

3 Übergreifende Diskussion

Der therapeutische und prophylaktische Einsatz von trypanoziden Medikamenten ist nach wie vor die bedeutendste Strategie in der Bekämpfung der Nagana in den meisten Ländern südlich der Sahara (Geerts and Holmes, 1998; Holmes et al., 2004). Gründe hierfür liegen in der einfachen Handhabung und weiten Verfügbarkeit der Trypanozide, ihrer vergleichsweise geringen Kosten und üblicherweise guten Wirksamkeit gegen Trypanosomeninfektionen. Neben Akariziden stellen Trypanozide in der Veterinärmedizin den wohl bedeutendsten Anteil am Medikamentenumsatz Afrikas dar. Nach Aussagen der Viehhalter von *KénéDougou*, Burkina Faso, entfallen 45% ihrer jährlichen Ausgaben für Tierarzneimittel auf Trypanozide (Ouédraogo, 2002). Da es aus beschriebenen Gründen sehr unwahrscheinlich ist, dass in naher Zukunft neue trypanozide Wirkstoffe für den afrikanischen Markt zugelassen werden, ist es zwingend notwendig, alles zu versuchen, die Wirksamkeit der heute verfügbaren Medikamente zu erhalten. Um strategische Kontrollmaßnahmen unter Einsatz dieser Wirkstoffe empfehlen zu können, bedarf es daher genauer Kenntnisse über die Resistenzlage der Trypanosomenpopulationen in den betreffenden Rinderbeständen. Hierzu werden aussagekräftige und möglichst einfache Untersuchungsmethoden benötigt. Die bis *dato* vorliegenden Berichte über Chemoresistenzen in Afrika beruhen zumeist auf Untersuchungen weniger Stabilate, die zumeist in Labornagern und nicht in den eigentlichen Wirtstieren (z.B. Rinder) erhoben wurden. Umfangreiche epidemiologische Untersuchungen in Risikogebieten, wie von Codjia et al. (1993) in *Ghibe Valley* (Äthiopien) und Eisler et al. (2000b) in Ost- und Südafrika durchgeführt, stellen eher die Ausnahme dar.

3.1 Verbreitung von Medikamentenresistenzen bei Trypanosomen in Rinderherden Ost- und Westafrikas

Die in der Zielsetzung dieser Arbeit gestellte Frage nach dem Vorkommen und der regionalen Verbreitung von Medikamentenresistenzen bei Trypanosomen in Rinderherden konnte für drei Regionen in Ostafrika (*Metekel*, Nordwest-Äthiopien; *Upper Didessa Valley*, West-Äthiopien; *Mukono County*, Südost-Uganda) und für eine Region in Westafrika (*Kéné Dougou Province*, Südwest-Burkina Faso) exemplarisch beantwortet werden (**Mitteilungen 1-5**).

Mit Ausnahme von *Mukono County* (Uganda) konnten in allen anderen Untersuchungsgebieten Resistenzen bei *T. congolense*-Infektionen in Rindern gegenüber Isometamidiumchlorid und zum Teil gegenüber Diminazenaceturat nachgewiesen werden. Infektionen der Rinder von *Mukono*, zumeist handelte es sich hier um Infektionen mit *T. brucei*, reagierten empfindlich auf beide Wirkstoffe. Die im Feld erhobenen Ergebnisse fanden ihre Bestätigung sowohl in weiterführenden *in-vivo*- und *in-vitro*-Untersuchungen (**Mitteilung 6**) als auch in der PCR (**Mitteilungen 10-14**).

Das Fehlen von Resistenzen bei Trypanosomen in den Rinderherden von *Mukono* ist vermutlich eine Folge des vorherrschenden relativ geringen Infektionsdrucks und der als verhältnismäßig gering beschriebenen Pathogenität von *T. brucei*-Infektionen bei Rindern. Infektionen mit *T. brucei* nehmen in Rindern im Allgemeinen einen milden Verlauf (Mulligan, 1970). Nur in Ausnahmefällen kann es zu extravaskulären Ansiedlungen des Erregers, einschließlich des Zentralnervensystems, kommen und in deren Folge zu einer ausgeprägten ZNS-Symptomatik mit Todesfällen (Wellde et al., 1989). Die als Folge des niedrigen Infektionsdrucks geringe Prävalenz von klinisch erkrankten Rindern bedingte den vergleichsweise geringen Trypanozideinsatz und damit einhergehend einen niedrigen Selektionsdruck für resistente Trypanosomen.

Der Tsetsefliegendruck in *Mukono County* war zum Zeitpunkt der Erhebungen, trotz Unterschiede in der Abundanz auf den Farmen, mit einer vermeintlichen Dichte (*apparent density*, AD) von 0,33 Fliegen je Fallentag als relativ niedrig einzuschätzen (Leak, 1994). Im dicht besiedelten Zentrum des Untersuchungsgebietes überschritt keiner der durchschnittlichen *Farm-ADs* den Wert von 0,1 (Pöttsch, 1999). Die ADs im spärlicher besiedelten und weniger bewirtschafteten Norden und Süden des Untersuchungsgebietes lagen dagegen zwischen 0,22 und 2,12, wobei die Farmen am Seeufer im Süden die höheren Werte aufwiesen (Pöttsch, 1999). Die Gründe für den niedrigen Fliegendruck können in der dichten Besiedlung und der damit verbundenen intensiven landwirtschaftlichen Nutzung sowie der relativ hohen Behandlungsfrequenz der Rinder mit Insektiziden/Akariziden liegen. Immerhin wurden auf 66,7% aller Farmen die Qualität der Zecken- und Glossinenbekämpfung mit „gut“ bewertet, und die meisten der eingesetzten Mittel enthalten die insektiziden Wirkstoffe Deltamethrin oder Flumethrin (Pöttsch, 1999). Nach der systematischen Blockbehandlung der Untersuchungsherden mit Isometamidiumchlorid und Behandlung aller erneut Trypanosomen-positiven Rinder mit Diminazenaceturat wurde die relativ hohe Anfangsprävalenz von 18,9% im Juni 1994 nicht annähernd wieder erreicht. Nach einem Wiederanstieg innerhalb eines Jahres nach der Blockbehandlung auf einen Wert von 8,9%, schwankte die Prävalenz in der zweiten Hälfte der Studienperiode (November 1995 bis November 1996) zwischen 3,0 und 5,4% (Pöttsch, 1999). Die niedrigen Prävalenzen während der Verlaufsuntersuchung sprechen zudem für eine unbeabsichtigte Beeinflussung durch die Untersuchungstätigkeiten. Obwohl das Farmmanagement nicht beeinflusst werden sollte, legten die Farmer, durch die regelmäßigen Befragungen und Untersuchungen ihrer Tiere stimuliert, offensichtlich den Schwerpunkt ihrer Bemühungen auf die Bekämpfung der Trypanosomeninfektionen als die am intensivsten untersuchte Krankheit (Pöttsch, 1999).

