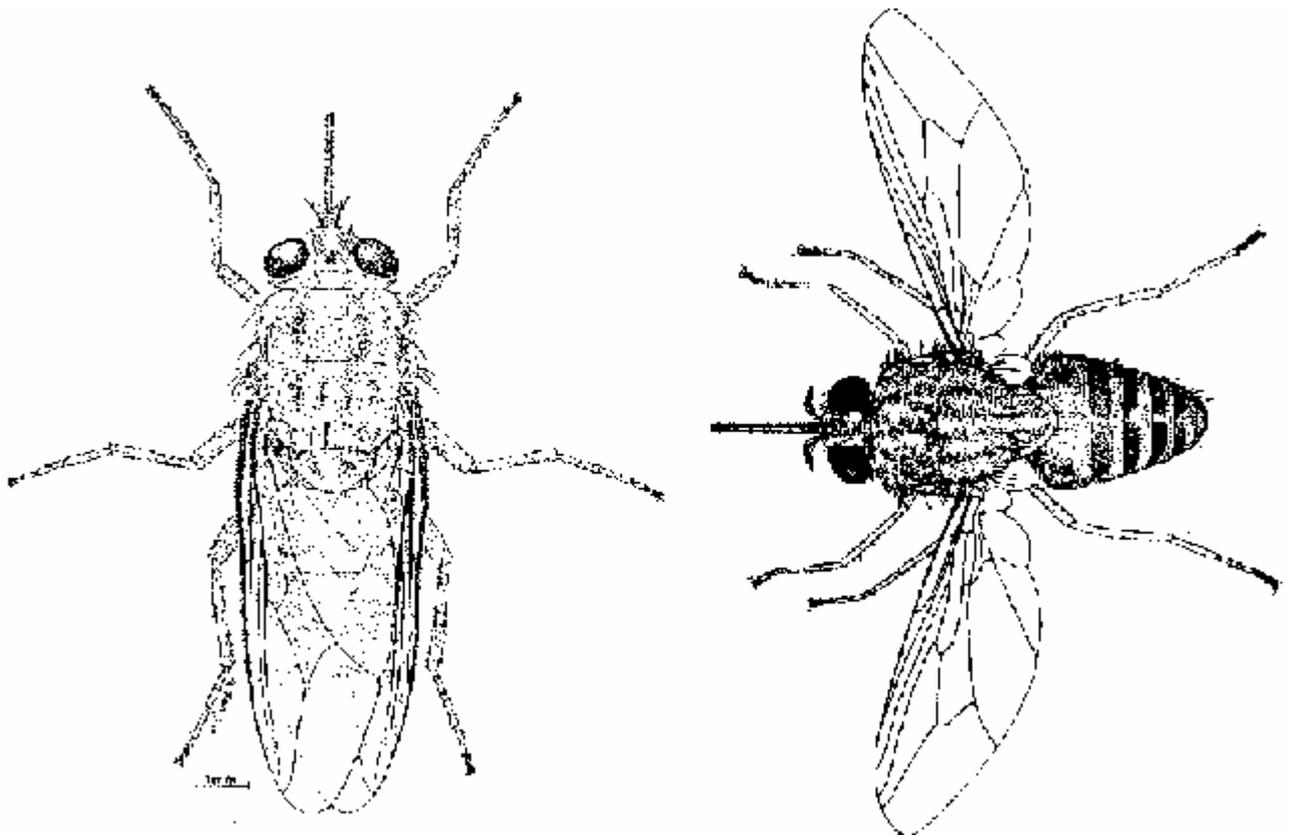


Abbildung 2.2: Morphologie einer Glossine (nach POLLOCK, 1982)

Die Glossinen nehmen unter den Insekten hinsichtlich ihrer Fortpflanzung eine Sonderstellung ein. Sie sind lebendgebärend (larvipar) und zeigen eine extreme Brutpflege. Schon wenige Tage nach dem Schlüpfen wird das Weibchen einmalig begattet. Die Spermatozoen werden während des gesamten reproduktiven Lebens in Spermatheken gelagert.

Alle neun bis zehn Tage wird ein Ei gebildet und aus den Spermatheken befruchtet. Durch „Milchdrüsen“ wird die jeweils einzige Larve ernährt und bis zur Drittlarve ausgebildet. Diese wird am 10. Tag mit einer Länge von ca. 5 mm geboren und verpuppt sich sofort im Boden. Auch hinsichtlich der Anforderungen an den Platz der Larvenablage zeigt sich die hochspezialisierte Lebensweise der Tsetsefliegen. Der Boden muss eine gewisse Feuchtigkeit enthalten, locker, beschattet und einigermaßen humusreich sein (LUCIUS, 1997).

Der Entwicklungszyklus von der Larve über die Puppe zur „Imago“ (geschlechtsreifes Insekt) dauert temperaturabhängig zwischen 30 und 60 Tagen. Die Imagines sind überwiegend tagaktiv und müssen alle zwei bis drei Tage Blut saugen. In der Trockenzeit können auch täglich Blutmahlzeiten aufgenommen werden. Ihre Lebensdauer beträgt drei bis vier Monate, was die nur geringe Vermehrungsrate mit nur sieben bis zwölf Larven bedingt. Männchen leben nur knapp einen Monat (SEIFERT, 1992; LUCIUS, 1997; LEAK, 1999).

Säugetiere und Reptilien bilden die Hauptnahrungsquelle; zwar zeigen die einzelnen Glossinen-Arten Nahrungspräferenzen, sind aber bei Verschwinden ihrer bevorzugten Wirtstiere so flexibel, sich auch auf andere Wirte einzustellen.

2.4 Parasitologische Diagnose

2.4.1 Blutastrich

Ein direkter Trypanosomennachweis kann direkt über einen mikroskopischen Erregernachweis mit Hilfe eines Giemsa-gefärbten Blutastriches erfolgen. Jedoch hängt die Nachweisbarkeit entscheidend von der Konzentration der Trypanosomen im Blut ab. Die Nachweisgrenze dieser direkten Erregerdiagnostik liegt bei 10^4 Trypanosomen pro ml Blut (PARIS *et al.*, 1982; WHO, 1986), so dass bei chronischen Verlaufsformen, mit niedrigen Parasitämien in Endemiegebieten, ein Nachweis der Parasiten im Blut negativ ausfallen kann (MORRISON *et al.*, 1981; WAISWA *et al.*, 1996).

2.4.2 HCT

Die Hämatokrit-Zentrifugations-Technik ist ein Anreicherungs- bzw. Konzentrationsverfahren. Sie lässt sich einfach durchführen und ist daher für den Feldeinsatz geeignet. Die Technik wurde von der WOO (1969) entwickelt und von MEHLITZ (1978) modifiziert. Blut wird in einem heparinisiertem Hämatokritkapillarröhrchen aufgenommen und zentrifugiert. Durch das Zentrifugieren kommt es zu einer Anreicherung/Konzentrierung der Trypanosomen in der Grenzschicht zwischen Plasma- und Leukozytensäule („buffy coat“).

Bei der HCT werden die Kapillaren in einer Neubauerkammer unter dem Mikroskop untersucht. Die Nachweisgrenze dieser Technik liegt bei 5×10^2 Trypanosomen pro ml Blut (WHO, 1986).

2.4.3 BCT

Die „buffy coat darkground / phase contrast technique“ - BCT - nach MURRAY *et al.* (1977) erfolgt in Anlehnung an die Hämatokrit-Zentrifugations-Technik. Hierbei wird das zentrifugierte Hämatokritkapillarröhrchen mit Hilfe eines Diamantschneiders 1 mm unterhalb der „buffy coat“-Schicht angeritzt, zerbrochen und dann durch Austupfen die „buffy coat“-Zone inklusive des Plasmas auf einen Objektträger verbracht. Von einem Deckglas abgedeckt, wird die gesamte Präparation bei einer 400-fachen Vergrößerung mikroskopisch durchmustert.

Der Vorteil dieser Technik ist die leichtere Differenzierung der Trypanosomenspezies durch die Beurteilung ihrer Beweglichkeit im Blut (JORDAN, 1986).

2.4.4 Mausinokulation

Die Inokulation von infektiösem Blut in empfängliche Labornager zählt ebenfalls zu den Anreicherungsverfahren, da es in den Mäusen zu einer Vermehrung der Trypanosomen kommt. Zu bedenken ist, dass nicht alle Trypanosomen in Mäusen Infektionen auslösen. So misslingt oft die Anzucht von *T. vivax* (PARIS *et al.*, 1982); *T. b. gambiense*, *T. simiae* und auch einige *T. congolense*-Populationen scheinen für Mäuse nicht infektiös zu sein (DUKES *et al.*, 1991). Die Auswahl des Labornagerstammes (beispielsweise NMRI-Mäuse oder *Mastomys natalensis*) ist ein entscheidendes Kriterium für den Trypanosomenachweis. Während *T. brucei* in NMRI-Mäusen nur geringe Parasitämien entwickelt, zeigten sich Mastomys-Mäuse empfänglicher (MEHLITZ, 1978), so dass dieser Labortierstamm für den Nachweis von *T. brucei* geeignet ist.

Theoretisch und experimentell belegt, kann ein lebender Trypanosom zur Infektion führen, praktisch spielen aber die Virulenz des Trypanosoma-Stammes, die Konzentration des Erregers in der Infektionsdosis und die Empfänglichkeit des Labortierstammes bei der Entwicklung und dem Verlauf der Infektion die entscheidenden Rollen. Eine Möglichkeit, Mäuse „infektionsanfälliger“ zu machen, ist eine vorhergehende Schwächung des Immunsystems, beispielsweise durch eine radioaktive Bestrahlung. Dieses Verfahren erhöht jedoch auch die Mortalitätsrate der Mäuse - vor allem unter Feldbedingungen - erfordert einen hohen Arbeitsaufwand, hohe Kosten sowie eine entsprechende Laborausbildung- und ausrüstung.

