A photograph of a llama standing on a rocky, grassy hillside under a clear blue sky. The llama is positioned in the middle ground, facing right. The foreground is filled with tall, dry grasses. The background shows a clear blue sky.

**Untersuchungen zur
Seroprävalenz von zystenbildenden Kokzidien
und zu Gastrointestinalparasitosen
bei Neuweltkameliden in Peru**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Denis Wolf

Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie;
Detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Auflage 2010

© 2010 by Verlag: **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH,**
Gießen
Printed in Germany

ISBN 978-3-86345-010-6

Verlag: DVG Service GmbH
Friedrichstraße 17
35392 Gießen
0641/24466
geschaeftsstelle@divg.net
www.divg.net

Aus dem
Institut für Parasitologie
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Horst Zahner

**Untersuchungen zur Seroprävalenz von zystenbildende Kokzidien
und Gastrointestinalparasitosen bei Neuweltkameliden in Peru**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

DENIS WOLF
Tierarzt aus Oberndorf a. N.

Gießen 2010

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität

Dekan Prof. Dr. Dr. habil. Georg Baljer

Gutachter Prof. Dr. H. Zahner

Gutachter

Tag der Disputation:

Meinen Eltern

Teile dieser Dissertation wurden bereits veröffentlicht bzw. auf Tagungen präsentiert:

Wolf, D., Schares G., Cardenas O., Huanca W., Cordero A., Bärwald A., Conraths F.J., Gauly M., Zahner H., Bauer C. (2005)

Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*) and vicunas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany.

Vet. Parasitol. 130, 81-7.

Wolf, D., Gauly M., Bauer C. & Schares G. (2004)

Seroprävalenz von *Neospora caninum* und *Toxoplasma gondii* bei Neuweltkameliden.

Tagung der Deutschen Veterinärmed. Ges., Fachgruppe Parasitologie, Starnberg/D, 9.-11.6.2004.

Proceedings of the 4th European Symposium on South American Camelids and DECAMA European Seminar

Wolf, D., Mackenstedt U., Zahner H. & Bauer C. (2006)

Untersuchungen zum serologischen Nachweis von *Sarcocystis*-Infektionen bei Neuweltkameliden.

Poster, Tagung der Deutschen Veterinärmed. Ges., Fachgruppe Parasitologie, Wetzlar/D, 7.-9.6.2006.

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Zoologische Stellung und Erscheinungsbild der Neuweltkameliden.....	3
2.2	Evolution und Domestikation der Neuweltkamele	4
2.3	Geographischer, historischer und ökonomischer Kontext der Kamelidenhaltung in den südamerikanischen Anden.....	5
2.4	Kamelidenhaltung außerhalb Südamerikas.....	11
2.5	Endoparasiten der Neuweltkameliden.....	12
2.5.1	Protozoen	12
2.5.1.1	<i>Eimeria</i> spp.....	12
2.5.1.2	<i>Cryptosporidium parvum</i>	14
2.5.1.3	<i>Toxoplasma gondii</i>	15
2.5.1.4	<i>Neospora caninum</i>	18
2.5.1.5	<i>Sarcocystis</i> spp.	23
2.5.2.	Trematoden.....	28
2.5.3	Cestoden	28
2.5.4	Nematoden	28
2.5.4.1	Magen-Darm-Strongyliden.....	29
2.5.4.1.1	Vertreter und allgemeine Entwicklung	29
2.5.4.1.2	Einflüsse auf die Infektion.....	29
2.5.4.1.3	Verbreitung und Intensität	32
2.5.4.1.4	Wurmbürden von Neuweltkameliden und Schafen bei gemeinsamem Weiden.....	36
2.5.4.1.5	Genetische Resistenzen gegenüber Magen-Darm-Strongyliden....	36
2.5.4.1.6	<i>Lamanema chavezii</i>	37
2.5.4.1.7	<i>Nematodirus</i> spp.	38
2.5.4.1.8	<i>Graphinema aucheniae</i>	38
2.5.4.1.9	<i>Trichostrongylus</i> spp.	39
2.5.4.1.10	<i>Cooperia</i> spp.	39
2.5.4.1.11	<i>Mazamastrongylus (Spiculopteragia) peruvians</i>	39
2.5.4.1.12	<i>Ostertagia</i> spp.	40
2.5.4.1.13	<i>Haemonchus contortus</i> , <i>Camelostrongylus mentulatus</i> , <i>Oesophagostomum</i> spp.	40
2.5.4.2	<i>Trichuris</i> spp.	41
2.5.4.3	<i>Capillaria</i> spp.....	41
2.5.4.4	Nematoden bei Wildkameliden	41
3	Material und Methoden	43
3.1	Versuchsbestände.....	43
3.2	Versuchsgruppen	43
3.3	Vorversuche / Longitudinalstudie	45
3.4	Querschnittsstudie.....	45
3.4.1	Entnahme von Kotproben	45
3.4.2	Blutentnahme und Serumgewinnung.....	45
3.5	Experimentelle Infektion eines Lamas mit <i>Neospora caninum</i>	46
3.6	Untersuchungsmethoden I: Allgemeines	46
3.6.1	Koproskopische Untersuchung	46
3.6.2	Züchtung und Differenzierung von Larven 3 von Magen-Darm- Strongyliden	47
3.6.3	Serologische Untersuchungen.....	47

3.7	Untersuchungsmethoden II: Nachweis von Antikörpern gegen <i>N. caninum</i>	47
3.7.1	Antigene.....	47
3.7.2	Immunoblot	48
3.7.3	ELISA.....	48
3.7.4	IFAT	49
3.8	Untersuchungsmethoden III: Nachweis von Antikörpern gegen <i>T. gondii</i> ...	49
3.8.1	Antigene.....	49
3.8.2	Immunoblot	49
3.9	Untersuchungsmethoden IV: Nachweis von Antikörpern gegen <i>Sarcocystis</i> spp.	50
3.9.1	Antigene.....	50
3.9.2	Immunoblot	51
3.9.3	ELISA.....	51
3.10	Statistische Berechnungen.....	53
3.10.1	Koproskopische Untersuchungen	53
3.10.2	Serologische Untersuchungen	53
3.11	Begriffsbestimmungen.....	53
4	Ergebnisse	54
4.1	Betriebsstruktur und Haltungsbedingungen.....	54
4.2	Koproskopische Untersuchungen.....	54
4.2.1	Versuchsbestände und Versuchsgruppen	54
4.2.2	Longitudinalstudie	55
4.2.2.1	Saisonaler Verlauf der Eiausscheidung von Magen-Darm-Nematoden...	55
4.2.2.2	Saisonaler Verlauf der Ausscheidung von <i>Eimeria</i> -Oozysten.....	57
4.2.2.3	Saisonaler Verlauf des Befalls mit Cestoden.....	59
4.2.3	Querschnittsstudie zur fäkalen Ausscheidung von Magen-Darm- Parasitenstadien	60
4.2.3.1	Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden	60
4.2.3.2	Abschätzung genetischer Resistenzen für das Merkmal EpG	63
4.2.3.3	Ausscheidung von <i>Moniezia</i> -Eiern	63
4.2.3.4	Ausscheidung von Oozysten von <i>Eimeria</i> spp.....	63
4.2.3.5	Vergleich der Befunde aus den Standorten Quimsachata und Malkini..	63
4.2.3.5.1	Ausscheidung von Magen-Darm-Strongyliden-Eiern.....	64
4.2.3.5.2	Ausscheidung von <i>Moniezia</i> -Eiern	67
4.2.3.5.3	Ausscheidung von <i>Eimeria</i> -Oozysten.....	67
4.2.3.5.4	Vergleich der Befunde des Krankenlagers mit den normalen Weiden am Standort Malkini.....	68
4.2.3.5.6	Ergebnisse der Larvenkultur und der Gattungsbestimmung von Magen-Darm-Strongyliden	68
4.3	Serologische Untersuchungen	70
4.3.1	Validierung serologischer Methoden mittels experimenteller Infektion eines Lamas mit <i>N. caninum</i>	70
4.3.1.1	Immunoblot.....	70
4.3.1.2	Modifizierter p38-ELISA.....	71
4.3.1.3	Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT).....	72
4.3.2	Untersuchungen der Sera von Neuweltkameliden aus Peru und einem deutschen Betrieb auf <i>N. caninum</i> und <i>T. gondii</i>	73
4.3.2.1	Immunoblot.....	73

4.3.2.2	Modifizierter p38-ELISA.....	75
4.3.2.3	Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT).....	75
4.3.2.4	Altersabhängigkeit im Auftreten von Antikörpern gegen <i>N. caninum</i> . 77	
4.3.3	Untersuchungen von Sera von Neuweltkameliden aus Peru und einem deutschen Betrieb auf Antikörper gegen <i>Sarcocystis</i> spp.....	77
4.3.3.1	Evaluierung des Immunoblot-Verfahrens anhand von Sera definitiv-infizierter und unverdächtiger-negativer Kontrolltiere	77
4.3.3.2	Immunoblot-Untersuchungen von serologisch <i>T. gondii</i> - und <i>N. caninum</i> -positiven Seren von Alpakas und Lamas auf Antikörper gegen <i>Sarcocystis</i> spp.....	79
4.3.3.3	Evaluierung von ELISAs unter Verwendung von <i>S. miescheriana</i> und <i>S. singaporensis</i> -Antigenen anhand von Seren von nach Schlachtbefunden mit <i>Sarcocystis</i> spp. befallenen Lamas und Seren von Alpakafohlen aus einem deutschen Betrieb.....	80
4.3.3.4	ELISA-Untersuchungen von Neuweltkameliden aus Peru auf Antikörper gegen <i>Sarcocystis</i> spp.	82
4.3.3.5	Altersabhängige Unterschiede bei Alpakas im Auftreten von Antikörpern gegen <i>S. singaporensis</i>	83
4.3.3.6	Vergleich der Seroprävalenzen von Antikörpern gegen <i>Sarcocystis</i> spp. bei Jungtieren in den beiden Farmen Quimsachata und Malkini	83
4.3.3.7	Vergleich der Antikörperspiegel gegen <i>S. singaporensis</i> -Antigen bei domestizierten (Alpakas, Lamas) und wildlebenden (Vikunjas) Neuweltkameliden	83
5	Diskussion	85
5.1	Betriebsstruktur	85
5.2	Klimatische Bedingungen	86
5.3	Protozoen	87
5.3.1	<i>Eimeria</i> spp.....	87
5.3.1.1	Longitudinalstudie.....	87
5.3.1.2	Querschnittsstudie	88
5.3.2	<i>T. gondii</i>	90
5.3.3	<i>N. caninum</i>	93
5.3.4	<i>Sarcocystis</i> spp.....	97
5.4	Helminthen	100
5.4.1	Longitudinalstudie	100
5.4.2	Querschnittsstudie	101
6	Zusammenfassung.....	106
7	Summary	109
8	Literaturverzeichnis	111
9	Anhang.....	136

Abkürzungen

AAA	animal assisted activity
AAT	animal assisted therapy
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BSA	Bovines Serumalbumin
DMSO	Dimethylsulfoxid
ELISA	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
EpG	Eizahl pro Gramm Kot
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
H+L / h&l	schwere und leichte Kette von Immunglobulinen
IB	Immunoblot
IFAT	Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörpertest
IgG	Immunglobulin G
IHA	Indirekter Hämagglutinationstest
L3	Larve 3
LDH	Lactatdehydrogenase
Ma	Makroskopische Untersuchung
MAT	Modifizierter Hämagglutinationstest
MDS	Magen-DarmStrongyliden
Mi	Mikroskopische Untersuchung
Nc	<i>Neospora caninum</i>
NC FR	<i>Neospora caninum</i> -fraglich
NC-IB	<i>Neospora caninum</i> -Immunoblot
NC-IFAT	<i>Neospora caninum</i> -Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörpertest
NC NEG	<i>Neospora caninum</i> -negativ
NC-POS	<i>Neospora caninum</i> -positiv
NHN	Normalhöhennull
NN	Nomen nudum
OD	Optische Dichte
OpG	Oozystenanzahl pro Gramm Kot
p38	38 kDa Oberflächenantigen aus <i>N. caninum</i> -Tachyzoiten
p. i.	post infectionem

PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PBST	PBS+Tween
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PNS	Pferdenormalserum
PVDF	Polyvinylidenfluorid
SDS	Natriumdodecylsulfat
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese
TEMED	Tetramethylethylendiamin
Tg	<i>Toxoplasma gondii</i>
TG FR	<i>Toxoplasma gondii</i> -negativ
TG-IB	<i>Toxoplasma gondii</i> -Immunoblot
TG-POS	<i>Toxoplasma gondii</i> -positiv
TG-ROC	Two-graph receiver operating characteristic
TMB	Tetramethylbenzidin
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
γ -GT	Gamma-Glutamyl-Transferase

1 Einleitung

Die Bedeutung der domestizierten Neuweltkameliden, Lama (*Lama glama*) und Alpaka (*Lama pacos*), hat in den letzten Jahren inner- und außerhalb Südamerikas kontinuierlich zugenommen. Dabei werden Lamas und Alpakas in den westlichen Industrieländern vorwiegend als Haus- und Begleittiere und weniger als landwirtschaftliche Nutztiere gehalten. Ausnahmen sind hierbei Australien, Neuseeland die USA und teilweise Großbritannien, Länder, in denen die Populationen mittlerweile Dimensionen erreicht haben, welche eine kommerzielle Nutzung – abseits des Verkaufs von Zuchttieren – ermöglicht. Dabei ist die Haltung jedoch klar auf den Gewinn der sehr feinen und hochwertigen Wolle ausgerichtet.

Im Gegensatz dazu finden Neuweltkameliden in ihren südamerikanischen Herkunftsländern nicht nur als Woll-, sondern ebenso als Fleischlieferant und im Falle der Lamas auch als Lasttier Verwendung. In den beiden letztgenannten Funktionen werden sie traditionell von den meist indianischstämmigen Bewohnern der Anden genutzt, mithin den ärmeren, ländlichen Bevölkerungsschichten, welche oft nur in Subsistenzwirtschaft arbeiten. Dementsprechend ist die Produktivität der Tierart durch krankheitsbedingte direkte und indirekte Verluste sehr niedrig (Vargas-Terán, 2005a).

Parasiteninfektionen verursachen bei allen Tierarten neben direkten vor allem indirekte Verluste, die insbesondere durch schlechtere Nährstoffverwertungen, Gewichtsverluste, verminderte Zunahmen und Behandlungskosten bedingt sind (Eckert et al., 2005). Sie spielen bei Neuweltkameliden sowohl in Südamerika (Rojas, 1990; Leguía, 1999) als auch in Europa (Kowalik et al, 1998) eine wichtige Rolle.

Darüber hinaus spielen manche Kokzidien eine Rolle als Abortverursacher bei anderen landwirtschaftlichen Nutztieren wie im Falle von *Neospora caninum* beim Rind (Dubey und Lindsay, 1996) oder *Toxoplasma gondii* bei Schaf und Ziege sowie als Zoonoseerreger beim Menschen (Eckert et al, 2005), während *Sarcocystis* spp. vor allem Bedeutung für die Fleisch- und Lebensmittelhygiene haben (Legía, 1999). Der Einsatz von Antiparasitika führt neben hohen Kosten langfristig zu erheblichen Belastungen der Umwelt, zu Rückstandsproblemen und birgt die Gefahr von Resistenzbildung (Jackson, 1993; Hertzberg und Bauer, 2000). Vor allem das vermehrte Auftreten anthelmintikaresistenter Nematoden sowie die Erzeugung pflanzlicher Produkte in Südamerika, die auf dem europäischen Markt verkauft werden

(Klinger, 2007), hat das Interesse der Züchtung und Forschung an parasitenresistenten/-toleranten Tieren geweckt. In der Nutzung genetisch bedingter Unterschiede zwischen den Tieren kann ein erfolgversprechender Ansatz zur Reduktion von Invasionskrankheiten gesehen werden. Bei verschiedenen Schaf- und Rinderrassen konnte dies nachgewiesen werden (Gray, 1997).

N. caninum und seine Bedeutung als eigenständiger Erreger sind erst seit verhältnismäßig kurzer Zeit bekannt, der erste Nachweis bei Kameliden wurde 2002 geführt (Chavez-Velasquez et al.). Bis 1988 wurde er fälschlicherweise als *T. gondii* identifiziert (Dubey und Lindsay, 1996). Letzterer, obwohl schon länger bekannt wurde bei Neuweltkameliden erstmals 1984 serologisch nachgewiesen (Leguía et al., 1984). *Sarcocystis*-Infektionen wurden in größerem Maßstab bisher nur als post-mortem Befunde bei der Fleischschau erhoben, ein erster Nachweis von Antikörpern gegen *Sarcocystis aucheniae* mittels Immunoblotting wurde 1999 etabliert (Sam et al., 1999).

In Anbetracht dieser Ausgangslage war das Ziel der vorliegenden Arbeit:

- Die Entwicklung und Evaluierung verschiedener Möglichkeiten zur serologischen Diagnostik zystenbildender Kokzidien sowie
- ihre Anwendung zur Beurteilung der Seroprävalenz bei Lamas und Alpakas in zwei peruanischen Farmen und einem deutschen Betrieb sowie bei freilebenden Vikunjas;
- ein aktuelles Survey über Gastrointestinalparasitosen bei Neuweltkameliden in Südamerika sowie Abschätzung eventueller genetischer Resistenzen gegenüber Infektionen mit Magen-Darm-Strongyliden unter Berücksichtigung möglicher Zusammenhänge mit Leistungsparametern.

2 Literaturübersicht

2.1 Zoologische Stellung und Erscheinungsbild der Neuweltkameliden

Die Kamele (Camelidae) bilden die einzige Familie der Unterordnung Schwielensohler (Tylopoda) in der Ordnung der Paarhufer, zu der außerdem die Schweineartigen (Suiformes) und die Wiederkäuer (Ruminantia) zählen. Zwar kauen auch die Kameliden wieder und besitzen dazu einen kompartimentierten Magen mit zwei Vormägen und einer Schlundrinne, doch sind diese weniger stark ausdifferenziert. Ihre Anatomie und Fähigkeit zum Wiederkäuen hat sich zudem unabhängig von der Entwicklung der eigentlichen Wiederkäuer vollzogen (Grzimek, 1968; Vallenas et al., 1971; Herre, 1982; Fowler, 1997).

Innerhalb der Camelidae gibt es die Altweltkamele mit der Gattung *Camelus* und ihren Vertretern Dromedar (*C. dromedarius*) und Trampeltier (*C. bactrianus*) sowie die Neuweltkamele mit den Gattungen Lama und Vicugna (Stanley et al., 1994). Zu den letzteren zählen vier Arten: Das Guanako (*Lama guanicoe*) und das Vikunja (*Vicugna vicugna*) als wildlebende sowie das Lama (*Lama glama*) und das Alpaka (*Lama pacos*) als domestizierte Formen (Wheeler, 1995).

Lama guanacoe: Das **Guanako** ist mit einer Schulterhöhe von 100 – 125 cm und einem Gewicht von 95 bis 120 kg das größte wildlebende Säugetier Südamerikas. Die große Bandbreite dieser Werte resultiert aus der weiten Verbreitung der Tiere und einer Aufteilung in eine nördliche größere (*L. g. guanicoe*) und eine etwas kleinwüchsigeren südlichen Population (*L. g. cacsilensis*). Während das Haarkleid der letzteren dunkel-rotbraun ist, ist die nördliche Variation ockerfarben bis hellbraun gefärbt. Beininnenseiten, Brust und Bauch sind bei allen Vertretern einheitlich weiß, das Gesicht ist oft schwarz gefärbt. Bis auf die Hengstzähne des Männchens ist kein Geschlechtsdimorphismus ausgeprägt (Grzimek, 1968; Wheeler, 1995).

Vicugna vicugna: Das **Vikunja** ist der kleinste und zierlichste Vertreter der Neuweltkameliden mit einer Schulterhöhe von ca. 90 cm und einem Gewicht von etwa 45 bis 55 kg. Der schlanke Körper trägt einen gerundeten Hals und einen kurzschnauzigen gerundeten Kopf. Das zimtfarbene bis hellbraune Vlies hat eine durchschnittliche Länge von 3,3 cm, während sich an der Brust eine charakteristische Mähne zeigt, die heller gefärbt ist und eine Länge von 18 bis 20 cm hat. Manche

Autoren teilen auch die Vikunjas in zwei Subpopulationen auf und bezeichnen sie als *V. vicugna vicugna* (Molina, 1782) und *V. vicugna mensalis* (Thomas, 1917).

Lama glama: Das **Lama** ist der größte südamerikanische Schwielensohler; mit einem Stockmaß von 100-125 cm erreicht es ein Gewicht bis zu 200 kg (Grzimek, 1988; Fowler, 1998). Da es keine bedeutende Rolle für die Wollproduktion spielt wird bei der Zucht kein Wert auf Farbe des Vlieses gelegt so das es in vielen verschiedenen Färbungen vorkommt, die oftmals nicht einheitlich sind. Es existieren zwei unterschiedliche Typen, die sich durch ihre unterschiedliche Bewollung unterscheiden. Südamerikanische Züchter sprechen jedoch nicht von eigenen Rassen, sondern nur von verschiedenen Linien. Der stärker bewollte Typ wird in der Quechua-Sprache als ch'aku und in Aymara als t'awrani, die zweite Form in beiden Sprachen als q'ara (k'ara) bezeichnet (was Gesicht bedeutet), der Kopf dieser Tiere ist immer unbewollt.

Lama pacos: Beim **Alpaka** gibt es zwei Rassen, Huacaya und Suri, die sich vornehmlich in der Erscheinungsform ihres Vlieses unterscheiden. Beide Rassen haben eine Schulterhöhe von etwa 90 cm, wiegen zwischen 55 und 60 kg und zeigen keinen Geschlechtsdimorphismus. Die Wolle des Huacaya ähnelt dem von Wollschafen. Die Fasern haben, je nach Alter, eine Länge von 8 bis 12 cm, erscheinen jedoch kürzer, da sie mit drei bis sieben „Perioden“ pro Zentimeter gewellt sind, wobei eine hohe Anzahl von Perioden ein Güte- und Zuchtkritererium darstellt (Holt, 2006). Die Wolle des Suri ist dagegen über 20 cm lang, glatt und hängt in dicken Strähnen an den Tieren herunter.

2.2 Evolution und Domestikation der Neuweltkamele

Die Evolution der Kameliden begann im Eozän (vor 40-50 Millionen Jahren) in Nordamerika (Wheeler, 1995). Nach Herre (1982) hat die Trennung zwischen Lama und Kamel im Mitteloligozän stattgefunden. Im Pleistozän war die Blütezeit der Kamele und Lamoiden. Viele der Genera in der Familie der Camelidae starben aus bisher ungeklärten Gründen am Ende des Pleistozäns aus (Fowler, 1998). Die Lamoiden wanderten am Anfang des Pleistozäns (vor 3 Millionen Jahren) nach Südamerika, als sich eine geschlossene Landverbindung zwischen Nord- und Südamerika entwickelte (Wheeler, 1995). Das erste Lamoidengenus in Südamerika war Hemiauchenia. In der Mitte des Pleistozän entwickelten sich daraus die Genera Palaeolama, Lama und Vikunja (Webb und Meachen, 2004).

Die Domestikation der Lamas vollzog sich von ca. 5000 bis 3500 v. Chr. in Peru, während Alpakas erst um 1000 bis 500 v. Chr. domestiziert waren (Bustinza Choque, 1979; Wheeler, 1995).

Die Abstammung des Lamas vom Guanako gilt als gesichert. Dies beruht auf den Ähnlichkeiten im Knochenbau, der Struktur der Haut, der Zusammensetzung des Haarkleides, des Verhaltens bzw. der Organisation der Herdenverbände und DNA-Analysen (Kessler et al., 1995; Kadwell et al., 2001).

Die zoologische Klassifizierung des Alpakas ist seit längerem Gegenstand kontroverser Diskussionen; so wird vermutet, daß das Alpaka nicht vom Guanako sondern vom Vikunja abstammt. Die Bestätigung dieser These mittels molekularbiologischer Abstammungsuntersuchungen erwies sich jedoch bisher als außerordentlich schwierig, da ca. 80 % der domestizierten Neuweltkameliden im andinen Raum Hybride zwischen Lamas und Alpakas sind (Kadwell et al., 2001). Neuere Untersuchungen in diesem Bereich weisen jedoch darauf hin, daß das Alpaka tatsächlich vom Vikunja abstammt und entsprechend als *Vicugna pacos* bezeichnet werden sollte (Wheeler et al., 2006; Marín et al., 2007).

2.3 Geographischer, historischer und ökonomischer Kontext der Kamelidenhaltung in den südamerikanischen Anden

Der ursprüngliche Lebensraum der Neuweltkameliden sind die Anden, sie sind die längste Gebirgskette der Erde. Sie erstrecken sich entlang der Westküste Südamerikas von Venezuela über Kolumbien, Ecuador, Peru, Bolivien, Argentinien und Chile und bestehen aus zwei, teilweise auch aus mehreren parallel verlaufenden Hauptketten, welche im mittleren Abschnitt, in Peru, Bolivien, Nordchile und Nordargentinien sehr weit auseinanderliegen und das zentrale Hochland, den Altiplano, umschließen.

Der Altiplano liegt auf einer durchschnittlichen Höhe von 3.600 m ü. NHN und erstreckt sich über eine Fläche von ca. 170.000 km². Charakteristisch für einen Teil der Hochebene ist die Puna; eine Höhenstufe der Anden von ca. 4000 bis 4800 m ü. NHN sowie die hierfür typische Grasvegetation (Steppe, spanisch auch páramo - Ödland - genannt). Das Klima ist kalt mit wechselhaften, insgesamt geringen Niederschlägen. Die Jahreswechsel in der klassischen Einteilung in Sommer und Winter spielt generell

eine untergeordnete Rolle, da vielmehr von Trocken- (Mai bis Oktober) und Regenzeit (November bis April) gesprochen wird. Das Oberflächenrelief ist sehr vielseitig, meist wellig, mit vielen Seen sowie Hochplateaus (Gündüz, 2000; Vera, 2000; Revollo et al., 2003).



Abbildung 1:

Farm Quimsachata im Department Puno, Peru, aufgenommen während der Trockenzeit

Die Gegend im Norden des Titicacasees, von dem aus sich der Altiplano rund 1.000 km nach Süden erstreckt, wird oftmals als „Herzland“ der Lamas und Alpakas bezeichnet. Hier begann die Domestikation und ihre anschließende Verbreitung in Regionen geringerer Höhe (Wheeler 1995). Neuweltkameliden sind trotz ihrer guten Höhenanpassung nicht an diese Bereiche gebunden, sondern auch auf Meereshöhe und in europäischen und nordamerikanischen Breitengraden bedenkenlos zu halten (Gauly et al., 1997). Dies zeigt sich unter anderem auch am Guanako, welches in präspanischer Zeit diese Gebiete ebenso wie die hohen Andenregionen besiedelte (Wheeler 1995). Für das Vikunja belegen Vorzeitfunde ebenfalls, daß es früher auch in den weiten, ebenen Pampasgebieten bis in den Raum von Buenos Aires beheimatet war. Vermutlich mußte es dort anderen wildlebenden Tieren wie dem Pampashirsch und dem Guanako weichen (Payer, 2001).

Die genaue Zahl der Neuweltkameliden vor dem Eintreffen der Spanier zu beziffern ist nicht möglich, Schätzungen gehen jedoch von mehreren Millionen Tieren aus (Bonacic, 2006); das Eintreffen der Europäer hatte verheerende Konsequenzen sowohl für Mensch als auch Tier. Innerhalb nur eines Jahrhunderts nach der „Conquista“, der Eroberung durch die Spanier im Jahr 1532, war die indianische Bevölkerung um 80 % und die Anzahl ihrer Haustiere um 90 % dezimiert worden (Wheeler, 1995).