Trotz der nachweislich noch guten Wirkung der Trypanozide sollte auch in *Mukono County* der Trypanozideinsatz reduziert werden, um einer Entwicklung von Resistenzen durch

Selektion von Trypanosomen mit herabgesetzter Medikamentenempfindlichkeit Vorschub zu leisten. Durch einen rationalen Einsatz von Insektiziden bzw. Akariziden zur simultanen Tsetsefliegen- und Zeckenbekämpfung könnte das Infektionsrisiko für Trypanosomen und andere durch Zecken übertragene Parasitosen soweit gesenkt werden, dass Medikamente nur noch im Fall von klinisch erkrankten Rindern Anwendung finden.

Die Rinder der Behandlungsgruppen von *Metekel* und *Upper Didessa Valley* (Äthiopien) zeigten bereits wenige Wochen nach der Behandlung mit Isometamidiumchlorid in der prophylaktischen Dosierung von 1 mg/kg KGW erneute Parasitämien, überwiegend aufgrund von *T. congolense*-Infektionen. Isometamidium soll sich an der intramuskulären Injektionsstelle an Serumalbumine binden, deren Folge, in Abhängigkeit von der Dosis, Gewebereizungen und -nekrosen sein können (Schillinger, 1985). Innerhalb weniger Tage wird die Injektionsstelle bindegewebig umkapselt, und der Wirkstoff wird nur noch in geringen Konzentrationen an die Blutzirkulation abgegeben, wodurch sich die bis zu 4 Monate lange prophylaktische Wirkung von Isometamidium erklärt (Kinabo, 1993). Eisler und Mitarbeiter untersuchten im Isometamidium-ELISA (Eisler et al., 1994, 1997) die zeitabhängige Plasmakonzentration von Isometamidium nach einmaliger intramuskulärer Applikation von 1 mg/kg KGW. Am 30., 60. und 90. Tag nach der Behandlung konnten sie im Plasma noch 6, 2 und 0,75 ng/ml Isometamidium respektive nachweisen. Bei empfindlichen Trypanosomenpopulationen soll die minimale effektive Dosis bei 0,1-0,5 ng/ml liegen (Zweygarth et al., 1991; Sutherland et al., 1991b). Unter der Voraussetzung einer korrekten Applikation des Wirkstoffes kann bei Auftreten einer erneuten Parasitämie innerhalb weniger Wochen nach der Behandlung auf das Vorliegen von Isometamidium-resistenten Trypanosomen geschlossen werden.

In Bezug auf Diminazenaceturat konnte aufgrund der Feldergebnisse von *Metekel* nur ein Anfangsverdacht auf Resistenzen bei *T. congolense*-Populationen ausgesprochen werden. Bei

der Anwendung von Diminazenaceturat muss bedacht werden, dass Neuinfektionen aufgrund der kurzen Halbwertszeit von Diminazenaceturat - die Angaben in der Literatur schwanken zwischen 2 bis 21 Tage (Williamson, 1976; Peregrine und Mamman, 1993) - am 14. Tag nach der Behandlung nicht vollständig auszuschließen sind. Zudem muss bei den Aussagen berücksichtigt werden, dass die Diminazenaceturatanwendung unter einer Isometamidiumprophylaxe erfolgte.

Zur weiteren Abklärung wurden daher aus erneut parasitärischen Rindern in *Metekel* *T. congolense*-Primärisolate gewonnen und in Mäusen auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Isometamidiumchlorid und Diminazenaceturat untersucht. Hierbei erwiesen sich alle Isolate als resistent gegen beide Wirkstoffe in den höchsten Dosierungen (**Mitteilung 2**).

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen mit klonierten *T. congolense*-Populationen (genetisch einheitliche Nachkommenschaft von einem Parasiten) aus *Metekel* (**Mitteilung 2**) lassen den Schluss zu, dass es sich bei den hier beobachteten Mehrfachresistenzen nicht um Mischinfektionen mit Trypanosomen unterschiedlicher Medikamentenempfindlichkeit handelte, sondern um eine relativ einheitliche Population mehrfachresistenter Individuen. Die drei aus *T. congolense* PAWE 73 (*Metekel*) entwickelten Klone zeigten in Mäusen jeder für sich eine ausgeprägte Resistenz gegenüber Isometamidium und Diminazen. Diese Beobachtung ist von großer praktischer Bedeutung. Die von Whiteside (1960) in den 60er Jahren noch postulierte Strategie des alternierenden Einsatzes unterschiedlicher trypanozider Wirkstoffe (*sanative pair*) ist damit obsolet geworden und würde die Resistenzlage in *Metekel* nur noch verschärfen.

Die praktischen Untersuchungen in Äthiopien wurden im Rahmen von zwei Master (M.Sc.)-Arbeiten durchgeführt (**Mitteilung 2 und 3**). Aufgrund der begrenzten finanziellen Projektmittel und der kurzen Studiendauer konnten in den gewählten Regionen jeweils nur wenige Herden untersucht werden, so dass die Ergebnisse nur mit Vorsicht auf andere Regionen

Äthiopiens zu übertragen sind. Die Ergebnisse decken sich allerdings mit Berichten aus dem Südwesten und Süden von Äthiopien. Codjia und Mitarbeiter (1993) inokulierten Boran-Kälber (*Bos indicus*) mit Blut aus parasitärischen Rindern aus *Ghibe Valley* im Südwesten Äthiopiens. In den Kälbern entwickelten sich *T. congolense*-Infektionen, die alle (n = 12) resistent auf Diminazenaceturat in einer Dosierung von 7 mg/kg KGW reagierten. Elf der Infektionen waren auch resistent gegenüber 0,5 mg/kg KGW Isometamidium. Die aus einem *T. congolense*-Stamm aus *Ghibe Valley* entwickelten 5 Klone zeigten jeder für sich in Mäusen einen hohen Resistenzgrad sowohl gegenüber Diminazen und Isometamidium als auch Homidium (Codjia et al., 1993).

Aus dem Süden Äthiopiens (*North Omo Zone, Southern Rift Valley*) liegen ähnliche Ergebnisse vor. Karanja (1999) behandelte, ebenfalls im experimentellen Teil seiner Masterarbeit, 50 mit *T. congolense* (n = 33), *T. vivax* (n = 9), *T. brucei* (n = 5) und Mischinfektionen (n = 3) infizierte Rinder mit Isometamidiumchlorid (1 mg/kg KGW). In 24 (48%) der Rinder konnten nach der Behandlung erneut Parasitämien innerhalb der 2-monatigen Untersuchungszeit beobachtet werden. Von diesen Parasitämien entfielen 87,5% auf *T. congolense*.

Die Untersuchungsgebiete von *Metekel, Upper Didessa Valley, Ghibe Valley* und *North Omo* liegen im Westen bzw. Südwesten von Äthiopien, mit *Metekel* im Nordwesten, *Upper Didessa Valley* im Westen, *Ghibe Valley* im Südwesten und *North Omo* im Süden von Addis Abeba (siehe **Abbildung 4**).