Ein weiterer Nachteil der Mausinokulation ist die Möglichkeit der Selektion bestimmter Trypanosomenpopulationen im Versuchstier, so dass die erzielten Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Trypanosomenart möglicherweise nicht repräsentativ für die Ausgangspopulationen im Wirtstier sind (SONES *et al.*, 1988).

Oft kommt es nach der Inokulation von Mischinfektionen aus dem Wirt in die Maus zur Unterdrückung bestimmter Trypanosomenarten und das Untersuchungsergebnis zeigt nur eine Einfachinfektion an. Mehrfache Passagen in den Mäusen, um höhere Parasitämien zu erzielen, verstärken diesen Effekt. Weiterhin wird auch bei unterschiedlich virulenten Trypanosomenpopulationen innerhalb einer Trypanosomenspezies ein selektives Wachstum beobachtet (SONES *et al.*, 1988).

2.4.5 Weitere Nachweismethoden

Da bei den Untersuchungen in dieser Arbeit nur parasitologische Nachweisverfahren zur Anwendung kamen, soll an dieser Stelle nur ein Überblick über weitere, in der Praxis beschriebene Verfahren gegeben werden:

Serologische direkte und indirekte Nachweismethoden: hierbei erfolgt ein direkter Nachweis der Trypanosomen-Antigene oder ein indirekter Nachweis über gebildete Antikörper (Antigen-ELISA, Antikörper-ELISA).

Molekularbiologische Nachweismethoden: innerhalb des Gebietes der molekularen Struktur und Funktion der Nukleinsäuren sind seit Beginn der 80-iger Jahre enorme Fortschritte erzielt worden, unter anderem was die Identifikation von Trypanosomen betrifft. Diese Methoden haben eine hohe analytische Sensitivität und ermöglichen, – auch bei niedrigen Erregerkonzentrationen – eine exakte Speziesdiagnose (DNA-Sondenhybridisierung, Polymerase-Kettenreaktion).

2.5 Bekämpfungsstrategien

Es gibt zahlreiche Bekämpfungsstrategien und Kontrollmaßnahmen, die sich entweder gegen die Glossinen als Vektor oder gegen die Parasiten direkt richten.

2.5.1 Bekämpfung/Kontrolle des Vektors

Der Wunsch, über eine vollständige Ausrottung der Tsetsefliege die Trypanosomose des Menschen und der Tiere zu tilgen (JORDAN, 1986), hat sich bisher nicht verwirklichen lassen. Eine vollständige Eradikation der Glossinen aus bestimmten Gebieten ist, abgesehen von der Aufwendigkeit, den Kosten und der technischen Umsetzbarkeit, kaum möglich. Nach ROGERS (1979) liegt das realistisch erreichbare Ziel daher in der Tsetsereduzierung oder Kontrolle.

Die hochspezialisierte Lebensweise der Tsetsefliege in den je nach Art charakteristischen Standorten („Habitats“), ihre geringe Reproduktionsrate sowie die Eigenschaft, keine größeren offenen Flächen zu überfliegen, erleichtern die Kontrolle.

Der Einsatz von Fallen oder insektizid-getränkten Tüchern nimmt einen großen Stellenwert unter den Tsetsekontrollmaßnahmen ein (LAVEISSIERE, 1988 und LAVEISSIERE *et al.*, 1988).

Eine gezielte Anlockung der Glossinen durch optische Reize, Standort, Form und Farbe der Fallen und Tücher, evt. in Verbindung mit Geruchsstoffen, hat kaum Auswirkungen auf andere Insekten und benötigt nur geringe Insektizidmengen. Die Fallen bestehen aus einem unteren blauen Gazestoffteil mit einem schwarzen Einlaßschlitz und einem oberen Teil aus hellem Stoff, zum Teil aus Moskitonetzbesatz, auf einer Metall- oder Holzstütze.

Es gibt unterschiedliche Formen, wie z.B. monokonische oder bikonische Fallen. Diese besonderen Form- und Farbkontraste bzw. Hell-Dunkel-Verhältnisse haben einen speziellen Lockeffekt auf Glossinen. Nach dem Anlocken durch den dunklen Stoff und Einfliegen in die Falle werden die Fliegen durch die Suche in Richtung Licht in den oberen, hellgehaltenen Teil der Falle gelockt, von wo aus sie nicht mehr zurückkehren können oder durch Insektizide getötet werden. Bei den Tüchern handelt es sich um blaue oder schwarze, mit Insektiziden getränkte Stoffbahnen. Lockstoffe für Glossinen können verwendet werden; speziell für Fliegen der *Morsitans*-Gruppe zeigten sich Rinderurin, Azeton oder verschiedene Phenole geeignet (POLITZAR und MÉROT, 1984; VALE *et al.*, 1988).

Vorteile der Fallen und Tücher ist ein verhältnismäßig geringer Aufwand im Gegensatz zu radikalen Eradikationskampagnen und sie sind preisgünstiger im Vergleich zu Trypanozid-einsätzen. Für die Zukunft wird eine verbesserte Fallen-Effektivität durch den gezielten Einsatz von weiterentwickelten Geruchsstoffen und synthetischen Pyrethroiden erhofft (TOURE, 1991).

2.5.2 Trypanotolerante Rinder

Die angeborene oder erworbene Resistenz gegenüber Trypanosomeninfektionen, die „Trypanotoleranz“, ist schon seit fast 100 Jahren für bestimmte Wildtierspezies und Nutzierrassen bekannt. Die Fähigkeit der seit ca. 7000 Jahre einheimischen taurinen Rinder in Westafrika, unter Trypanosomoserisiko zu überleben und ihre Produktivität zu erhalten, ist besonders für die beiden im Untersuchungsgebiet vorkommenden *Bos taurus* Rassen N'Dama und Baoulé beschrieben worden (MURRAY *et al.*, 1982; PALING und DWINGER, 1993).

Durch die Fähigkeit einer beschleunigten Antwort des blutbildenden Systems (PALING *et al.*, 1991a,b) sollen trypanotolerante Rinder eine Anämie besser begrenzen können. Des Weiteren sollen trypanotolerante Rinder Parasitämien unter Erhaltung der Produktivität besser kontrollieren können.

Auch bei einigen *Bos indicus*-Rassen wie dem Orma-Boran-Rind (NJOGU *et al.*, 1985) und dem Maasai-Zebu in Kenia (MWANGI *et al.*, 1993, 1998) wurden diese Eigenschaften nachgewiesen, wenn auch nicht in einer den westafrikanischen Rassen vergleichbaren hohen Ausprägung.

Weiterhin kann es durch steigendes Trypanosomoserisiko und Stressfaktoren zu einer Einschränkung der „Trypanotoleranz“ kommen (DIALL *et al.*, 1992).

In einer Studie in Burkina Faso (Satiri) von CLAUSEN *et al.* (1993), wurde der Einfluss von Trypanosomeninfektionen in einem Gebiet mit einem hohen Tsetsedruck auf die in Burkina Faso vorkommenden Rinderrassen Baoulé, Baoulé/N'Dama-Kreuzungstiere sowie Zebu getestet, wobei sich signifikante Unterschiede zwischen den taurinen Rassen und deren Kreuzungsprodukten und den Zebus zeigten.

T. vivax-Infektionen, gefolgt von *T. congolense*-Infektionen, wurden als häufigste im Untersuchungsgebiet beobachtet. In Bestätigung einer früheren Studie (ROELANTS *et al.*, 1987) zeigten sich alle Zebus hochgradig empfänglich und starben, bzw. überlebten die Infektion nur durch Behandlung, während die Baoulé und ihre Kreuzungstiere in der Lage waren, trotz Trypanosomeninfektionen (98% der Untersuchungspopulation war mit Trypanosomen infiziert) keine schwerwiegenden Symptome zu zeigen.

Obwohl der Einsatz trypanotoleranter Rinder als Methode zur Kontrolle der Nagana geeignet ist, stehen den Vorteilen der Trypanotoleranz die geringere Leistungspotential dieser autochthonen Rinderrassen entgegen. Das N'Dama Rind macht nur ca. 6% des totalen Rinderbestandes in Afrika aus (PALING und DWINGER, 1993), da die Zeburasse von den Tierhaltern bevorzugt wird, weil die Rinder größer, umgänglicher und produktiver (Milch, Fleisch und Zugleistung) sind. Versuche, durch gezielte Einkreuzungen eine leistungsfähigere, trypanotolerante Rasse zu schaffen, zeigten nicht den erwarteten Erfolg, da es in den Nachfolgenerationen zu einem Verlust des Resistenzpotentials kam (SEIFERT, 1992).

Studien des „International Livestock Centre for Afrika“ haben jedoch bewiesen, dass trypanotolerante Rinder – gerade in Gebieten mit hohem Risiko und bestehender Trypanozidresistenz – genauso produktiv sein können, wie zwangsweise ständig unter Medikamentenregime gehaltene Zebu-Rinder (D'IETEREN *et al.*, 1998).

2.5.3 Bekämpfung der Erreger

Der Einsatz von Trypanoziden ist zur Zeit die Methode der breitesten Anwendung zur Bekämpfung der Trypanosomose und wird es wohl auch zukünftig aufgrund mangelnder Entwicklungen von Impfstoffen bleiben (STEPHEN, 1986; KINABO, 1993; GEERTS *et al.*, 1999, 2001). Die Zahl der Behandlungen ist ansteigend und liegt nach Schätzungen von GEERTS und HOLMES (1998) bei 35 Millionen Dosen pro Jahr.

Bei den derzeit für die Behandlung von Trypanosomeninfektionen der Wiederkäuer eingesetzten Chemotherapeutika handelt es sich um die Salze dreier chemisch eng miteinander verwandter Gruppen: Isometamidiumchlorid (Samorin®, Trypamidium®, Veridium®) und Homidiumchlorid oder -bromid (Novidium®, Ethidium®) aus der Gruppe der Phenanthridine und Diminazenazeturat (Berenil®, Veriben®, Ganaseg®) als aromatisches Diamidin.