Die Inkas nutzten die Tiere als Lieferanten für Fleisch, Wolle, Felle, Leder und ihren Dung als Heizmaterial. Lamas wurden als Tragetiere eingesetzt und spielten eine Rolle als Opfergabe, während Alpakas vornehmlich der Wollproduktion dienten (Payer, 2001). Eine besondere Rolle kam den Vikunjas zu, deren Wolle ob ihrer Feinheit hochbegehrt war und nur von hohen Adligen getragen werden durfte (Vega, 2002). Um diese zu gewinnen, wurden in Vierjahresabständen Treibjagden („Chacus“) mit langen Menschenketten veranstaltet und die Tiere in trichterförmige Krals getrieben, an deren Ende man sie einzeln schor und anschließend wieder freiließ (Bollinger und Dörig, 1977; Rainsford, 2000; Payer, 2001). Heutzutage werden diese Chacus wieder angewendet, um den ländlichen Comunidades eine nachhaltige Nutzung dieser Tierart zu ermöglichen und Ihnen eine Einnahmequelle zu verschaffen um auf diese Weise die Akzeptanz für die strikten Schutzbestimmungen der Tiere zu fördern (Bulte et al., 2003). Gleichzeitig stellen sie auch für den Staat eine wachsende Devisenquelle dar (Martínez, 1998; Uhart und Milano, 2002; Meerburg und de Jong, 2003). So haben sich die Bestände die in den 60er Jahren auf 5000 bis 10.000 Tiere in Peru und unter 2000 in Bolivien Argentinien und Chile dezimiert worden waren (Bonacic 2006; Rainsford 2000), wieder so weit erholt, daß sie auf der Roten Liste der gefährdeten Arten der IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) nur noch als „low-risk“-gefährdet eingestuft werden. Zusätzlich gibt es, z.B. in Argentinien, mittlerweile konkrete Programme zur Bestandsentwicklung sowohl von freilebenden als auch in Gehegen gehaltenen Tieren, sowohl für Vikunjas als auch für Guanakos (Canedi, 1995; Vargas-Terán, 2005c). Allerdings äußern manche Autoren Bedenken und verweisen auf mögliche Probleme. Durch das Wiedererstarken der Populationen beginnen die Vikunjas wieder mit den Herden der andinen Bauern in Weidekonkurrenz zu treten. Das Aufstellen von Zäunen und die Einführung einer semisilvestren Gehegehaltung führen zu einer Isolierung einzelner Gruppen und zu einer Verkleinerung des Genpools. (Lichtenstein et al., 2002; Davies, 2003;

Lichtenstein und Renaudeau d'Arc, 2004). Schon heute konzentrieren sich die Tiere in den Gebieten der drei großen Nationalparks Pampa Galeras, Huaraz, und Salinas y Aguada Blanca (Davies, 2003) und es bilden sich innerhalb Perus isolierte Populationen, deren Kontakt untereinander durch die sich ausbreitende urbane Besiedelung zunehmend erschwert bzw. ganz verhindert wird (Dodd et al., 2004). Heute gibt es weltweit etwa 3,6 Millionen Alpakas und 4,1 Millionen Lamas, der weitaus größte Teil davon nach wie vor in den südamerikanischen Andenländern, insbesondere in Peru und Bolivien. Die Zahlen dieser Schätzungen variieren jedoch gerade bei den Wildtierpopulationen teilweise erheblich (Tab. 1).

Tabelle 1: Geschätzte Neuweltkamelidenpopulation in Südamerika.

Land	Alpakas	Lamas	Vikunjas	Guanakos
Perú	3.100.000 ¹⁾	1.200.000 ¹⁾	100.000 ²⁾ - 150.000 ¹⁾	350 ²⁾ - 3.800 ⁴⁾
Bolivien	332.000 ¹⁾	2.500.000 ³⁾	12.000 ²⁾ – 34.000 ¹⁾	54 ²⁾
Chile	40.244 ¹⁾	85.000 ³⁾	20.000 ¹⁾ – 28.000 ²⁾	20.000 ²⁾ - 30.000 ⁴⁾
Argentinien	2.300 ¹⁾	135.000 ⁴⁾	16.000 ¹⁾ – 23.000 ²⁾	500.000 ⁴⁾ – 550.000 ²⁾
Ecuador	4.600 ¹⁾	10.000 ⁵⁾	780 ⁵⁾	0 ⁵⁾

Quellen: ¹⁾ (N.N., 2006a) ²⁾ (Scherf, 1997) ³⁾ (Wernery et al., 1999) ⁴⁾ (N.N., 2006b) ⁵⁾ (N.N., 1998)

In Peru und Bolivien und, in geringerem Ausmaß, auch in Argentinien und Chile spielen die Neuweltkameliden bis heute eine wichtige wirtschaftliche Rolle (Urquieta und Rojas, 1990; Raggi Saini, 1993):

- Als Packtiere: In dieser Funktion haben sie heutzutage infolge eines verzweigter werdenden Straßennetzes und dem Einsatz von LKWs eine zunehmend geringere Bedeutung und werden hauptsächlich noch für lokale Transporte eingesetzt, um z.B. auf den für Fahrzeuge unpassierbaren Wegen Saatkartoffeln und Dünger zu und Erntekartoffeln von den Feldern in die Gemeinden zu transportieren (West, 1981; Iñiguez und Alem, 1996; Nürnberg und Valle Zárate, 1999).
- Als Lieferanten für Brennmaterial: In den ländlichen Gemeinden dienen Schafe der Gewinnung von Dünger, während der Dung der Lamas als Brennmaterial zum Kochen verwendet wird (Nürnberg und Valle 1999).

- Als Lieferanten für Leder/Felle: Die Haut, v.a. der Lamas ist bis zu 4 mm dick und außerordentlich widerstandsfähig (Atlee et al., 1997). Die unregelmäßige Struktur des Leders erschwert die Verarbeitung (Moog, 1995), nichtsdestotrotz werden Felle in traditioneller Handwerksarbeit zu Spielzeug, Pantoffeln, Mützen und Teppichen verarbeitet (Raggi Saini, 1993; Gerken, 1997) .
- Als Lieferanten für Fleisch: Etwa 9 % bis 10 % der Kamelidenpopulation wird jährlich geschlachtet, was eine Gesamtmenge von etwa 11.250 Tonnen Fleisch ergibt, die zu 80 % in Hausschlachtungen produziert wird (Hack, 2001). Kamelidenfleisch wird vorwiegend von armen Bevölkerungsschichten verzehrt, da sich in der Bevölkerung teilweise Vorurteile halten, wie angeblich minderwertige Qualität oder die Übertragung von Krankheiten. So liegen die Preise etwa 30 % bis 50 % unter denen, die für Schaffleisch erzielt werden. Eine etwas höhere Akzeptanz hat das Trockenfleisch (Charqui) (Payer, 2001; (Bustinza Choque, 1986; Raggi Saini, 1993; Sumar, 1993). Wie gering die Bedeutung im landesweiten Vergleich ist, veranschaulichen folgende Zahlen: In Peru wurden im Jahr 1999 pro Kopf 22,4 kg Hühnerfleisch, 5,4 kg Rindfleisch, 3,6 kg Schweinefleisch und 1,2 kg Schaffleisch verzehrt, aber nur 0,3 kg Lama oder Alpaka. Dahinter lag nur Ziegenfleisch mit einem Anteil von 0,25 kg (Pastor S. et al., 2004). Tatsächlich ist Alpakafleisch sehr hochwertig, mit einem hohen Protein- (21 % – 24 %) und geringem Cholesterinanteil (5,5 % – 6 %). Die Schlachtausbeute liegt bei etwa 50 % (Hack 2001).
- Als Lieferanten für Wolle: Für über 65.000 Familien der ländlichen Andenregion spielt die Wollproduktion gemeinsam mit der Fleischproduktion eine ökonomische Schlüsselrolle. So befinden sich etwa 80 % bis 85 % aller Alpakas im Besitz der Comunidades, der landwirtschaftlichen Genossenschaften, 10 % bis 15 % gehören kleinen und mittleren Einzelbetrieben, und nur ca. 5 % sind in der Hand von großen Firmen oder staatlicher Betriebe (Bustinza Choque, 2001). Peru ist der Haupterzeuger und Exporteur von Alpakawolle mit 4.000 t im Jahr, auch wenn der Anteil der weltweiten Produktion in den letzten Jahren von 90 % auf 80 % gesunken ist (Landwirtschaftsministerium Peru 2004, (Vinella, 1994). Der Wert des gesamten Exportvolumens an Rohfasern (inklusive anderer Wollsorten, wie Lama und Vikunja) beläuft sich auf 32 Millionen US-Dollar (Vega 2002). Insgesamt beträgt der Anteil an Kamelidenfasern jedoch nur 0,1 % der weltweiten Produktion an Wolle, der

komplette Anteil an feinen Fasern (wozu neben Alpaka und Vikunja auch Mohair, Kaschmir, Angora und andere gehören) kommt zusammen auf 2,6 % (Vinella, 1994).

Die Kamelidenhaltung Perus sieht sich mit verschiedenen Problemen konfrontiert. Die indigene Bevölkerung der südamerikanischen Anden ist seit den Zeiten der Eroberung durch die Spanier sozioökonomisch isoliert und marginalisiert worden. Die wirtschaftliche Förderung in Peru konzentrierte und konzentriert sich auf die Küstenregion. Im Zuge einer einschneidenden Agrarreform 1969 wurden die großen Haciendas zerschlagen und das Land in Form von Genossenschaften an die Landbevölkerung aufgeteilt. Eine massive Wirtschaftskrise in den 80er Jahren führte zu einer Wiederauflösung dieses Systems und einem Rückgang der staatlichen Regulierung des Agrarsektors, ein Trend der sich unter dem neoliberalen Kurs Präsident Fujimoris in den 90er Jahren weiter verschärfte (Gündüz, 2000; Dixon et al., 2001; Fairfield, 2006; Weisbrot, 2006).

Die Alpakazüchter gehören zu den ärmsten Mitgliedern des Agrarsektors und betreiben weitestgehend Subsistenzwirtschaft. Heute verfügt ein „Alpquero“ mit seiner Familie im Durchschnitt über eine 80 Kopf starke Herde, wobei Herdengrößen unter 100 Tieren als zu klein angesehen werden um ein gutes genetisches Niveau zu halten, sofern kein regelmäßiger Austausch mit anderen Herdenbesitzern besteht. Weiterhin hat ein Ausverkauf wertvoller Tiere ins Ausland – legal, aber auch illegal – dazu beigetragen, daß heute nur eine unzureichende Zahl hochwertiger Zuchthengste zur Verfügung steht, infolgedessen es zu einem hohen Grad an Inzuchtanpaarungen kommt (Raggi, 1997; Fairfield, 2004; Fairfield, 2006; Schmid, 2006). Zusätzlich führt die Praxis der Industrie, Wolle eher nach Gewicht und weniger nach Feinheit zu bezahlen, zum Auftreten von Hybridkreuzungen zwischen Alpakas und Lamas mit dem Ziel die Wolle schwerer zu machen, was jedoch zu Lasten der Feinheit geht (Wheeler et al., 1992; Fairfield, 2006). Betrachtet man die Größe der zur Verfügung stehenden landwirtschaftlichen Nutzfläche, so werden 60 % der Alpakas und 70 % der Lamas auf Betriebsgrößen von weniger als 50 Hektar gehalten. 32 % der Alpakas und 46 % der Lamas sogar auf Parzellen von weniger als 3 Hektar. Diese stellen damit nur 0,5 % der gesamten Weidefläche. In der Konsequenz bedeutet dies eine permanente Überweidung und somit ungenügende nutritive Versorgung der Tiere (Vargas-Terán, 2005a).

Unter soziologischen Gesichtspunkten zeigt die Bevölkerung aufgrund schlechter Erfahrungen und gebrochener Versprechungen seitens der politischen Obrigkeit eine gewisse Renitenz gegenüber Veränderungen und hält lieber an tradierten Lebensgewohnheiten fest. Ihre prekäre ökonomische Situation führt dazu, daß veterinärmedizinische Maßnahmen wie der Einsatz von Antibiotika oder Antiparasitika praktisch nicht vorkommt (Nürnberg und Valle Zárate, 1999; Fairfield, 2004; Fairfield, 2006; Schmid, 2006).

Von Seiten der Politik wiederum sind tiergesundheitliche Förderungen, wenn überhaupt, hauptsächlich der Rinder und Schafhaltung zugute gekommen. Staatliche tierärztliche Versorgung spielt jedoch allgemein eine untergeordnete Rolle und bürokratische Hindernisse ergeben sich u.a. aus der personellen Instabilität in führenden Verwaltungsposten. Ein Wechsel des Agrarministers (in Toledos Amtszeit alleine fünf mal) bedeutet normalerweise auch einen Austausch des nachgeordneten Personals (Windsor, 2002; Fairfield, 2006).

2.4 Kamelidenhaltung außerhalb Südamerikas

In den USA und in Australien werden Neuweltkameliden als landwirtschaftliche Nutztiere gehalten und klare Zuchtziele hin zu einer verbesserten Wollqualität angestrebt (Talbot, 2006). In Europa werden Lamas und Alpakas dagegen vorwiegend als Haus- und Begleittiere gehalten (Gauly & Bourke, 1997). In England gibt es Bestrebungen eine Kommerzialisierung der Wolle und daraus gefertigten Produkten voranzutreiben (D'Alterio et al., 2006). Weiterhin werden Lamas als Lastentier bei Trekkingtouren eingesetzt (Gerken, 1997) oder zur Abschreckung gegenüber Luchsen und Füchsen, bei der gemeinsamen Haltung mit Schafen (Markham et al., 1995). Alpakas und Lamas können auch bei der Arbeit mit Behinderten oder Suchtkranken im Rahmen der Tiergestützten Therapie (AAT = animal assisted therapy) oder der Tiergestützten Aktivität (AAA = animal assisted activity) eingesetzt werden (Friedrich, 2002; Sanborn, 2002).

2.5 Endoparasiten der Neuweltkameliden

2.5.1 Protozoen

Es wird vorwiegend auf die Situation in Südamerika und die dort nachgewiesenen Kokzidien-Arten eingegangen, Gattungen wie *Entamoeba* und *Enterocytozoon* werden nicht besprochen. *Giardia* spp. wurden bei Lamas und Alpakas bisher nur außerhalb Lateinamerikas nachgewiesen, sind jedoch auch dort sowohl bei Menschen wie auch Tieren verbreitet, so daß angenommen werden kann, daß Neuweltkameliden ebenfalls davon betroffen sein dürften (Kiorpes et al., 1987; Maco Flores et al., 2002; Bomfim et al., 2005; Cabrera et al., 2005).

2.5.1.1 *Eimeria* spp.

Zyklus und Wirte

Eimeria spp. sind zystenbildende Kokzidien aus der Familie der Eimeriidae aus dem Unterstamm der Apikomplexa. Es sind wirtsspezifische Parasiten mit einem einwirtigen, direkten Lebenszyklus. Eimerien sind wichtige Parasiten bei Vögeln, Nagetieren und Wiederkäuern. Die Ansteckung erfolgt durch die orale Aufnahme von sporulierten Oozysten. Die Entwicklung umfasst Sporogonie, mehrere Merogonien und Gamogonie. Bei Wiederkäuern sind manche Arten Verursacher von Dünn- und Dickdarmerkrankungen (Eckert et al., 2005).

Eimeria spp. bei Neuweltkameliden

In Neuweltkameliden Südamerikas finden sich, je nach Interpretation, Vertreter von 5 bis 6 Arten von *Eimeria*: *E. peruviana*, *E. lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis* und *E. ivitaensis*.

Kokzidien wurden erstmals 1934 (Yakimoff, 1934) bei 5 Lamas in Russland nachgewiesen und als *Eimeria peruviana* bezeichnet. Ob es sich um eine valide Art handelt, die möglicherweise für Lamas spezifisch ist, oder ob sie identisch ist mit einer der später bei Alpakas gefundenen Arten, wurde noch nicht abschließend geklärt, ist aber zumindest zweifelhaft, da sich die zwei einzigen weiteren Quellen nur auf die erstere Tierart beziehen und in ihrer Beschreibung ungenau sind (Pelayo, 1973; Leguía und Casas A., 1999). Vermutlich handelt es sich bei *E. peruviana* um ein nomen nudum (Rohbeck, 2006).

Oozysten wurden ab den fünfziger Jahren in Lima identifiziert, jedoch ohne diese näher zu differenzieren. Guerrero (1967) beschrieb erstmals detailliert 3 verschiedene

Tabelle 2: Prävalenz und durchschnittliche OpG-Zahl (Oozysten pro Gramm Kot) verschiedener *Eimeria* spp. bei Neuweltkameliden

Region	Tierart	untersucht (n)	Prävalenz & OpG				Referenz		
			<i>E. lamae</i>	<i>E. alpaca</i>	<i>E. punoensis</i>	<i>E. macusaniensis</i>		<i>E. peruviana</i>	Gesamt
Peru (Puno & Cuzco)	Alpaka	160	15,60 % 114 OpG	16,90 % 2 OpG	20 % 10 OpG	25 % 153 OpG	58,10 % 279 OpG	Guerrero et al. -1970	
Peru (Cuzco)	Lama	160	52,60 % 929 OpG	96,20 % 644 OpG	93,10 % 362 OpG	37,50 % 182 OpG	1,90 % 1 OpG	96,90 % 2119 OpG	Pelayo et al. (1973)
USA (Oregon)	Lama	239	13,40%	32,20%	21,80%	0,84%	41,40%	Rickard et al. (1988)	
USA (Colorado & Wyoming)	Lama	144	67,30%	55,60%	-	1,40%	k. A.	Schrey et al. (1988)	
USA (Mittlerer Westen)	Alpaka Lama Guanako	115 301 27	n. u.	n. u.	n. u.	7 % 12 % 7,40 %	n. u.	n. u.	Jarvinen (1999)
Peru	Guanako	132	4,50%	13,60%	21,20%	15,90%	k. A.	Castillo et al. (2008)	

k. A.: keine Angabe
n. u.: nicht untersucht

Kokzidienarten aus der Kotuntersuchungen von 12 Alpakas. Sie wurden *E. lamae*, *E. alpaca* und *E. punoensis* genannt. 1971 wurde *E. macusaniensis* und 1996 *E. ivitaensis* beschrieben, beide jeweils bei Alpakas. Alle genannten Arten wurden jedoch auch bei Lamas nachgewiesen.

Kokzidieninfektionen kommen häufig vor, besonders bei Jungtieren sind hohe Befallsraten von bis zu 100 % keine Seltenheit. Auch weisen diese im Vergleich zu älteren Tieren erheblich höhere Zahlen von Oozysten pro Gramm Kot (OpG) auf (Guerrero et al., 1967a; Pelayo, 1973; Rohbeck, 2006). Zum Vorkommen der einzelnen *Eimeria*-Arten gibt es nur wenige Informationen, wobei die Prävalenzen der verschiedenen Spezies sehr unterschiedlich sein können. Tabelle 2 gibt eine Übersicht der bisher durchgeführten Untersuchungen. Auch bei Guanakos wurden Oozysten von *E. lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis* und *E. macusaniensis* gefunden (Jarvinen, 1999; Beldomenico et al., 2003; Castillo et al., 2008). Kokzidiennachweise bei Vikunjas sind bisher nicht bekannt.

Die Infektionen verlaufen in den allermeisten Fällen subklinisch (Rickard und Bishop, 1988; Cheney und Allen, 1989; Jarvinen, 1999), Wenn überhaupt scheinen Erkrankungen ein Problem bei hochinfizierten Fohlen in den ersten Lebensmonaten darzustellen, wobei Initialinfektionen bereits in den ersten Lebensstagen erfolgen können (Rohbeck 2006). Die stärkste pathogene Wirkung wird *E. lamae* und *E. macusaniensis* zugesprochen. Diese Erreger konnten verschiedentlich als Sektionsbefund mit Enteritiden in Zusammenhang gebracht werden (Cebra et al., 2003; Palacios et al., 2004; Palacios et al., 2005; Palacios et al., 2006). Eine weitere mögliche Beteiligung bakterieller oder viraler Erreger konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden (Rivera et al., 1987; Parreno et al., 2001; Mercado et al., 2004).

2.5.1.2 *Cryptosporidium parvum*

C. parvum hat einen direkten Zyklus und ist hauptsächlich als Durchfallerreger bei Kälbern bekannt. Untersuchungen bei 241 Alpakafohlen im Alter von 1 bis 14 Tagen ergaben eine Prävalenz von 10 %. Bei Tieren die unter akuter Diarrhoe litten (n=115) war sie mit 15 % höher als in der Gruppe die keine klinische Symptomatik zeigte (n=126), hier waren nur 6 % infiziert (Fernandez, 1995). Bei Fohlen im gleichen Alter in Chile waren 3 von 18 Alpakas und 5 von 25 Lamas positiv (Rojas et al., 1988; Rojas et

al., 1993). Über das Vorkommen von Cryptosporidien bei wildlebenden Vikunjas und Guanakos ist nichts bekannt.

2.5.1.3 *Toxoplasma gondii*

Zyklus und Wirte

T. gondii ist ein zystenbildendes Kokzid aus der Familie der Toxoplasmatidae aus dem Unterstamm der Apikomplexa. Es hat einen fakultativ zweiwirtigen Lebenszyklus, in dem Katzen und andere Feliden die Endwirte und wahrscheinlich alle Warmblüter (einschließlich Menschen) Zwischenwirte sind (Tenter et al., 2000). Eine Ansteckung von End- und Zwischenwirten ist prinzipiell auf 3 Wegen möglich: horizontal durch (a) die orale Aufnahme von sporulierten Oozysten, die zuvor fäkal von Feliden ausgeschieden worden waren, (b) den Verzehr von zystenhaltigem Gewebe eines Zwischenwirtes sowie (c) vertikal durch diaplazentare Übertragung von *Toxoplasma*-Stadien (Eckert et al., 2005).

Die Entwicklung umfasst Sporogonie, Schizogonie und Gamogonie. Dabei kann es bei Katzen nach einer Infektion mit Gewebezysten und einer 3 -10 Tage dauernden Präpatenz über einen Zeitraum von 20 Tagen zu einer Ausscheidung von mehr als 100 Millionen Oozysten kommen. Diese werden nach 1-5 Tagen infektiös und sind sehr widerstandsfähig; sie können in der Umwelt bis zu 18 Monate überdauern (Tenter et al., 2000). Die Infektionsdosis für den Zwischenwirt ist sehr niedrig, so können beim Schwein bereits 10 Oozysten für eine Infektion ausreichend sein (Dubey et al., 1996). Für Neuweltkameliden finden sich diesbezüglich in der Literatur keine Angaben.

Die Häufigkeit des Vorkommens von Gewebezysten bei fleischliefernden und für den menschlichen Konsum bestimmten Tieren scheint bei Schweinen, Schafen und Ziegen am größten zu sein, gefolgt von Geflügel und Hasen, während Rinder und Büffel vergleichsweise selten betroffen sind (Tenter et al., 2000). Über Neuweltkameliden liegen diesbezüglich keine Erkenntnisse vor.

***T. gondii* beim Menschen**

Die größte Bedeutung hat *T. gondii* als Aborterreger beim Menschen aber auch bei verschiedenen Zwischenwirten, v. a. Schafen und Ziegen (Eckert et al., 2005). Neben Aborten kann es beim Menschen zu kongenitalen Infektionen mit erheblichen klinischen Folgen für die Neugeborenen, wie Chorioretinitis, intrazerebrale Kalzifikationen, Hydrocephalus und sogar zum Tod kommen (Dunn et al., 1999). Eine bedeutende Rolle spielt die erworbene Toxoplasmose auch bei immunsuprimierten Personen wie Patienten mit HIV-Infektionen oder Non-Hodgkin-Lymphom (Tenter et

al., 2000). Weiterhin sind verschiedene Ausbrüche von erworbener humaner Toxoplasmose bei gesunden Erwachsenen bekannt, deren Ursache die Kontamination von Trinkwasserreservoirien war. Okuläre Erkrankungen sind hier die häufigste Folge (Dubey, 2010).

***T. gondii* bei Katzen**

In Südamerika kommen als Endwirte neben (verwilderten) Hauskatzen auch Wildfeliden, beispielsweise Pumas vor. Studien über die Seroprävalenz von *T. gondii*-Infektionen bei Wildkatzen in Südamerika gibt es nur von Tieren in Gefangenschaft. Untersuchungen an freilebenden Tieren in den USA fanden Serumantikörper bei 61 von 320 Pumas (19,1 %) und 26 von 52 Rotluchsen (50,0 %) (Kikuchi et al., 2004). Bei koprologischen Untersuchungen an Jaguaren (*Panthera onca*), Jaguarundis (*Felis yagouaroundi*), Ozelots (*Felix pardalis*) und Pumas (*Felix concolor*) im Cockscomb-Basin in Belize, in Zentralamerika, konnten bei 5 von 45 Kotproben (11,1 %) *T. gondii*-ähnliche Oozysten im Kot nachgewiesen werden (Patton et al., 1986).

Bei Katzen verläuft die *Toxoplasma*-Infektion in den meisten Fällen inapparent, selten kommt es dabei zu Fieber und Diarrhö, und dies nur bei massiv infizierten Jungtieren (Eckert et al., 2005).

***T. gondii* bei Schaf und Ziege**

Wenn sich immunologisch naive, tragende Schafe durch die orale Aufnahme von Oozysten infizieren, kann es in frühen Stadien zu Resorption des Fetus kommen, im späteren Verlauf zu Aborten. Meist geschieht die in der Mitte der Trächtigkeit zwischen dem 60. und 90. Tag. (Eckert et al., 2005). Bei experimentellen Infektionen waren 100 Oozysten ausreichend um Aborte auszulösen (Kirkbride et al., 1992). Lämmer ließen sich bereits mit 20 Oozysten infizieren (Buxton et al., 1993). Allgemein wird davon ausgegangen, daß Lämmer von persistent infizierten Schafen nur in Ausnahmefällen congenital infiziert sind (Dubey, 2010).

Während eine Infektion bei Schafen – von den Aborten abgesehen - meistens inapparent verläuft erkranken Ziegen häufiger an einer akuten Toxoplasmose die mitunter auch tödlich verlaufen kann. Die Schwere der Erkrankung ist abhängig von der Infektionsdosis und verläuft mit hohem Fieber, Lethargie, Dyspnoe und Diarrhoe (Dubey, 1989). Auch haben experimentelle Infektionen gezeigt, daß Ziegen mehrmals infolge einer Toxoplasmose abortieren können (Dubey, 2010).

***T. gondii* bei anderen Tierarten in Peru**

Zur epidemiologischen Situation von *T. gondii*-Infektionen bei anderen Tierarten in Peru gibt es nur wenige Untersuchungen. Zwei Studien bei Schweinen aus

Schlachthöfen in Lima fanden Seroprävalenzen von 27,75 und 32,3 % (Suaréz-Aranda et al., 2000; Saavedra und Ortega, 2004), Untersuchungen an 50 freilaufenden Hühnern in einer informellen Siedlung in der Nähe Limas ergab eine Seroprävalenz von 27 % (Dubey et al., 2004). Untersuchungen zur Prävalenz von *T. gondii*-Infektionen bei Menschen in Peru sind nicht bekannt.

***T. gondii* bei Neuweltkameliden**

Bei Neuweltkameliden, die sich durch die orale Aufnahme von Oozysten anstecken können, kommen *T. gondii*-Infektionen mit unterschiedlicher Häufigkeit vor. Der Infektionsnachweis erfolgt bei Ihnen wie bei anderen Zwischenwirten üblicherweise durch serologische Methoden. Bei Alpakas, Lamas und Vikunjas aus Peru oder Argentinien variierte die Seroprävalenz von *T. gondii*-spezifischen Antikörpern zwischen 5 % und 55 % (Tab. 3). Es ist hierzu allerdings anzumerken, dass ein Antikörpernachweis nicht notwendigerweise bedeutet, daß das betroffene Tier

Tabelle 3: Seroprävalenz von Antikörpern gegen *T. gondii* bei Neuweltkameliden in Südamerika

Region	Tierart	untersucht (n)	Methode ¹⁾	Seroprävalenz (%)	Referenz
Peru (Puno)	Alpaka	160	IHA	50	Leguía et al. (1984)
Chile	Alpaka	447	IHA	16,3	Rojas et al. (1999)
Peru (Puno)	Vikunja	101	IHA	14,9	Pastor et al. (2003)
Peru (Puno)	Alpaka	200	IHA	44,5	Gómez et al. (2003)
	Lama	28		25	
Peru (Puno)	Lama	157	IFAT	10,2	Saravia et al. (2004)
Peru	Alpaka	270	IFAT	34,5	Suárez et al. (2004)
Peru (Puno)	Alpaka	284	IFAT	47,5	Marcas et al. (2004)
Peru (Cuzco)	Alpaka	272	IFAT	35,7	Ramírez et al. (2005)
Peru	Lama	43	IFAT	44,2	Chavez-Velásquez et al. (2005)
	Vikunja	200		5,5	
Peru (Ayacucho)	Vikunja	191	IFAT	5,8	Zuzunaga et al. (2006)
Peru (Junín)	Alpaka	200	IHA	21	Poma et al. (2008)
Argentinien (Jujuy)	Lama	308	IFAT	30	Moré et al. (2008)
Chile	Alpaka	127	MAT	11,8	Patitucci et al. (2006)
	Lama	113		43,3	

¹⁾ IFAT = Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörpertest
 IHA = Indirekter Hämagglutinationstest
 MAT = Modifizierter Hämagglutinationstest

infektiöse *T. gondii*-Zysten im Gewebe beherbergt (Dubey et al., 1995). Aus dem Kot von Katzen die mit Fleisch von Dromedaren gefüttert wurden, konnten jedoch *T. gondii*-Oozysten isoliert werden (Hilali et al., 1995).