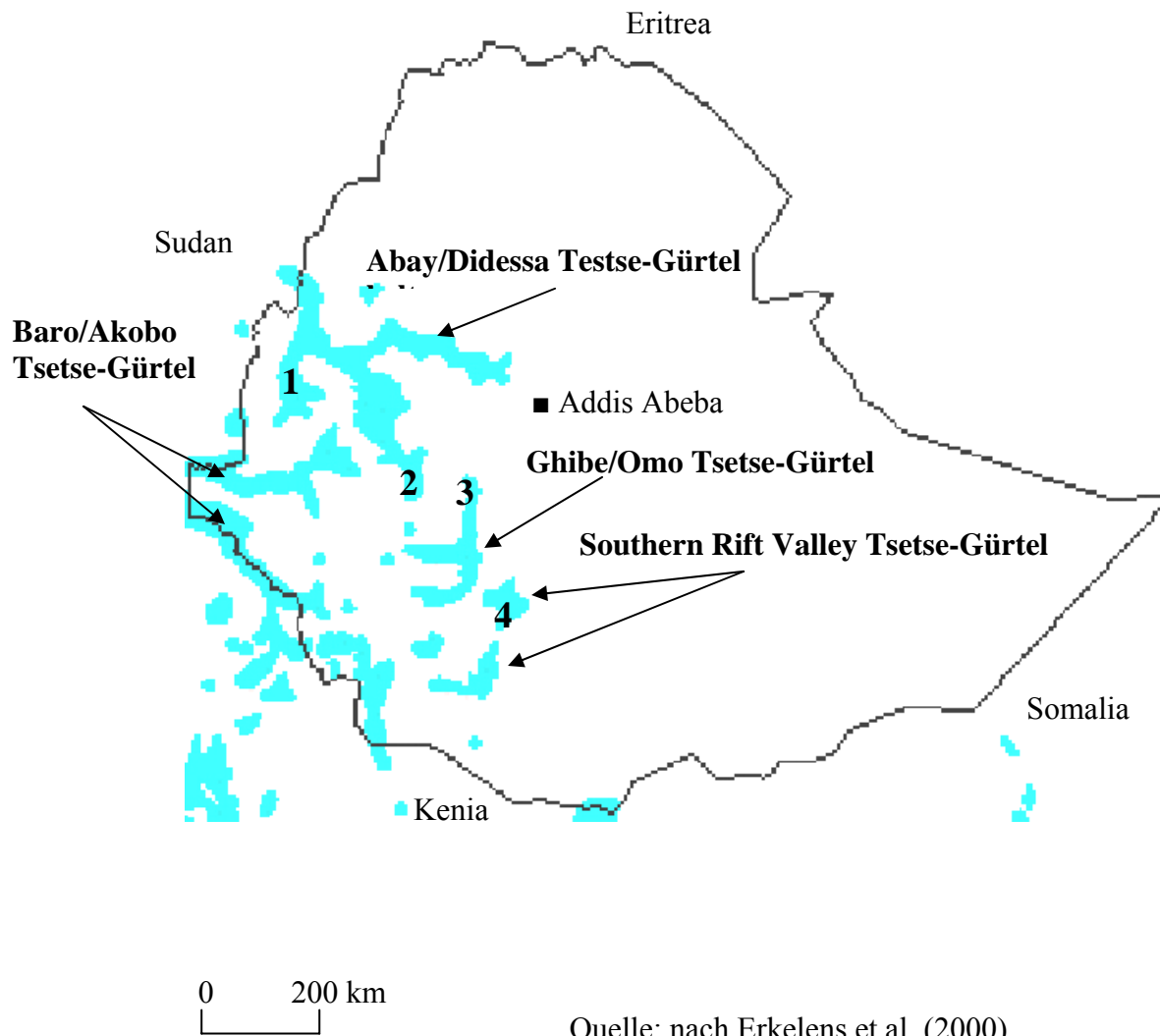


Abbildung 4. Landkarte von Äthiopien: Tsetsefliegenverbreitungsgebiete (grau unterlegt) und Lage der Untersuchungsgebiete von *Metekel* (1), *Upper Didessa Valley* (2), *Ghibe Valley* (3) und *North Omo* (4).

Zwischen den Tsetsefliegenpopulationen (mit dem *Abay/Didessa* Tsetse-Gürtel im Nordwesten, dem *Baro/Akobo* Tsetse-Gürtel im Westen, dem *Ghibe/Omo* Tsetse-Gürtel im Südwesten und dem *Southern Rift Valley* Tsetse-Gürtel im Süden des Landes) ist aufgrund der besonderen geographischen Verhältnisse nur ein begrenzter Austausch möglich. Da auch die Tierbewegungen sich mehr oder weniger auf die entsprechenden Täler beschränken, ist es

wenig wahrscheinlich, dass sich die beschriebenen Resistenzen mit Tsetsefliegen oder Rinderherden von einem Gebiet auf andere Regionen verbreitet haben. Vielmehr ist anzunehmen, dass es unabhängig voneinander aufgrund von Gemeinsamkeiten im Infektionsdruck und Trypanozidmanagement zur Ausbildung von Resistenzen gekommen ist.

Gemeinsam ist den Regionen, dass es sich um fruchtbare Täler handelt, die von zahlreichen Flüssen durchzogen werden und ein optimales Habitat für Tsetsefliegen bieten. Aufgrund des erhöhten Infektionsrisikos für die Nagana wurden diese Regionen traditionell von den Viehhaltern gemieden. Erst Anfang der 60er Jahre mit Einführung der Trypanozide kam es, anfangs nur saisonal in den Trockenzeiten, zu einer Abwanderung der Hirtennomaden in die fruchtbaren Tiefebene, weil das Hochland keine ausreichenden Weidegründe mehr für die Rinderherden lieferten. Verstärkt wurde diese Entwicklung durch eine Politik, die auf die rasante Bevölkerungszunahme in der 2. Hälfte des letzten Jahrhunderts und durch die Dürrekatastrophen in den 80er Jahren mit einer Förderung der Umsiedlungen bzw. mit Zwangsumsiedlungen in die Niederungen und Flusstäler reagierte (siehe auch **Mitteilung 2**). Aufgrund der hohen Tsetsefliegendichten in diesen Regionen und des damit einhergehenden, erhöhten Trypanosomose-Risikos fanden Trypanozide einen verstärkten Einsatz. Die im Rahmen der genannten Masterstudien in Äthiopien durchgeführten Fragebogenerhebungen zur Bedeutung der Nagana und zum Medikamenteneinsatz ergab für Ende der 90er Jahre folgendes Bild: Die Trypanosomose, in Amharisch auch *Gendi* genannt, wird von den Tierhaltern übereinstimmend im Verhältnis zu anderen Infektionskrankheiten (Helminthosen, Pasteurellose, Lungenseuche, Milzbrand als die bedeutendste Krankheit gewertet. Die klinischen Symptome (Abmagerung, blasse Schleimhäute, aufgerichtetes rauhes Haarkleid, Müdigkeit) sind den Tierhaltern bekannt (Karanja, 1999). Trypanozide werden seit über 20 Jahren eingesetzt, primär das Isometamidiumchlorid, auch *buni* (Amharisch = kaffeerot) genannt, und das Diminazenaceturat (*bicha*; Amharisch = gelb). Im Schnitt werden die Rinder alle 3 Monate mit Trypanoziden behandelt, zumeist von Tierärzthelfern, aber zu einem großen

Teil auch von lokalen Medikamentenhändlern und Drogenschmugglern (informeller Sektor, nicht ausgebildete, selbsternannte Experten) (Karanja, 1999). Die Tierhalter behandeln zumeist 2-3 ausgewachsene Rinder mit dem Inhalt eines Päckchens Berenil® (Diminazeturat, 1,05 g aktive Substanz), was einer 2-3-fachen Unterdosierung entspricht (Afewerk, 1998).