Isometamidiumchlorid – ein aromatisches Phenanthridin Amidin – kann als Hybridmolekül zwischen Diminazenazeturat und Homidium aufgefasst werden, da es zusätzlich zum Homidium eine Hälfte m-amidinophenyl-azo-amine enthält, die ebenfalls im Diminazenazeturat vorkommt.

Das Wirkungsspektrum erstreckt sich auf *Trypanosoma vivax*-, *T. congolense*- und *T. brucei*-Infektionen bei Rindern sowie auf *T. evansi*-Infektionen bei Equiden.

Es ist seit 1961 zur Therapie und Prophylaxe von Trypanosomosen zugelassen und unter den Markennamen Samorin® und Trypamidium® bekannt. Bei einer Dosierung von 0,25 bis 0,5 mg/kg Körpergewicht liegt eine therapeutische, bei einer Dosierung von 0,5 bis 1,0 mg/kg Körpergewicht, jeweils intramuskulär injiziert, eine prophylaktische Wirksamkeit vor. Laut Herstellerangaben hält die Dauer der prophylaktischen Wirkung – auch abhängig vom Infektionsdruck - zwischen 10 bis 12 Wochen oder länger an. Angaben in der Literatur berichten jedoch über 2 bis 22 Wochen (TRAIL *et al.*, 1985; PINDER und AUTHIE, 1984). Verschiedene Faktoren, wie die Höhe der Dosierung (PEREGRINE *et al.*, 1988), der Infektionsstatus des behandelten Tieres, der Infektionsdruck und die Medikamentenempfindlichkeit der Trypanosomenpopulationen (DOLAN *et al.*, 1990, 1992; PEREGRINE *et al.*, 1991a,b) scheinen für diese unterschiedliche Prophylaxedauer unter anderem ursächlich zu sein.

Homidiumchlorid oder -bromid wurde vor allem in den 60-iger und 70-iger Jahren eingesetzt, bis sich Berichte über das Auftreten von Chemoresistenzen gegenüber dieser Wirkstoffgruppe häuften (SCOTT und PEGRAM, 1974; KINABO, 1993). Sein Wirkungsspektrum umfasst *Trypanosoma vivax* und *T. congolense* bei Rindern, kleinen Wiederkäuern und Schweinen. Die Dauer der prophylaktischen Wirksamkeit liegt in Abhängigkeit vom Infektionsdruck bei 2 bis 19 Wochen (DOLAN *et al.*, 1990), obwohl in der Praxis Homidium meistens nur für therapeutische Zwecke eingesetzt wird (DOLAN *et al.*, 1992).

Diminazenazeturat – ein aromatisches Diamidin - ist das in den letzten Jahrzehnten am häufigsten in Afrika eingesetzte Chemotherapeutikum gegen die Trypanosomose der Rinder. Es kam erstmals 1955 zum Einsatz und ist unter dem Handelsnamen Berenil® (Hoechst) bekannt (PEREGRINE und MAMMAN, 1993; PEREGRINE, 1994).

In der empfohlenen Dosierung von 3,5 mg/kg Körpergewicht intramuskulär injiziert, zeigt es eine gute Wirksamkeit gegenüber *Trypanosoma congolense* und *T. vivax*. Soll eine Therapie auch gegenüber *Trypanosoma brucei* wirksam sein, muss die Dosierung verdoppelt werden. Durch die schnelle Verstoffwechslung ist Diminazenazetat eher als Therapeutikum als für eine prophylaktische Behandlung geeignet.

Laut Herstellerangaben liegt eine prophylaktische Wirkung nur für die Dauer einer Woche vor. Angaben in der Literatur berichten jedoch über eine prophylaktische Wirkungsdauer von bis zu drei Wochen bei einer Dosierung von 7 mg/kg Körpergewicht (VAN HOEVE und CUNNINGHAM, 1964; ROGERS, 1985).

Quinapyraminsulfat oder -chlorid – wurde zwischen 1950 und 1960 weitverbreitet unter den Markennamen „Trypacide sulphate®“ und „Antricide®“ zur Therapie von *Trypanosoma congolense*- und *T. vivax*- sowie als „Trypacide Prosalt®“ und „Antricide Prosalt®“ (als Komplex mit Suramin) zur Prophylaxe von *Trypanosoma brucei*-, *T. evansi*-, *T. equinum*- und *T. simiae*-Infektionen eingesetzt. Die Unterstützung der Ausbildung von Mehrfachresistenzen gegenüber Isometamidium, Homidium und Diminazen bei Rindern (WHITESIDE, 1962), sowie erhebliche Toxizitätsprobleme stellten jedoch eine Kontraindikation für den weiteren Einsatz in Rindern dar, so dass es bereits 1976 wieder vom Markt genommen wurde. Seit 1984 wird es erneut bei Pferden, Kamelen und Büffeln eingesetzt (GEERTS und HOLMES, 1998).

2.5.4 Integrierte Bekämpfung

Unter integrierter Bekämpfung wird eine Kombinationen der in Kapitel 2.5 genannten Bekämpfungsstrategien verstanden.

Hierbei kann es sich um eine Kombination von Fliegenkontrollmaßnahmen und dem Einsatz von Chemotherapeutika handeln (ROWLANDS *et al.*, 1999; BAUER *et al.*, 1999; WARNES *et al.*, 1999). Weitere Maßnahmen bestehen im strategischen Einsatz von Trypanoziden in Verbindung mit der Rassenauswahl (MWANGI *et al.*, 1998). In Gebieten mit sensitiven Trypanosomenpopulationen kann durch integrierte Kontrollmaßnahmen eine Resistenzentwicklung verzögert oder vermieden werden (GEERTS und HOLMES, 1998).

Bei bestehenden Resistenzen kann eine gezielte Therapie durch Einsatz des „sanative pairs“ (2.6.3), Vermeidung von Blockbehandlungen sowie Behandlung von nur klinisch kranken Tieren in Verbindung mit Tsetsekontrollmaßnahmen einer Verschlechterung der Resistenzsituation entgegenwirken (DOLAN *et al.*, 1992; CODJIA *et al.*, 1993; LEAK *et al.*, 1996; GEERTS und HOLMES, 1998).

2.6 Chemoresistenz

2.6.1 Definition

Nach Hawking (1963) werden folgende Resistenzgrade und -definitionen unterschieden:

1. normal empfindlich
Verhalten eines Stammes, bevor jemals ein Kontakt zu Medikamenten stattgefunden hat.
2. maximal resistent
Situation, wo ein weiteres verlängertes Aussetzen dem Medikament gegenüber keine weitere Resistenzsteigerung mehr verursacht.
3. mittlere Resistenz
Verhalten eines Stammes, wenn die gleiche Empfindlichkeit gegenüber der minimalen effektiven Dosis besteht, aber eine höhere minimale kurative Dosis nötig ist.
4. totale Resistenz in vivo
Verhalten eines Stammes, wenn die maximal vom Wirt tolerierte Dosis keinen offensichtlichen Effekt auf die Infektionsentwicklung mehr hat.
5. unvollständige Resistenz in vivo
Verhalten eines Stammes, wenn die maximal tolerierte Dosis zwar einen Effekt hat, dieser aber geringer ist als bei der „Normal“-Population (hierbei stellt die maximal tolerierte Dosis einen limitierenden Faktor dar).
6. Resistenz auf die kurative Dosis
Verhalten eines Stammes, wenn ein Wiederausbruch nach einer kurativen Behandlung eintritt (die beim „Normalstamm“ anschlägt).
7. Vollständige Resistenz
Alle Tiere erkranken wieder.
8. Partielle Resistenz
Nur einige Tiere erkranken wieder.

Von einer „Einfachresistenz“ wird im Zusammenhang mit dem Effektivitätsverlust gegenüber einem Medikament gesprochen. Eine „Kreuzresistenz“ liegt dann vor, wenn ein „Übergreifen“ der gegen ein bestimmtes Medikament erworbenen Resistenz der Krankheitserreger auf andere – in der Regel chemisch nahe verwandte, nach dem gleichen oder ähnlichen Prinzip wirkende – Medikamente stattfindet (PSCHYREMBEL, 1990).

2.6.2 Berichte über Resistenzen

Bis heute wurde von Resistenzen gegenüber einem oder mehreren Trypanoziden in mindestens dreizehn afrikanischen Ländern südlich der Sahara berichtet, wobei in acht dieser dreizehn Länder Mehrfachresistenzen festgestellt werden konnten (PEREGRINE, 1994) (Abbildung 2.3 und Tabelle 2.3 und 2.4).