Ob *T. gondii* bei Kameliden Ursache für Aborte sein kann ist nicht bekannt, eine experimentelle Infektion einer tragenden Lamastute blieb ohne Ergebnis (Jarvinen et al., 1999). Bei zwei Abortfällen in den USA konnte im Anschluß jedoch ein Anstieg des AK-Titers gegen *T. gondii* gemessen werden (Cheney und Allen, 1989). Bei einem Dromedar in den USA wurde ein Fall von akuter Toxoplasmose diagnostiziert. Das Tier hatte 4 Wochen zuvor einen Abort erlitten, jedoch machten die Autoren keine weiteren Angaben über evtl. Zusammenhänge zwischen dem Abort und der akuten Erkrankung (Hagemoser et al., 1990).

2.5.1.4 *Neospora caninum*

Zyklus und Wirte

N. caninum ist ein 1988 erstmalig beschriebenes, weltweit vorkommendes Kokzid mit einem zweiwirtigen Entwicklungszyklus (Dubey et al., 2007). Hunde und Kojoten wurden als Endwirte identifiziert. Dieser steckt sich durch den Verzehr von *Neospora*-Stadien enthaltendem Gewebe von Zwischenwirten an und scheidet anschließend fäkal Oozysten aus. Diese werden mutmaßlich oral vom Zwischenwirt aufgenommen, jedoch ist dieser horizontale Übertragungsweg im Feld noch nicht gezeigt worden.

Neospora-Zysten wurden in Geweben von Schafen, Ziegen und Hirschen gefunden. Serologische Nachweise konnten darüber hinaus bei verschiedenen natürlich exponierten Wildtieren wie Büffeln, Elchen, Karibus, Kamelen, Antilopen und sogar Walrossen, Seeottern, Delphinen und Orcas geführt werden (Dubey, 1999; Peters et al., 2001; Dubey und Thulliez, 2005; Gondim, 2006; Omata et al., 2006). Auch weitere Karnivore können als Zwischenwirt dienen, wie Wölfe, Rotfüchse, Australische Dingos und Feliden (Dubey et al., 2002; Gondim, 2006). Ob Wolf, Dingo und Fuchs auch als Endwirt fungieren können, ist nicht abschließend geklärt. Experimentelle Infektionen von letzteren zumindest verliefen negativ (Schaes et al., 2002), ebenso wie Kotuntersuchungen von 122 wildlebenden Füchsen in Spanien (Almeria et al., 2002). Allerdings wurden kürzlich in den Fäzes von wildlebenden Rotfüchsen in Kanada Oozysten gefunden die mittels PCR mit hoher Wahrscheinlichkeit als *N. caninum* identifiziert wurden (Wapenaar et al., 2006). Aufgrund der engen verwandtschaftlichen

Verhältnisse wird auch der Wolf als ein wahrscheinlicher Endwirt angesehen (Gondim et al., 2004b).

Weitere, für einen möglichen silvatischen Zyklus bedeutsame Zwischenwirte können Nager (insbesondere Ratten) und Vögel sein (Huang et al., 2004; Ferroglio et al., 2007; Furuta et al., 2007; Jenkins et al., 2007; Costa et al., 2008).

***N. caninum* beim Menschen**

Eine eventuelle Bedeutung von *N. caninum* als Zoonose-Erreger ist nicht abschließend geklärt. Ein Antikörperscreening bei 1029 Blutspendern brachte bei 69 Personen (6,7 %) ein positives Ergebnis. Von diesen waren 50 gleichzeitig negativ auf *T. gondii* (Tranas et al., 1999). Eine retrospektive Untersuchung des Serums von 76 Frauen, die vorberichtlich wiederholte Aborte erlitten hatten, ergab hingegen keinen einzigen positiven Befund (Petersen et al., 1999). Nach experimentellen Infektionen von tragenden Rhesusaffenweibchen konnte jedoch nach 70 Tagen eine transplazentare Infektion des Fetus nachgewiesen werden, welche einherging mit einer multifokalen, nichteitrigen, nekrotisierenden Meningoenzephalitis sowie einer milden Amnionitis (Barr et al., 1994).

In einer neueren Studie wurden vier Patientengruppen serologisch untersucht; eine Gruppe bestand aus Patienten mit neurologischen Störungen, eine zweite aus HIV-positiven Personen. Diese wurden verglichen mit einerseits gesunden Erwachsenen und andererseits einer Gruppe Neugeborener. Dabei zeigten die ersten beiden einen signifikant höheren Anteil an serologisch positiven Personen im Vergleich zu den Gesunden / Neugeborenen und weiterhin eine signifikante Assoziation mit positiven Antikörpertitern gegen *T. gondii* (Lobato et al., 2006).

***N. caninum* beim Hund**

Hunde können sich intrauterin oder postnatal durch die Aufnahme zystenhaltigen Fleisches oder sporulierter Oozysten infizieren. Infektionen können subklinisch, akut oder chronisch verlaufen und in allen Alterstufen vorkommen. Dabei kommt es insbesondere bei jungen Hunden zu Paresen der Hinterhand infolge einer Polyradikulitis-Myositis und Muskelatrophie. Neben weiteren neurologischen Störungen wurden darüber hinaus auch Pneumonien, Myokarditiden und ulzerative Dermatitiden beschrieben (Dubey et al., 1988a; Barber und Trees, 1996; Barber und Trees, 1998; Dubey, 1999; Eckert et al., 2005; Reichel et al., 2007).

Prävalenzen, die weltweit an Hundepopulationen untersucht wurden, lagen zwischen 0 % und 33 %, wobei Tiere in ländlichen Regionen in stärkerem Maße betroffen waren als Hunde aus urbanen Gebieten. Ebenso waren Hofhunde aus Rinderbetrieben mit

einer nachgewiesenen *Neospora*-Infektion der Mutterkühe ebenfalls häufiger serologisch positiv (Sawada et al., 1998; Patitucci et al., 2001; Wanha et al., 2005). Das gleiche galt für Hunde, die mehrheitlich mit rohem Fleisch gefüttert wurden, gegenüber Tieren mit einer anderweitigen Diät (Patitucci et al., 2001).

Unterschiede bezüglich des Geschlechts konnten nur in einer Studie in den Niederlanden festgestellt werden. Hier waren Hündinnen in höherem Maße positiv als Rüden (Wouda et al., 1999b). Manche Autoren konnten zumindest einen leichten Anstieg der Seroprävalenz mit zunehmendem Alter der Tiere feststellen (Sawada et al., 1998; Wouda et al., 1999b; de Souza et al., 2002; Wanha et al., 2005), während andere diesbezüglich keine Unterschiede fanden (Patitucci et al., 2001; del Campo S. et al., 2003; Horna M. et al., 2003; Cornejo et al., 2004). Lindsay (1996) untersuchte 52 Coyoten in den USA und fand bei 10 % von ihnen Antikörper. Das Verfüttern von Gehirnen von experimentell infizierten Mäusen an drei Kojotenwelpen führte jedoch bei diesen zu keinen klinischen Symptomen, und es ließen sich weder Antikörper im Serum noch Parasiten in den Geweben der Tiere nachweisen (Lindsay et al., 1996).

In Lateinamerika lagen die Seroprävalenzen bei Hunden zwischen 12,5 % in urbanen Gegenden und bis zu 33 % in ländlichen Regionen (Barber et al., 1997; del Campo S. et al., 2003). Dabei machte es keinen Unterschied, ob es sich um Tiere aus andinen Gebieten oder um solche aus niedriger gelegenen tropischen Gegenden handelte.

***N. caninum* beim Rind**

Rinder sind natürliche Zwischenwirte von *N. caninum*, bei welchen er inzwischen als einer der bedeutsamsten Aborterreger erkannt wurde. Die Seroprävalenzen von *N. caninum* bei Rindern in Südamerika lagen zwischen 12 % und 67 % (Tab. 4).

Auch andere Wiederkäuer (Büffel, Schaf, Ziege, Gemse, Hirsch, Reh) und Kameliden erwiesen sich als seropositiv, wobei die Relevanz dieser Befunde aber noch ungeklärt ist. Neben Hunden ist bisher das Rind die einzige weitere Spezies, bei der die Infektion zu schweren Symptomen führt, wobei nur Jungtiere unter zwei Monaten klinisch erkranken, während bei adulten Kühen der Abort als einziges klinisches Merkmal auftritt (Parish et al., 1987; Dubey et al., 1989a; Dubey, 1999). Bei experimentellen Infektionen waren bereits 300 Oozysten ausreichend, um Kälber zu infizieren (Gondim et al., 2002). Experimentelle Infektionen von tragenden Kühen zeigten, daß bereits eine Dosis von 1.500 Oozysten ausreichend für eine transplazentare Infektion des Fetus war (Gondim et al., 2004a). Die wichtigste Ansteckungsmöglichkeit stellt jedoch die vertikale (diaplazentare) Übertragung auf den Fetus dar (Dubey et al., 2007).

Aborte treten bei Kühen ab dem 3. Monat, meist jedoch um die Mitte der Trächtigkeit im 5. bis 6. Monat auf, wobei sie in frühen Stadien mit Resorption des Fetus unerkant bleiben können (Anderson et al., 1995; Wouda et al., 1999a). Seropositive Kühe benötigen eine höhere Anzahl an Besamungsversuchen pro Trächtigkeit als nicht-infizierte (Hall et al., 2005). Bei Infektionen zu späteren Zeitpunkten kann es zur Geburt permanent infizierter Tiere ohne klinische Symptome kommen (Anderson et al., 1997). Solche kongenital infizierten Tiere haben später wiederum selber eine dreifach höhere Wahrscheinlichkeit zu abortieren als seronegative Tiere (Wouda et al., 1998).

Tabelle 4: Seroprävalenz von Antikörpern gegen *N. caninum* bei Rindern in Südamerika

Land	Rinderart	untersucht (n)	Methode ¹⁾	Seroprävalenz (%)	Referenz
Chile (zentral)	Milchkühe	371	IFAT	22,4	Patitucci et al. (2000)
Paraguay	Rinder	879	ELISA & Immunoblot	29,8	Osawa et al. (2002)
Peru (Amazonas)	Milchkühe	265	IFAT	40,4	Quevedo et al. (2003)
Uruguay	Milchkühe	155	IFAT	60	Kashiwazaki et al. (2004)
	Färsen	31		67,7	
	Kälber	31		22,6	
Peru (Lima)	Milchkühe	304	IFAT	29,6	Silva et al. (2005)
Peru (Puno)	Milchkühe	419	IFAT	18,1	Atoccsa et al. (2005)
Uruguay	Rinder	4444	ELISA	13,9	Bañales et al. (2006)
Peru (Junín)	Milchkühe	347	IFAT	12,4	Puray et al. (2006)

¹⁾ IFAT = Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörpertest

Andere Autoren halten seropositive Rinder sogar für noch stärker gefährdet und gehen von einem neun- bis dreizehnfach höherem Risiko zu Abortieren aus als bei seronegativen Tieren (Hall et al., 2005; Koiwai et al., 2005). Dieses Risiko ist bei der ersten Gravidität am höchsten und nimmt mit zunehmenden Trächtigkeiten ab (Thurmond und Hietala, 1997; Wouda et al., 1998; Dijkstra et al., 2003). Insgesamt wird die transplazentare Übertragung als Hauptinfektionsweg gesehen (Anderson et al., 1997) und die Wahrscheinlichkeit für eine vertikale Übertragung mit bis zu 95 % angegeben (Davison et al., 1999; Hietala und Thurmond, 1999). Dadurch kann sich eine *Neospora*-Infektion über mehrere Jahre stabil in einer Herde halten (Pabon et al., 2007).

Ob auch eine venerische Übertragung eine Rolle spielt, ist noch nicht geklärt; allerdings konnte mittels real-time PCR *N. caninum*-DNA im Sperma von infizierten Bullen nachgewiesen werden. Die berechnete Parasitenkonzentration war jedoch niedrig und wurde mit durchschnittlich ein bis drei Parasiten pro Milliliter angegeben (Ortega-Mora et al., 2003; Caetano-da-Silva et al., 2004). Künstliche Besamung, bei der das Sperma mit 10^7 Tachyzoiten versetzt worden war, führte allerdings zu einer Etablierung der Infektion im Muttertier (Serrano et al., 2006), der gleiche Versuch einer anderen Arbeitsgruppe blieb hingegen erfolglos (Canada et al., 2006).

***N. caninum* bei Kameliden**

Bei Kameliden wurde *N. caninum* erstmals bei Kamelen in Ägypten festgestellt. Auch wenn keine genauen Angaben zur Art gemacht werden, ist dabei vermutlich das Baktrische Kamel (*C. bactrianus*) gemeint. Die serologische Untersuchung von 161 Tieren ergab eine Seroprävalenz von 3,8 % für *N. caninum* (Hilali et al., 1998). Bei 120 Dromedaren (*Camelus dromedarius*) im Iran wurde mit 5,8 % eine ähnliche Seroprävalenz für gefunden (Sadrebazzaz et al., 2006).

In Südamerika wurde *Neospora* erstmals 1997 bei Rindern in Argentinien serologisch nachgewiesen (Venturini et al., 1995) und 1997 bei Hunden in Uruguay (Barber et al., 1997). Campero konnte 1998 in Argentinien erstmals Tachyzoiten und Cysten von *N. caninum* im Gehirn von abortierten Kälbern mittels immunhistologischer Methoden direkt nachweisen (Campero et al., 1998).

Chávez-Velasquez konnte den Erreger 2002 erstmals bei Neuweltkameliden bestätigen. Die Seroprävalenzen von *N. caninum* bei Neuweltkameliden in den bisher in Südamerika durchgeführten Studien lagen zwischen 5 % und 42 % (Tab. 5)

Inwieweit *N. caninum* als Aborterreger bei Neuweltkameliden eine ähnliche Bedeutung zukommt wie bei Rindern, ist bisher nur ansatzweise erforscht. In 2004 wurde bei der Untersuchung von 15 abortierten Feten (6 Alpakas und 9 Lamas) aus dem Departament Puno erstmals Antigen von *N. caninum* mittels PCR bei drei der Feten (2 Alpakas und 1 Lama) nachgewiesen (Serrano-Martinez et al., 2004).

Erst kürzlich wurden weitere 50 abortierte Feten von 18 Lamas und 32 Alpakas aus den peruanischen Departements Junín und Puno untersucht, dabei wurden in 38 % der Fälle Läsionen in ZNS, Herz, Leber Lunge, Niere und Nebenniere festgestellt, die mit protozoären Infektionen assoziiert wurden. In 14 dieser Fälle konnte *N. caninum* entweder durch Immunhistologie oder PCR bestätigt werden. Parallel durchgeführte Untersuchungen auf *T. gondii* blieben dagegen ausnahmslos negativ (Serrano-Martinez et al., 2007)

Tabelle 5: Seroprävalenz von Antikörpern gegen *N. caninum* bei Neuweltkameliden in Ländern Südamerikas

Land	Tierart	untersucht (n)	Methode ¹⁾	Seroprävalenz %	Referenz
Peru (Hochland)	Alpaka Lama	92 212	IFAT	42,4 18,4	Chavez-Velásquez et al. (2002)
Peru (Puno)	Lama	275	IFAT	16,7	Moya et al. (2003)
Peru (Hochland)	Alpaka Lama	78 73	IFAT	39,5 31,5	Chavez-Velásquez et al. (2004)
Peru (Junín)	Lama	175	IFAT	2,9	Casas et al. (2006)
Argentinien (Jujuy)	Lama	308	IFAT	4,6	Moré et al. (2008)

¹⁾ IFAT = Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörpertest

2.5.1.5 *Sarcocystis* spp.

Zyklus und Wirte

Sarcocystis-Arten gehören zu den „zystenbildenden Kokzidien“ und haben einen obligat heteroxenen Entwicklungszyklus, der über einen meist wenig wirtsspezifischen, karnivoren Endwirt und einen spezifischen Zwischenwirt verläuft: Der Endwirt (Karnivore, Mensch) infiziert sich durch Verzehr der im Fleisch des Zwischenwirts liegenden Zysten. In seinem Darm läuft zunächst die geschlechtliche (Gamogonie) und anschließend eine erste ungeschlechtliche (Sporogonie) Vermehrung ab, woraufhin er mit seinem Kot bereits für den spezifischen Zwischenwirt (Herbi- oder Omnivore) infektiöse Oozysten oder Sporozysten ausscheidet. Nach oraler Aufnahme dieser exogenen Dauerstadien durch einen geeigneten Zwischenwirt kommt es in dessen Geweben zu weiteren ungeschlechtlichen Vermehrungen (Merogonie) an deren Ende die Bildung von intramuskulären Zysten steht, die als endogene Dauerstadien anzusehen sind (Eckert et al., 2005).

Sarcocystis spp. bei Kameliden

Es sind bis heute mehr als 120 *Sarcocystis*-Arten beschrieben worden, davon drei Arten die bei Neuweltkameliden als Zwischenwirte parasitieren; *S. aucheniae* (Brumpt, 1913), *S. tilopodi* (Quiroga et al., 1969) und *S. lamacanis* (Leguía et al., 1989).

Bei Altweltkamelen wurde *Sarcocystis* bereits 1910 durch Mason bei einem Kamel in Ägypten beschrieben. Er fand in der quergestreiften Muskulatur zwei verschiedene Zystenformen, die er für unterschiedliche Entwicklungsformen ein und desselben Parasiten hielt, und nannte sie *S. cameli*. Eine Zyste zeichnet sich durch eine glatte,

dünne Wand aus ($<1\mu\text{m}$), die der anderen war gestreift und $1 - 2\mu\text{m}$ dick. Da letztere häufiger gefunden wurde, wurde sie von Dubey et al (1989b) als *S. cameli* (Dubey et al., 1989b) bezeichnet, während er die andere Zystenform unbenannt ließ. Der Endwirt der beim Kamel vorkommenden *Sarcocystis*-Arten ist der Hund (Hilali und Mohamed, 1980).

Eine erste Beschreibung vom *Sarcocystis* bei Neuweltkameliden gab es vermutlich ebenfalls schon in 1910 durch Torregiani, welcher von Carette (Carette, 1911) zitiert wird. Diese Arbeiten wurden später von Brumpt bestätigt, der 1913 *S. aucheniae* beim Lama beschrieb. Quiroga et al. (1969) führten zwischen 1966 bis 1968 insgesamt 119 Sektionen an Guanakos in Argentinien durch und fanden dabei in 40 % der untersuchten Tiere makroskopisch erkennbare Zysten in der quergestreiften Muskulatur, ein einziges Mal auch im Oesophagus. Im Januar 1967 präsentierten sie ihre Ergebnisse auf dem „Primer Congreso internacional de Parasitología“, in Santiago de Chile und schlugen *S. tilopodi* als neue Art bei Guanakos vor.

Sarcocystis spp. bilden in der quergestreiften Muskulatur von Neuweltkameliden bis zu 1,5 cm große Makrozysten (Guerrero und Leguía, 1987). Daneben treten kleinere, nur mikroskopisch erkennbare Zysten auf, deren Durchmesser von $30-120\mu\text{m}$ variiert. (Guerrero et al., 1967b; Castro, 1974; Schnieder et al., 1984). Manche Autoren sehen in den beiden unterschiedlich großen Zysten zwei unterschiedliche Arten. So infizierte Leguía (1989) eine Gruppe von Hunden mit Makrozysten und eine zweite Gruppe mit Mikrozysten aus Herz- und Skelettmuskulatur eines Alpakas. Für die mikrozysteninfizierten Hunde wurden 9-14 Tage Präpatenz- und 60-70 Tage Patenzzeit dokumentiert, für die mit Makrozysten infizierten dagegen 11-20 Tage Präpatenz und 20-41 Tage Patenzzeit. Es wurde daraufhin die Existenz zweier verschiedener Spezies postuliert und vorgeschlagen die Makrozysten als *Sarcocystis aucheniae* und die Mikrozysten als *S. lamacanis* zu bezeichnen. Möglicherweise sind jedoch *S. lamacanis* ebenso wie *S. tilopodi* bei Guanakos Synonym für *S. aucheniae*. Bis heute haben keinerlei Kreuzinfektionsversuche zwischen den verschiedenen *Sarcocystis*-Arten bei Neuweltkameliden-Arten stattgefunden. Aufgrund der Ergebnisse von Matuschka (1983), der eine Sarkosporidienart des Esels über den Hund auf das Pferd übertragen konnte, hielten es Schnieder et al. (1984) seinerzeit für wahrscheinlich, daß es sich bei Neuweltkameliden in ähnlicher Weise um nur eine gemeinsame Art *S. aucheniae* handelt. Auch andere Autoren sahen in diesem Zusammenhang die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen (Odening, 1998; Beldomenico et al., 2003).

Als Endwirte von *Sarcocystis* spp. bei Neuweltkameliden sind bisher ausschließlich Hunde bekannt, Katzen ließen sich mit diesen Arten nicht infizieren. Die Präpatenz dauert 6 bis 23 Tage, die Patenz kann von einer Woche bis zu 70 Tagen anhalten (Alva, 1981; Gorman et al., 1984; Schnieder et al., 1984; Leguía et al., 1989; Cornejo et al., 2007).

Vorkommen & Prävalenz bei Neuweltkameliden

Prävalenzbestimmungen von Infektionen mit *Sarcocystis* spp. wurden bisher fast ausschließlich auf Basis von post mortem-Untersuchungen, d.h. in der Regel an Schlachttierkörpern, durchgeführt. Die dabei gefundenen Befallsraten lagen zwischen 9 % und 100 %, wobei zu beachten ist, daß manche Proben nur makroskopisch, andere sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch untersucht wurden. Allerdings fand Castro (1974) für beide Methoden annähernd gleiche Ergebnisse. Es zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede in der Lokalisation der Zysten; so fanden sich in der Herzmuskulatur ausschließlich Mikroformen während in der Skelettmuskulatur nur Makrozysten vorkamen (Tab. 6). Erste, vor kurzem durchgeführte, serologische Untersuchungen an 941 Alpakas aus dem Departement Junin in Peru ergaben eine Prävalenz von 89,7 %. Tiere der Altersklasse von unter einem Jahr hatten in 46 % Antikörper gegen *Sarcocystis*, bei allen älteren Tiergruppen lag der Anteil bei 95 % oder darüber (Castro et al., 2004).

Tabelle 6: Prävalenz von Gewebszysten von *Sarcocystis* spp. bei Schlachtkörper-Untersuchungen von Neuweltkameliden in Ländern Südamerikas

Land	Tierart	untersucht (n)	Methode ¹⁾	Organ	Prävalenz (%)	Referenz
Peru	Alpaka	200	Ma + Mi	Herz Oesophagus Muskulatur	100 99,5 99,5	Guerrero et al. (1967)
Peru (Puno)	Lama	131	Ma / Mi	Herz Zwerchfell Muskulatur	0 / 98,4 74 / 90,1 98,4 / 0	Castro et al. (1974)
Peru (Puno)	Alpaka	5.873	Ma	Muskulatur	9	Alva et al. (1980)
Bolivien (Hochebene)	NWK	1.023	Ma	Muskulatur	24,64	Ayala (1999)
Peru (Puno)	Alpaka	120	Ma + Mi	Oesophagus Zwerchfell Muskulatur	94,6	Valerrama (1999)

¹⁾ Ma = makroskopische Untersuchung
Mi = mikroskopische Untersuchung

Auch bei Guanakos in Argentinien konnten bei Tieren, welche infolge einer Dürre verendet waren, bei 8 von 12 Fällen Zysten von *Sarcocystis* spp. festgestellt werden (Beldomenico et al., 2003).

Pathogenität und Pathologie bei Neuweltkameliden

Experimentelle Infektionen bei jungen Alpakas mit Sporozysten einer nicht näher genannten *Sarcocystis*-Art, die aus Hundekot gewonnen wurden, führten in einem Falle (bei Infektion mit 40.000 Sporozysten) zu einem subakuten, bei drei weiteren Tieren (bei Infektion mit 160.000 Sporozysten) zu akuten Krankheitsverläufen (mit Anorexie, Gewichtsverlust, blassen Schleimhäuten und Fieber) und 3 bis 4 Wochen p. i. zum Tod. Während dieser Zeit ergaben die Laborparameter der hochinfizierten Tiere einen erniedrigten Hämatokrit und einen Aktivitätsanstieg der Leberenzyme (AST, ALT, γ -GT und LDH) (Sam et al., 1978). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Leguía et al (1990) bei der Infektion von Alpakas im Alter von vier Monaten mit einer Dosis von 160.000 Sporozysten, jedoch starben die Tiere bereits innerhalb von 3 bis 4 Tagen p. i. Zuvor waren vermehrter Speichelfluß und motorische Störungen feststellbar. Die Sektion ergab Blutungen der serösen Häute und des Zentralen Nervensystems, desweiteren Hydrothorax, Hydropericard und Nekrosen in der Skelett- und Herzmuskulatur. Experimentelle Infektionen mit geringeren Dosen von *Sarcocystis* spp. (1.000, 2.500 und 5.000 Sporozysten) führten zu verminderten Gewichtszunahmen und erniedrigten Hämatokritwerten. Insgesamt starben im weiteren Verlauf der Studie 25 von 63 Tieren (39,7 %), wobei die Mortalität in der am höchsten infizierten Gruppe mit 92,3 % am größten war. Allerdings starben auch zwei Tiere aus den nichtinfizierten Kontrollgruppen (Chavez-Velasquez et al., 2008). Klinische Fälle aufgrund einer Feldinfektion mit *Sarcocystis* spp. sind nicht bekannt bis auf einen Fall von Abort bei einem Lama im Zusammenhang mit einer post mortem diagnostizierten Sarcocystose und eosinophilen Myositis (La Perle et al., 1999).

Prävention und Therapie

Die Unterbrechung des Zyklus des Parasiten ist auf verschiedene Weise möglich, entweder durch Verhindern einer Ansteckung des Endwirts oder des Zwischenwirts. Für letzteres müssen Hunden konsequent von Weideflächen und, sofern vorhanden, Ställen der Neuweltkameliden entfernt gehalten werden. Die Verhinderung einer Ansteckung der Hunde ist durch verschiedene Behandlungen des zu verfütternden Fleisches möglich. Sowohl Tiefgefrieren (< -18°C, 5 Tage) als auch Kochen des

Fleisches (> 60°C) konnte verhindern, daß Hunde nach dem Verfüttern Sporozysten ausschieden, während Kühlen (5°C, 30 Tage) alleine nicht ausreichend war (Gorman et al., 1984). Auch andere thermische Verfahren wie Backen (105°C, 65 min), und Braten konnten Infektionen erfolgreich unterbrechen (Godoy et al., 2007). Auch nicht-thermische Methoden sind geeignet um Sarkosporidien-Zysten im Fleisch ihre Infektiösität zu nehmen. Marinieren (200 ml 5%ige Essigsäure, 5 g Salz, 48h), Räuchern (60°C, 2 h) sowie trockenes (1kg Salz, 1g Nitrit, 250g Zucker / 2 kg Fleisch) und feuchtes Pökeln (1kg Salz, 1,3g Nitrit, 1000g Zucker, 10l Wasser / 2 kg Fleisch, 10d) waren ebenfalls geeignet, den Infektionszyklus zu unterbrechen (Granados et al., 2007).

Allerdings lassen sich im Tierversuch weitere Unterschiede zwischen den verschiedenen Verfahren feststellen. Injizierte man Kaninchen subkutan Lysat von Zystenmaterial aus unbehandelten Fleischstücken, so führte die innerhalb von 5 bis 25 Stunden zum Tod der Tiere, während Material aus thermisch behandeltem Fleisch keine sichtbaren Reaktionen auslöste (Sam et al., 1998; Godoy et al., 2007). Lysat aus tiefgefrorenem Fleisch führte zu leichter klinischer Symptomatik (Hyperthermie, Apathie, gerötete Konjunktiven und Anorexie) (Godoy et al., 2007). Die gleichen Symptome zeigten auch die Kaninchen, die mit Zystenlysat aus feucht gepökeltem Fleisch inokuliert worden waren, während Tiere denen Material aus geräuchertem, mariniertem und trockengepökeltem Fleisch injiziert wurde klinisch unauffällig blieben (Granados et al., 2007). Wenn infiziertes Fleisch in einem traditionellen Verfahren, bei dem das Fleisch gesalzen und luftgetrocknet wird, zu sogenannten „Charqui“ verarbeitet wird, konnte mikroskopisch eine Zerstörung der Zysten nachgewiesen werden (Ayala, 1999). Es liegen jedoch keine Erkenntnisse aus Infektionsversuchen mit Hunden vor, allerdings ist zu vermuten, daß diese Methode ähnliche Resultate wie das Trockenpökeln erbringen könnte.