Im hohen Infektionsdruck mit für Rinder ausgesprochen pathogenen Trypanosomenarten (*T. congolense* und *T. vivax*), im häufigen und über Jahrzehnte dauernden Einsatz von Trypanoziden und in ihrer nicht sachgerechten Anwendung sind wesentliche Gründe für die beschriebene Resistenzentwicklung in den Untersuchungsgebieten zu sehen. Nicht ein Mehr an Trypanozidanwendungen, sondern eine Reduktion der Behandlungen auf klinisch erkrankte Rinder bei gleichzeitiger Bekämpfung der Vektorpopulationen sollte die Antwort sein.

Ausschlaggebend für die Einleitung von Untersuchungen über das Vorkommen, die Verbreitung und die Bedeutung von Chemoresistenzen bei Trypanosomen in den Rinderherden der Provinz *Kéné Dougou* (Burkina Faso) waren Berichte über mehrfachresistente *T. congolense*-Infektionen in den Rinderherden von *Samorogouan*, der Zentralregion von *Kéné Dougou* (siehe **Mitteilung 1**).

Das Ergebnis der anfänglich durchgeführten Querschnittsstudie zeigte einen deutlichen Nord-Süd-Anstieg der Trypanosomenprävalenz in den Rinderherden (**Mitteilung 4**). In den beiden südlichen Zonen, *Orodara* und *Koloko*, lag die Trypanosomenprävalenz mit durchschnittlich >10% deutlich höher als in der zentral gelegenen Zone von *Samorogouan* (4,3%) und der im Norden gelegenen Zone *N'Dorola* (1,4%). Infektionen mit *T. congolense* und *T. vivax* dominierten bei der mikroskopischen Untersuchung; Infektionen mit *T. brucei* wurden nur selten diagnostiziert. Der Querschnittsuntersuchung folgte eine sogenannte Blockbehandlungsstudie, welche eine Beurteilung der Häufigkeit von Behandlungsversagen nach einer

Applikation von Isometamidiumchlorid in einer prophylaktischen Dosierung von 1 mg/kg KGW ermöglichen sollte. Basierend auf den Ergebnissen der Querschnittsstudie wurden die Zonen *Orodara* und *Koloko* aufgrund der dortigen hohen Trypanosomenprävalenzen als Untersuchungsgebiete bestimmt. Die Isometamidiumfehlerrate, definiert als Anzahl der parasitologisch positiven Fälle vierzehn Tage nach der Isometamidiumbehandlung im Verhältnis zu den parasitologisch positiven Fällen vor der Isometamidiumbehandlung, war erheblich. Sie betrug für die Gesamtpopulation 37,7%. Der Grad der beobachteten Resistenz zwischen den Dörfern war hoch variabel, eine geographische Zuordnung konnte jedoch aufgrund dieser Untersuchungen nicht getroffen werden. So liegen die Dörfer *Sokouraba*, *Dieri* und *Kotoura*, in denen eine ausgeprägte Isometamidiumresistenz nachgewiesen wurde, in unmittelbarer Nachbarschaft zu *Samogohiri*, wo keine Chemoresistenzen nachgewiesen werden konnten. Es ist anzunehmen, dass regionale Besonderheiten, wie unterschiedliche Herden- und Rassenzusammensetzung, ein variabler Infektionsdruck, Unterschiede im Herden- und Medikamentenmanagement - Faktoren und Interaktionen, die im Rahmen dieser begrenzten Studie nicht ausreichend erforscht werden konnten - für diese unterschiedlichen Resistenzlagen verantwortlich zu machen sind. Weiterführende molekularbiologische Untersuchungen von Shahada Peter (2000) legen die Vermutung nahe, dass es durch die jährlichen stattfindenden Herdenwanderungen zu einer Ausbreitung von resistenten Trypanosomenpopulationen von *Samorogouan* in die südlichen Distrikte der Provinz *Kéné Dougou* gekommen ist. In der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) nach Schwarz und Cantor (1984) und Van der Ploeg et al. (1984) trennte Shahada Peter die Chromosomen von *T. congolense*-Feldpopulationen aus *Kéné Dougou* und Referenzstämmen bekannter Medikamentenempfindlichkeit in einem pulsartig sich in seiner Orientierung ändernden elektrischen Feld. Die resultierenden Bandenmuster (Karyotypen) der Feld- und Referenzstämme waren sehr unterschiedlich, mit Ausnahme von zwei Stämmen, einem aus

Samorogouan, aus der Zentralregion, und einem aus *Dieri*, einem Dorf im Süden der Provinz, die ein identisches Bandenmuster aufwiesen, was eine gemeinsame Herkunft vermuten lässt.

Knoppe et al. (**Mitteilung 6**) charakterisierte die Medikamentenempfindlichkeit von 16 *T. congolense*-Stämmen aus Rindern der Provinz *Kéné Dougou* im Standard-Maustest (SMT) und im „Drug Incubation Infectivity Test“ (DIIT) (Kombination aus *in-vivo* und *in-vitro*-Tests). Drei der getesteten Stämme stammten aus Rindern, bei denen die Isometamidiumbehandlung scheinbar erfolgreich war, da am 14. Tag nach der Behandlung in der BCT parasitologisch keine Trypanosomen mehr dargestellt werden konnten. Aufgrund der parasitologischen Ergebnisse wurde daher angenommen, dass diese Stämme Isometamidiumsensitiv sind. Im SMT und im DIIT verhielten sie sich jedoch wie die Isometamidiumresistenten Referenzstämme und wurden daher als Isometamidiumresistent klassifiziert. Es ist anzunehmen, dass aufgrund der geringen Nachweisempfindlichkeit der BCT die Infektionen parasitologisch unerkannt blieben und so ein Therapieerfolg vorgetäuscht wurde. Weiterführende Untersuchungen mit der PCR konnten diesen Verdacht erhärten (**Mitteilung 13**). Die aus den Blockbehandlungsstudien gewonnenen Ergebnisse spiegeln also in Hinsicht auf die Bewertung von Resistenzen aufgrund der geringen Nachweisempfindlichkeit der eingesetzten parasitologischen Techniken nur die „Spitze des Eisberges“ wider.

Inzwischen liegen auch Untersuchungsergebnisse mit klonierten *T. congolense*-Populationen aus *Kéné Dougou* vor (Afewerk, pers. Mitteilung). Alle getesteten, klonierten Populationen zeigten in Mäusen Mehrfachresistenzen gegenüber Isometamidium und Diminazen.