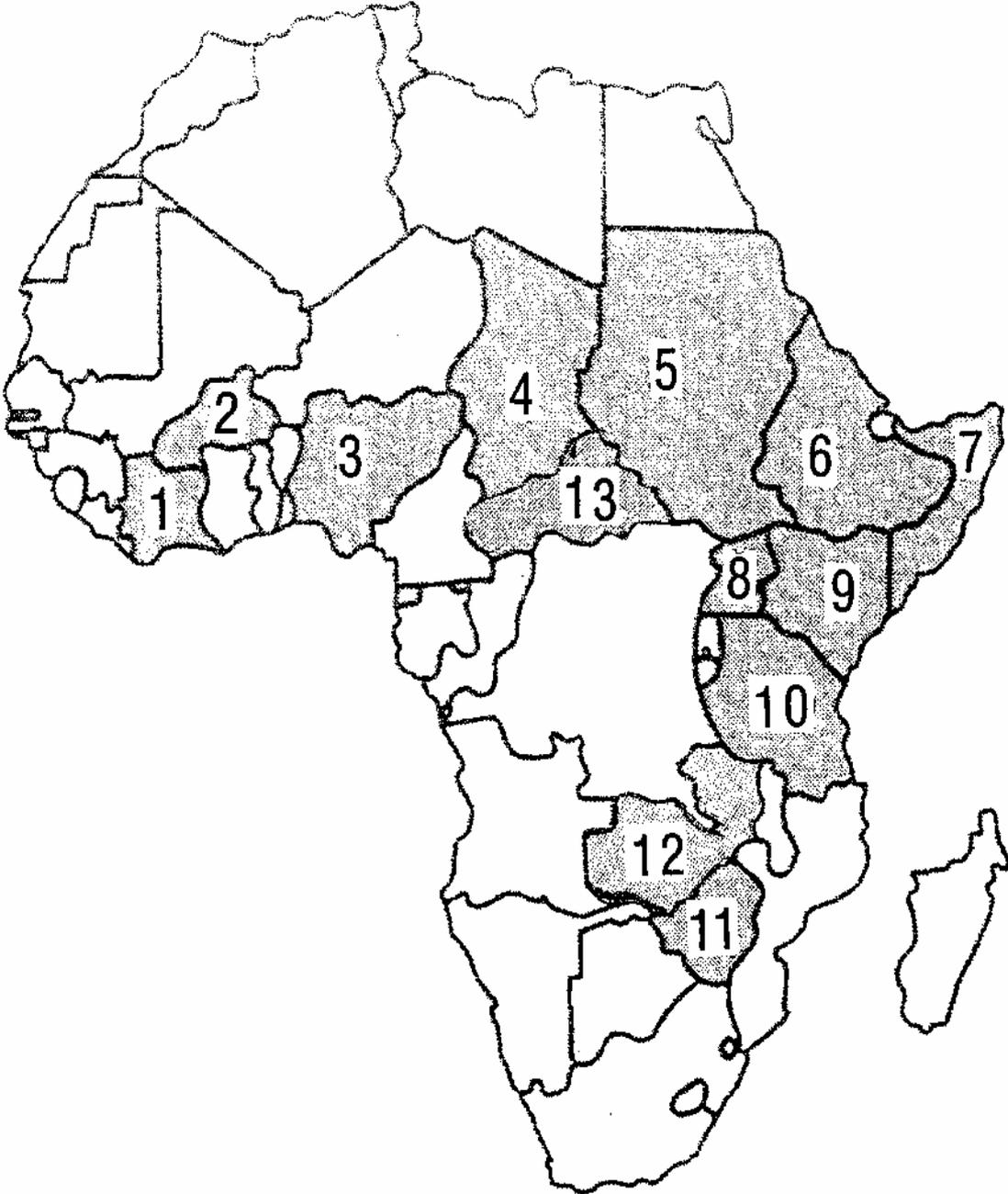


Abbildung 2.3: Afrikanische Länder mit Trypanozidresistenzen; Auflistung der Länder in Tabelle 2.3

Tabelle 2.3: Länder mit Berichten von einfachen und multiplen Trypanozidresistenzen

| Land / Nr. | einfache Trypanozidresistenz | multiple Trypanozidresistenz |
|------------|------------------------------|------------------------------|
| 1 | | Elfenbeinküste |
| 2 | | Burkina Faso |
| 3 | | Nigeria |
| 4 | Tschad | |
| 5 | | Sudan |
| 6 | | Äthiopien |
| 7 | | Somalia |
| 8 | Uganda | |
| 9 | | Kenia |
| 10 | | Tansania |
| 11 | Simbabwe | |
| 12 | Sambia | |
| 13 | Zentralafrika | |

Tabelle 2.4: Berichte über Trypanozidresistenzen in Afrika

| Land | Spezies | D | H | I | Q | Referenz |
|----------------|-------------|---------|----------|---------|---------|---------------------------------|
| Zentral Afrika | T. c.+T. v. | + | + | + | | Finelle & Yvone, 1962 |
| Nigeria | T. c. | | + | + | | Jones-Davies & Folkers, 1966 |
| Nigeria | T. v. | + (7,0) | | | | Jones-Davies, 1967 |
| Nigeria | T. c. | + (3,5) | + (1,0) | | | Jones-Davies, 1967 |
| Nigeria | T. c. | + (3,5) | + (1,0) | + (0,8) | | Na'Isa, 1967 |
| Nigeria | T. c. | + (7,0) | | | | Mac Lennan & Jones-Davies, 1967 |
| Nigeria | T. v. | + (3,5) | | | | Jones-Davies, 1968 |
| Nigeria | T. c. | + (7,0) | + (0,25) | | | Jones-Davies, 1968 |
| Nigeria | T. v. | + (7,0) | | | | Mac Lennan & Na'Isa, 1970 |
| Nigeria | T. v. | | + | | | Ilemobade & Buys, 1970 |
| Nigeria | T. c. | + (7,0) | + (2,0) | + (0,5) | + (4,4) | Gray & Roberts, 1971 |
| Nigeria | T. v. | + (7,0) | + (1,0) | | + (5,0) | Gray & Roberts, 1971 |
| Nigeria | T. v. | | + | | | Leefang et al., 1977 |
| Nigeria | T. v. | + | + | + | | Ilemobade, 1979 |
| Nigeria | T. v. | | + | | | Ilemobade & Na'Isa, 1981 |
| Nigeria | T. b. | + (7,0) | + (3,0) | | | Joshua, 1988 |
| Nigeria | T. c. | + (3,5) | + (1,0) | | | |
| Nigeria | T. b. | + | | + | | Kalu, 1995 |
| Tschad | T. v. | + (7,0) | | | | Graber, 1968 |
| Uganda | T. v. | + (7,0) | | | | Mwambu & Mayende, 1971 |
| Uganda | T. b. | + | | + | | Matovu et al., 1997 |
| Sudan | T. c. | | + | + | | Abdel Gadir et al., 1972 |
| Sudan | T. c. | | + | | | Abdel Gadir et al., 1981 |
| Sudan | T. b.+T. v. | | + | | | Abdel Gadir et al., 1981 |
| Sudan | T. c. | + | + | + | | Mohamed-Ahmed et al., 1992 |
| Sudan | T. v. | | + | | | Mohamed-Ahmed et al., 1992 |

| Land | Spezies | D | H | I | Q | Referenz |
|----------------|---------|----------------------|---------|---------------------|----------------|------------------------------|
| Sudan | T. b. | + | + | + | | Mohamed-Ahmed et al., 1992 |
| Simbabwe | T. c. | | | + | | Lewis & Thomson, 1974 |
| Simbabwe | T. c. | +(Maus) | | - | | Joshua et al., 1995 |
| Äthiopien | T. c. | | + | | | Scott & Pegram, 1974 |
| Äthiopien | T. c. | + (7,0) | + (1,0) | + (0,5) | | Codja et al., 1993 |
| Äthiopien | T. c. | + (7,0) | + (1,0) | + (0,5) | | Mulugeta et al., 1997 |
| Äthiopien | T. c. | | | + (1,0) | | Afewerk et al., 2000 |
| Äthiopien | T. c. | + (3,5-28,0 /Maus) | | + (0,5-4,0/ Maus) | | Afewerk et al., 2000 |
| Kenia | T. c. | + (21,0) | + | + | + | Gitatha, 1979 |
| Kenia | T. v. | + (3,5) | + (1,0) | + (0,5) | + (3,0) | Röttcher & Schillinger, 1985 |
| Kenia | T. v. | + (3,5) | + | + | + | Schönefeld et al., 1987 |
| Kenia | T. c. | + (7,0) | + (1,0) | | | Sones et al., 1988 |
| Kenia | T. c. | - | | + | | Gray et al., 1993 |
| Tansania | T. c. | + (7,0) | | | | Njau et al., 1981 |
| Tansania | T. c. | + (14,0) | | - | | Mbwambo et al., 1988 |
| Elfenbeinküste | T. c. | (+?) | + (1,0) | + (1,0) | | Küpper & Wolters, 1983 |
| Elfenbeinküste | T. v. | (+?) | + (1,0) | + (1,0) | | Küpper & Wolters, 1983 |
| Burkina Faso | T. c. | + (5,0/ Maus) | | + (0,5) | | Pinder & Authie, 1984 |
| Burkina Faso | T. c. | + | | + | | Authie, 1984 |
| Burkina Faso | T. c. | + (7,0) | + (1,0) | | | Sones et al., 1988 |
| Burkina Faso | T. c. | + (10,5) | | + (1,0) | | Moloo & Kutuza, 1990 |
| Burkina Faso | T. c. | + (21,0) | | + (5,5) | | Peregrine et al., 1991 |
| Burkina Faso | T. c. | + (7,0) | | | | Peregrine et al., 1991 |
| Burkina Faso | T. c. | + (7,0) (17,5/Ziege) | + (1,0) | + (1,0) (2,0/Ziege) | + (5,0/ Ziege) | Clausen et al., 1992 |
| Somalia | T. v. | | + | + | + | Schönefeld et al., 1987 |
| Somalia | T. v. | + (10,5) | | + | | Ainanshe et al., 1992 |
| Somalia | T. c. | + (7,5) | | +(2,0) | | Ainanshe et al., 1992 |
| Sambia | T. c. | + | | + | | Sinyangwe 2001 |

T. c. *Trypanosoma congolense*

T. v. *Trypanosoma vivax*

T. b. *Trypanosoma brucei*

D Diminazenazetat

H Homidiumchlorid oder -bromid

I Isometamidiumchlorid

Q Quinapyraminsulfat

+ vorliegende Resistenz (ohne Dosisangabe)

- keine Resistenz; sensitiv auf Behandlung

(Zahl) maximale Dosierung in mg/kg Körpergewicht, bei der noch eine Resistenz auftrat; im Rind getestet (sonst Angabe der Tierart)

Nach GEERTS und HOLMES (1998) entspricht dieses einer Unterschätzung der wahren Situation, da in einigen Ländern bisher noch nicht auf Resistenzentwicklung getestet worden ist bzw. Resistenzen bisher offiziell noch nicht veröffentlicht wurden.