Für pharmakologische Therapie einer Sarcocystiose stellt sich beim Zwischenwirt wegen der Schwierigkeit der Diagnose kaum eine Indikation. für die Behandlung von Hunden wird aufgrund der Erfahrung bei anderen Tierarten zwar der Einsatz von Toltrazuril empfohlen (Eckert et al., 2005). bei Hunden die experimentell mit Zysten von *Sarcocystis* spp. infiziert worden waren, war es jedoch in keinem Fall möglich die Sporozystenausscheidung mit Toltrazuril wirksam zu bekämpfen (Vilca et al., 2007).

2.5.2. Trematoden

Fasciola hepatica, *Fascioloides magna* und *Dicrocoelium dendriticum* können bei Neuweltkameliden parasitieren, aus Südamerika sind jedoch nur Fälle von Infektionen mit *F. hepatica* bekannt (Conboy et al., 1988; Leguía und Casas A., 1999; Hertzberg und Kohler, 2006). Da der Nachweis dieser Parasiten ein spezielles Verfahren erfordert und sie nicht Gegenstand der durchgeführten Untersuchungen waren wird auf sie nicht weiter eingegangen.

2.5.3 Cestoden

Bei Neuweltkameliden treten Infektionen mit den bei Wiederkäuern vorkommenden, Zestodenarten *Moniezia expansa* und *Moniezia benedeni* auf (Chávez und Guerrero, 1960; Hurtado et al., 1985a; Güttler, 1986; Beldomenico et al., 2003). Die Entwicklung ist zweiwirtig und obligat an Moosmilben gebunden (Eckert et al. 2005). Die Herdenprävalenz bei Lamas und Alpakas, die in Chile gemeinsam mit Schafen gehalten wurden betrug zwischen 3 % und 30 % (Rojas et al., 1993). Für *M. expansa* wurden in Argentinien Moosmilben der Gattungen *Zygoribatula* und *Ceratozetes* als Zwischenwirte identifiziert (Denegri, 1989).

2.5.4 Nematoden

In diesem Kapitel werden nur die im Darm parasitierenden Würmer besprochen; Parasiten anderer Organe und Gewebe werden nicht abgehandelt. Angaben über Vorkommen, Prävalenz und Befallsstärke beziehen sich, sofern nicht anders angegeben, ausschließlich auf den südamerikanischen Raum des Altiplano und vorwiegend auf dessen peruanisches Gebiet.

Neuweltkameliden infizieren sich einerseits mit Nematoden, die auch bei anderen Wiederkäuern weitverbreitet sind – dazu gehören Arten der Gattungen *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Cooperia*, *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Camelostrongylus*, *Oesophagostomum*, *Capillaria*, *Chabertia*, *Trichuris* und *Strongyloides*. Einige Arten wurden bisher nur bei Neuweltkameliden nachgewiesen, wie *Graphinema aucheniae*, *Spiculopteragia peruvians*, *Lamanema chavezi* und *Nematodirus lamae* (Vallenas et al., 1960; Guerrero und Alva, 1986; Hill et al., 1993; Leguía und Casas A., 1999).

Aktuelle Daten über die durch Nematoden- oder Parasitenbefall allgemein entstandenen wirtschaftlichen Schäden liegen nicht vor. Die letzten offiziellen Erhebungen des peruanischen Agrarministeriums datieren aus dem Jahr 1973 (Leguia, 1991). Rickard (1994) schätzt die jährlichen Verluste durch Parasiten bei Alpakas in Südamerika auf 1.000.000 \$, gibt jedoch keine konkrete Quellen an.

2.5.4.1 Magen-Darm-Strongyliden

2.5.4.1.1 Vertreter und allgemeine Entwicklung

Arten und Gattungen dieser Gruppe besiedeln sämtliche Abschnitte des Verdauungstraktes. *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Haemonchus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Camelostrongylus*, *Graphinema*, *Spiculoptera* und *Lamanema* finden sich in Magen und Dünndarm, während *Oesophagostomum* und *Chabertia* im Dickdarm parasitieren.

Die gefurchten Eier dieser Arten werden mit dem Kot ausgeschieden und entwickeln sich über vier Larvenstadien zu präadulten Würmern welche dann durch Wachstum zu geschlechtsreifen Adulten ausdifferenzieren. Eine Gattungsdifferenzierung anhand der Morphologie der Eier ist nicht möglich (Magen-Darm-Strongyliden-Eier / Eier vom MDS-Typ) Eine Ausnahme stellen *Lamanema cavezi* und *Nematodirus* spp. dar. Als weitere Besonderheit vollzieht sich bei diesen Gattungen die komplette Entwicklung zur infektiösen L3 innerhalb der Eihülle (Bauer, 1990; Fowler, 1998; Eckert et al., 2005).

2.5.4.1.2 Einflüsse auf die Infektion

Mehrere Faktoren können den Beginn, den Verlauf und die Intensität einer Nematodeninfektion beeinflussen, wie die klimatischen Bedingungen, Art der Nematoden, sowie Alter und Immunstatus des Wirtes.

Klimatische Einflüsse:

Das andine Hochland stellt mit seinen klimatischen Bedingungen eine für die exogenen Stadien der meisten Strongylidenarten eher ungünstige Umwelt dar (Rojas, 1990). Besonders die niedrigen Niederschlagsmengen und ebensolchen Temperaturen im Zeitraum von Mai bis September (Trockenzeit) erschweren den Larven die Entwicklung zum infektiösen dritten Stadium. Da sich bei *Nematodirus*- und

Lamanema-Arten die Entwicklung der infektiösen Larven in der Eihülle vollzieht, sind diese Nematoden gegenüber den während der Trockenzeit herrschenden Umweltbedingungen widerstandsfähiger als andere Magen-Darm-Strongyliden. Während letztere hypobiotisch in ihren Wirten verharren, besteht bei einer Infektion mit *Lamanema*- und *Nematodirus*-Arten eine ganzjährige Weidekontamination (Chávez et al., 1967; Leguía und Bendezu, 1974; Guerrero und Leguía, 1987; Rojas et al., 1987; Leguía, 1991; Nuñez und Rojas, 1992). Tabelle 7 gibt eine Übersicht der Nematoden im Darm von Alpakas die einmal während der Regen- und einmal während der Trockenzeit geschlachtet wurden.

Tabelle 7: Wurmbürde von Alpakas während der Trocken- und der Regenzeit in Peru

Nematoden-Spezies	Mittlere Wurmbürde	
	Regenzeit n = 60	Trockenzeit n = 60
<i>Lamanema chavezii</i>	163	101
<i>Trichostrongylus axei</i>	19	4
<i>Ostertagia</i> spp.	4	1
<i>Nematodirus</i> spp.	111	53
<i>Graphinema aucheniae</i>	3	0
<i>Cooperia</i> spp.	7	35
<i>Capillaria</i> spp.	1	0
<i>Camelostrongylus mentulatus</i>	16	0

Quelle: Yucra (2002), es wurden je 60 Tiere pro Jahreszeit untersucht

Trächtigkeit:

Unter den klimatischen Bedingungen des andinen Hochlandes sind Neuweltkameliden nur von November bis April fruchtbar, während Tiere die in gemäßigeren Regionen gehalten werden das ganze Jahr über tragend werden können. In ihrem natürlichen, hochandinen Lebensraum kommen die Nachkommen nach elfmonatiger Tragedauer in der Zeit mit dem bestmöglichen Futterangebot zur Welt (Sumar, 1999; Brown, 2000). Damit geht jedoch eine peripartale Immunsuppression der Muttertiere einher, welche diese für Infektionen zusätzlich anfällig macht (Nuñez et al., 1985; Rojas, 1990; Leguía, 1991; Nuñez et al., 1995).

Andere Studien zeigten jedoch auch unerwartete Verläufe in der Eiausscheidung, die von dem oben beschriebenen Schema abweichen. So fanden sich in einer vier Jahre dauernden Longitudinalstudie Maxima in der Eiausscheidung, die v.a. durch die Eier der MDS-Fraktion bedingt waren und in den Höhepunkt der Trockenzeit fielen (Rojas et al., 1987). In einer weiteren Longitudinalstudie erreichte die Eiausscheidung zwar einen Spitzenwert im März, der über den Lauf eines Jahres kontinuierlich abfiel, jedoch 12 Monate später wider Erwarten einen Tiefpunkt erreichte, statt erneut anzusteigen (Guerrero und Alva, 1986).

Alter der Tiere

Neben den Jahreszeitlichen Unterschieden und den peripartalen Einflüssen hat v.a. das Alter der Wirtstiere und die sich damit entwickelnde Immunität einen Einfluß auf den Grad der Wurmbürde des Tieres. Laut Rojas et al. (1987) beginnen Fohlen ab einem Alter von vier bis fünf Monaten Eier auszuscheiden. In dieser über 3,5 Jahre durchgeführten Longitudinalstudie an 60 Fohlen stellte sich die Eiausscheidung sehr uneinheitlich dar und war gekennzeichnet von einem fieberkurvenähnlichen Verlauf. So zeigten die Tiere teilweise auch während der trockenen Wintermonate Eiausscheidungen von über 100 EpG (mit MDS-Eiern als stärkster Fraktion) und erreichten erst im Alter von drei Jahren maximale Werte von 250 EpG. In einer weiteren Untersuchung von Alpakas und Lamas verschiedener Altersgruppen fanden sich bereits bei Alpakafohlen im Alter von zwei Monaten erste Eier von Magen-Darm-Strongyliden, jedoch noch in zu geringer Menge, um sie im McMaster-Verfahren quantifizieren zu können. Die Prävalenzen der Infektionen nahmen mit dem Alter zu und die Eiausscheidung adulter Tiere zwischen ein bis drei Jahren lag annähernd konstant bei Werten um 200 EpG (Rojas et al., 1993). Alpakas in Chile die während des Übergangs von der Trocken- zur Regenzeit untersucht wurden schieden als Fohlen maximal 100 EpG aus, dagegen blieben die Werte bei älteren Tieren unter 50 EpG. Den geringsten Befall zeigten die Tiere im Alter von ein bis zwei Jahren, mit Werten unter 20 EpG (Valenzuela et al., 1998). In einer neueren Studie an 120 Alpakas konnte nur für die Hengste ein signifikanter Anstieg nach dem 5. Lebensjahr aufgezeigt werden, für die restlichen Altersstufen sowie die Stuten ließ sich keine sichere Aussage gewinnen (Yucra, 2002).

In der bis heute umfangreichsten, auf der Untersuchung von Darminhalten basierenden Studie führten Chavez et al. (1967) insgesamt 199 Sektionen bei Alpakas durch. Die höchsten Wurmbürden hatten dabei Tiere bis zum Alter von zwei Jahren; hier wurden im Schnitt 2.000 Würmer isoliert, während bei Tieren im Alter von zwei bis

fünf Jahren die Anzahl an Darmnematoden auf unter 500 zurückging. In Neuseeland wurde Alpakafohlen untersucht, die auf Weiden grasten, welche sie sich mit Schafen teilten oder die vormals von Schafen beweidet worden waren. Die Tiere zeigten im Alter von vier bis sechs Monaten EpG-Peaks, nach 12 Monaten tendierte ihre Eiausscheidung jedoch wieder gegen null, manche zeigten auch eine intermittierende Ausscheidung (Green et al., 1996). Eine deutsche Longitudinalstudie über einen Zeitraum von acht Monaten aus Hessen kam zu einem ähnlichen Ergebnis, auch hier waren die Jungtiere bei mittleren EpG-Zahlen von unter 300 stärker befallen als die Alttiere (Kowalik et al., 1998).

2.5.4.1.3 Verbreitung und Intensität

Es gibt aus Südamerika nur wenige verfügbare Querschnitts- oder Longitudinalstudien die epidemiologisch relevante Daten liefern. Verschiedene Autoren haben jedoch im Rahmen von Wirksamkeitsstudien für Anthelminthika koprologische Untersuchungen an z.T. sehr umfangreichen Individuenzahlen durchgeführt, mit dem Ziel, für die Studie geeignete Tiere mit hohen EpG-Zahlen auszusuchen. Leider sind die Ergebnisse

Tabelle 8: Mittlere Intensität der Nematoden-Eiausscheidung (EpG) von Alpakas in Peru

	untersucht (n)	Mittlere Eiausscheidung (EpG)				Referenz
		MDS	N. spathiger	N. lamae	L. chavezii	
	120	90	16	15	42	Guerrero & Chavez (1966)
	5		511	172	1191	Aguilar (1970)
	294	82	17	40	56	Vargas et al. (1972)
Regenzeit	97	34	13	6	4	Leguía & Bendezu (1974)
Trockenzeit		21	8	5	3	
Regenzeit	75	254	265	286		Zanabria & Yucra (1988)
Trockenzeit		167	214	214		
Regenzeit	480	224	227	293		Mamani et al. (1989)
Trockenzeit		180	197	229		
Altersklasse						
2 Monate	30	+ in Anr.	+ in Anr.	neg	+ in Anr.	Rojas et al. (1993)
1 Jahr	30	29	40	50	85	
2 Jahre	30	86	25	50	67	
3 Jahre	30	83	-	25	83	

dieser Screening-Untersuchung meistens nicht veröffentlicht. In einer publizierten Studie untersuchten Vargas et al. (1972) 500 Alpakas einer im peruanischen Altiplano gelegenen Farm und wählten aus diesen 354 Tiere „mit hohen EpGs“ aus. Dies würde eine Prävalenz von mindestens 70 % bedeuten. Vallenas et al. (1960) untersuchten mit dem gleichen Ziel 1243 Alpakas, von denen 308 (24,8 %) Tiere „mit EpGs > 200“ für die folgende Studie verwendet wurden. Reguläre Bestandsuntersuchungen zur Feststellung der Mittleren Intensität der Eiausscheidung liefern sehr unterschiedliche EpG-Werte. Sie reichen bei Strongyliden-Eiern von nachweisbar aber nicht quantifizierbar bis zu Spitzwerten von knapp 1200 (Tab. 8).

In anderen Wirksamkeitsstudien wurden neben koprologischen Untersuchungen auch Sektionen durchgeführt. Zwar wurden auch hier mittels Voruntersuchungen hoch infizierte Tiere ausgewählt, nichtsdestotrotz liefern diese Arbeiten neben genaueren Zahlen des tatsächlichen Wurmbefalls v.a. Aufschluss über die Zusammensetzung und das Verhältnis der verschiedenen Arten von Magen-Darm-Strongyliden

Tabelle 9: Mittlere Nematoden Befalls-Intensität von Neuweltkameliden in Peru

		Mittlere Wurmbürde		
Tierart		Lama ¹⁾ (n= 3)	Vikunja ²⁾ (n= 3)	Guanako ¹⁾ (n= 3)
Nematoden-Spezies				
	<i>Lamanema chavezii</i>			
	<i>Trichostrongylus axei</i>	586	821	480
	<i>Ostertagia</i> spp.	80	28	816
	<i>Oesophagostomum</i> spp.	24		
	<i>Nematodirus lamae</i>			
	<i>N. spathiger</i>		998	420
	<i>N. filicollis</i>			460
	<i>Nematodirus</i> spp.			340
	<i>Spiculoptera peruvianus</i>			
	<i>Graphinema aucheniae</i>			
	<i>Cooperia</i> spp.	60	105	740
	<i>Capillaria</i> spp.			2
	<i>Camelostongylus mentulatus</i>		1	
	<i>Haemonchus contortus</i>	67	3	
	<i>Trichuris</i> spp.	8	16	4

¹⁾ Larrieu et al (1982) ²⁾ Guerrero (1960)

Tabelle 10: Mittlere Nematoden Befalls-Intensität von Alpakas in Peru

Nematoden-Spezies	Mittlere Wurmbürde								
	(n=3) ¹⁾	(n=5) ²⁾	(n=199) ³⁾	(n=5) ⁴⁾	(n=5) ⁵⁾	(n=10) ⁶⁾	(n=9) ⁷⁾	(n=10) ⁸⁾	(n=5) ⁹⁾
untersucht									
<i>Lamanema chavezii</i>		3345	1772	1191	339	307	182	1964	200
<i>Trichostrongylus aei</i>		2828	185					152	500
<i>Ostertagia</i> spp.	500	450	97					299	100
<i>Oesophagostomum</i> spp.			1						
<i>Nematodirus lamae</i>		1167	1056	172	459	333	1100	781	
<i>N. spathig.</i>		1395	132	511	1948			544	900
<i>N. filicollis</i>			18						
<i>Nematodirus</i> spp.	1463								
<i>Spiculopteragia peruvianus</i>		230	67			162	312	40	
<i>Graphinema aucheniae</i>		1010	385			280	439		
<i>Cooperia</i> spp.		745	386			749	749		33
<i>Capillaria</i> spp.		270	29			32	32		
<i>Camelostrongylus mentulatus</i>			4						
<i>Haemonchus contortus</i>			1						
<i>Trichuris</i> spp.			90						

*Die untersuchten Tiere waren auf eine hohe Eiausscheidung vorselektioniert

- ¹⁾ Ref. A : Guerrero (1961-62) ²⁾ Ref. B : Guerrero & Chavez (1966) ³⁾ Ref. C : Chavez et al. (1967) ⁴⁾ Ref. D : Aguilar (1970)
⁵⁾ Ref. E : Rojas et al. (1970) ⁶⁾ Ref. F : Vargas et al. (1972) ⁷⁾ Ref. G : Guerrero et al (1974) ⁸⁾ Ref. H : Guerrero et al (1986)
⁹⁾ Ref. I : Leguía et al. (1998)

zueinander (Tab. 9 und 10). In weitere Arbeiten wurden geschlachtete und verendete Tiere obduziert, was eine Übersicht über die tatsächlichen Prävalenzen der vorhandenen Nematoden ergab (Tab. 11). Die am häufigsten und in größter Zahl gefundenen Arten waren dabei neben *L. chavezii* und *Nematodirus spp.* v.a. *Trichostrongylus spp.*, *G. aucheniae*, *Ostertagia spp.*, *Cooperia spp.* und *S. peruvians*. *C. mentulatus*, *H. contortus* und *Oesophagostomum spp.* wurden kaum oder gar nicht gefunden.

Tabelle 11: Prävalenzen verschiedener Nematodenarten bei Neuweltkameliden nach Sektionsbefunden

Nematoden-Spezies	Prävalenz (%)				
	Tierart	Alpaka ¹⁾ (n= 199)	Alpaka ²⁾ (n= 6)	Lama ³⁾ (n= 140)	Lama ⁴⁾ (n= 150)
<i>Lamanema chavezii</i>		48	83	100	61
<i>Trichostrongylus axei</i>		38	67	100	11
<i>Trichostrongylus spp.</i>		26	67	88	
<i>Ostertagia spp.</i>		23	84	100	1
<i>Oesophagostomum spp.</i>		3			
<i>Nematodirus lamae</i>		59	67	100	
<i>N. spathig.</i>		42	67	100	
<i>N. filicollis</i>		7	5		
<i>Nematodirus spp.</i>					19
<i>Spiculopteragia peruvianus</i>		29			1
<i>Graphinema aucheniae</i>		61	34		1
<i>Cooperia spp.</i>		39	50	100	
<i>Capillaria spp.</i>		13			
<i>Camelostongylus mentulatus</i>		3			73
<i>Haemonchus contortus</i>		1			
<i>Trichuris spp.</i>		7		100	67

¹⁾ Chavez et al. (1967) ²⁾ Mamani (1989)

³⁾ Hurtado et al. (1985) ⁴⁾ Alcaino (1991)

2.5.4.1.4 Wurmbürden von Neuweltkameliden und Schafen bei gemeinsamem Weiden

In Neuseeland ließ man wurmfreie Alpakas und Schafe gemeinsam auf Weiden grasen, die zuvor von infizierten Schaflämmern genutzt worden waren und stellte fest, daß die Kameliden eine erheblich geringere Ausscheidung von MDS-Eiern aufwiesen als die Schafe (Hill et al., 1993). Ähnliche Ergebnisse fand man in der Schweiz bei natürlich infizierten Lamas und Alpakas, wenn sie zusammen mit Schafen und Ziegen gehalten wurden (Hertzberg und Kohler, 2006). Entsprechende Untersuchungen aus Südamerika gibt es nur für Ecuador und Chile. In Ecuador, wo hauptsächlich Lamas gehalten werden, schieden diese weniger Eier aus als die gemeinsam mit ihnen gehalten Schafe, jedoch waren ihre EpG-Zahlen wiederum höher als in reinen Kamelidenherden (De Cupere et al., 1995). Dagegen zeichnen die Daten aus Chile kein eindeutiges Bild. Die hier untersuchten Schafe schieden teilweise sogar weniger Eier aus als Alpakas und Lamas aus den gleichen Herden (Rojas et al., 1993).

2.5.4.1.5 Genetische Resistenzen gegenüber Magen-Darm-Strongyliden

Das Interesse, Haustiere auf eine größere natürliche Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheitserregern zu züchten, hat weltweit zugenommen (Stear et al., 2001). Bei Schafen konnte gezeigt werden, daß bei verschiedenen Rassen eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit gegenüber Magen-Darm-Strongyliden besteht, und Züchtung auf diese Resistenz entsprechend möglich ist (Barger und Dash, 1987; Gauly und Erhardt, 2001). Dabei wird unterschieden zwischen der eigentlichen Resistenz als Fähigkeit des Wirtes den Lebenszyklus und die individuelle Entwicklung eines Parasiten zu begrenzen und der Toleranz als die Fähigkeit, nach einem Befall eine relativ unveränderte Leistung zu erzielen bzw. die Auswirkungen im subklinischen Bereich zu halten. Züchtung auf eine stärkere Toleranz wird dementsprechend keinen Selektionsdruck auf den Parasiten ausüben, im Gegensatz zu einer Zucht auf Resistenz (Albers et al., 1987).

Bei Befall mit Magen-Darm-Strongyliden korreliert zumindest bei Erstinfektionen die Anzahl adulter Würmer im Wirt mit der Eizahl im Kot (Lejambre, et al. 1971; Bisset, et al. 1996). Diese läßt sich mithilfe eines modifizierten McMaster-Verfahrens (Bauer, 1990) quantitativ als Eizahl pro Gramm Kot (EpG) bestimmen und stellt die effektivste bzw. praktikabelste Möglichkeit zur Selektion dar (Gray, 1997). Die Schätzung der Heritabilität von Schafrassen für dieses Merkmal EpG lag bei verschiedenen Autoren

zwischen 0,23 und 0,4 (Woolaston und Baker, 1996; Bishop und Stear, 2001; Vanimisetti et al., 2004).

Die genetische Korrelation zwischen Resistenz und Produktionsfaktoren, wie Lebendmasseentwicklung und Wollwachstum, wurde von Albers et al. (1987) auf annähernd Null geschätzt, was bedeutet, daß die Zucht auf Resistenz keine negativen Auswirkungen auf die Produktion hat.

2.5.4.1.6 *Lamanema chavez*

Das Verbreitungsgebiet von *L. chavez* beschränkt sich auf Südamerika. Dort wird diese Nematodenart bei Neuweltkameliden und auch Chinchilla-Artigen (Bergviscachas, *Lagidium viscacia*) nachgewiesen, welche möglicherweise die eigentlichen Hauptwirte sind. *L. chavez* ist eine der am häufigsten bei Neuweltkameliden vorkommenden Nematodenarten mit einer Befallsintensität von bis zu 17.000 Würmern (Cafrune et al., 2001). Bei anderen Studien lagen die Zahlen etwa zwischen 1.000 und 3.000 Parasiten (Tab. 9). Sie ist zugleich die pathogenste MDS-Art der Neuweltkameliden. Ein Grund dafür ist ihre endogene Entwicklung, die über eine Darm-Leber-Wanderung erfolgt (Guerrero et al., 1973). Bei hohen Infektionsdosen (200.000 L3) wurden auch vereinzelt Larven im Lungengewebe gefunden (Guerrero et al., 1973). Die adulten Würmer besiedeln Dünn- und Dickdarm. Bei *in vitro* Versuchen entwickelten sich in ausgeschiedenen Eiern innerhalb von 13 bis 21 Tagen die infektiösen Larven. Entscheidend für den Schlupf der Larve war dabei ein Temperaturwechsel während der Inkubation, der eine nächtliche Abkühlung simulierte (Medina et al., 1975). Die Entwicklung innerhalb der Eihülle macht die Larven widerstandsfähiger gegen negative Umwelteinflüsse und führt zu einer annähernd ganzjährig konstanten Weidekontamination und Eiausscheidung durch die Wirte (Leguía und Bendezu, 1974; Rojas et al., 1987). Allerdings ist die Entwicklung der Larven und ihre Überlebensdauer begünstigt, wenn die Eier während der Regenzeit ausgeschieden werden. So wurden bei Feldversuchen über den Zeitraum eines Jahres in monatlichen Abständen eihaltiger Kot auf abgetrennten Parzellen ausgebracht und in zweiwöchigem Abstand untersucht. Hier dauerte es zwischen 7 (Regenzeit) und 40 (Trockenzeit) Wochen bis zum Nachweis infektiöser L3. Diese konnten noch über 2 Jahre später gefunden werden, wobei die Dauer der Weidekontamination länger war, wenn die Ausbringung während eines klimatisch vorteilhaften Zeitraums erfolgte (Rojas et al., 1986). Die gefundenen Prävalenzen variieren stark und können 100 % erreichen (Tab. 11).

2.5.4.1.7 *Nematodirus* spp.

Einer Theorie zufolge entwickelten sich die Spezies dieser Gattung ursprünglich in Nordamerikanischen Kameliden und wurden erst durch die Vorfahren der Altweltkamele in der Paläarktischen Region verbreitet (Rossi, 1983). Heute findet man neben Arten die von anderen Wiederkäuern bekannt sind (*N. spathiger*, *N. battus*, *N. filicollis*, *N. helvetianus* und *N. lanceolatus*) auch *N. lamae*, eine für Neuweltkameliden spezifische Art (Chávez und Guerrero, 1960; Becklund, 1963; Chávez et al., 1967; Larrieu et al., 1982). *Nematodirus* spp. sind monoxene Parasiten des Dünndarms, die bei Tieren aller Altersgruppen angetroffen werden. Sie gehören zu den am häufigsten gefundenen Nematoden, auch wenn die Angaben zu den Prävalenzen teilweise erheblich schwanken. Diese liegen zwischen 3 % und 100 %, wobei davon auszugehen ist, daß sich hier Einflüsse wie Klima, Alter und Immunstatus des Wirtes bemerkbar machen (Leguía und Casas 1999). Die Befallsintensität bei Alpakas in Peru variiert zwischen 300 und 2.500 Würmern (Tab. 9). Wie bei *L. chavezii* entwickeln sich die infektiösen Stadien ohne die Eihülle zu verlassen. Von Untersuchungen an anderen Wiederkäuern ist bekannt, daß die L3 von *N. battus* und *N. filicollis* meistens erst nach einem Kältestimulus schlüpfen, während dies bei anderen Arten wie *N. spathiger* und *N. helvetianus* nicht nötig ist (Eckert et al. 2005). Für *N. lamae* liegen diesbezüglich noch keine Untersuchungen vor. Auch die bisher gefundenen EpG-Werte fallen teilweise sehr unterschiedlich aus (Tab. 8). Während in einer Longitudinalstudie die Eiausscheidung über ein Jahr hinweg kaum schwankte, im Durchschnitt bei 10 EpG lag und nie über 20 EpG hinausging (Leguía und Bendezu, 1974), zeigte eine andere Studie einen Anstieg während der Monate Juni bis August in zwei aufeinander folgenden Jahren (Rojas et al., 1987). Die EpG-Zahlen von Alpakas in Peru lagen meist zwischen 50 und 250 EpG, in Einzelfällen wurden auch Werte über 500 EpG für *N. spathiger* beschrieben (Aguilar, 1970).

2.5.4.1.8 *Graphinema aucheniae*

G. aucheniae wurde bisher nur bei Alpakas in Südamerika nachgewiesen, wobei in verfügbaren Studien stark variierende Prävalenzen von 0 % bis 61 % gefunden wurden (Tab. 11). Die Wurmbürde lag meist zwischen 280 und 1010 Exemplaren (Tab. 9).