Das Untersuchungsgebiet in Burkina Faso grenzt im Westen an die Republik Mali. Zwischen beiden Ländern besteht traditionell ein reger Personen-, Tier- und Warenverkehr. Da anzunehmen ist, dass sich mit Rinderherden chemoresistente Trypanosomen auch über Grenzen hinweg verbreitet haben, wurde im Anschluss an das oben beschriebene Projekt ein Folgeprojekt initiiert. Ziel des sich zur Zeit in Umsetzung befindlichen Vorhabens ist es,

einerseits auf den methodischen Erfahrungen aus der ersten Förderungsphase aufbauend, die Resistenzproblematik in den Rinderherden im östlichen Mali und einer an Mali grenzenden Provinz in Guinea (*Mandiana*) zu beschreiben und, andererseits, entsprechend der in Burkina Faso, Mali und Guinea erhobenen Untersuchungsergebnisse, entsprechende Bekämpfungsmaßnahmen zu formulieren und auf ihre Effizienz zu evaluieren. Erste Ergebnisse dieser Untersuchungen liegen vor (Diall et al., 2003; Clausen et al., 2004; Grace et al., 2004):

Die epidemiologische Situation auf der Seite Malis („*Kéné Dougou-Mali*“) erscheint als ein Spiegelbild der Verhältnisse in *Kéné Dougou*-Burkina Faso. In einer von September 2002 bis Januar 2003 durchgeführten repräsentativen Querschnittsuntersuchung in 25 Dörfern wurden 1.238 Rinder in der BCT auf Trypanosomen untersucht. Die Prävalenz betrug 6,2% (77/1.238); 67,5% der Infektionen entfielen auf *T. congolense*, 32,5% auf *T. vivax*. In Dörfern (n = 7) mit einer Herdenprävalenz von über 10% wurde anschließend, in Anlehnung an die Arbeiten von Eisler et al. (2000a), eine Longitudinalstudie durchgeführt. Aus jedem Dorf wurden zufällig 100 Tiere ausgewählt, mit Ohrmarken gekennzeichnet und zufällig einer Kontroll- oder Behandlungsgruppe zugeordnet. Die Behandlungsgruppen wurden mit Isometamidiumchlorid in der prophylaktischen Dosierung von 1 mg/kg KGW behandelt. Alle Gruppen wurden in 14-tägigen Abständen über 56 Tage in der BCT auf Trypanosomen untersucht. Parasitologisch wieder positive Rinder wurden, egal zu welcher Untersuchungsgruppe sie gehörten, erneut mit Diminazenaceturat (7 mg/kg KGW) behandelt. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen in *Kéné Dougou*-Burkina Faso war auch hier ein sehr variabler Behandlungserfolg zu beobachten. Während es z.B. in *Bamadougou* zu keiner erneuten Parasitämie in den Tieren der Behandlungsgruppe kam, trotz einer kumulativen Inzidenz von 12,5% in der Kontrollherde, waren in der Behandlungsgruppe von *Tiogala* bereits nach 8 Wochen 25% der Tiere erneut parasitämisch. Experimentell mit *T. congolense* infizierte Ziegen (n = 14), hierbei handelte es sich um Primärisolate aus erneut parasitämisch positiven Rindern aus den Isometamidiumbehandlungsgruppen, konnten weder

mit 3,5 noch mit 7,0 mg/kg KGW Diminazenaceturat erfolgreich therapiert werden (Boucoum, 2004). Sechs der infizierten Tiere verendeten hoch anämisch vor Abbruch des Experiments. Basierend auf den vorläufigen Ergebnissen scheint sich das größte Infektionsrisiko und die Resistenzproblematik in Mali auf den Südosten des Landes, in Richtung der Grenze zu Burkina Faso zu konzentrieren.

Die epidemiologischen Erhebungen in *Mandiana* (Guinea) ergaben eine Trypanosomenprävalenz von nur 3% (Diall et al., 2003). Hier entfielen 56% der Infektionen auf *T. brucei*, 40% auf *T. congolense* und 4% auf *T. vivax*. Blockbehandlungsstudien mit Isometamidiumchlorid im Feld und Therapieversuche mit Diminazenaceturat in experimentell infizierten Rindern, einschließlich der Ergebnisse aus weiterführenden PCR-Untersuchungen (Barry, persönliche Mitteilung), ergaben bisher keine klaren Hinweise auf das Vorliegen von therapieresistenten Trypanosomenpopulationen in der Provinz von *Mandiana*. Hierbei ist zu beachten, dass in *Mandiana*, wie auch in anderen Teilen Guineas, traditionell eine trypanotolerante Rinderrasse gehalten wird. Es handelt es sich um das kleinwüchsige westafrikanische taurine Langhornrind (N'Dama), das aufgrund der natürlichen Selektion über viele tausend Jahre in Afrika eine gewisse Resistenz gegenüber der Trypanosomose entwickelt hat. Die Rinder lassen sich infizieren, sind aber in der Lage, im Gegensatz zu den allgemein als trypanoempfindlich angesehenen, aber mit erhöhtem Leistungspotential ausgestatteten Zebu-Rindern (*Bos indicus*), die Parasitämie und die Anämie besser zu kontrollieren. Pagot (1974) versteht unter dem Begriff der Trypanotoleranz die Fähigkeit gewisser tauriner Rassen, in guter Kondition und bei ungestörter Reproduktion mit der Infektion zu leben. Ein hoher Infektionsdruck, ein schlechter Ernährungszustand infolge eines schlechten Futterangebots, starke Arbeitsbeanspruchung und interferierende Erkrankungen können zum Zusammenbruch der Toleranz führen (Murray et al., 1982, Clausen et al., 1993). Die Tierhalter in *Mandiana* berichteten, dass ihre Rinder erst an Nagana erkrankten, nachdem sie die Tiere zum Pflügen im Baumwollanbau eingesetzt hatten. Aufgrund der steigenden

wirtschaftlichen Attraktivität des Baumwollanbaus wurden auch in *Mandiana* in den letzten Jahren vermehrt Trypanozide eingesetzt. Zur Zeit wird mehr und mehr Boden unter den Pflug genommen, die Nachfrage nach leistungsstarken Zebu-Rindern wird steigen, so dass über kurz oder lang aus dem nahen Mali Zebu-Bullen eingeführt werden und damit vermehrt Kreuzungsprodukte zum Einsatz kommen, wodurch das besondere Resistenzpotential der autochthonen Rassen rasch verloren geht (Seifert, 1992). Die Folge wird ein verstärkter Einsatz von trypanoziden Wirkstoffen sein, der früher oder später auch hier zur Bildung resistenter Trypanosomen führen wird. Fraglich bleibt nur, wie dieser Prozess begleitet bzw. beeinflusst werden kann, so dass einerseits der berechtigte Wunsch der Bevölkerung auf eine Entwicklung hin zu einer höheren landwirtschaftlichen Produktivität erfüllt werden kann, andererseits es aber nicht zu einer Situation führt wie in den südlichen Distrikten von Kéné Dougou, wo trotz massiven Einsatzes von Trypanoziden keine weitere Leistungssteigerung mehr möglich ist und die Tierhalter heute vor der Aufgabe der Tierzucht stehen.

3.2 Methoden zur Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen bei Rindern in Afrika

Auch die dieser Arbeit zu Grunde liegende zweite Fragestellung nach den Möglichkeiten und Grenzen diagnostischer Methoden zur Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen konnte beantwortet werden. Nach Geerts und Holmes (1998) wird zwischen Medikamentenempfindlichkeitsstudien im Feld, in experimentell infizierten Labornagern oder in Wiederkäuern oder unter Kulturbedingungen unterschieden.