Trotz einzelner Berichte über das Vorkommen von Medikamentenresistenzen besteht generell noch immer ein Mangel an konkreten Daten im regionalen und nationalen Maßstab. Bei den vorliegenden Berichten handelt es sich oft um Fallbeispiele und nicht um systematische Untersuchungen.

Ohne Angabe der Stichprobenauswahl (zufällig oder nicht) und durch die unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung der Resistenz ist es aufgrund dieser Berichte nicht möglich, umfassend Aussagen über die Verbreitung trypanozidresistenter Trypanosomenpopulationen zu treffen.

Um auswertbare und übertragbare Ergebnisse zu erzielen, ist die Untersuchung einer repräsentativen Auswahl von Trypanosomenisolaten, die zufällig ausgewählt wurden und unter Anwendung standardisierter Methoden geprüft wurden, notwendig.

Zusätzlich sollte eine Risikoanalyse erfolgen, um die Faktoren, die eine Resistenzentwicklung auf ein Medikament beeinflussen, zu identifizieren (GEERTS und HOLMES, 1998).

2.6.3 Resistenzentwicklung

Da in naher Zukunft nicht mit der Entwicklung neuer Trypanozide oder Impfstoffe gerechnet werden kann, ist es entscheidend, die Effektivität vorhandener Wirkstoffe zu erhalten und Ursachen für ein Versagen aufzuklären. Eine Resistenzentwicklung findet meist ca. zehn Jahre nach Markteinführung eines Medikamentes statt (GEERTS und HOLMES, 1998). Grundsätzlich ist der Aspekt einer Chemoresistenz kein „Alles oder Nichts“-Phänomen, sondern in Abhängigkeit zu individuellen Trypanosomenklonen innerhalb der Trypanosomenpopulation zu sehen. Auch gibt es Unterschiede in der Sensitivität auf ein Medikament in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Behandlung und der Höhe der Trypanosomen im Blut (SONES und HOLMES, 1992; SILAYO *et al.*, 1992; BURUDI *et al.*, 1994; MAMMAN *et al.*, 1995a,b).

Nach SCHILLINGER (1985) und PEREGRINE (1994) gibt es folgende Gründe für die Ausbildung von Resistenzen:

- Unterdosierung (Unterschätzung des Körpergewichtes, subtherapeutische Konzentration durch Verdünnungsfehler/unvollständige Auflösung der Trypanozid-Lösung)
- Fehlerhafte Injektion (unvollständig Applikation, falsche Injektionsstelle)
- Wirkstoffabsorption durch Gewebeschädigung an der Injektionsstelle vermindert
- Fehlerhafte Strategie beim Einsatz von Medikamenten (Selektionsdruck durch Massenbehandlungen)

Durch wiederholte Unterdosierungen konnte beispielsweise in Mäusen eine Chemoresistenz vorhergehend sensitiver Trypanosomenpopulationen experimentell ausgelöst werden (NYEKO *et al.*, 1989).

Der weitverbreitete Einsatz von Quinapyraminsulfat in Afrika zwischen 1950 und 1960 führte zur Ausbildung von Resistenzen gegen dieses Medikament (FINELLE und YVORE, 1962; JONES-DAVIES und FOLKERS, 1966; NA'ISA, 1967; JONES-DAVIES, 1967; GRAY und ROBERTS, 1971). Wegen dieser Resistenzausbildung und zusätzlichen Toxizitätsproblemen wurde es schon 1976 zeitweise wieder vom Markt genommen.

Jedoch traten Folgeprobleme durch die Ausbildung von Kreuzresistenzen auf; eine Resistenz gegen Quinapyraminsulfat konnte Kreuzresistenzen gegen Homidium, Isometamidium und Diminazen induzieren (WHITESIDE, 1960; NDOUTAMIA *et al.*, 1993):

- Nach WHITESIDE kann eine Resistenz auf Homidium Kreuzresistenzen gegen Quinapyraminsulfat und Isometamidium, nicht aber gegen Diminazenazetat erzeugen (1960).
- Eine Resistenz auf Isometamidium kann Kreuzresistenzen gegen Quinapyraminsulfat und Homidium, nicht aber gegen Diminazenazetat erzeugen (WHITESIDE, 1960; PEREGRINE *et al.*, 1997).
- Eine Resistenz auf Diminazenazetat erzeugte keine Kreuzresistenzen gegen Quinapyraminsulfat, Homidium und Isometamidium (WHITESIDE, 1960, 1963).

Aus dem obigen Zusammenhang ergab sich der Begriff „sanative pairs“. Hierunter wird der Einsatz von Medikamentenpaaren, die keine Kreuzresistenz untereinander erzeugen (Diminazen/Isometamidium und Diminazen/Homidium) im Wechsel in Regionen mit bekannten Resistenzproblemen verstanden (WHITESIDE, 1960; PEREGRINE und MAMMAN, 1993).

Nach Aussagen von GEERTS und HOLMES (1998) ist der alleinige Einsatz des „sanative pairs“ für die Kontrolle von Resistenzentwicklungen in der gegenwärtigen Resistenzsituation allerdings nicht mehr ausreichend und muss von anderen Maßnahmen begleitet werden.

Auch deuten die ansteigenden Berichte über das Auftreten multipler Resistenzen darauf hin, dass dieses Konzept nicht länger ausreichend ist.

Das Verständnis molekularer Vorgänge über die genetischen Grundlagen einer Resistenzausbildung sowie über angeborene und erworbene Resistenzmechanismen („Toleranz“) wird als entscheidend dafür angesehen, die Handhabung bereits existierender Medikamente zu verbessern, sowie diese Grundlagen für zukünftige Neuentwicklungen zu nutzen (MATOVU *et al.*, 2001).

Über den eigentlichen Wirkungsmechanismus von Trypanoziden sowie über den Mechanismus der Entwicklung einer Medikamentenresistenz ist noch wenig bekannt.

Der Transport von Isometamidiumchlorid durch die Plasmamembran von *Trypanosoma congolense* erfolgt über einen „protein carrier“ (ZILBERSTEIN *et al.*, 1993). Durch die Affinität der Trypanozide zur Kinetoplasten-DNA erfolgt dann in der Trypanosomenzelle eine Zerstörung der Kinetoplastenstruktur (WILKES *et al.*, 1995).

Bei resistenten Trypanosomen konnte eine Reduzierung der Akkumulation der Trypanozide im Parasiten beobachtet werden. Zusätzlich zu einer verminderten Aufnahme wird eine gesteigerte Abgabe vermutet (SUTHERLAND *et al.*, 1991b).

Von GEERTS und HOLMES (1998) wird ein ähnlicher Mechanismus für *Homidium* angenommen.

2.7 Methoden zur Bestimmung einer Chemoresistenz

Gegenwärtig werden drei Techniken angewandt: „in-vivo“-Tests in Wiederkäuern und Mäusen und „in-vitro“-Tests. Innerhalb der „in-vivo“-Studien wird zwischen Feld- und experimentellen Untersuchungen unterschieden (PEREGRINE, 1994).

2.7.1 In-vivo-Nachweisverfahren

Experimentelle Tierversuche stellen noch immer eine weit verbreitete Methode zur Bestimmung einer Chemoresistenz dar. Neben der grundsätzlichen Problematik des „Tierversuchs“ liegen weitere Nachteile in den hohen Kosten (Wiederkäuer), der Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Tests in Mäusen auf Wiederkäuer, die zum Teil lange Dauer, sowie in der Einschränkung, keine große Anzahl von Trypanosomenisolaten testen zu können.

Weiterhin sind mangels festgeschriebener Versuchsabläufe (Standardisierung) die erzielten Ergebnisse oftmals nicht untereinander vergleichbar bzw. nicht auf die Ausgangs/Zielpopulation rückübertragbar.

2.7.1.1 Experimentelle Untersuchungen in Wiederkäuern

Bei dem Test in Wiederkäuern (Rinder, Schafe, Ziegen) werden die Tiere infiziert und mit verschiedenen Trypanoziden in unterschiedlichen Dosierungen behandelt. Der Verlauf der Studie beträgt zumeist 100 Tage. An Parametern können die ED (effektive Dosis: wenn ein temporäres Verschwinden der Parasiten aus der Blutzirkulation erzielt wird) und die CD (kurative Dosis: wenn eine permanente Heilung erzielt wird) erhoben werden (SONES *et al.*, 1988). Um ein Reinfektionsrisiko auszuschließen, müssen die Tiere in fliegensicheren Ställen (oder tsetsefreien Gebieten) gehalten werden. Der Grad einer Resistenz kann festgemacht werden an dem Zeitintervall, bis eine erneute Parasitämie nach Behandlung eintritt. Je kürzer diese Zeitspanne ist, um so resistenter wird der Stamm eingeschätzt (AINANSHE *et al.*, 1992; GEERTS und HOLMES, 1998).

Der Vorteil von Tests in Wiederkäuern liegt in den guten Wachstumserfolgen der meisten Trypanosomenisolate und der direkten Anwendbarkeit der Ergebnisse und Trypanozid-Dosierungen im Feld. Auch können *T. vivax*-Populationen im Versuchstier Wiederkäuer getestet werden.

Die Nachteile liegen in der langen Dauer (100 Tage) und den hohen Kosten für Anschaffung und Haltung (unter fliegensicheren Bedingungen) der Versuchstiere. Außerdem wird pro getestetem Isolat mindestens ein Versuchstier – wenn nicht sogar eine kleine Gruppe - benötigt, was dem Testen einer großen Anzahl Isolate entgegensteht.

Eine Abwandlung dieses Tests wurde von AINANSHE *et al.* (1992) beschrieben; hierbei wird Blut einer Gruppe parasitologisch positiver Rinder in ein einzelnes Empfängerkalb verbracht. Tritt nach der Behandlung eine erneute Parasitämie auf, ist mindestens eine der Ausgangspopulationen als resistent anzusehen. Der Nachteil ist das rein qualitative Ergebnis; es kann nicht beurteilt werden, wie viele der Populationen resistent waren. Darüber hinaus kann es durch Wachstumshemmungen der Parasitenpopulationen untereinander zu Verfälschungen kommen (sensitive Trypanosomenisolate hemmen Resistente im Wachstum; SONES *et al.*, 1989).