2.5.4.1.9 *Trichostrongylus* spp.

Vertreter dieser Gattung sind häufige und weltweit anzutreffende Parasiten, sowohl bei Kameliden wie auch bei Wiederkäuern im allgemeinen. Bei ersteren wurden bislang *T. axei*, *T. colubriformis* (Chávez und Guerrero, 1960), *T. longispicularis* (Guerrero und Chávez, 1967) und bei Guanakos *T. vitrinus* (Larrieu et al., 1982) gefunden. Prävalenzen können bis zu 100 % betragen (Tab. 11), und größere untersuchte Bestände waren in keinem Fall völlig frei. Die Würmer besiedeln Dünndarm und Magen, wobei in Ausnahmefällen über 2000 Exemplare pro Wirt gefunden wurden (Guerrero und Chávez, 1963-66), überwiegend sind die Befallszahlen jedoch deutlich niedriger und übersteigen selten 200 Exemplare (Tab. 9).

2.5.4.1.10 *Cooperia* spp.

Cooperia spp. ist ebenfalls eine im Dünndarm von Wiederkäuern regelmäßig zu findende Nematodengattung. Bei Neuweltkameliden in Peru wurden bisher *C. mcmasteri* und *C. oncophora* beschrieben. Bei Sektionen wurden bis zu 750 Würmer pro Tier gefunden (Tab. 9). Auch Tiere im Altiplano weisen eine hohe Befallsextenstität auf (Tab. 11). Dies ist insofern ungewöhnlich, da die Entwicklung zur L3 eigentlich sehr empfindlich auf Kälte reagiert, wie bei Versuchen mit Larven von Schafen gezeigt werden konnte (McKenna, 1998).

2.5.4.1.11 *Mazamastrongylus (Spiculopteragia) peruvians*

Die Arten der Gattung *Spiculopteragia* gehören zu den Trychostrongylidenarten, die vorwiegend oder ausschließlich bei Wildwiederkäuern angetroffen werden. *S. peruvianus* wurde 1967 erstmals beschrieben (Guerrero und Chávez, 1967), aber in der Zwischenzeit von verschiedenen Autoren der Gattung *Mazamastrongylus* zugeordnet (Jansen, 1986; Hoberg, 1996). Nach experimenteller Infektion von 3 Monate alten Alpakafohlen konnten Spitzenwerte von 3.800 EpG gezählt werden. Bei der Sektion der Tiere nach 30 Tagen p. i. konnten im Schnitt 39.000 adulte Würmer wiedergewonnen werden (Leguía et al., 1993). Diese Größenordnungen dürften jedoch unter natürlichen Bedingungen selten erreicht werden, die höchsten bisher gefundenen Werte liegen bei etwa 300 Exemplaren (Tab. 9). Die höchste Prävalenz war 30 % (Tab. 11).

2.5.4.1.12 *Ostertagia* spp.

Beim Rind gilt *O. ostertagi* neben *C. oncophora* als wichtigster Verursacher der Parasitären Gastroenteritis. Die ersten beiden Larvenstadien sind zwar empfindlich gegenüber Trockenheit und Kälte, haben sich jedoch erst einmal infektiöse L3 gebildet erweisen sich diese als enorm widerstandsfähig und können die (europäischen) Wintermonate überstehen (Eckert et al., 2005). Betroffen sind hier vor allem Kälber, die sich - immunologisch naiv - zu Beginn der Weideperiode infizieren (Ostertagiose Typ I). In Südamerika fällt dieser Zeitpunkt meist vor den Beginn der Trockenperiode. Ein Teil der aufgenommenen Larven verharrt für einige Monate reaktionslos in der Mukosa des Labmagens. Wenn diese in erhöhtem Maß zeitgleich freigesetzt werden kann es zur Ostertagiose Typ II kommen (Eckert et al 2005). Ein solcher Fall wurde bei Lamas in Schottland bekannt (Windsor, 1997). Ob sich dieser Krankheitsverlauf auf südamerikanische Kameliden übertragen lässt, ist noch unerforscht. Zwar wird der Parasit häufig gefunden, die jahreszeitlichen Unterschiede in bezug auf Befallsextenalität waren jedoch gering (Chávez et al., 1967). Dasgleiche galt für die Befallszahlen, die meist zwischen 100 und 500 Würmern pro Tier lagen (Tab. 9).

2.5.4.1.13 *Haemonchus contortus*, *Camelostrongylus mentulatus*, *Oesophagostomum* spp.

Diese Parasiten kommen nur gelegentlich bei Neuweltkameliden vor und scheinen zumindest in Lateinamerika nur eine geringe Bedeutung zu haben.

Während *C. mentulatus* bei Untersuchungen in den USA die am häufigsten nachgewiesene Nematodenart war (Rickard und Bishop, 1991), wird sie in südamerikanischen Studien meist nur vereinzelt und mit einer geringen Wurmbürde erwähnt. Eine Ausnahme macht eine Studie aus Chile; hier war *C. mentulatus* in 73 % von 150 Lamas zu finden (Alcaino et al., 1991).

Für *H. contortus* scheint das Klima des Altiplano zu kalt und trocken zu sein, so daß sich die Larven nur in geringem Maß zum infektiösen Stadium entwickeln können. Untersuchungen zur Entwicklungsfähigkeit von Larven verschiedener MDS-Arten von Schafen zeigten, daß *H. contortus* mit am empfindlichsten auf Kälte reagiert (Rojas, 1990; McKenna, 1998).

Oesophagostomum spp. wurden bisher nur einmal in unbedeutender Zahl nachgewiesen (Chávez et al., 1967).

2.5.4.2 *Trichuris* spp.

In der Literatur werden meist Funde von *T. ovis* beschrieben (Chávez und Guerrero, 1960), seltener von *T. tenuis* der als die ursprüngliche Trichurisart der Neuweltkameliden angesehen wird (Chávez und Guerrero, 1960; Cafrune et al., 1999). Die Untersuchung von Tieren zweier Agrargenossenschaften mit jeweils 60 und 80 Lamas zeigte einen Durchseuchungsgrad von 100 % mit *Trichuris* spp. (Hurtado et al. 1985). Die Bestände waren auch mit anderen Parasiten hochgradig infiziert. Auch eine Lamaherde in Chile hatte ein Vorkommen von 67 %. Über den Grad der Wurmbelastung ist wenig bekannt. Chavez et al. (1967) fanden *Trichuris* spp. bei ihren Sektionen nur in 3 % der untersuchten Tiere mit durchschnittlich 90 Würmern. Dagegen wurden in Argentinien bei der Obduktion eines Lamas 1239 Würmer gezählt, davon waren 406 unreife Stadien (Cafrune et al., 2001).

2.5.4.3 *Capillaria* spp.

Über Capillariabefall bei Kameliden ist sehr wenig bekannt. Sie werden eher selten und nur in geringer Anzahl gefunden (Chávez et al., 1967).

2.5.4.4 Nematoden bei Wildkameliden

Bei Wildkameliden werden im wesentlichen die gleichen Parasiten gefunden wie bei den domestizierten Neuweltkameliden. Bei Vikunjas wurden bisher folgende Nematoden nachgewiesen: im Abomasum *H. contortus*, *T. axei*, *O. ostertagi*, *O. circumcincta*, *C. mentulatus* (Guerrero, 1960) und *S. peruvianus* (Guerrero und Chávez, 1967); im Dünndarm *Marshallagia* spp., *T. colubriformis*, *N. spathiger*, *Concophora* (Guerrero, 1960), *C. mcmasteri* (Guerrero, 1962) sowie *N. lamae* und *L. chavezii* (Becklund, 1963); in Caecum und Colon *O. venulosum*, *C. ovina*, *T. ovis* (Chavez und Guerrero 1960; Guerrero 1960) und *T. tenuis* (Cafrune 1999). Diese Erkenntnisse ergaben sich jedoch nur aus den Obduktionen einzelner Tiere. Über Prävalenzen dieser Parasiten ist bisher fast nichts bekannt. Zwar wurden 1996 in Argentinien 69 Vikunjas koproskopisch untersucht, jedoch lag das Augenmerk der Studie nur auf Vertretern der Gattung *Trichuris*. Hier wurde von 65 % positiven Tieren berichtet, mit einer mittleren Ausscheidung von 5,2 EpG. Die Obduktion eines verendeten Tieres erbrachte 24 adulte Stadien.

Untersuchungen zum Wurmbefall von Guanakos begannen erst in den 80er Jahren und wurden bisher nur in Argentinien durchgeführt, wo etwa 95 % dieser Tiere beheimatet sind. Bei der Sektion dreier Tiere wurden folgende Arten gefunden: im Abomasum *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagi*; im Dünndarm, *Nematodirus spathiger*, *N. filicolis* und *N. battus*, *Cooperia oncophora* und *C. mcmasteri*, *Trichostrongylus vitrinus* sowie *Capillaria* spp.; in Caecum und Colon *Trichuris ovis* und *Skryabinema ovis*. Bei einem Tier wurden über 3000 adulte Nematoden gezählt, die Höchstzahl einzelner Arten war 1549 für *O. ostertagi* und 1220 für *Nematodirus* spp. (Larrieu et al., 1982). Im Jahr 2000 wurden 12 Tiere untersucht die vermutlich an Nahrungsmangel infolge einer massiven Dürre gestorben waren. Bei fünf dieser Tiere wurden adulte Stadien von *T. tenuis* gefunden, bei einem durchschnittlichen Befall mit 11 Exemplaren. Die Untersuchung der Kotproben ergab weiterhin in 9 Fällen Eier von *Nematodirus* spp. und in acht Fällen *Marshallagia* spp.-ähnliche Eier. Die EpGs wurden im Schnitt mit 58 und 33 angegeben (Beldomenico et al., 2003). Eine rein koprologische Untersuchungen bei 50 Guanakos ergab Prävalenzen von 75 % für MDS-Eier, 64 % für Eier von *L. chavezii*, 14 % für Eier von *Nematodirus* spp. und 22 % für Eier von *Trichuris* spp., mit durchschnittlichen EpGs von 380, 490, 200 und 300 (Hurtado et al., 1985b).

3 Material und Methoden

3.1 Versuchsbestände

Schätzung genetischer Parameter setzt eine ausreichend große Zahl an Nachkommengruppen sowie Nachkommen pro Vatertier voraus (Hammond et al., 1959). Diese sind für Neuweltkameliden unter europäischen Bedingungen (asaisonale Geburten, kleine Herdengrößen) nicht vorhanden weshalb zur Untersuchung südamerikanische Herden beprobt wurden.

Die Untersuchungen in Peru wurden auf 2 Farmen in der peruanischen Hochebene, im Departament Puno im Süden des Landes, angrenzend an den Titikakasee, Bolivien und Chile durchgeführt. Quimsachata (Abb. 1 und 2, 15°35' S; 70°40' W), ist eine Versuchsstation des Instituto Nacional de Investigación Agrónoma (INIA - Nacionales Forschungsinstitut für Agronomieforschung). Sie befindet sich in der Puna seca (trockene Puna) in ca. 4200 m ü.d.M. Der Tierbestand umfaßt zu gleichen Teilen Lamas und Alpakas, insgesamt etwa 3000 Tiere. Mallkini (Abb. 2, 14°45' S; 69°58' N), liegt in der Puna húmeda (feuchte Puna) auf einer Höhe von ungefähr 4000 m ü. NHN und ist in privatem Besitz. Hier werden ca 3000 Alpakas gehalten. Beide Farmen haben eine Größe von jeweils ungefähr 3000 Hektar, und der jeweilige Tierbestand ist in kleinere Herden von 200 bis 300 Tieren aufgeteilt, welche von jeweils einer Familie betreut werden. Die Tiere werden einmal jährlich im Oktober mit Ivermectin entwurmt. Weiterhin stehen in beiden Farmen kleine und qualitativ hochwertigere Weiden als Krankenlager zur Verfügung.

3.2 Versuchsgruppen

Für die Longitudinalstudie wurden 76 Fohlen der Farm Quimsachata aus der Geburtensaison 2000/2001 ausgewählt. Für die Querschnittsstudie wurden die Fohlen aus der Geburtensaison 2001/2002 herangezogen. Hierfür wurden zunächst 443 Fohlen aus beiden Farmen (161 in Quimsachata, 195 in Mallkini) zur serologischen und, zur Abschätzung genetisch bedingter Parasitenresistenzen, koprologischen Untersuchung ausgewählt. Die Tiere stammten insgesamt von 47 Hengsten ab. Die Zahl an Nachkommen pro Hengst lag zwischen 5 und 18. Darüberhinaus standen Seren von weiteren 319 Alpakas und 81 Lamas der Farm Quimsachata zur Verfügung sowie 114 Seren von wildlebenden Vikunjas, alle diese Proben wurden

freundlicherweise überlassen von Dr. Wilfredo Huanca und Dr. Aida Cordero, Lima. Die Alpakas und Lamas waren bei der Blutentnahme zwischen drei und elf Jahren alt. Die Vikunjas wurden anhand einer Zahnaltersschätzung in Fohlen (< 12 Monate) Jungtiere (12-36 Monate) und Adulte (>36 Monate) eingeteilt.

Der Hauptanteil der Vikunja-Proben (n=103) wurde bei einem Chaccu (Kap. 2.3) in Picotani (Abb. 2, 14°35' W; 69°50' S) im Departament Puno genommen, 11 weitere Proben stammten aus drei verschiedenen Orten (Abb. 2, Tarmatambo (11°28' W, 75°41' S), n=3; Ondores (11°4' W, 76°7' S), n=6 und Atosaico (10°17' W, -75°39' S), n=2) des Departaments Junin in Zentralperu.

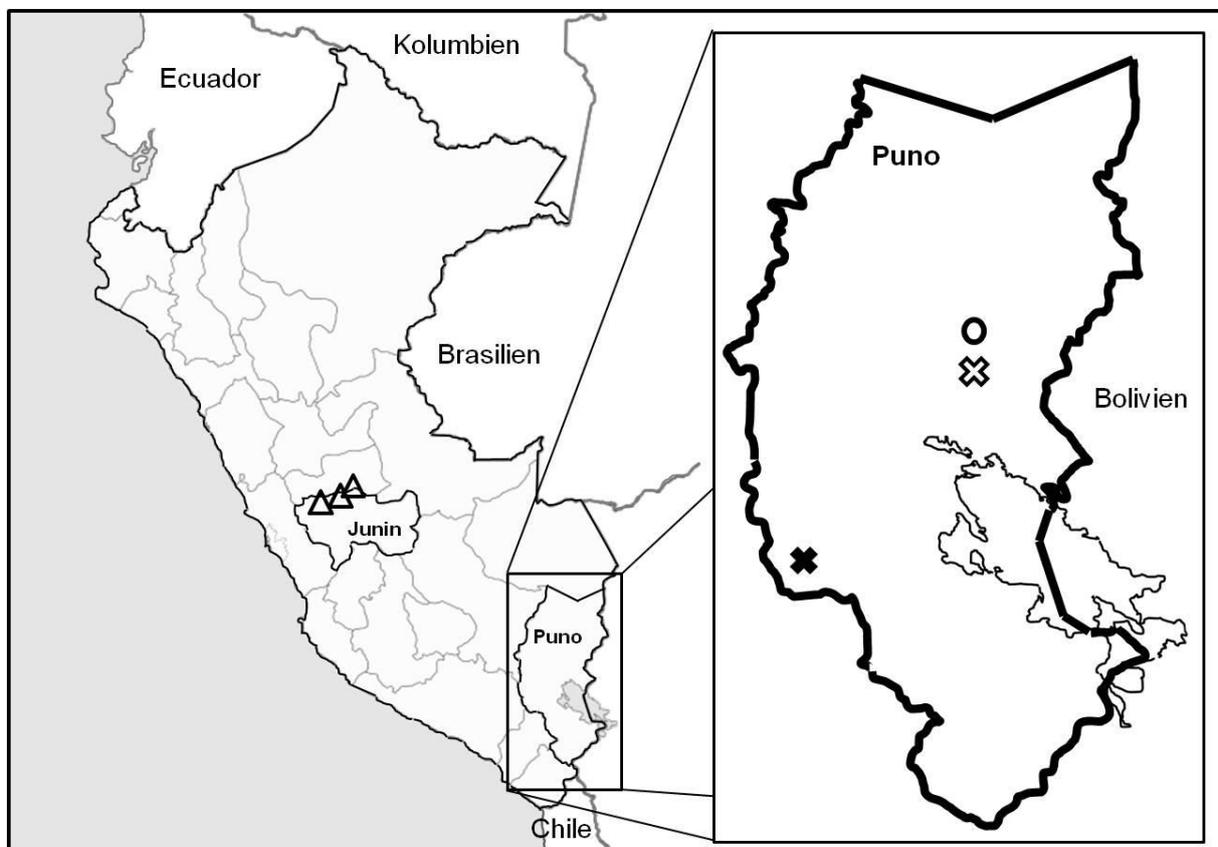


Abbildung 2:

Darstellung der Lage der peruanischen Regionen, hervorgehoben die Departaments Puno und Junin (linke Seite), und Kennzeichnung der Orte der Probennahmen (rechte Seite: Departament Puno): Farm Quimsachata (schwarzes Kreuz); Farm Malkini (weißes Kreuz); Beprobung der Vikunjas bei einem Chaccu in Picotani (Kreis); Beprobung der Vikunjas aus Junin (linke Seite, Dreieck).

Außerdem wurden Blutproben von 32 Neuweltkameliden eines deutschen Betriebes in Eltville, Hessen untersucht. Es handelte sich dabei um 19 Stuten (7 Alpakas, 12 Lamas) und 13 von ihnen abstammende Fohlen (5 Alpakas, 8 Lamas).

3.3 Vorversuche / Longitudinalstudie

Bei den Vorversuchen wurden 76 Alpakafohlen aus der Geburtsaison 2000/2001 in einer Longitudinalstudie über den Zeitraum eines Jahres insgesamt siebenmal koproskopisch auf Parasitenstadien untersucht. Die Tiere waren zu Beginn der Studie im Schnitt 2,9 Monate alt. Der Untersuchungszeitraum begann im April 2001 und endete im Dezember desselben Jahres. Die Untersuchungen wurden in monatlichen Abständen, mit Ausnahme der Monate August und September, durchgeführt. Die Kotproben wurden rektal entnommen und mittels eines Flotationsverfahrens mit gesättigter Zuckerlösung aufbereitet. Bestimmt wurden Nematoden-Eier der Gattungen *Nematodirus*, *Lamanema*, sowie von Magen-Darm-Strongyliden. Weiterhin wurden Kokzidienoozysten erfasst. Dabei wurden in Quimsachata Oozysten von *E. macusaniensis* separat geführt, ansonsten fand keine nähere Differenzierung statt. Das Absetzen der Fohlen fand im Oktober statt, parallel dazu wurden alle Tiere einer anthelmintischen Behandlung mit Ivermectin unterzogen.

3.4 Querschnittsstudie

3.4.1 Entnahme von Kotproben

Kotprobenentnahmen bei 443 Fohlen erfolgten zwischen Juli und Oktober 2002. Die Tiere waren zu diesem Zeitpunkt zwischen vier und sieben Monaten alt. Die Proben wurden rektal entnommen und innerhalb von 48 Stunden koproskopisch untersucht. Bei 49 Tieren, bei denen ein Befall mit Magen-Darm-Strongyliden vorlag, wurden anschließend erneut Proben entnommen. Diese wurden zur Isolierung und Differenzierung von Larven 3 verwendet.

3.4.2 Blutentnahme und Serumgewinnung

Blutentnahmen erfolgten bei allen Versuchsgruppen (Fohlen, adulte Lamas und Alpakas sowie Vikunjas) aus der Vena jugularis. Die 443 Fohlen wurden im Oktober 2002 beprobt, die Adulttiere sowie die wildlebenden Vikunjas im März 2003. Die Proben wurden im Anschluß an die Entnahme abzentrifugiert, das Serum abpipettiert und bis zur weiteren Untersuchung bei -18° C eingefroren.

3.5 Experimentelle Infektion eines Lamas mit *Neospora caninum*

Als Versuchstier diente ein 1 Jahr altes, männliches, klinisch unauffälliges Lama. Das Tier wurde zusammen mit einem gleich alten Kontrolltier und weiteren Neuweltkameliden über die Dauer des Versuches auf der Lehr- und Forschungsstation „Oberer Hardthof“ der JLU in Extensivhaltung gehalten. Versuchs- und Kontrolltier waren frei von im Immunblot feststellbaren Antikörpern gegen *N. caninum* und *T. gondii*. Zur Infektion wurden $4,8 \times 10^6$ aus Zellkultur gewonnene *N. caninum*-Tachyzoiten benutzt, die freundlicherweise von Dr. G. Schares, Wusterhausen, überlassen wurden. Diese wurden über die Vena jugularis intravenös injiziert. Dem Kontrolltier wurden 5×10^4 Verozellen appliziert. Beiden Tieren wurden an den Tagen 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 28, 31, 38, 45 und 52 p. i. Blutproben zur weiteren Untersuchung entnommen. Um eine größere Menge positiven Testserums zu gewinnen, wurden dem infizierten Tier am Tag 100 p.i. zusätzliche 400 ml Blut entnommen. Die Proben wurden wie unter Kapitel 3.4.2 angesprochen aufbereitet. Bei jeder Probennahme erfolgte eine Allgemeinuntersuchung der Tiere. Zusätzlich wurde während der ersten sechs Wochen des Versuches die Körperinnentemperatur parallel zur Blutentnahme gemessen.

3.6 Untersuchungsmethoden I: Allgemeines

3.6.1 Koproskopische Untersuchung

Kotproben wurden innerhalb von 48 Stunden nach der Entnahme mittels eines modifizierten McMasterverfahrens (Bauer, 1990) unter Verwendung von gesättigter NaCl-Lösung (spezifisches Gewicht: 1,18 – 1,2) als Flotationsflüssigkeit untersucht. Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens findet sich in Anhang 1. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 50 EpG. Ebenfalls erfasst wurde die Anzahl der Oozysten pro Gramm Kot. Dabei wurde nur zwischen Oozysten von *E. macusaniensis* und weiteren *Eimeria* spp. differenziert. Proben bei denen im McMasterverfahren keine Nematoden-Eier nachgewiesen werden konnten wurden nachuntersucht. Dazu wurden die Probenansätze 30 Minuten stengelassen, um eine Flotation eventuell vorhandener parasitärer Stadien zu gewährleisten. Anschließend wurden von der Oberfläche des jeweiligen Probenansatzes mehrere

Tropfen abgeöst, auf einen Objektträger verbracht und erneut untersucht. Wurden dabei Nematodeneier gefunden so wurde die Ausscheidung mit 25 EpG angegeben.

3.6.2 Züchtung und Differenzierung von Larven 3 von Magen-Darm-Strongyliden

Bei 49 Tieren aus Quimsachata, bei denen ein Befall mit Magen-Darm-Strongyliden diagnostiziert wurde, wurden innerhalb einer Woche erneut Individualkotproben genommen und in Larvenkulturen Strongylidendrittlarven gezüchtet (Bürger und Stoye, 1968). Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens findet sich in Anhang 2. Je Probe wurden 50 Larven nach einem Differenzierungsschlüssel (Bauer, 1990) bestimmt.

3.6.3 Serologische Untersuchungen

Die Serumproben wurden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *N. caninum* (Immunoblot, ELISA), *T. gondii* (Immunoblot) und *Sarcocystis* spp. (ELISA) untersucht. Alle Proben welche im Immunoblot positiv auf *N. caninum* und/oder *T. gondii* reagierte hatten und weitere 101 zufällig ausgewählte Sera, (welche im Immunoblot für beide Erreger negativ waren) wurden zur Bestimmung ihres *N. caninum* Antikörper-Titers im IFAT untersucht.

3.7 Untersuchungsmethoden II: Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum*

Die Sera wurden in einer Verdünnung von 1:100 (Immunoblot) und 1:50 (ELISA) eingesetzt. Als Positivkontrolle dienten die Probe des experimentell infizierten Lamas vom Tag 100 p.i. sowie die eines experimentell infizierten Rindes aus der Serumbank des Friedrich-Löffler-Institutes.

3.7.1 Antigene

Als Antigen wurden Tachyzoiten des Nc-1-Stammes von *N. caninum* (Dubey et al., 1988b) verwendet. Die Parasiten wurden in Verozellkultur gehalten, durch Filtration aufgereinigt und entweder direkt für experimentelle Infektionen und die Beschichtung

von Objektträgern verwendet oder als Pellet bei -80°C bis zur weiteren Verwendung tiefgefroren (Schaes et al., 1999a).

3.7.2 Immunoblot

Beim Immunoblot werden Proteine mittels SDS-PAGE ihrer Größe nach aufgetrennt und in einem zweiten Schritt in einem Semi-Dry-Verfahren auf Nitrocellulose oder PVDF-Membranen fixiert (Towbin et al., 1979; Burnette, 1981). Die Proteinbanden werden auf der Membran mit Hilfe von spezifischen Antikörpern identifiziert und auf verschiedene Arten sichtbar gemacht. Die Präparation der Parasitentachyzoiten erfolgte nach Schares et al. (Schaes et al., 1998).

Im *N. caninum*-Immunoblot wurde die Reaktivität der Sera mit nicht reduziertem immunodominantem *N. caninum*-Tachyzoiten-Antigen getestet (Barta und Dubey, 1992; Bjerkas et al., 1994). Als Konjugat wurde „Peroxidase-conjugated AffiniPure Rabbit Anti-Bovine IgG (H + L)“ der Firma Jackson ImmunoResearch in einer Verdünnung von 1:1250 verwendet. Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens findet sich in Anhang 3. Das Ergebnis wurde positiv gewertet, wenn Antikörper in den Testsera mindestens zwei der fünf Banden von 17, 29, 30, 33 und 37 kDa erkannten. Reagierte nur eine Bande, wurde das Resultat als fraglich eingestuft.

3.7.3 ELISA

Zur Durchführung wurde ein p38-ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* beim Rind (Schaes et al., 2000) geringfügig modifiziert. Dazu wurden Tachyzoiten aus Zellkultur durch Ultraschallbehandlung lysiert, mittels Affinitätschromatographie aufgereinigt und zur Beschichtung der Mikrotiterplatten verwendet. Das Konjugat (Peroxidase-conjugated AffiniPure Rabbit Anti-Bovine IgG H + L, (Jackson ImmunoResearch) wurde 1:1000 verdünnt. Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens findet sich in Anhang 4. Als Positiv- und Negativkontrollen dienten Seren von experimentell infizierten Rindern bzw. von bekanntermaßen *N. caninum*-negativen Rindern aus einem vorangegangenen Versuch der BFAV (Schaes et al., 1999b). Um tagesabhängige Schwankungen auszuschließen, wurden die Ergebnisse als Indizes dargestellt. Dabei wurde die Optische Dichte (OD) jeder Probe im Doppelansatz gemessen, für jede Messung der jeweilige Index berechnet und das Ergebnis anschließend als arithmetisches Mittel beider Einzelindizes ermittelt.

Die Indexwerte wurden nach folgender Formel errechnet:

$$S_{In} = (S_n - N) / (P - N)$$

wobei S_{In} den Indexwert, S_n den Messwert der untersuchten Probe (arithmetisches Mittel der OD's im Doppelansatz), N die OD-Negativkontrolle sowie P die OD der Positivkontrolle darstellen.

3.7.4 IFAT

Die Durchführung erfolgte nach der von Schares et al. (1998) beschriebenen Methode. Als Antigen dienten auf Objektträgern fixierte Tachyzoiten von *N. caninum*. Die Titration wurde mit einer Serum-Verdünnung von 1:20 gestartet, wobei das Konjugat (Anti-bovine IgG-FITC, Sigma F4387) in einer Verdünnung von 1:50 eingesetzt wurde. Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens findet sich in Anhang 5. Zur Durchsicht der Objektträger wurde ein Axiovert Fluoreszenz Mikroskop (Zeiss, Jena) eingesetzt. Nur eine Fluoreszenz in peripheren Teilen der Tachyzoiten wurde als spezifisch angesehen.

3.8 Untersuchungsmethoden III: Nachweis von Antikörpern gegen *T. gondii*

Die Sera wurden in einer Verdünnung von 1:10 eingesetzt, als Positivkontrolle diente die Probe eines natürlich infizierten Schafes aus der Serumbank des Friedrich-Löffler-Institutes.

3.8.1 Antigene

Als Antigen wurden Tachyzoiten des RH-Stammes von *T. gondii* (Sabin, 1941) verwendet. Gewinnung, Aufreinigung und Lagerung erfolgten wie bei *N. caninum* (Kap. 3.7.1).