Behandlungsstudien im Feld haben den Vorteil, dass sich die gewonnenen Erkenntnisse direkt in strategische Entscheidungen über den weiteren Medikamenteneinsatz und das Trypanozidmanagement umsetzen lassen. Wie die Untersuchungen zeigten (**Mitteilung 3**), eignete sich zur Charakterisierung der Isometamidiumempfindlichkeit von Trypanosomen in Rinderherden insbesondere die von Eisler et al. (2000a) beschriebene Methode. Im Rahmen einer Longitudinalstudie werden die Zeitspannen bis zum erneuten Nachweis des Erregers in Behandlungs- und Kontrollgruppen bestimmt und mittels einer Überlebensanalyse (*survival-analysis*) miteinander verglichen. Dieser methodische Ansatz erlaubt Aussagen darüber, ob (a) der Infektionsdruck eine Isometamidiumprophylaxe rechtfertigt, ob es (b) Anzeichen für das Vorkommen von Isometamidium-resistenten Trypanosomenpopulationen gibt und ob (c) trotz erster Anzeichen eines Vorliegens resistenter Populationen eine weitere Prophylaxe mit Isometamidiumchlorid zu rechtfertigen ist. Nach Eisler et al. (2000a) ist eine Prophylaxe aufgrund der hohen Kosten, Nebenwirkungen und der Gefahr der Selektion resistenter Populationen nicht zu rechtfertigen, wenn weniger als 25% der Tiere in der Kontrollgruppe nach 8 Wochen parasitologisch positiv sind. Es ist anzunehmen, dass es bei Zugrundelegung dieses Kriteriums zu wesentlich weniger Isometamidiumanwendungen kommen würde. Damit wäre die Gefahr einer weiteren Resistenzentwicklung verringert. Klinisch erkrankte Tiere sollten mit Diminazenaceturat behandelt werden. Der Verdacht einer Resistenz

gegenüber Isometamidium ist nach Eisler et al. (2000a) begründet, wenn innerhalb von 8 Wochen mehr als 25% der Rinder in der Behandlungsgruppe parasitologisch positiv sind. Auch dieses Kriterium ist relevant und würde ausschließen, dass aufgrund weniger, nach der Behandlung erneut parasitologisch positiver Tiere ein unbegründeter Verdacht auf Resistenzen geäußert wird, was nie ganz auszuschließen ist. Trotz des Verdachts des Vorliegens von Isometamidium-resistenten Populationen ist nach Eisler et al. (2000a) eine Weiterführung der Prophylaxe unter Umständen zu rechtfertigen, wenn das mittlere relative Risiko (*mean hazard ratio*) zwischen der Behandlungs- und Kontrollgruppe im Untersuchungszeitraum von 8 Wochen über einem Wert von 2 oder einem anderen angemessenen Grenzwert liegt. Diesem Argument kann nicht entsprochen werden. Es ist zwar nachvollziehbar, dass ein Wert von über 2 für das mittlere relative Risiko zwischen der Behandlungs- und Kontrollgruppe einen noch deutlichen Effekt in der Behandlungsgruppe anzeigt. Andererseits sollte angesichts der sich häufenden Berichte über Isometamidium-resistenzen restriktiver mit der Anwendung dieses Trypanozids verfahren werden. Wünschenswert wäre eine Überarbeitung der Empfehlungen in dieser Hinsicht und eine Einigung auf ein standardisiertes Protokoll, ähnlich wie im Fall des Protokolls zur Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen in experimentell infizierten Mäusen oder Kälbern (Eisler et al., 2001). Dadurch wäre eine wesentliche Voraussetzung für die Vergleichbarkeit von Untersuchungsergebnissen zwischen unterschiedlichen Standorten geschaffen.

Feldstudien wie die von Eisler et al. (2000a) beschriebene Studie sind methodisch wenig anspruchsvoll, allerdings logistisch sehr aufwendig. Geschultes Personal, Fahrzeuge und Geräte stehen in den nationalen und regionalen Veterinäruntersuchungseinrichtungen zum Teil noch zur Verfügung (zumeist noch Relikte von ausgelaufenen Projekten), oft fehlt es jedoch an Mitteln für Benzin und Tage- und Übernachtungsgelder für das Personal. Die Kosten für die Blockbehandlungsstudie in *Kéné Dougou* (726 Rinder in 10 Dörfern) wurden in

2-wöchentlichen Abständen über 3 Monate verfolgt – siehe **Mitteilung 4**) beliefen sich auf ca. 15.000,- €. Weitaus kostengünstiger lassen sich Studien in experimentell infizierten Kälbern und Labornagern unter fliegensicheren, kontrollierten Haltungsbedingungen durchführen. Eine weitere Kosten- und Zeitreduzierung ist möglich, wenn die Zahl der Behandlungsgruppen, wie von Knoppe et al. (**Mitteilung 6**) und Eisler et al. (**Mitteilung 7**) vorgeschlagen, verringert werden kann. Eisler et al. (**Mitteilung 7**) empfehlen als Grenzdosis im Einfach-Dosis-Test zur Unterscheidung sensitiver und resistenter *T. congolense* und *T. brucei* Stämme in Mäusen für Isometamidiumchlorid eine Dosierung von 1 mg/kg KGW und für Diminazenaceturat eine Dosierung von 20 mg/kg KGW.

Die aus Versuchen mit Mäusen gewonnenen Ergebnisse über die Medikamentenempfindlichkeit von Trypanosomen erlauben jedoch keinen Rückschluss auf die genaue kurative Dosierung in Rindern (Sones et al. 1988), sie können nur Hinweise liefern über Unterschiede bzw. Veränderungen in der Medikamentenempfindlichkeit von einzelnen Populationen aus unterschiedlichen Gebieten oder Zeiträumen. Der „Einfach-Dosis-Test“ (**Mitteilung 7**) erlaubt eine schnelle Untersuchung einer großen Anzahl von Trypanosomenstämmen, wie es bei größeren regionalen Untersuchungen notwendig ist. Die gewonnenen Ergebnisse geben den verantwortlichen Veterinärbehörden wertvolle Entscheidungshilfen zur strategischen Ausrichtung ihrer Bekämpfungsprogramme. In Regionen, in denen *T. vivax* im Vordergrund steht, sind weiterhin Untersuchungen in Wiederkäuern unerlässlich. Bei einem bedeutenden Vorkommen von *T. congolense*-Infektionen sollte bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden, dass nur ca. 20% der Primärisolate in Mäusen wachsen (Diarra, 2001; Knoppe, 2002) und somit nur begrenzte Aussagen zu treffen sind.