In jüngster Zeit wurde ein Versuch zur Standardisierung von Tests zur Bestimmung einer Chemoresistenz unternommen (EISLER *et al.*, 2001). Im sogenannten „Kälbertest“ werden drei bis sechs, möglichst lokale Tiere im Alter zwischen drei und sechs Monaten einen Monat vor Versuchsbeginn in einen fliegensicheren Stall verbracht. Wenn möglich, sollten die Tiere keinen vorhergehenden Kontakt mit Tsetsefliegen oder Trypanosomen gehabt haben. Die Tiere werden bei der Aufstallung mit einem Anthelmintikum, einem Akarizid sowie mit Diminazeturat (3,5 mg/kg Körpergewicht) behandelt. Zwei Wochen vor Versuchsbeginn, bis zum Versuchsende, wird zweimal wöchentlich parasitologisch auf Trypanosomeninfektionen untersucht (BCT, MURRAY *et al.*, 1977) sowie der Hämatokritwert erhoben. Zum Versuchsbeginn wird der zu testende Trypanosomenstamm intrajugular injiziert.

Nach dem ersten Parasitämiegipfel werden die Kälber gewogen. Es erfolgt der erste Trypanozideinsatz – bei dem das am häufigsten im Untersuchungsgebiet eingesetzte Trypanozid appliziert wird. Die Dosierungen betragen für Isometamidium 0,5 mg/kg Körpergewicht, für Diminazen 3,5 mg/kg KG und für Homidium 1,0 mg/kg KG. Die Trypanozide werden jeweils tief intramuskulär verabreicht. Werden nach der Behandlung wieder Trypanosomen nachgewiesen, wird das Tier (nach erneutem Wiegen) mit dem zweithäufigsten Trypanozid (in den genannten Dosierungen) behandelt. Um eine Selektion bestimmter Trypanosomenpopulationen zu vermeiden, sollte der Abstand zwischen den Behandlungen grundsätzlich mindestens 30 Tage betragen. Bleibt der Therapieerfolg wieder aus, wird entsprechend mit dem dritthäufigsten Trypanozid behandelt. Wenn nach Einsatz des ersten, zweiten oder dritten Trypanozides über einen Zeitraum von 100 Tagen keine Infektion nachweisbar ist, gilt der Trypanosomenstamm als sensitiv unter den oben genannten Dosierungen gegenüber dem zuletzt eingesetzten Trypanozid.

Durch dieses standardisierte Protokoll können vergleichbare und übertragbare Ergebnisse erzielt werden.

2.7.1.2 Felduntersuchungen

In den Jahren von 1986 bis 1990 fanden großangelegte Feldstudien in Äthiopien im Ghibe Tal und in dem 25 km entfernten Dorf Tolley statt. 840 Rinder aus neun Herden wurden monatlich parasitologisch untersucht (ROWLANDS *et al.*, 1993). Innerhalb dieser Studie wurden alle im Feld mit der BCT-Technik positiv-getesteten Rinder und Rinder mit einem Hämatokritwert $< 26\%$ gewogen und mit Berenil® (3,5 mg/kg Körpergewicht) behandelt (CODJIA *et al.*, 1993). Die monatlichen Prävalenzwerte entfielen vorrangig auf *T. congolense*-Infektionen (ROWLANDS *et al.*, 1993). Innerhalb dieser Verlaufsstudie wurde ein hoher Behandlungsmisserfolg beobachtet. Diese erklärte „Fehlerrate“ stieg im Versuchsverlauf sogar von 20% auf 40% an. Um Neuinfektionen von therapieresistenten Infektionen unterscheiden zu können, wurde eine Definition für die Berechnung der Inzidenz-Rate festgelegt. Danach wurden die Infektionen bei parasitologisch positiven Rindern, die in den beiden vorhergehenden Monaten parasitologisch negativ waren, und einen Hämatokritwert von $> 26\%$ aufwiesen, als Neuerkrankungen eingestuft (ROWLANDS *et al.*, 1991). Mit dieser Definition lag die Inzidenz-Rate mit 13,3% niedriger als die Prävalenzrate mit 26,3% und wies damit auf Berenil®-resistente *T. congolense*-Populationen hin. Die Nutzung des Hämatokritwertes und des Trypanosomenstatus der Vormonate könnte somit eine Möglichkeit für einen zukünftigen Feldtest auf Diminazenresistente Trypanosomenpopulationen darstellen. Trotz der vermuteten Diminazenresistenz wurden parasitologisch positive und anämische Rinder ($< 26\%$) in Äthiopien weiterhin mit Diminazen behandelt. In einem Kurzversuch wurde die Dosis verdoppelt, was sich in niedrigeren Fehlerraten 20 Tage nach Behandlung und höheren Hämatokritwerten niederschlug. Ungeachtet dessen wurden jedoch weiterhin 25% (statt 55%) der Rinder nicht saniert (ROWLANDS *et al.*, 2001).

Der Feld-Hinweis auf trypanozidresistente Trypanosomenpopulationen konnte durch experimentelle Untersuchungen an gewonnenen Isolaten durch CODJIA *et al.* (1993) untermauert werden.

Der Einfluss dieser medikamentenresistenten Trypanosomenpopulationen auf die Produktivität zeigte sich vor allem in hohen Abort- und Kälbermortalitätsraten. Weitere Produktionsparameter (ROWLANDS *et al.*, 1994), wie Wachstumsraten, Zwischenkalbeintervalle und Erstkalbealter, verblieben unter diesem Diminazenregime noch im wirtschaftlichen Rahmen, was eine 1995 von ITTY *et al.* durchgeführte Kostenanalyse bestätigte.

Eine ab 1990 durchgeführte 18-monatige integrierte Fliegenbekämpfung (LEAK *et al.*, 1996) zeigte zwischenzeitlich großen Einfluss auf die Prävalenzwerte, die nach Beendigung dieser Maßnahme aber wieder auf ihr Ausgangsniveau anstiegen.

Um Zusammenhänge zwischen Trypanosomeninfektionen und Trypanosomenspezies einerseits und Hämatokritwert und Alter beurteilen zu können, wurden fünf Untersuchungsgruppen gebildet.

Die Trypanosomenprävalenzen – insbesondere von *T. congolense* - lagen bei älteren Tieren signifikant höher. Der Hämatokritwert lag bei Tieren älter als neun Monate signifikant niedriger. Diese Ergebnisse wurden durch das besondere Managementsystem erklärt: die Kälber wurden in Farmnähe gehalten und standen damit nicht unter dem gleichen Trypanosomoserisiko, wie Tiere, die in den Tsetse-besiedelten Gebieten weideten. Weiterhin lagen die Trypanosomenprävalenzen adulter männlicher Rinder weit über denen der weiblichen, was die Autoren mit einer höheren Empfindlichkeit und der höheren Belastung (Zugleistung) männlicher Tiere in Verbindung brachten. Um die vermutete Trypanozid-resistenz zu bestätigen, wurden über den Zeitraum von knapp zwei Jahren (1989 und 1990) Blutproben infizierter Rinder für weiterführende experimentelle Untersuchungen (in Kälbern, Ziegen und Mäusen) zur Bestimmung des Resistenzgrades gesammelt. Mit den Feldisolaten wurden - nach Überführung nach Nairobi - zwölf trypanosensibile, in fliegensicheren Stallungen verbrachte Borankälber infiziert. Vorab wurden bei der Auswahl der Kälber schon vor- oder zurückliegende Trypanosomeninfektionen durch ein Antikörperscreening ausgeschlossen. Alle zwölf *T. congolense*-Stabilate waren gegenüber Berenil® (7,0 mg/kg Körpergewicht) resistent, sowie elf der zwölf Stabilate gegenüber Isometamidiumchlorid und Homidiumchlorid (0,5 und 1,0 mg/kg Körpergewicht). Hierbei wurde in Anlehnung an WHITESIDE (1960) - um die Induktion von Kreuzresistenzen auszuschließen - zuerst mit Berenil®, dann bei Wiedererkrankung mit Isometamidiumchlorid behandelt. Im Falle einer erneuten Parasitämie wurde mit Homidium behandelt. Um eine Verfälschung der Ergebnisse durch Kreuzresistenzinduktion von Isometamidiumchlorid auf Homidium zu vermeiden, verliefen zusätzliche Versuche in Ziegengruppen, die jeweils nur mit einem Medikament behandelt wurden. Diese Versuche bestätigten die Resistenzen aus den Kälbersuchen gegenüber allen drei Trypanoziden. Im Gegensatz zu ROWLANDS *et al.* (1994) vertrat CODJIA *et al.*, (1993) die Ansicht, beim Vorliegen multipler Resistenzen den Einsatz von Trypanoziden einzuschränken und auf andere Kontrollmaßnahmen auszuweichen.

Innerhalb einer Feldstudie in der Elfenbeinküste von 1990 bis 1992 (D'IETEREN *et al.*, 1997) sollte die Effektivität der drei Trypanozide Isometamidium, Diminazen und Homidium unter dem Aspekt verschiedener Produktionssysteme getestet werden. Es wurden vier Gebiete ausgesucht: In Boundiali wurden 12 traditionelle sesshafte Herden mit unterschiedlichen Rassen und Kreuzungstieren – mit dem Schwerpunkt auf Kreuzungen zwischen trypanosensiblen- und toleranten Rassen – ausgewählt. In Ferkessedougou wurden 11 Gruppen aus Mali und Burkina Faso stammender männlicher Zebu-Rinder ausgewählt.

Weiterhin wurden in zwei südlicheren Gebieten (Bouaké und Marahoué) jeweils 15 und 16 N'Dama-Rinder-Herden ausgewählt. In Ferkessedougou erfolgte zu Beginn der Studie - beim Eintrieb in das „Feedlot“ - eine systematische Behandlung der Versuchstiergruppen.