3.8.2 Immunoblot

Der Nachweis von Antikörpern gegen *T. gondii*-Tachyzoiten-Antigen erfolgte auf die gleiche Weise wie für *N. caninum* beschrieben (s. 3.7.2), jedoch wurde hier die Reaktion gegenüber vier immunodominanten Antigenen von 20, 30, 35, und 43 kDa

überprüft (Huskinson et al., 1989). Das Ergebnis wurde als positiv gewertet, wenn Antikörper in den Testsera mindestens zwei der Banden erkannten, wenn nur eine Bande auftrat, wurde das Resultat als fraglich eingestuft.

3.9 Untersuchungsmethoden IV: Nachweis von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp.

In Anlehnung an Damriyasa (2001) wurden zunächst verschiedene Konzentrationen der Testsera und des Konjugats austitriert. Als Positivkontrollen standen 14 Serumproben von geschlachteten Neuweltkameliden aus einem peruanischen Schlachthof zur Verfügung. Bei den Tieren handelte sich um 13 männliche Lamas und ein Alpaka, welche nach der Schlachtung makroskopisch sichtbare Zysten in ihrer Skelettmuskulatur aufwiesen.

Desweiteren standen vier Proben von experimentell mit *S. miescheriana* infizierten Schweinen zur Verfügung, diese wurden freundlicherweise von Prof. Dr. U. Mackenstedt, Stuttgart, zur Verfügung gestellt.

Als Negativkontrollen wurden Serumproben der 13 Fohlen des deutschen Betriebes in Hessen verwendet.

3.9.1 Antigene

Als Antigen wurden lösliche Zystenproteine von *S. miescheriana* und *S. singaporensis* verwendet. Die Bradyzoiten von *S. miescheriana* und *S. singaporensis* wurden mittels

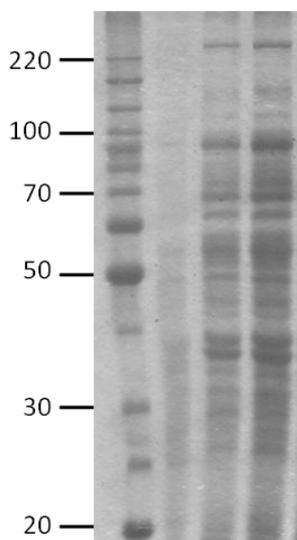


Abbildung 3:

Darstellung der coomassieblaugefärbten Proteinbanden einer 12%igen SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese von *S. singaporensis*-Zysten in unterschiedlichen Antigenkonzentrationen: v. l. n. r.: Marker (kDa), 4 µg, 10 µg, 20 µg.

mechanischer Zerkleinerung und Proteinverdau nach der Methode von O'Donoghue und Weyreter (1983) aus Zwerchfellmuskulatur gewonnen, mittels Ultraschallbehandlung lysiert und die löslichen Proteinbestandteile mittels eines Bradford-Assays bestimmt (Bradford, 1976). Das jeweilige Antigen wurde in einer Konzentration von 1 mg/ml aliquotiert und bei -80°C eingefroren.

3.9.2 Immunoblot

Der Nachweis von Antikörpern gegen *T. gondii* Tachyzoiten-Antigen erfolgte auf die gleiche Weise wie für *N. caninum* beschrieben (s. 3.7.2). Es wurden verschiedene Mengen an Antigen pro Tasche sowie Gel-Konzentrationen (8 %, 10 %, 12 %) getestet, um Banden verschiedener Größenordnungen optimal darzustellen (Abb. 3). Antigene wurden sowohl unter reduzierenden wie nicht-reduzierenden Bedingungen aufgetragen. Im letzteren Fall wurden das Antigen nicht durch Methanol-Chloroform-Präzipitation (Wessel und Fugge, 1984), sondern durch Zentrifugation (Amicon[®] Centrifugal Filter Device) ankonzentriert und beim Probenpuffer auf β -Mercaptoethanol und Sodiumdodecylsulfat verzichtet. Als Sekundärantikörper wurde „Peroxidase Conjugated Antisera, Camelid IgG (h&l chain)“ der Firma Kent Labs, USA, verwendet.

3.9.3 ELISA

Ein ELISA zur Bestimmung von *S. miescheriana*-Antikörpern beim Schwein wurde mit geringfügigen Änderungen übernommen (Stankewitz, 2008). Es wurde dasselbe Konjugat wie im Immunoblot eingesetzt (Peroxidase Conjugated Antisera, Camelid IgG (h&l chain) der Firma Kent Labs). Die Mikrotiterplatten wurden 24 Stunden mit 2 μg Antigen pro Well beschichtet und anschließend bis zur weiteren Verwendung bei -20°C aufbewahrt. Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens findet sich in Anhang 6. Zur Bestimmung der optimalen Konzentration wurde das Konjugat ab einer Verdünnung von 1:1000 titriert, wobei die Serumverdünnung konstant bei 1:100 gehalten wurde. Es wurde die Konjugatkonzentration 1:5.000 ausgewählt. Zwar war die zwischen der Positiv- und Negativkontrolle bei einer Verdünnung von 1:1000 am höchsten, es wurde aber als Verdünnung 1:5.000 verwendet, um unspezifische Reaktionen möglichst gering zu halten (Abb. 4)

Zur Bestimmung der optimalen Serumverdünnung wurden die *Sarcocystis*-positiven und -negativen Kontrollseren ab einer Verdünnung von 1:25 titriert. Für die weiteren Untersuchungen wurde eine Verdünnung von 1:50 gewählt. Dies stellte einen Kompromiß dar zwischen der Verdünnung mit der höchsten Differenz zwischen Positiv- und Negativkontrolle (1:25) und derjenigen mit dem höchsten Quotienten aus Positiv- und Negativkontrolle (1:100). Das Konjugat blieb konstant bei 1:10.000 (Abb. 5).

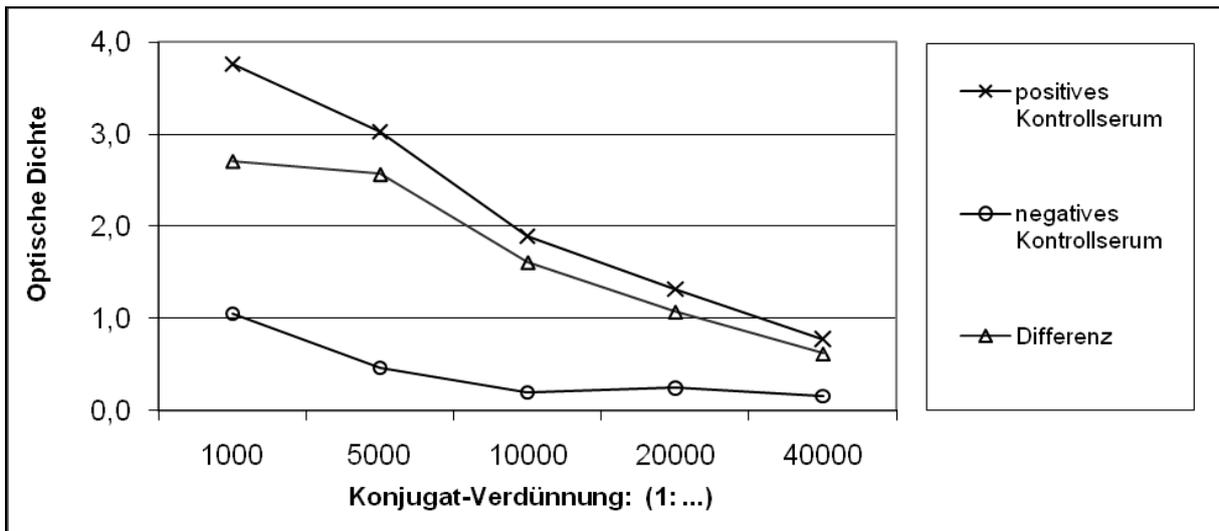


Abbildung 4:

Sarcocystis-Serologie: Bestimmung der optimalen Konjugatverdünnung für den Screening-ELISA durch Endpunkttitration des Konjugats bei konstanter Konzentration des *Sarcocystis*-Antigens und Verdünnung des positiven bzw. negativen Kontrollserums.

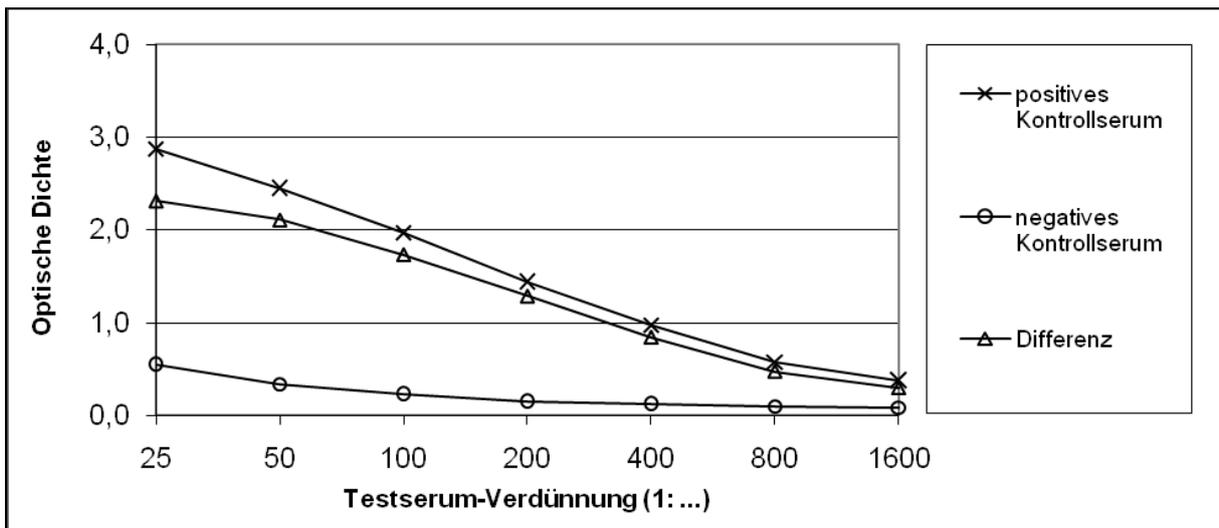


Abbildung 5:

Sarcocystis-Serologie: Bestimmung der optimalen Verdünnung der im Screening-ELISA zu testenden Serumproben durch Endpunkttitration des positiven bzw. negativen Kontrollserums bei konstanter Konzentration des *Sarcocystis*-Antigens und konstanter Konjugatverdünnung.

3.10 Statistische Berechnungen

3.10.1 Koproskopische Untersuchungen

Zur Datenbeschreibung wurden Stichprobenumfänge (n) sowie je nach Verteilungsform arithmetische oder geometrische Mittelwerte angegeben. Die Berechnungen wurden mit Microsoft Office Excel 2003 durchgeführt. Die graphische Darstellung erfolgte als Säulendiagramm.

3.10.2 Serologische Untersuchungen

Im Falle binärer Variablen wurden nicht-parametrische Unterschiede zwischen Gruppen mit Hilfe des Exakten Fisher-Tests überprüft. Da die ELISA und IFAT-Ergebnisse nicht normalverteilt waren, wurde der Mann-Whitney-U-Test als nicht-parametrisches Verfahren angewandt (Statistica 6.0) um nichtparametrische Verteilungsunterschiede zwischen den Variablen der einzelnen Gruppen zu analysieren. In allen statistischen Analysen wurde der p-Wert auf 0,05 festgelegt.

Sensitivität und Spezifität des modifizierten p38-ELISAs wurden in Abhängigkeit des Cut-offs mittels einer TG-ROC-Analyse (Two graph-receiver operating characteristic) durchgeführt (Greiner, 1995).

3.11 Begriffsbestimmungen

- Eier vom MDS-Typ: alle (mikroskopisch nicht unterscheidbaren) Eier von Magen-Darm-Strongyliden mit Ausnahme von *N. spathiger*, *N. lamae* und *L. chavezii*.

Nach den Definitionen von Margolis (1982) wurden folgende Begriffe verwendet:

- Prävalenz: Prozentualer Anteil der infizierten Tiere an der Gesamtzahl untersuchter Tiere.
- Mittlere Intensität: Geometrischer Mittelwert der Höhe der Ausscheidung von Eiern/Oozysten bezogen auf die jeweils positiven Tiere.
- Abundanz: Geometrischer Mittelwert der Ausscheidung von Eiern/Oozysten bezogen auf alle untersuchten Tiere.

4 Ergebnisse

4.1 Betriebsstruktur und Haltungsbedingungen

In den beiden untersuchten Betrieben Quimsachata und Malkini sind die Bestände in kleinere Herden von 200 bis 300 Tieren aufgeteilt, unter der Betreuung jeweils eines Hirten und seiner Familie. Die Tiere werden das ganze Jahr über ohne Zufütterung extensiv gehalten und benötigen angesichts der kargen Vegetation der Puna dementsprechend große Weideareale. Diese Areale werden in rotierenden Abständen genutzt, um eine zu starke Begrasung zu verhindern. Genaue Angaben zu der Fläche, die einem einzelnen Tier zur Verfügung steht, lassen sich nur schwer machen. Es stehen zusätzlich jeweils kleinere Areale von einem halben bis einem Hektar großen, bewässerten Flächen für besondere Verwendungszwecke zur Verfügung. Meist werden sie als „Krankenlager“ verwendet. Weibliche und männliche Tiere sowie tragende Stuten werden jeweils in separaten Gruppen gehalten. Weiterhin gibt es reine Jungtierherden. Unter den widrigen klimatischen Bedingungen des peruanischen Altiplano zeigen die Tiere einen saisonalen Zyklus mit induzierter Ovulation. Die Fohlen verbleiben im allgemeinen bis kurz vor der nächsten Geburt beim Muttertier. Die Betreuerfamilien begleiten ihre jeweiligen Herden ganzjährig und wohnen auch in deren unmittelbarer Umgebung. Sanitäre Anlagen sind nicht vorhanden. Jede Familie besitzt ein oder zwei Hunde als Schutz- und Wachhunde. Auch Katzen sind teilweise vorhanden. Die untersuchten Jungtiere wurden alle während der Geburtsaison 2001/2002 geboren und waren zum Zeitpunkt der Beprobung zwischen 4 und 7 Monate alt.

4.2 Koproscopische Untersuchungen

4.2.1 Versuchsbestände und Versuchsgruppen

Für die Longitudinalstudie wurden 76 Fohlen aus der Geburtsaison 2000/2001 ausgewählt. Die Auswahl erfolgte nach keinen besonderen Kriterien. Für die Querschnittsstudie wurden die Fohlen aus der Geburtsaison 2001/2002 herangezogen. Zur Schätzung genetisch bedingter Parasitenresistenzen wurden dabei zunächst alle Fohlen aus der Geburtsaison 2001/2002 nach ihrer Abstammung in Gruppen eingeteilt. Alle Tiere einer Gruppe stammten dabei von je einem Vätertier ab.

Die 47 größten Gruppen wurden für die koproskopischen Untersuchungen herangezogen. Die Gruppengröße reichte von 5 bis 18 Tieren (Tab. 12). Auf diese Weise wurden insgesamt 434 Fohlen von 47 Vatertieren (161 in Quinsachata / 273 in Malkini) beprobt.

Tabelle 12: Anzahl und Größe der unterschiedlichen Nachkommensgruppen von je einem Vatertier, die zur Schätzung genetischer Parameter koproskopisch untersucht wurden

Nachkommen pro Vatertier	5	6	7	8	9	10	11	13	17	18
Anzahl der Vatertiere mit dieser Nachkommenzahl	4	6	7	8	8	6	5	1	1	1

4.2.2 Longitudinalstudie

Um den Parasitenbefall von Neuweltkameliden im Verlauf eines Jahre zu dokumentieren wurde eine Longitudinalstudie von April bis Dezember 2001 durchgeführt. Dabei wurden im Kot nachweisbare Vermehrungsstadien von Gastrointestinalparasiten quantitativ erfasst.

4.2.2.1 Saisonaler Verlauf der Eiausscheidung von Magen-Darm-Nematoden

Zur Ermittlung des saisonalen Verlaufs der Eiausscheidung von Magen-Darm-Nematoden wurde diese mittels eines modifizierten McMaster-Verfahrens in monatlichen Abständen insgesamt siebenmal quantitativ bestimmt.

Eier von *Nematodirus*-Arten und von weiteren Magen-Darm-Strongyliden wurden über den gesamten Studienzeitraum nachgewiesen, Eier von *L. chavezii* erst ab der 2. Probennahme im Mai.

Die Ausscheidungsprävalenz aller Nematoden-Arten war zu Beginn der Untersuchungen im April nur gering und begann erst im Oktober mit Ende der Trockenzeit anzusteigen (Abb. 6). Sie stieg bei Magen-Darm-Strongyliden während der Trockenzeit am stärksten an und fiel nach Entwurmung der Fohlen mit Ivermectin wieder auf das niedrige Niveau (5-6 %) der anderen Nematodenarten zurück. Die Ausscheidungsprävalenz von *Nematodirus* spp. und *L. chavezii* zeigte einen leichten Rückgang während der Jahresmitte. Im Oktober war jedoch auch bei diesen wie bei

den übrigen Nematoden ein Anstieg erkennbar. Nach der anthelminthischen Behandlung im Oktober fielen die Prävalenzen von *Nematodirus* spp. stark ab, während die von *L. chavezii* auf niedrigem Niveau fast unverändert blieben. Bis zur letzten Probennahme im Dezember stieg die Prävalenz für alle Nematoden erneut deutlich an.

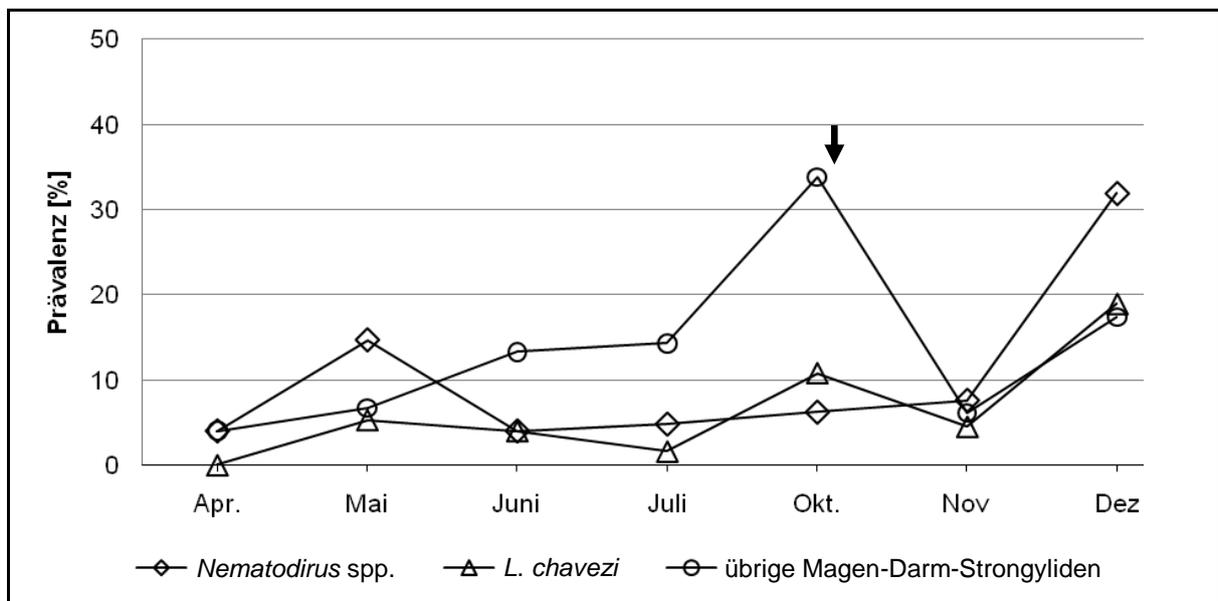


Abbildung 6:

Saisonale **Prävalenz der Ausscheidung** von Nematodeneiern bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76), im Verlauf eines neunmonatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata in 2001 vor und nach Einsatz von Ivermectin (↓).

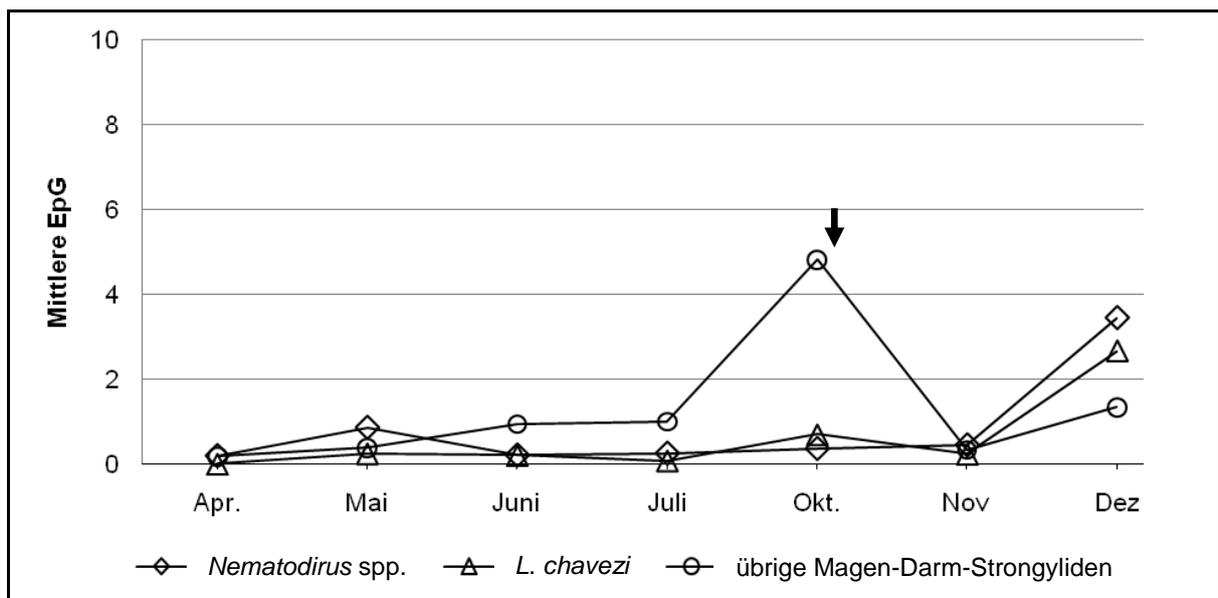


Abbildung 7:

Geometrisch gemittelte **Abundanz** von Nematodeneiern bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76) im Verlauf eines neunmonatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata Quimsachata in 2001 vor und nach Einsatz von Ivermectin (↓).

Die Abundanz der Eiausscheidung war niedrig und überstieg bis zum November nur einmal bei Eiern von Magen-Darm-Strongyliden den Wert von 1 EpG (Abb. 7). Erst zum letzten Untersuchungszeitpunkt im Dezember stiegen die Werte bei allen Nematoden an.

Die mittlere Intensität der Eiausscheidung zeigte für alle Nematoden einen ähnlich gleichmäßig ansteigenden Verlauf bis zu einem Höchstwert im Oktober (Abb. 8). Nach der Entwurmung fielen die Werte wieder auf das Niveau der vorletzten Messung zurück, um im Dezember wieder den Stand des Monats Oktober zu erreichen.

Die individuellen Maxima waren bei *L. chavezii* mit 900 EpG am höchsten, gefolgt von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden mit 600 EpG und *Nematodirus* mit 300 EpG.

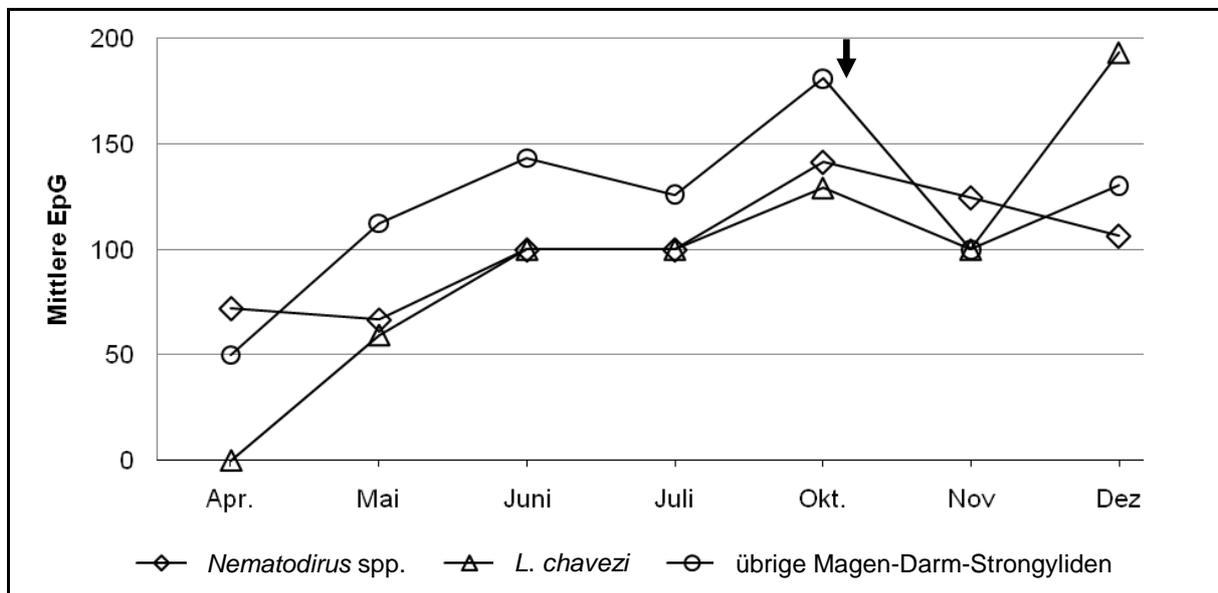


Abbildung 8:

Geometrische gemittelte **Intensität** von Nematodeneiern bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76) im Verlauf eines neunmonatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata in 2001 vor und nach Einsatz von Ivermectin (↓).

4.2.2.2 Saisonaler Verlauf der Ausscheidung von *Eimeria*-Oozysten

Patente *Eimeria*-Infektionen wurden zu Beginn der Untersuchungsperiode bei 61,3 % aller Fohlen festgestellt (Abb. 9). An allen späteren Untersuchungszeitpunkten außer im Dezember schieden stets mehr als 90 % aller untersuchten Tiere *Eimeria*-Oozysten aus. Hingegen stieg die Abundanz der Ausscheidung von Oozysten über mehrere Monate kontinuierlich an und erreichte im Juli ein Maximum von 750 OpG, um anschließend bis zum Jahresende wieder auf ein Niveau von unter 200 OpG abzufallen (Abb. 10). Die Opg-Werte einzelner Individuen zeigten dabei starke

Schwankungen und erreichten Spitzenwerte von bis zu 25.000 OpG. Bei der Mittleren Intensität ergab sich ein ähnlicher Verlauf wie bei der Abundanz (Abb. 11), mit einem Spitzenwert von 1181 OpG im Juli und entgegen dem Verlauf der Abundanz einem leichten Anstieg um 127 OpG zwischen November und Dezember.

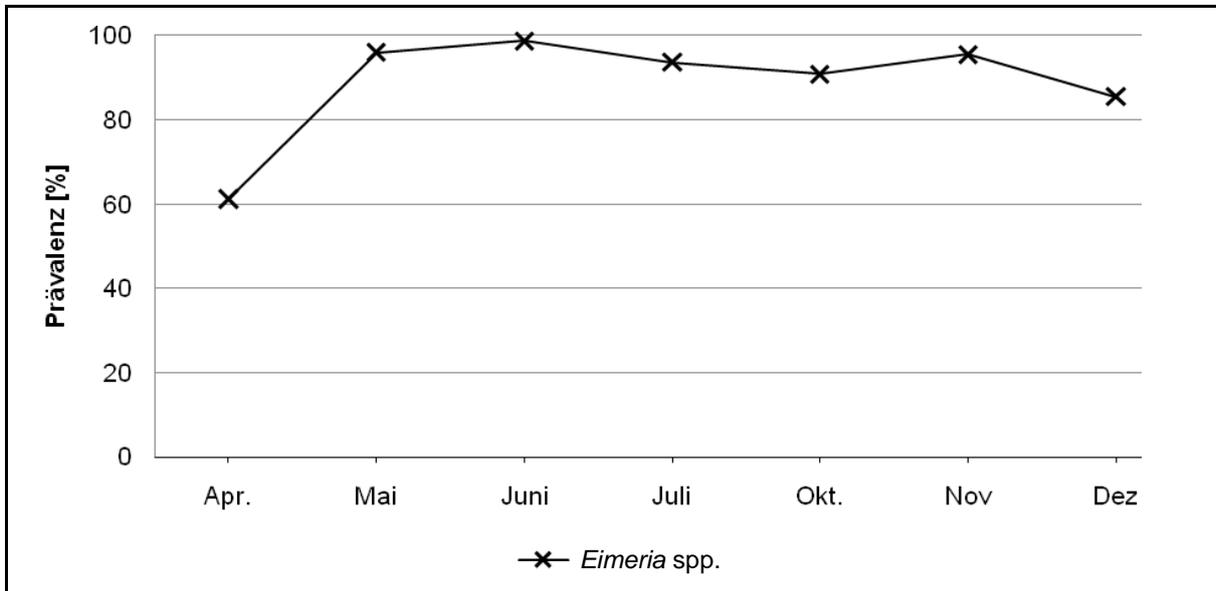


Abbildung 9: Saisonale **Prävalenz der Ausscheidung** von *Eimeria*-Oozysten bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76) im Verlauf eines neunmonatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata (2001).