Gegenüber *in-vivo*-Methoden besitzen *in-vitro*-Verfahren in Hinsicht auf eine Standardisierung den Vorteil, dass die Wirkung des Trypanozids auf den Parasiten ohne

störende Faktoren wie Medikamentenverteilung und Halbwertszeit, Bioverfügbarkeit, spezifische und unspezifische Abwehrmechanismen des Wirtes, bestimmt werden kann. Weitere wichtige Gesichtspunkte, die *in-vitro*-Verfahren so attraktiv erscheinen lassen, sind geringere Kosten, die Verwendung kleinerer Substanzmengen und der geringere Bedarf an Versuchstieren. Die beschriebenen Testsysteme wurden allerdings bisher mit nur wenigen, an Kulturbedingungen adaptierte Laborstämme entwickelt und auch meist mit solchen Stämmen durchgeführt. Bisher liegen nur wenige Arbeiten vor, in denen Trypanosomenfeldstämme, d.h. „frische“ Stämme, die erst über wenige Passagen in einem anderen als dem Ursprungswirt kultiviert wurden, auf ihre Medikamentenempfindlichkeit *in-vitro* getestet wurden. Für *T. brucei* sollte abgeklärt werden, welches der beschriebenen *in-vitro*-Verfahren sich für die Testung von Feldstämmen eignet und ob ein konsistenter Zusammenhang zwischen den *in-vivo*- und *in-vitro*-ermittelten Testergebnissen besteht. Mit *T. congolense* war es bisher nicht gelungen, Blutstromform-Kulturen direkt aus natürlich infizierten Wirtstieren zu etablieren (Gray und Peregrine, 1993). Daher sollte versucht werden, aus metazyklischen Formen Blutstromformen zu initiieren.

Von den im Rahmen dieser Arbeit getesteten *in-vitro*-Methoden erwies sich für die Untersuchung von *T. brucei* Feldstämmen der *Long-term in vitro Viability Assay* (Kaminsky et al., 1989, 1993; Zweygarth et al., 1991) als aussagekräftig, gut zu handhaben und relativ robust (**Mitteilung 8**). Er ist inzwischen am Institut für Parasitologie und Internationale Tiergesundheit in Berlin seit Jahren fest etabliert und wurde für die Testung der Empfindlichkeit von *T. brucei*-Feldstämmen gegenüber Isometamidiumchlorid (Scheer, 2001) und Diminazenaceturat (Pellmann, 1999) erfolgreich eingesetzt. Inzwischen wird er auch unter Einsatz eines Trypanozid-empfindlichen *T. brucei*-Referenzstammes zur Testung von neuen, potentiell trypanoziden Wirkstoffen eingesetzt (Bizimana et al., 2004).

Für *T. congolense*-Feldstämme konnte kein befriedigendes *in-vitro*-Verfahren zur Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit entwickelt werden (**Mitteilung 8**). So war es weder möglich, Blutstromformen von Feldstämmen aus experimentell infizierten Mäusen in nährzellhaltigen Kultursystemen zu etablieren, noch über eine Kultivierung von Insektenformen (prozyklische Formen) Blutstromform-Kulturen zu initiieren. Auch über „*in-vivo*-derived“ metazyklische Formen, d.h. Gewinnung metazyklischer Formen aus der Tsetsefliege, konnten keine permanente Blutstromform-Kulturen etabliert werden.

Aufgrund der hohen Relevanz von *T. congolense*-Infektionen für Rinder und des noch ungelösten Problems der *in-vitro*-Kultivierung von *T. congolense*-Feldstämmen wurde ein xenodiagnostisches Verfahren zur Bestimmung der Medikamentenempfindlichkeit entwickelt, der „Drug Incubation Glossina Infectivity Test“ (DIGIT) (**Mitteilung 9**). Der DIGIT ähnelt dem „Drug Incubation Infectivity Test“ (Kaminsky et al., 1990). Im DIGIT wurden zur Bestimmung der Infektiosität statt Mäuse Tsetsefliegen (Glossinen) eingesetzt. Die dosisabhängige Reduktion der Infektiosität für Tsetsefliegen ist ein Maß für die Trypanozidempfindlichkeit der untersuchten Trypanosomenpopulationen. Diminazen- und Isometamidium-resistente *T. congolense*-Stämme konnten eindeutig im DIGIT von empfindlichen Stämmen unterschieden werden. Der DIGIT erlaubt zudem die Testung von Trypanosomenarten, die für die Labornager nicht empfänglich sind (*T. vivax* und die meisten *T. congolense*-Stämme). Der limitierende Faktor ist die Bereitstellung von Tsetsefliegen, die allerdings zur Zeit durch Zuchten an nationalen und regionalen Forschungszentren in Westafrika (CIRDES, Bobo Dioulasso), Ostafrika (KETRI, Muguga, ILRI und ICIPE, Nairobi; LIRI, Tororo; IAEA, Addis Abeba) und Südafrika (Onderstepoort) gewährleistet ist. Die **Mitteilungen 10-14** untersuchen die diagnostischen Möglichkeiten, die die Polymerasekettenreaktion (PCR) in Hinsicht auf die Überprüfung des Erfolgs von prophylaktischen und therapeutischen Maßnahmen bei Trypanosomeninfektionen der Rinder bietet.

In einem ersten Schritt sollte die analytische Sensitivität und Spezifität der PCR im Vergleich zu den klassischen parasitologischen Untersuchungstechniken (HCT und m-AECT) für den Nachweis von Trypanosomeninfektionen der Rinder bewertet werden (**Mitteilung 10**). Als Probenmaterial dienten Blutproben von Rindern, die im Rahmen einer repräsentativen Querschnittsstudie in *Mukono County* (Uganda) zuvor in der HCT und in der m-AECT auf Trypanosomen untersucht worden waren (**Mitteilung 5**). Durch den Einsatz der PCR erhöhte sich die Detektionsrate im Verhältnis zur HCT um den Faktor >3 und im Vergleich zur m-AECT um den Faktor 1,8. Eine Verdreifachung der Detektionsrate durch die PCR, im Verhältnis zur HCT, kommt dem Infektionsstatus der Tiere sicherlich wesentlich näher, wodurch sich neue methodische Möglichkeiten in der Charakterisierung von Risikogebieten ergeben. Die hohe Spezifität dieser PCR wurde durch die Testung von Blutproben Trypanosomen-negativer Rinder aus dem Umland von Berlin und durch Untersuchungen auf Kreuzreaktivität mit genomischer DNA anderer parasitischer Protozoa, einschließlich *T. theileri*, validiert. Der Zugewinn an positiven Tieren ist aufgrund dieser Ergebnisse als Folge der Amplifikation von Trypanosomen-DNA aus den Blutproben der Rinder zu werten und nicht aufgrund falsch-positiver Signale, möglicherweise durch Kreuzreaktivität mit Wirtstier- oder DNA anderer Erreger. Falsch-positive Ergebnisse aufgrund einer Kontamination des Arbeitsplatzes mit spezifischer DNA, z.B. aus einer vorangegangenen Amplifikation, konnten durch Einbau einer großen Zahl von negativen Kontrollen ebenfalls mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden. Der beobachtete Zugewinn an analytischer Sensitivität durch die PCR deckt sich mit den Berichten anderer Arbeitsgruppen (Masake et al., 1997; Bengaly et al. 2001; Desquesnes und Dávila, 2002). Positive Signale in der PCR stehen in Zusammenhang mit einer aktiven Infektion, und sind nicht auf „tote“, im Blutkreislauf über lange Zeiträume zirkulierende DNA zurückzuführen. Dies wurde auch durch experimentelle Infektionen mit Trypanosomen belegt, bei denen wenige Tage nach einer erfolgreichen Therapie keine Parasiten-DNA mehr zu amplifizieren war. So haben

Untersuchungen von Clausen et al. (1999) (**Mitteilung 11**) gezeigt, dass 3-4 Tage nach einer erfolgreichen Behandlung experimentell mit *T. brucei* infizierter Rinder das PCR-Signal erlosch. Bengaly et al. (2001) berichten, dass 1-2 Tage nach einer Behandlung von *T. congolense*- und *T. vivax*- Infektionen in Schafen kein positiver PCR-Nachweis mehr geführt werden konnte. Es wird daher angenommen, dass es infolge der Medikamentenwirkung zur Lysis der Parasiten und zur Freisetzung der Parasiten-DNA kommt, die durch enzymatische Verdauung in kurzer Zeit soweit abgebaut wird, so dass eine weitere Amplifikation nicht mehr möglich ist. Dadurch ergeben sich Möglichkeiten des Einsatzes der PCR zur Überprüfung des Therapieerfolgs, wie die weiteren PCR-Untersuchungen in Regionen mit dem Vorkommen Trypanozid-sensitiver (*Mukono County*) und -resistenter Trypanosomen (*Kéné Dougou*) zeigten (**Mitteilung 12** und **13**).