Diminazen wurde in jeweils drei Gruppen mit 3,5 bzw. 7,0 mg/kg Körpergewicht eingesetzt, Isometamidium in drei Gruppen mit 0,5 und in einer Gruppe mit 1,0 mg/kg KG und Homidium in einer Gruppe mit 1,0 mg/kg KG. Durchschnittlich bestanden die Gruppen aus 39 Tieren. In den anderen drei Gebieten wurden die Tiere entsprechend der oben beschriebenen Dosierungen behandelt, wenn eine Infektion nachgewiesen wurde. Nach der Behandlung wieder parasitämischer Rinder wurde mit dem jeweils entsprechenden Trypanozid des „sanative pairs“ behandelt. In Boundiali konnten mit diesem Ansatz Resistenzen von *T. vivax*- und *T. congolense*-Populationen gegenüber allen drei Trypanoziden in allen Dosierungen beobachtet werden. Der Schwerpunkt entfiel mit 86% auf *T. vivax*-Infektionen. Hierbei muss die Überschneidung mit einer Fliegenkontrollkampagne von ROWLANDS *et al.* (1996) von 1987 bis 1992 berücksichtigt werden, die vor allem *T. congolense*-Prävalenzen in Rindern um 90% reduzierte. *T. vivax*-Prävalenzen fielen zu einem geringeren Grad von 68% in erwachsenen Rindern und von 85% in Jungtieren ab.

Durchschnittlich zeigten sich hohe Prävalenzen von 31% nach Behandlung, wobei bei Diminazen die Prävalenzen nach einem Monat und bei Isometamidium und Homidium nach zwei Monaten herangezogen wurden. Um Neuinfektionen abzugrenzen, wurden diese als „neu“ definiert, wenn in den zwei vorhergehenden Monaten keine Infektionen mit der gleichen Trypanosomenspezies vorlag. Nach dieser Definition lag die durchschnittliche Inzidenz-Rate bei nur 4%, so dass bei 27% der Infektionen nach Behandlung von resistenten Trypanosomenpopulationen ausgegangen werden konnte. Die ISMM-Fehlerrate lag bei 38% und die Diminazen- und Homidium-Fehlerraten bei jeweils 29%.

Innerhalb dieses Produktionssystem, mit einer durchmischten Herdenzusammensetzung, zeigte sich als weiteres Ergebnis die Ausbildung einer Altersimmunität gegenüber Trypanosomeninfektionen. Während die Fehlerrate bei adulten Tieren bei 22% lag, war sie mit 41% in der Gruppe der Jungtiere fast doppelt so hoch. In Ferkessedougou – welches als tsetsefreies Gebiet beschrieben wurde – wurden in den aus Mali und Burkina Faso importierten Zebu-Rindern hohe Behandlungsmisserfolge für Isometamidium und Diminazen beobachtet, gegenüber Homidium schien noch eine Sensitivität vorhanden zu sein. Wiederum entfiel der Schwerpunkt auf *T. vivax*-Infektionen. In den beiden südlicheren Gebieten wurden nur in Marahoué gegenüber Homidium Behandlungsmisserfolge beobachtet. Die hier überwiegenden *T. congolense*-Populationen konnten mit Isometamidium und Diminazen therapiert werden.

Im Metekel Distrikt, im Nordwesten von Äthiopien sollte ein Feldversuch Aufschluss über die Isometamidiumsensitivität von Trypanosomenpopulationen geben. Basierend auf Ergebnissen früherer Studien lagen bereits Informationen über hohe Fliegendichten und Trypanosomenprävalenzen, Behandlungsschemata und Anhaltspunkte über Effektivitätsverluste von Isometamidium vor (AFEWERK *et al.*, 2000,2001).

Die Planung dieser Studie umfaßte eine Querschnittsuntersuchung mit anschließender Isometamidium-Blockbehandlungsstudie. Die Querschnittsuntersuchung umfaßte 484 zufällig ausgewählte Rinder aus vier Dörfern. Die Auswahl der Dörfer basierte auf Vorinformationen, wie Medikamenteneinsatz und Kooperationsbereitschaft der Tierhalter sowie der Zugänglichkeit der Dörfer in der Regenzeit. Pro Dorf wurde jeweils eine repräsentative Anzahl Rinder ausgewählt. Die parasitologische Diagnose erfolgte mittels der BCT mit Blut aus der Ohrvene. Weiterhin wurden die Hämatokritwerte erhoben. Die Ergebnisse der Querschnittsuntersuchung zeigten hohe Durchschnittsprävalenzen von 17,2%. Die Infektionen entfielen zu 47,6% auf *T. congolense*, zu 39,3% auf *T. brucei* und zu 10,7% auf *T. vivax* (CODJIA *et al.*, 1993):

Der durchschnittliche Hämatokritwert von 24,8% lag bei den positiven Rindern mit 21,6% signifikant niedriger als derjenige der negativen mit 25,5%. Damit wurde bei 90% der positiven Rinder ein Hämatokritwert von < 27% vorgefunden.

Basierend auf den Ergebnissen der Querschnittsuntersuchung wurden zwei der vier Dörfer für die nachfolgende Isometamidium-Blockbehandlungsstudie ausgewählt. Hierbei handelte es sich um das Dorf mit den höchsten Prävalenzen (34%), sowie dessen Nachbardorf. Pro Dorf wurden jeweils 50 Tiere ausgewählt. Nach einer Gewichtseinschätzung wurden die Rinder mit Isometamidium (Trypamidium®) mit 1,0 mg/kg KG intramuskulär behandelt. Über einen Verlauf von 90 Tagen wurden die Tiere monatlich - wie für die Querschnittsuntersuchung beschrieben - parasitologisch untersucht. Positiv diagnostizierte Rinder wurden mit Diminazen (Berenil®) bei einer Dosierung von 7,0 mg/kg KG behandelt.

Einen Monat nach ISMM-Behandlung wurden sechs, zwei Monate danach 18 Tiere positiv diagnostiziert. Auffällig war vor allem, dass alle Infektionen einen Monat nach Behandlung auf *T. congolense* entfielen. Damit konnten 23,3% der *T. congolense*-Infektionen durch die Behandlung nicht therapiert werden, während alle *T. brucei* und *T. vivax*-Populationen sensitiv reagierten. Innerhalb des 90-tägigen Studienverlaufes wurden bei 50% der Rinder Trypanosomeninfektionen nachgewiesen. Hierbei lag mit 80% der Hauptanteil auf *T. congolense*-Infektionen. Von allen positiv diagnostizierten Rindern wurde Blut - für weitergehende Resistenzbestimmungen - in Mäuse inokuliert. Die Ergebnisse belegten das Vorhandensein ISMM-resistenter *T. congolense*-Populationen, für *T. brucei* und *T. vivax* erschien anhand der Feldergebnisse noch eine ISMM-Sensitivität zu bestehen.

Die weitergehenden Resistenztests in Mäusen mit *T. congolense*-Populationen bestätigten deren Resistenz. Weiterhin wurde bei diesen *T. congolense*-Populationen (Klonen) ebenfalls eine Resistenz gegenüber Diminazen nachgewiesen.

2.7.1.3 Experimentelle Untersuchungen in Mäusen

Die Vorteile des Einsatzes von Mäusen im Vergleich zu Tests in Wiederkäuern liegen in den geringeren Kosten. Nachteile resultieren aus den vor allem für *Trypanosoma vivax*, aber auch zum Teil für einige *T. congolense*-Stämme beschriebenen Vermehrungsproblemen im Versuchstier Maus (PEREGRINE, 1994). Es kann zwar eine Übertragung der ermittelten Medikamentensensitivität von der Maus auf das Rind erfolgen, jedoch sind durch die unterschiedlichen Stoffwechselverhältnisse ca. 10-fach höhere Dosen bei der Maus als beim Rind notwendig, um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen (SONES *et al.*, 1988). Soll eine präzise Schätzung eines Resistenzgrades vorgenommen werden, steigen durch den erhöhten Versuchstierbedarf pro Isolat der Laboraufwand und die Kosten (GEERTS und HOLMES, 1998). Ein weiterer Nachteil ist die Versuchsdauer von 30 bis 60 Tagen.

Im Maustest wird das Trypanosomenisolat entweder von dem Spenderind direkt im Feld in Mäuse inokuliert. Diese direkte Inokulation von Feldproben kann bei Mischinfektionen das Ergebnis durch Unterdrückung bestimmter Trypanosomenpopulationen in der Maus verfälschen (2.4.4). Normalerweise erfolgt zuerst eine Vermehrung des zu untersuchenden Trypanosomenisolates in einer Spendermaus. Anschließend werden Gruppen von fünf oder sechs Mäusen infiziert. 24 Stunden nach der Infektion werden die Gruppen je nach Fragestellung mit unterschiedlichen Medikamenten oder Dosierungen behandelt. Der Verlauf dieser Studie beträgt 60 Tage bei drei Untersuchungen wöchentlich. Eine unbehandelte Kontrollgruppe läuft parallel. Erhobene Parameter können sein: ED 50 oder ED 95, CD 50 oder CD 95, oder die ED und CD 80 Werte (SONES *et al.*, 1988; GEERTS und HOLMES, 1998). Die erhobenen Daten können mit denen der Kontrollgruppe und sensitiven Stämmen verglichen werden.

Ein weiterer Test für die Medikamentenempfindlichkeit von Isometamidium und Diminazen ist der „Drug Incubation Infectivity Test (DIIT). Hierzu werden Blutstromformen aus infizierten Mäusen gewonnen und in Medien mit unterschiedlichen Medikamentenkonzentrationen verbracht. Nach einer festgelegten Inkubationszeit (Trypanosomenspeziesabhängig) werden die zu untersuchenden Trypanosomenisolate in Mäuse inokuliert. Das Auftreten einer Parasitämie wird über einen Zeitraum von 30 Tagen kontrolliert. Dieser Test kann für *T. brucei brucei*, *T. vivax* und *T. congolense* eingesetzt werden. Die erzielten Ergebnisse können wieder mit denen sensitiver Stämme verglichen werden (KAMINSKY *et al.*, 1990; SUTHERLAND *et al.*, 1991a; KAMINSKY und BRUN, 1993).