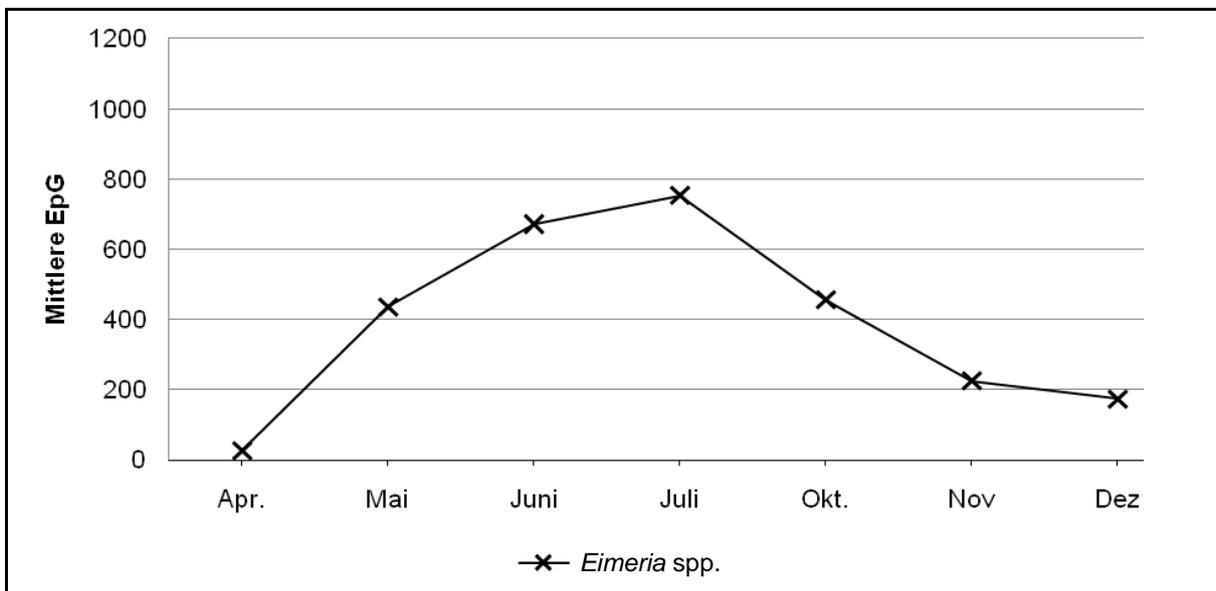


Abbildung 10: Geometrisch gemittelte **Abundanz** von *Eimeria*-Oozysten (mittlere OpG) bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76) im Verlauf eines neunmonatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata (2001).

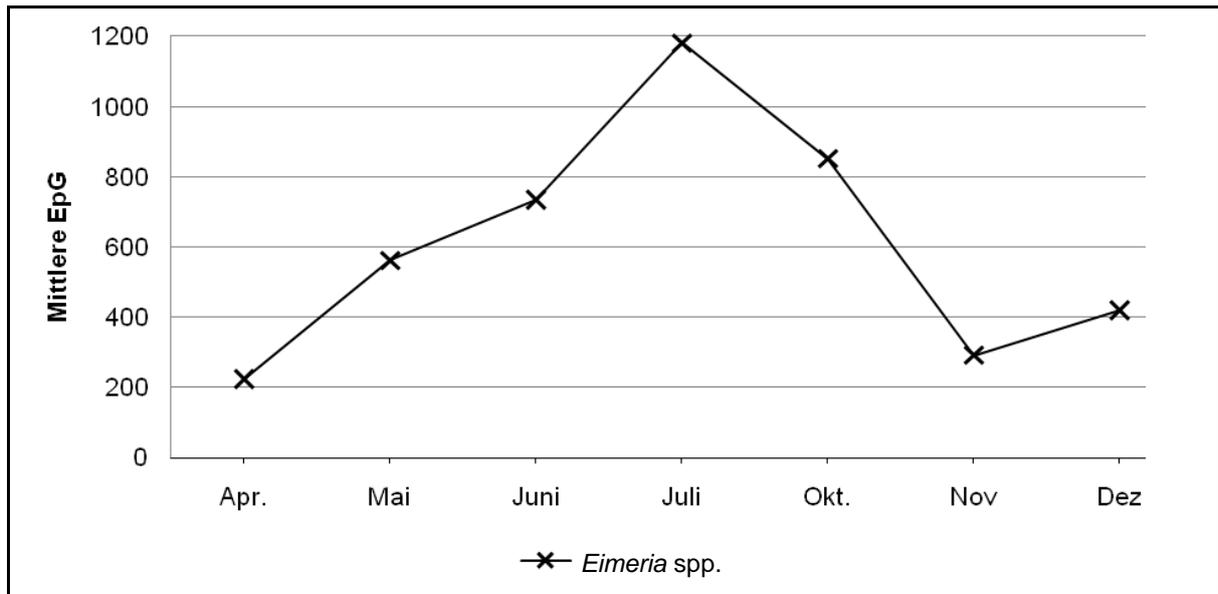


Abbildung 11: Geometrische gemittelte **Intensität** von *Eimeria*-Oozysten bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76) im Verlauf eines neunmonatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata (2001).

4.2.2.3 Saisonaler Verlauf des Befalls mit Cestoden

Eier von *Moniezia* spp. wurden das ganze Jahr über ausgeschieden (Abb. 12). Waren die Prävalenzen anfangs mit 2,4 % noch sehr gering, erreichten sie im Oktober ein Maximum von knapp 59,1 %, um danach wieder unter die Ausgangswerte abzufallen.

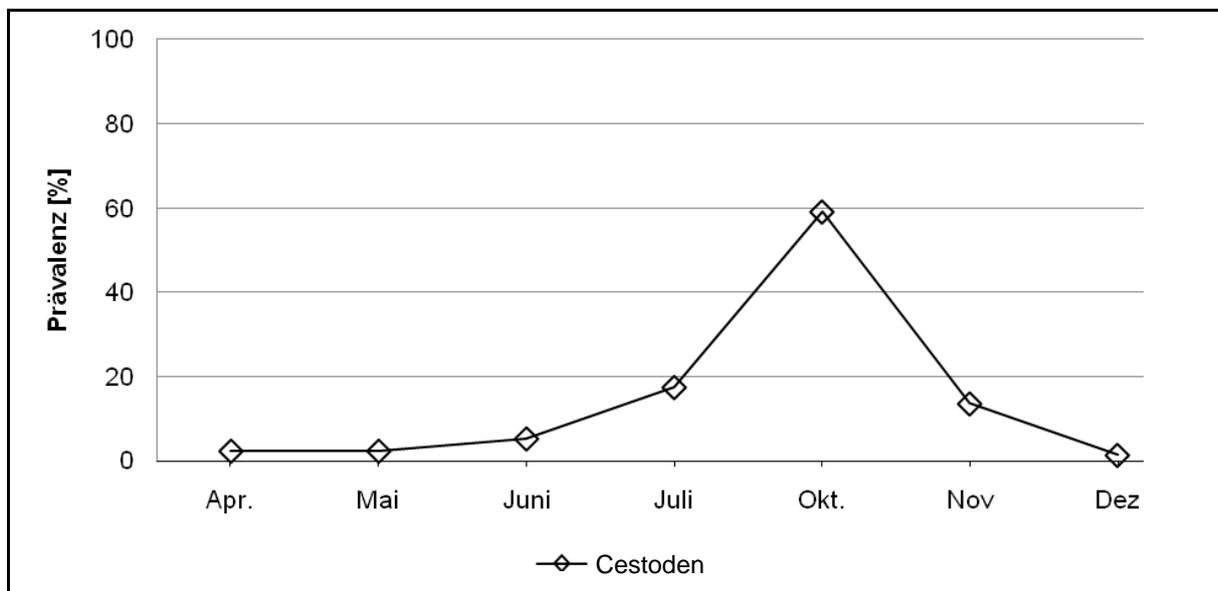


Abbildung 12: Saisonale **Prävalenz der Ausscheidung** von *Moniezia*-Eiern bei Neuweltkameliden-Fohlen (n=76) im Verlauf eines 9monatigen Untersuchungszeitraumes in Quimsachata (2001).

4.2.3 Querschnittsstudie zur fäkalen Ausscheidung von Magen-Darm-Parasitenstadien

Um die Befallsextenstität mit Magen-Darm-Parasiten in zwei unterschiedlichen Mikroklimazonen des peruanischen Altiplano zu vergleichen wurden in den beiden Farmen Quimsachata und Malkini 443 Fohlen koproskopisch untersucht. Weiterhin sollte eine Abschätzung der genetischen Resistenzen von Neuweltkameliden gegenüber Magen-Darm-Strongyliden anhand des Merkmals EpG erfolgen.

4.2.3.1 Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden

Eier von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich der Gattungen *Nematodirus* und *Lamanema* wurden bei 50,1 % aller untersuchten Lamafohlen nachgewiesen. Tabelle 13 gibt eine Übersicht über die Gesamtprävalenzen der verschiedenen Nematodenarten bei allen untersuchten Fohlen in den Betrieben Quimsachata und Malkini.

Die höchsten Prävalenzen innerhalb der Gruppe der Magen-Darm-Strongyliden ergab sich mit 37,6 % für *N. lamae* (Abb. 13) und auch die durchschnittlichen EpG-Werte

Tabelle 13: Gesamtprävalenzen der verschiedenen Nematodenarten bei allen untersuchten Fohlen in den Betrieben Quimsachata und Malkini (n=425)

	<i>MDS</i>	<i>N. spathiger</i>	<i>N. lamae</i>	<i>L. chavezii</i>
Anzahl positiver Tiere	69	62	160	38
Anteil in Prozent (Prävalenz)	16,2	14,6	37,6	8,9
Geometrisch gemittelte Abundanz (EpG)	0,8	0,8	4,0	0,4
Geometrische Mittlere Intensität (EpG)	51,2	51,1	76,5	57,7
Individuelle EpG-Maxima	150	350	450	150

waren mit einer Abundanz von 4 EpG (Abb. 14) und einer Mittleren Intensität von 76,5 EpG (Abb. 15) bei dieser Art am höchsten. Die Prävalenz von *N. spatiger* betrug hingegen nur 14,6 %, bei einer Abundanz von 0,8 EpG und einer Mittleren Intensität von 51,1 EpG. Auch Eier vom nicht näher zu differenzierenden MDS-Typ wurden nur in 16,2 % aller Proben gefunden, bei einer Abundanz von 0,8 EpG und einer Mittleren Intensität von 51,2 EpG. *L. chavezii* war der am seltensten speziesmäßig erfassbar auftretende Parasit mit der niedrigsten Abundanz bei 0,4 EpG, allerdings war die Mittlere Intensität die zweithöchste, nach *N. lamae* mit 57,7 EpG (Abb.15).

Die EpG-Werte einzelner Individuen waren bei *Nematodirus* spp. höher als bei *L. chavezii* und den übrigen Magen-Darm-Strongyliden.

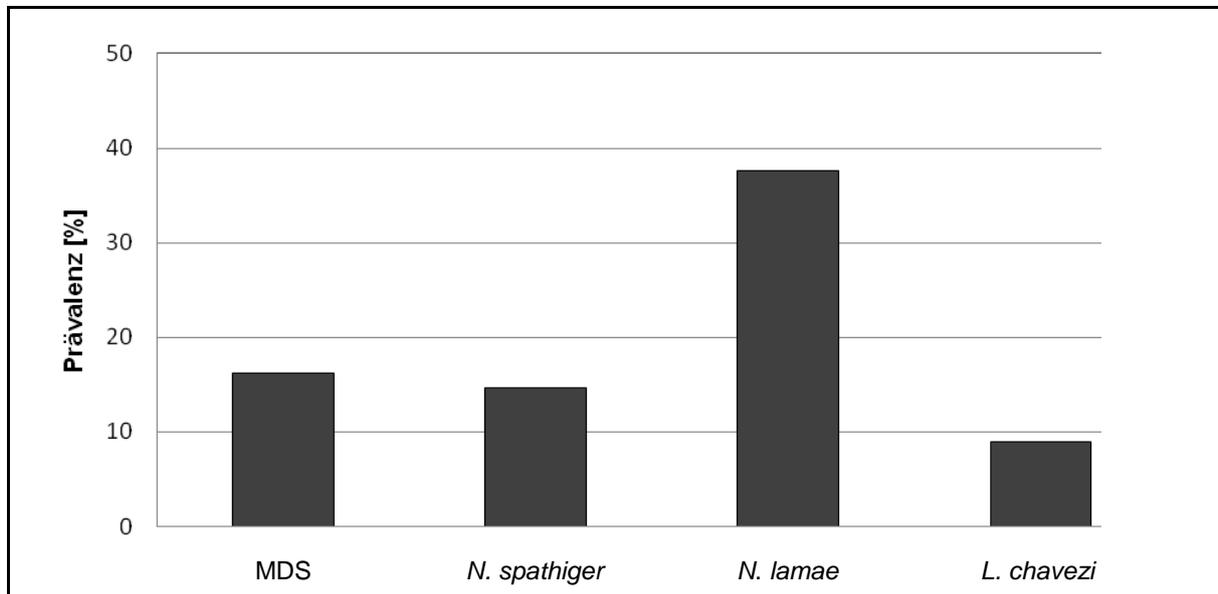


Abbildung 13:
Prävalenz der Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden bei Neuweltkameliden-Fohlen in Peru.

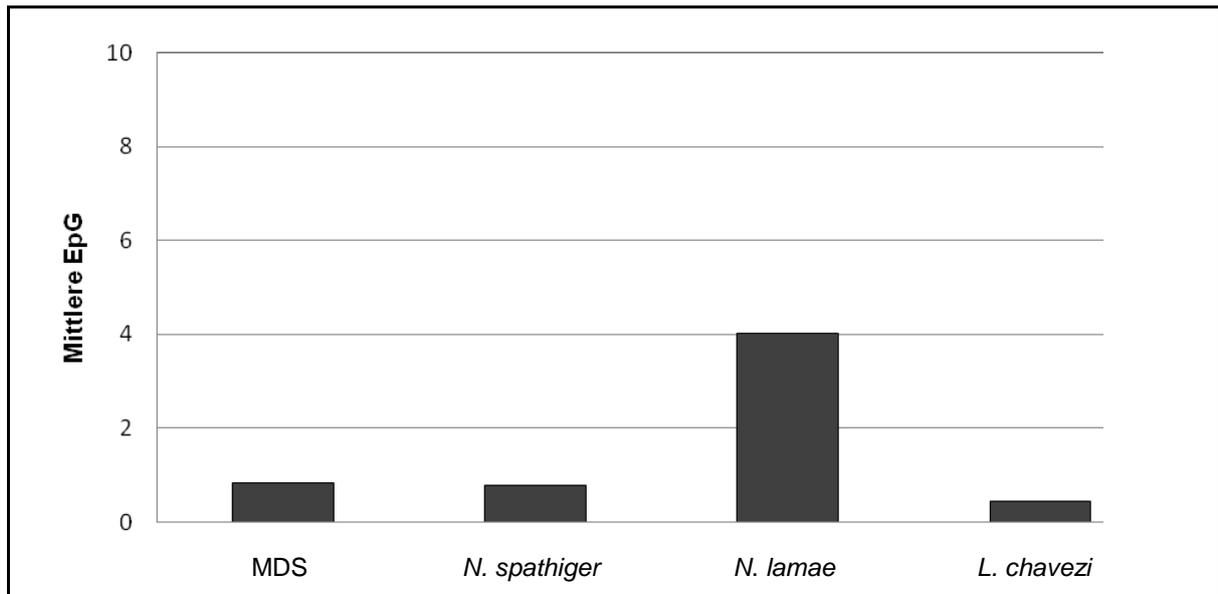


Abbildung 14:

Geometrisch gemittelte **Abundanz** der Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongylyden bei Neuweltkameliden-Fohlen in Peru.

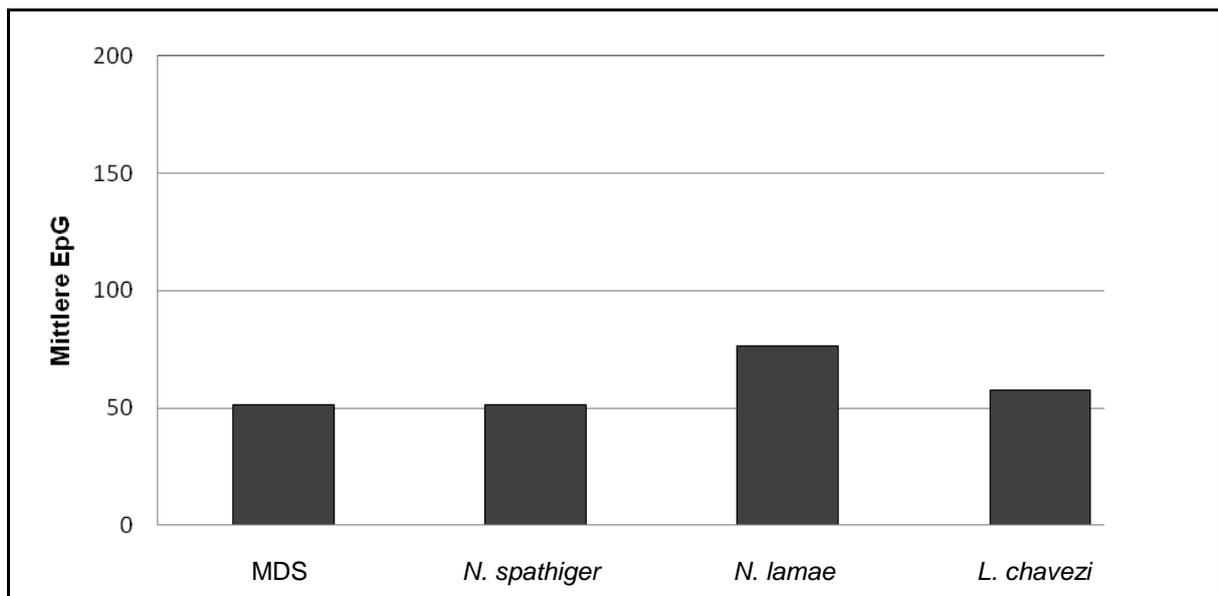


Abbildung 15:

Geometrisch gemittelte **Intensität** der Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongylyden bei Neuweltkameliden-Fohlen in Peru.

4.2.3.2 Abschätzung genetischer Resistenzen für das Merkmal EpG

Eier von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich der Gattungen *Nematodirus* und *Lamanema* wurden bei 50,1 % aller untersuchten Lamafohlen nachgewiesen, wobei die geometrisch gemittelte Abundanz der Eiausscheidung bei 8,4 EpG lag, bei einer Mittleren Intensität von 86,5.

Diese Werte lassen die Schätzung genetisch bedingter Resistenzen nicht zu. Die Variation ist dafür zu niedrig.

4.2.3.3 Ausscheidung von Moniezia-Eiern

Eier von Cestoden der Gattung *Moniezia* wurden in 21,8 % aller Proben gefunden. Eine Bestimmung der Abundanz und der Mittleren Intensität wurde nicht durchgeführt da die Eiausscheidung bei Cestodenarten nicht kontinuierlich erfolgt und keine Rückschlüsse auf den Wurmbefall zuläßt.

4.2.3.4 Ausscheidung von Oozysten von *Eimeria* spp.

Eine patente *Eimeria*-Infektion wurde bei fast 100 % aller Fohlen festgestellt. Die Abundanz der Ausscheidung von Oozysten betrug 1185 OpG, die Mittlere Intensität 1335 EpG. Die OpG einzelner Individuen erreichten Werte von über 100.00 OpG.1

4.2.3.5 Vergleich der Befunde aus den Standorten Quimsachata und Malkini

Um den klimatischen Einfluß auf den Parasitenbefall bei Neuweltkameliden zu untersuchen, wurden 2 Farmen als repräsentative Standorte ausgewählt (Abb. 2). Dabei befindet sich Quimsachata in der Puna seca (trockene Puna), Mallkini dagegen in der Puna húmeda (feuchte Puna). Die Haltungform der Tiere ist in beiden Farmen ähnlich (Kap. 3.1).

4.2.3.5.1 Ausscheidung von Magen-Darm-Strongyliden-Eiern

Die Prävalenz von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich *L. chavezii* und der Gattung *Nematodirus* war bei Tieren der Farm Malkini mit 60,0 % höher als bei den Tieren in Quimsachata wo sie 37,9 % betrug.

Die geometrisch gemittelte Abundanz aller Arten von Magen-Darm-Strongyliden zusammen lag in Malkini mit 14,4 EpG höher als in Quimsachata mit 6,3 EpG.

Die Prävalenz der Magen-Darm-Strongylidenarten, abzüglich der Arten *N. spathiger*, *N. lamae* und *L. chavezii* war in Quimsachata mit 28,0 % signifikant höher als in Malkini, wo sie nur 9,1 % betrug ($p < 0,001$, Abb. 16). Umgekehrt verhielt es sich bei den Arten *L. chavezii* und *N. lamae*. Hier war die Häufigkeit der Eiausscheidung in Malkini signifikant höher als in Quimsachata ($p < 0,001$). Für die Ausscheidung von Eiern von *N. spathiger* zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren beider Farmen.

Tabelle 14 gibt eine Übersicht über die Ausscheidungsprävalenzen sowie Abundanz und Mittlere Intensität der verschiedenen Nematodenarten in den beiden Farmen.

Die geometrisch gemittelte Abundanz der Eiausscheidung aller Magen-Darm-Strongylidenarten einschließlich *Nematodirus* spp. und *L. chavezii* war in Malkini mit 14,4 EpG mehr als doppelt so hoch wie in Quimsachata, wo sie bei 6,3 EpG lag. In Malkini stellten Eier von *N. lamae* den deutlich größten Anteil der Eier, ihre Abundanz

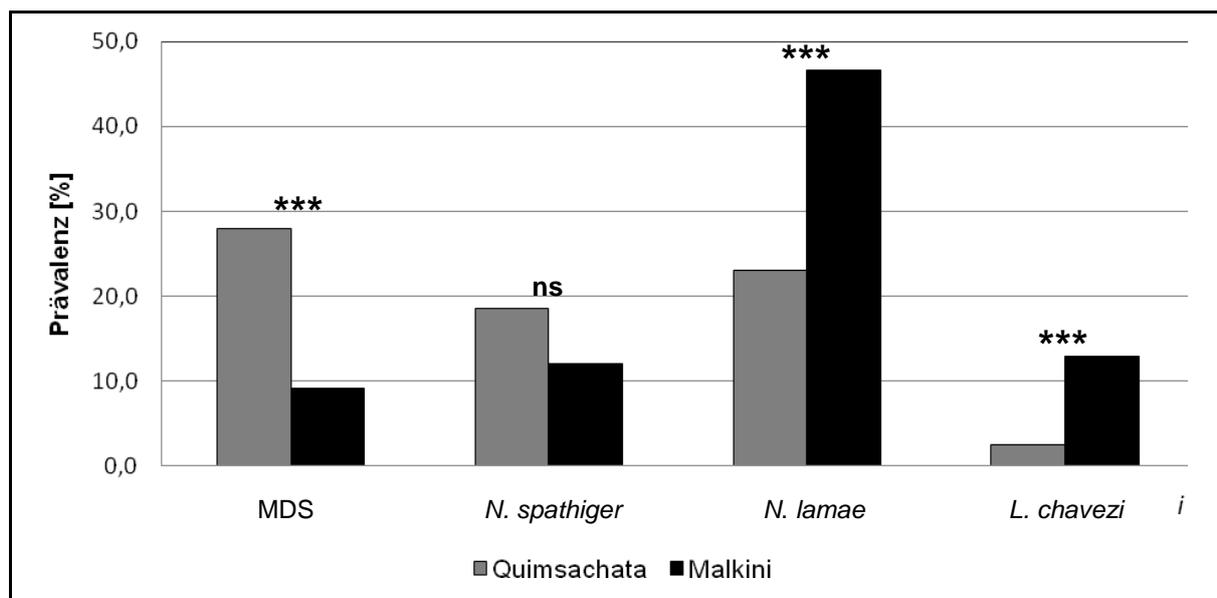


Abbildung 16:

Ausscheidungsprävalenzen von Nematodeneiern bei Neuweltkameliden-Fohlen aus den zwei Versuchsfarmen in unterschiedlichen klimatischen Regionen des peruanischen Altiplano. Hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,001$): ***, nicht signifikant: ns.

lag bei 7,2 EpG, während alle anderen Nematoden unter 1 EpG lagen (Abb. 17). In Quimsachata unterschied sich die Abundanz der einzelnen Nematodenarten weniger, die EpG-Zahlen rangierten hier von 0,1 für *L. chavezii* bis 1,7 für Eier vom MDS-Typ.

Während die Mittlere Intensität der Eiausscheidung der verschiedenen Nematodenarten in Quimsachata relativ homogen verteilt war, war diese in Malkini für *Nematodirus* spp. am höchsten (Abb. 18). Obwohl *N. spathiger* nur eine Abundanz von 0,7 EpG im Vergleich zu 7,2 EpG von *N. lamae* aufwies, war die Mittlere Intensität der Eiausscheidung von *N. spathiger* mit 80 EpG nur unwesentlich geringer als die von *N. lamae* (88 EpG).

In Quimsachata lagen die höchsten individuellen Maxima bei 150 EpG bei Eiern vom

Tabelle 14: Ausscheidung von Nematodeneiern bei Neuweltkameliden-Fohlen aus zwei Versuchsfarmen in unterschiedlichen klimatischen Regionen des peruanischen Altiplano

	Quimsachata (n=161)	Malkini (n=264)	Signifikanzlevel
<i>N. spathiger</i>			
Prävalenz (%)	18,6	12,1	> 0,05
Abundanz (EpG) ¹⁾	0,9	0,7	k. A.
Mittlere Intensität (EpG) ¹⁾	32	80	k. A.
Individuelles Maximum	50	350	k. A.
<i>N. lamae</i>			
Prävalenz (%)	23,0	46,6	< 0,001
Abundanz (EpG)	1,3	7,2	k. A.
Mittlere Intensität (EpG)	47	88	k. A.
Individuelles Maximum	250	450	k. A.
<i>L. chavezii</i>			
Prävalenz (%)	2,5	12,9	< 0,001
Abundanz (EpG)	0,1	0,7	k. A.
Mittlere Intensität (EpG)	42	60	k. A.
Individuelles Maximum	50	150	k. A.
übrige Magen-Darm-Strongyliden			
Prävalenz (%)	28,0	9,1	< 0,001
Abundanz (EpG)	1,7	0,5	k. A.
Mittlere Intensität (EpG)	48	58	k. A.
Individuelles Maximum	150	100	k. A.

¹⁾ geometrisches Mittel
k. A.: keine Angabe

MDS-Typ 250 bei *N. laeae* und 50 EpG bei *N. spathiger* und *L. chavezii* (Tab. 14). Auch wenn alle Nematodenarten zusammengenommen wurden, lag das Maximum nur bei 300 EpG, während es in Malkini mit 900 EpG dreimal so hoch war. *Nematodirus* spp. allein hatten bereits Höchstwerte von 800 EpG. Im einzelnen hatte *N. laeae* 450 EpG, gefolgt von *N. spathiger* mit 350 und *L. chavezii* mit 150 EpG. Bei Eiern vom MDS-Typ lagen die Werte maximal bei 100 EpG.