Alle 486 Rinder der Stichprobe aus der Rinderpopulation von *Mukono County* (Uganda) wurden mit Isometamidiumchlorid in der prophylaktischen Dosierung von 1 mg/kg KGW behandelt und in den ersten 3 Monaten nach der Behandlung in monatlichen Abständen untersucht. Wie beschrieben, sank nach der Behandlung mit Isometamidium die Anfangsprävalenz von 18,9% auf 0,4, 0,7 und 3,2% zum Ende des ersten bzw. zweiten und dritten Folgemonats (**Mitteilung 5**). In der PCR wurden alle parasitologisch positiven Proben und eine Stichprobe aus dem Probenpool der aparasitämischen Rinder am Ende des ersten und des zweiten Monats nach der Behandlung untersucht. Während die Proben der parasitologisch positiven Rinder ein deutliches Hybridisierungssignal zeigten, konnte in den aparasitämischen Proben kein Nachweis auf Trypanosomen-spezifische DNA geführt werden. Deutliche Hybridisierungssignale waren erst in den Proben zu erkennen, die vom Ende des dritten Monats nach der prophylaktischen Isometamidiumbehandlung stammten. Der durch die PCR bestätigte 3-monatige aparasitämische Zeitraum entspricht in etwa der zu erwartenden prophylaktischen Wirkungsdauer von Isometamidium in der erfolgten Dosierung. Aufgrund der sehr aufwendigen parasitologischen Untersuchungen, einschließlich

der Behandlungsstudien in experimentell mit Primärisolaten aus *Mukono* infizierten Kälbern und Mäusen (**Mitteilung 5**) und den Ergebnissen der PCR, kann den Trypanosomenpopulationen in *Mukono County* für den Untersuchungszeitpunkt abschließend eine hohe trypanozide Empfindlichkeit gegenüber Isometamidiumchlorid und Diminazenaceturat bescheinigt werden.

Im Gegensatz zu *Mukono County* kann in den südlichen Regionen der Provinz von *KénéDougou* (Burkina Faso) sowohl aufgrund der im Feld erhobenen parasitologischen Ergebnisse (**Mitteilung 1** und **4**), als auch aus den weiterführenden *in-vivo*- und *in-vitro*-Untersuchungen (**Mitteilung 6**) berechtigt vom Vorkommen mehrfachresistenter *T. congolense*-Stämme gesprochen werden. Die weiterführenden PCR-Untersuchungen mit Proben aus dieser Region hatten zum Ziel, in einem Endemiegebiet mit Vorkommen von Trypanozidresistenzen einen Methodenvergleich zwischen der BCT und der PCR vor und nach der Behandlung durchzuführen und den Behandlungserfolg der Isometamidiumprophylaxe und der gegebenenfalls zusätzlichen Diminazentherapie der Rinder mit der PCR zu überprüfen.

Als am häufigsten vorkommende Trypanosomenspezies wurde mit beiden Methoden *T. congolense* vor *T. vivax* und *T. brucei* diagnostiziert. Mit der PCR wurden bedeutend mehr Misch- und *T. brucei*-Infektionen aufgedeckt als mit der BCT. Die BCT-Prävalenz der gesamten Untersuchungsherde lag bei 12,2%, während für die PCR-Prävalenz ein Schätzwert von 44,4% ermittelt wurde. Im Vergleich zur BCT erhöhte sich somit die Detektionsrate um den Faktor 3-4, ähnlich wie bereits aufgrund der Untersuchungen in *Mukono County* ermittelt (**Mitteilung 5**) und von anderen Autoren berichtet (Desquesnes and Dávilla, 2002). Der Behandlungserfolg einer Prophylaxe der Rinder mit Isometamidium (1 mg/kg KGW) wurde 14 Tage nach der Applikation des Wirkstoffes analysiert. Dabei wurden mit beiden Methoden Trypanosomeninfektionen diagnostiziert. Die PCR bestätigte 97,1% (34/35) der BCT-

positiven Rinder und reagierte ferner bei 28,8% (41/142) der BCT-negativen Rinder positiv. Den PCR-Ergebnissen entsprechend versagte die Isometamidiumprophylaxe bei Infektionen mit *T. congolense*-„savannah“ und *T. vivax* in neun Dörfern, wogegen gemäß den BCT-Ergebnissen Behandlungsversagen in sieben Dörfern mit Beteiligung aller Trypanosomen-spezies festgestellt wurde. Bei der Überprüfung des Therapieerfolges mit Diminazen (3,5 mg/kg KGW) ergab sich, dass alle BCT-positiven Rinder mit der PCR bestätigt werden konnten. Außerdem waren 55,2% der BCT-negativen Blutproben PCR-positiv. Mit der PCR wurden in jedem der sieben Dörfer Therapieversagen bei Infektionen mit *T. congolense*-„savannah“ und *T. vivax* ermittelt, während der BCT entsprechend nur in zwei Dörfern positive Fälle mit *T. congolense* nach der Diminazenbehandlung auftraten.

Aufgrund dieser Ergebnisse wird die PCR als geeignete Methode zur Überprüfung des Behandlungserfolges von Trypanosomeninfektionen bei Rindern bewertet. Zum zuverlässigen Nachweis Trypanozid-resistenter Infektionen müssen Anwendungsfehler der Medikamente durch eine kontrollierte Behandlung der Rinder ausgeschlossen werden. Ferner müssen die richtigen Primerpaare zum Nachweis der regional vorkommenden Trypanosomen-spezies gewählt werden und die PCR-Ergebnisse im Doppelansatz oder durch Hybridisierung der PCR-Produkte mit spezifischen DNA-Sonden verifiziert werden. Im Vergleich zu anderen Methoden ist die PCR entsprechend den Ergebnissen dieser Arbeit die empfindlichste Nachweismethode für resistente *T. congolense*- und *T. vivax*-Infektionen in Rinderherden. Bei *T. brucei*-Infektionen sollten aufgrund der Neigung dieses Erregers zur Auswanderung in das ZNS oder andere extravaskuläre Räume bei Verdacht auf Resistenzen weiterführende *in-vivo*- oder *in-vitro*-Untersuchungen (siehe **Mitteilung 7** und **8**) erfolgen.