Neuerdings wurden standardisierte Protokolle zur Medikamentenempfindlichkeit für Tests in Mäusen entwickelt (ICPTV, 2000). Im „single-dose test“ wird für jedes zu testende Trypanozid eine Gruppe mit sechs Mäusen sowie eine Kontrollgruppe benötigt.

Nach dem Wiegen werden die Mäuse mit einer Dosis von 1×10^5 Trypanosomen intraperitoneal infiziert. Nach 24 Stunden erfolgt die Behandlung, ebenfalls intraperitoneal. Die Dosierung für Isometamidium beträgt 1,0 mg/kg KG und diejenige von Diminazen 20 mg/kg KG. Für Homidium wurde noch keine Dosierung festgelegt. Der Kontrollgruppe wird Wasser injiziert.

Weiterhin wurde der „multi-dose test“ in Mäusen entwickelt. In diesem Test werden fünf unterschiedliche Konzentrationen zwischen 0,01 bis 20 mg/kg KG für Isometamidium und 1 bis 60 mg/kg KG für Diminazen getestet. Hierzu werden sechs Gruppen mit je sechs Mäusen (fünf behandelte und eine unbehandelte Gruppe) benötigt. Der Versuchsablauf entspricht – bis auf die unterschiedlichen Dosierungen – demjenigen des „single-dose test“.

In beiden Testsystemen sollte eine homogene Verteilung der Mäuse bezüglich Geschlecht, Alter und Gewicht vorliegen. Im Versuchsverlauf wird zweimal pro Woche über einen Zeitraum von 60 Tagen auf das Auftreten von Trypanosomeninfektionen untersucht. Hierfür wird aus dem Schwanz gewonnenes Blut mikroskopisch als Blutausschlag (Phasenkontrastmikroskop / Dunkelfeld) betrachtet. Für eine korrekte Testauswertung des „single-dose test“ müssen fünf der sechs Mäuse aus der unbehandelten Kontrollgruppe bis zum Ablauf von 60 Tagen überleben und parasitärmisch werden. Nach festgelegter Definition gilt ein Trypanosomenisolat als medikamentensensitiv, wenn mindestens fünf (bzw. vier, falls eine Maus vor Ablauf der 60 Tage a-parasitärmisch stirbt) der sechs behandelten Mäuse dauerhaft geheilt werden. Werden weniger Mäuse geheilt, wird von einer Resistenz bei der eingesetzten Dosierung ausgegangen (EISLER *et al.*, 2001).

Die Klassifizierung in sensitiv oder resistent im „multi-dose test“ verläuft wie im „single-dose test“, weiterhin können die CD 50, CD 80 oder CD 95-Werte erhoben werden (PEREGRINE *et al.*, 1991).

2.7.1.4 Experimentelle Untersuchungen in Tsetsefliegen

In Anlehnung an den DIIT (2.7.1.3) wurde als Variante der DIGIT („Drug Incubation Glossina Infectivity Test“) entwickelt (CLAUSEN *et al.*, 1999a). In diesem Test werden Glossinen (*G. morsitans submorsitans*) anstelle von Mäusen als Versuchstiere genommen. Die Nutzung des natürlichen Vektors als Versuchstier ermöglicht das Testen der Isometamidium- und Diminazenempfindlichkeit aller Trypanosomenpezies. Bislang befindet sich dieser Test noch in der experimentellen Phase und es wurden noch keine Feldisolate erprobt. Infektiöses Blut experimentell mit sensiblen und resistenten Trypanosomenisolaten infizierter

Ziegen wurde – wie für den DIIT beschrieben – in Kulturmedien unterschiedlichen Trypanozidkonzentrationen ausgesetzt. Die Infektion der Glossinen erfolgt über eine Membranblutmahlzeit. Eine Tsetsekontrollgruppe wurde mit infiziertem nicht trypanozid-behandeltem Blut gefüttert. Die Gruppen bestanden jeweils aus 50 Fliegen. Die Trypanosomendiagnostik in den Fliegen erfolgte mittels Sektion 20 Tage nach Aufnahme der Blutmahlzeit. Die Infektionsraten der Fliegen der Kontrollgruppe und derjenigen, die resistente Trypanosomen aufgenommen hatten, lagen zwischen 13,6% und 42,2% respektive. In der Gruppe der Fliegen, die Blut mit sensiblen Trypanosomen erhalten hatte, entwickelten sich keine Trypanosomeninfektionen. Die erzielten Ergebnisse können mit denen sensitiver Stämme verglichen werden. Vorteile liegen in der kurzen Testdauer und dem Verzicht auf Versuchstiere, bzw. ihrem eingeschränkten Einsatz.

2.7.2 In vitro-Kulturverfahren

Nachfolgend sollen in dieser Arbeit die verschiedenen „in-vitro-Testsysteme“ nur übersichtshalber genannt werden:

- photometrischer Test (ZINSSTAG *et al.*, 1991)
- Fluoreszenztest (OBEXER *et al.*, 1995)
- Wachstumshemmtest („Growth Inhibition Assay“) (KAMINSKY und ZWEYGARTH, 1989)
- Langzeittest („Long-term Viability Assay“) (KAMINSKY *et al.*, 1989)
- Metazyklischer Inkubationstest für *T. congolense*-Formen („Metacyclic Incubation Test for *T. congolense*“) (GRAY und PEREGRINE, 1993)
- [³H] Hypoxanthin-Test („[³H] Hypoxanthine Incorporation Assay“) (BRUN und KUNZ, 1989)
- Pyruvat-Test („Pyruvate Assay“) (SUTHERLAND *et al.*, 1993, 1995)
- Zellvermehrungstest („Cell Proliferation Assay“) (ROSS und TAYLOR, 1990)

Bei den „in vitro“-Tests werden in Nährmedien oder Zellkulturen kultivierte Trypanosomen für die Diagnose der Medikamentenempfindlichkeit genutzt. Von KAMINSKY und BRUN (1993) wird der Einsatz metazyklischer oder Blutstromformen statt prozyklischer Formen empfohlen (KAMINSKY *et al.*, 1993).

Vorteile der „in-vitro Tests liegen in der großen Anzahl an Isolaten, die geprüft werden können. Nachteile liegen in der langen Dauer, den hohen Anforderungen an Laboraus-rüstung und Personal, und der Notwendigkeit, für bestimmte Tests (photometrischer und Fluoreszenztest, Wachstumshemmtest, Langzeittest, Test für metazyklische *T. congolense*-Formen) an die „in-vitro-Kultivierung präadaptierte Linien verwenden zu müssen (HIRUMI *et al.*, 1993; GRAY *et al.*, 1993).

Für Tests wie den DIIT („Drug Incubation Infectivity Test“) und den „[³H] Hypoxanthine Incorporation Assay“ ist keine Anpassung der Trypanosomen an die Zellkultur notwendig, da die Trypanosomen dem zu testenden Medikament nur für einen kurzen Zeitraum ausgesetzt sind. Der DIIT (2.7.1.3) und der DIGIT (2.7.1.4) stellen eine Kombination zwischen den in-vitro und in-vivo-Testsystemen dar.

2.7.3 ISMM-ELISA

Eine weitere Nachweismöglichkeit medikamentenresistenter Trypanosomen bietet der „Isometamidium-enzyme-linked-immunosorbent-assay“, ISMM-ELISA. Hiermit kann die Serumkonzentration Isometamidium-behandelter Rinder gemessen werden. Nach Herstellerangaben und in Studien von TRAIL *et al.* (1985) bestätigt, beträgt die prophylaktische Wirkungsdauer von ISMM unter normalen Feldbedingungen zwei bis drei Monate.

Die Messung der Serum-ISMM-Konzentration in Kombination mit einer parasitologischen Diagnostik ist für Rinder unter experimentellen Bedingungen sowie unter Feldkonditionen validiert worden (EISLER *et al.*, 1993, 1994, 1996, 1997). Der ISMM-ELISA ermöglicht eine Einschätzung von Resistenzgraden - bei bestehender Infektion - in Abhängigkeit von der Höhe der gemessenen ISMM-Konzentration. Liegen Infektionen bei > 6 ng/ml vor, ist nach EISLER *et al.* (1997) die Trypanosomenpopulation als „hoch resistent“ zu werten, bei > 0,75 ng/ml als „mäßig resistent“ und bei < 0,75 ng/ml als „sensitiv“ einzustufen. Als ein weiterer Aspekt dieser Studie zeigte sich ein schnellerer Trypanozidkonzentrationsabfall bei resistenten Trypanosomenpopulationen als bei sensitiven (EISLER *et al.*, 1994). In Bereichen < 0,4 ng/ml wird keine Einschätzung mehr vorgenommen, da hier die Nachweisgrenze erreicht ist. Der Vorteil dieses Tests liegt in der großen Probenzahl, die innerhalb eines kurzen Zeitraums getestet werden kann (EISLER *et al.*, 1993). Die Ergebnisauswertung findet mehr auf Herdenniveau als auf Einzeltierebene statt (ICPTV, 2000).

2.7.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Dieses molekularbiologische Nachweisverfahren zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität und Spezifität in der Diagnostik aus. Behandlungserfolge bzw. -misserfolge nach therapeutischem oder prophylaktischem Trypanozideinsatz werden im Vergleich zu parasitologischen Nachweisverfahren sehr viel früher erkannt (GALL *et al.*, 2001; GALL, 2002). Vor allem nach Diminazenbehandlungen zeigte sich die PCR gegenüber parasitologischen Methoden überlegen (CLAUSEN *et al.*, 1999b).