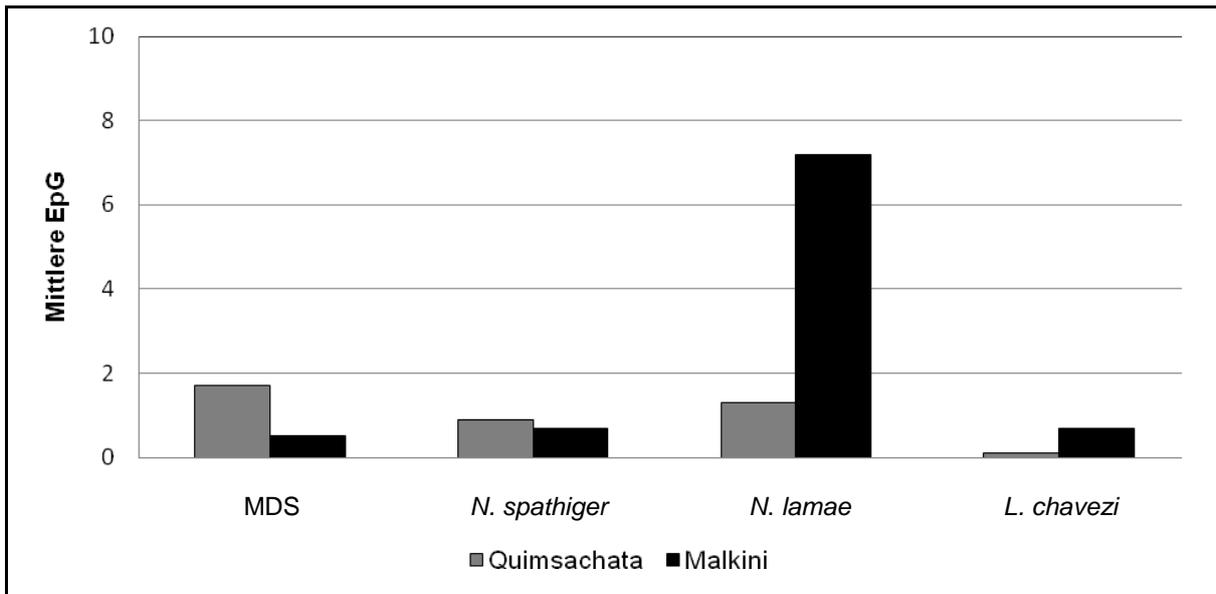


Abbildung 17:

Geometrisch gemittelte **Abundanz** der Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden im Vergleich Quimsachata – Malkini.

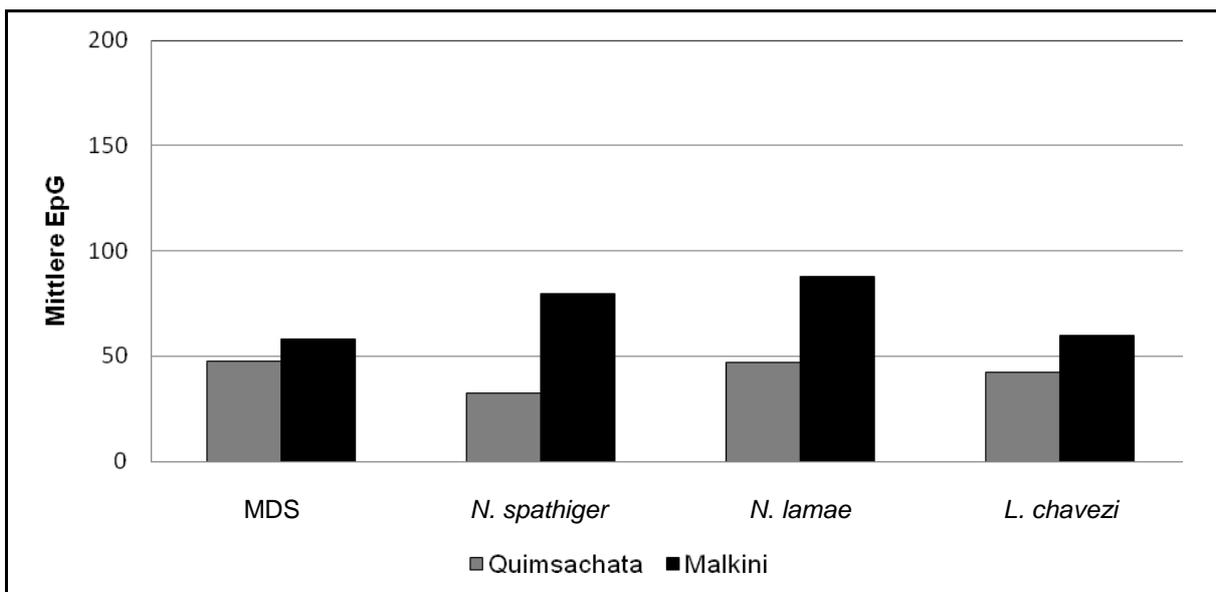


Abbildung 18:

Geometrisch gemittelte **Intensität** der Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden im Vergleich Quimsachata – Malkini.

4.2.3.5.2 Ausscheidung von *Moniezia*-Eiern

Die Befallshäufigkeit mit Bandwürmern der Gattung *Moniezia* betrug 23,4 % in Malkini und 19,1 % in Quimsachata.

4.2.3.5.3 Ausscheidung von *Eimeria*-Oozysten

Die Prävalenz der Ausscheidung von *Eimeria*-Oozysten war in beiden Farmen mit 95,7 % in Quimsachata und 97,9 % in Malkini sehr hoch (Tab. 15).

In Quimsachata wurden Infektionen mit *E. macusaniensis* gesondert erfasst und kamen in 46,0 % der untersuchten Proben vor, in 2 Fällen als Monoinfektion. Die geometrisch gemittelte Abundanz der Oozystenausscheidung aller *Eimeria* spp. war in Malkini mit 1306 OpG höher als in Quimsachata mit 1011 OpG. Die Abundanz von *E. macusaniensis* alleine lag hier bei 9 OpG, die der übrigen *Eimeria*arten bei 790 OpG.

Die Mittlere Intensität der Gesamtoozystenausscheidung war in Malkini mit 1381OpG höher als in Quimsachata mit 1263 OpG, wobei insbesondere in Malkini extreme individuelle Maxima von über 100.000 OpG erreicht wurden, während die höchste Ausscheidung einzelner Individuen in Quimsachata bei 36.150 OpG lag. Die Mittlere Intensität der Ausscheidung von *E. macusaniensis*-Oozysten in Quimsachata lag bei 151 OpG und das individuell erzielte Maximum bei 1.600 OpG.

Tabelle 15: Ausscheidung von *Eimeria*-Oozysten bei Neuweltkameliden-Fohlen aus den zwei Versuchsfarmen

	Quimsachata (n = 161)	Malkini (n = 264)
<i>Eimeria</i> spp.		
Prävalenz (%)	95,7	97,7
Abundanz (OpG)	1011	1306
Mittlere Intensität (OpG)	1.263	1.381
Individuelles Maximum	36.150	132.000
<i>E. macusaniensis</i>		
Prävalenz (%)	46,0	n. d.
Abundanz (OpG)	9	n. d.
Mittlere Intensität (OpG)	151	n. d.
Individuelles Maximum	1.600	n. d.

n. d.: nicht durchgeführt

4.2.3.5.4 Vergleich der Befunde des Krankenlagers mit den normalen Weiden am Standort Malkini

In Malkini befanden sich 19 der 273 untersuchten Tiere zum Zeitpunkt der Probennahme im „Krankenlager“ der Farm (Kap. 3.1). Bei diesen Tieren war die Befallsextenstität von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich *L. chavezii* und der Gattung *Nematodirus* mit 84 % signifikant ($p=0,047$) höher als bei den Tieren die sich zum Zeitpunkt der Probennahme auf den normalen Weiden befanden ($p=58,3$ %). Die Prävalenz der Ausscheidung von Eiern vom MDS-Typ in der Krankenstation lag bei 52 % auf den normalen Weiden dagegen nur bei 5,9 % und unterschied sich damit hochsignifikant ($p < 0,001$).

4.2.3.5.6 Ergebnisse der Larvenkultur und der Gattungsbestimmung von Magen-Darm-Strongyliden

Es wurden von 49 Tieren Kotproben entnommen und Larvenkulturen angelegt. Dabei konnten in 76 % der Fälle Mischinfektionen mit mehr als einer Strongylidenart festgestellt werden. In 33 % waren vier oder mehr verschiedene Gattungen identifizierbar. In 10 % der Proben war eine Larvenkultivierung nicht erfolgreich, obwohl die Tiere Eier ausgeschieden hatten. Laven der Arten *Oesophagostomum* und *Chabertia* können nicht unterschieden werden und wurden daher zusammen erfasst. Bei der Auswertung von 996 Larven waren Nematoden der Gattung *Cooperia* mit knapp 59,4 % am häufigsten vertreten (Abb. 19) Der Anteil der Arten der Gattungen *Ostertagia* und *Trichostrongylus* sowie der *Oesophagostomum/Chabertia*-Gruppe lag zwischen 11 % und 15 %. *Bunostomum*arten bildeten mit weniger als einem Prozent nur einen geringen Anteil.

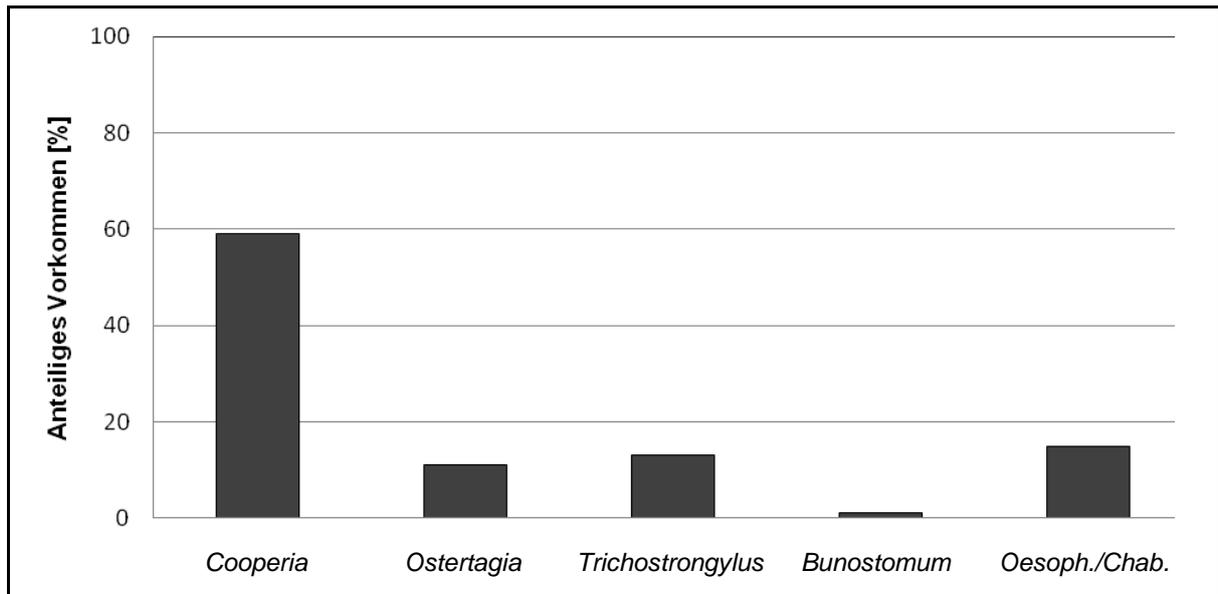


Abbildung 19: Prozentuale Verteilung der verschiedenen MDS-Gattungen von 996 über Larvenkultur herangezüchteter Larven 3.

4.3 Serologische Untersuchungen

4.3.1 Validierung serologischer Methoden mittels experimenteller Infektion eines Lamas mit *N. caninum*

4.3.1.1 Immunoblot

Im Immunoblot erkannten Serumproben des experimentell infizierten Lamas (Lama A) erstmals am 12. Tag p.i. Banden zweier immunodominanter *Neospora*-Antigene von 29 und 30 kDa Größe (Abb. 20-A). Vom 16. bis zum 45. Tag p.i. wurden alle 5 spezifischen Antigene (17, 29, 30, 33 und 37 kDa) erkannt. An dem darauffolgenden Untersuchungstermin am 52. Tag p.i. blieb die Reaktion auf 4 Banden beschränkt. Das nicht infizierte Kontrolltier (Lama B) entwickelte über den gesamten Untersuchungszeitraum (bis zum 52. Tag p.i.) keine Antikörper gegen immunodominante Antigene von *N. caninum* (Abb. 20-B).

Um eine größere Menge positiven Testserums zu gewinnen, wurden dem infizierten Tier am Tag 100 p.i. zusätzliche 400 ml Blut entnommen. Auch zu diesem Zeitpunkt wurden noch 4 Banden erkannt.

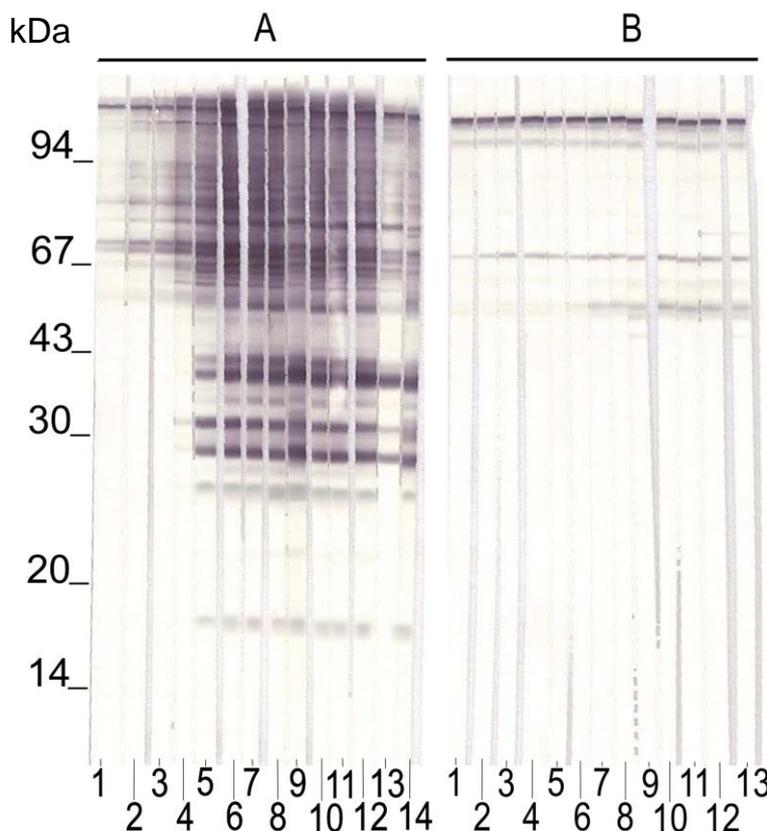


Abbildung 20: Immunoblot-Ergebnisse der Serumproben eines experimentell mit *N. caninum* infizierten Lamas (A) und des mit Verzellen infizierten Kontrolltiers (B). Die Probennahme erfolgte an den Tagen 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 28, 31, 38, 45 und 52 p. i. (Reihen 1–13), das experimentell infizierte Tier wurde noch einmal nach 100 Tagen p.i. untersucht (Reihe 14).

4.3.1.2 Modifizierter p38-ELISA

Im modifizierten p38-ELISA wurden Antikörper gegen *N. caninum* bei Lama A erstmals am Tag 19 p.i. gefunden, gefolgt von einem steilen Anstieg des Antikörperspiegels bis zum Tag 28 p.i. (Abb. 21). Ab diesem Zeitpunkt war der Titerverlauf schwankend, blieb jedoch bis zum Ende des Untersuchungszeitraums stets auf hohem Niveau. Das nicht infizierte Kontrolltier (Lama B), zeigte zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung Werte oberhalb der Basislinie.

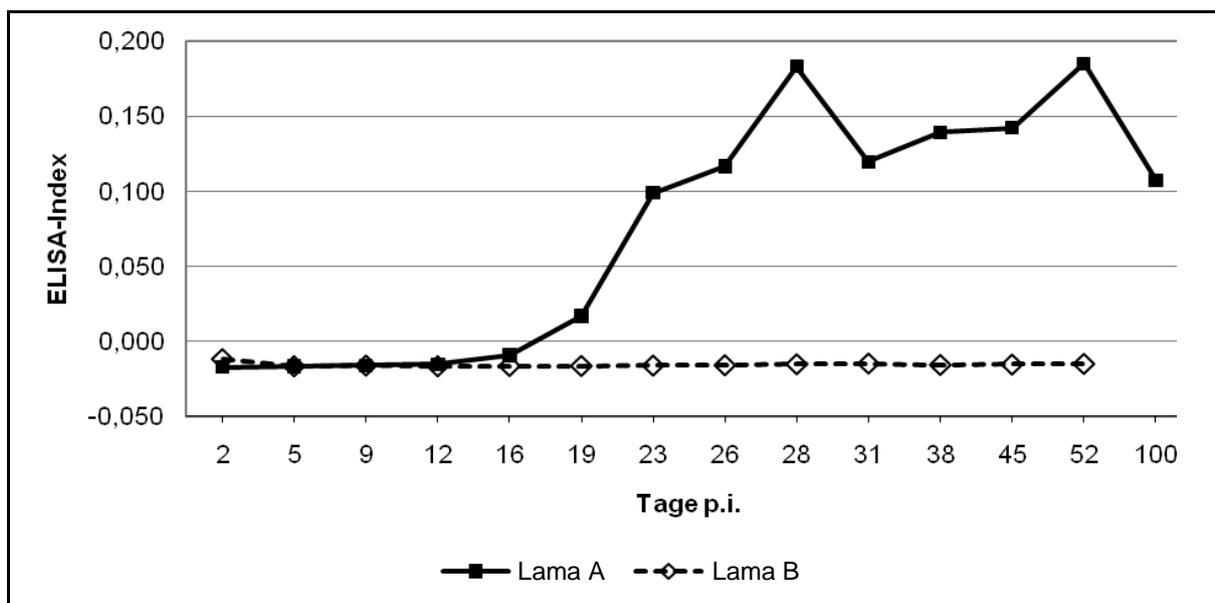


Abbildung 21:

Ergebnisse des **P38-ELISA**s der Serumproben des experimentell mit *N. caninum* infizierten Lamas (A) und des mit Verozellen injizierten Kontrolltiers (B).

4.3.1.3 Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT)

Im IFAT wurde erstmals am Tag 9 p.i. ein Titer von 1:20 im Serum des experimentell infizierten Tieres festgestellt (Abb. 22). Es folgte ein Anstieg bis zum 23. Tag p.i.. Im weiteren Verlauf bis zum Ende der Untersuchung schwankten die Titer zwischen 1:200 und 1:800. Lama 2 reagierte bei einer Verdünnung von 1:20 zu keinem Zeitpunkt im NC-IFAT.

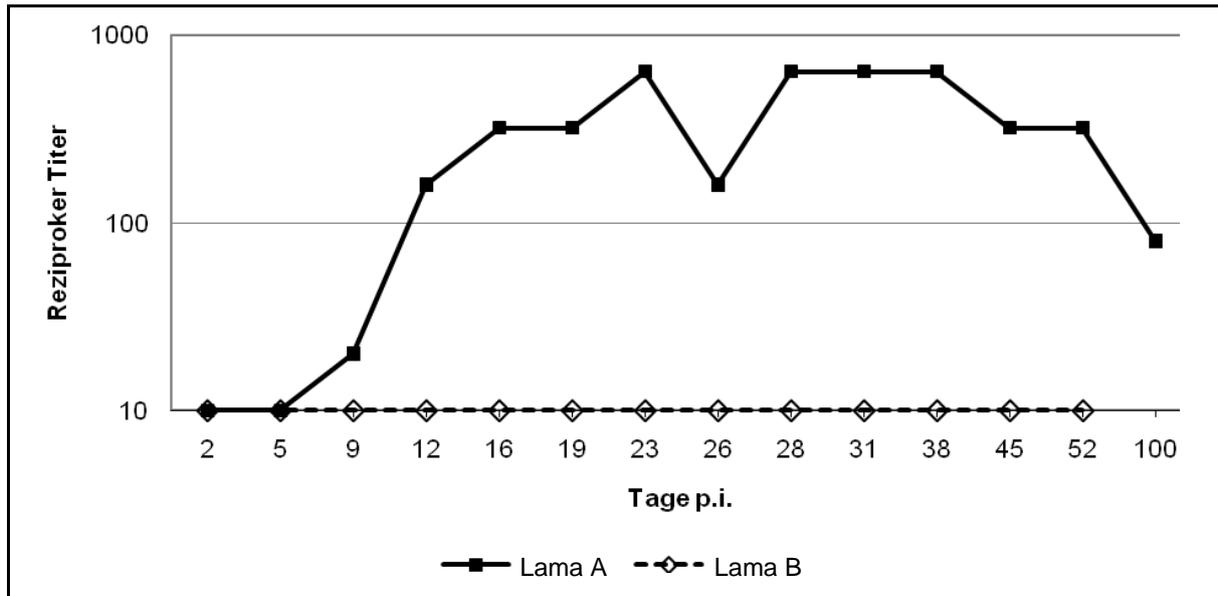


Abbildung 22: Ergebnisse des IFATs der Serumproben des experimentell mit *N. caninum* infizierten Lamas (A) und des mit Verozellen injizierten Kontrolltiers (B)

4.3.2 Untersuchungen der Sera von Neuweltkameliden aus Peru und einem deutschen Betrieb auf *N. caninum* und *T. gondii*

Zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* wurden alle Proben aus Peru und Deutschland zunächst im Immunoblot und anschließend im modifizierten p38-ELISA untersucht. Bei allen im Immunoblot positiven Tieren wurde anschließend im IFAT der Antikörpertiter bestimmt.

Für den Nachweis von Antikörpern gegen *T. gondii* wurde nur der Immunoblot angewendet.

4.3.2.1 Immunoblot

Von 864 untersuchten Feldsera aus Peru wurden im Immunoblot 18, d. h. 2,1 % positiv auf *N. caninum* getestet. 30 Proben waren *Toxoplasma*-positiv, dies entspricht 3,5 %. Keines der 114 Vikunjas war eindeutig positiv, zwei Tiere, deren Sera mit zwei Banden immunodominanter *Neospora*-Antigene reagierten, wurden als fraglich eingestuft. Dagegen erwiesen sich 3 Tiere als *T. gondii*-positiv, was einer Seroprävalenz von 2,6 % entspricht.

Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die Verteilung der Seroprävalenzen in den unterschiedlichen Altersgruppen der verschiedenen Betriebe in Peru und Deutschland, sowie bei den wildlebenden Vikunjas. Die Prävalenz von *N. caninum* bei allen untersuchten Tieren der Farm Quimsachata betrug 1,8 % (n=12), die von *T. gondii* 4,2 % (n=28). In Malkini hatte *N. caninum* eine Prävalenz von 3,1 % (n=6) und *T. gondii* von 1,0 % (n=2); allerdings ist zu bedenken, daß im letzten Fall nur Jungtiere beprobt wurden (Kap. 3.2).

In dem deutschen Betrieb konnten im Westernblot bei keinem der 32 beprobten Tiere Antikörper gegen *N. caninum* nachgewiesen werden, während insgesamt 43,8 % (n=14) der Tiere positiv auf *T. gondii* getestet wurden.

Tabelle 16: Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* und *T. gondii* im Immunoblot bei Neuweltkameliden aus Peru und Deutschland

Herkunft	Tierart	Alter	untersucht	Seropositiv für <i>N. caninum</i>		Seropositiv für <i>T. gondii</i>	
				n	%	n	%
Farm Malkini, Department Puno, Peru	Alpaka	Fohlen ¹⁾	195	6	3,1	2	0,5
				1	0,6	1	0,6
				10	3,1	17	5,3
Farm Quimsachata, Department Puno, Peru	Alpaka	Fohlen	161	1	0,6	1	0,6
				1	1,2	7	8,6
				0	0	2	2,6
Picotani, Department Puno, Peru	Lama	Adulte ²⁾	81	0	0	0	0
				0	0	0	0
				0	0	0	0
Tarmatambo, Ondores und Atosaico, Department Junin, Peru	Vikunja	Adulte	48	0	0	0	0
				0	0	0	0
				0	0	0	0
Hessen	Alpaka	Fohlen	5	0	0	0	0
				0	0	4	57
				0	0	1	12,5
				0	0	9	75

¹⁾ < 12 Monate ²⁾ > 36 Monate ³⁾ 12 bis 36 Monate ⁴⁾ Alter unbekannt

4.3.2.2 Modifizierter p38-ELISA

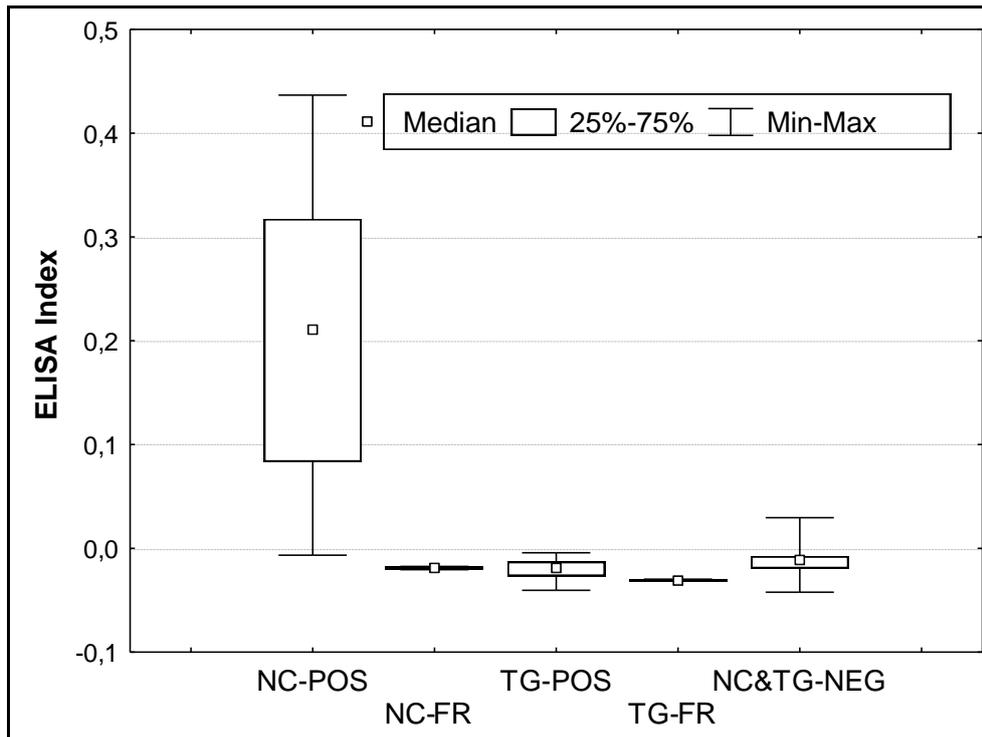
Zur Evaluierung des p38-ELISAs bezüglich seiner Fähigkeit zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* bei Neuweltkameliden wurden die peruanischen Feldsera entsprechend der Resultate des Immunoblots für *N. caninum* (NC-IB) und *T. gondii* (TG-IB) in positiv, negativ oder fraglich eingeteilt. Die ELISA-Indizes der NC-IB-positiven Sera (n=18) reichten von -0,007 bis 0,437, die der *T. gondii*-positiven (n=30), sowie die der *N. caninum*- und *T. gondii*-negativen oder –fraglichen Sera (n=816) waren durchgehend niedrig und lagen zwischen -0,042 und 0,03 (Abb. 23). Zwischen den *N. caninum*-negativen und –fraglichen Sera konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (Mann–Whitney U-Test: $P > 0.05$). Auf Basis einer TG-ROC Analyse unter Verwendung der NC-IB-positiven gegenüber den restlichen Proben wurde für den p38-ELISA ein Cut-off von $d_0 = -0,0006$ vorgeschlagen (Sensitivität und Spezifität 95,4 %).

4.3.2.3 Indirekter Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT)

Zur Evaluierung des *N. caninum*-IFAT (NC-IFAT) hinsichtlich seiner Eignung zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* bei Neuweltkameliden wurden von sämtlichen Proben, die in einem der beiden Immunoblots (NC-IB, TG-IB) als positiv oder fraglich eingestuft worden waren im IFAT die reziproken Antikörpertiter bestimmt. Außerdem wurden aus den vorhandenen Proben, die sowohl NC-IB- als auch TG-IB – negativ waren, weitere 101 Sera zufällig ausgewählt und ebenfalls untersucht.

Die reziproken Titer der *N. caninum*-positiven Proben reichten von ≤ 10 bis 640 (Tab. 17). Bei Proben, welche im Immunoblot positiv auf *T. gondii* reagierte hatten, lagen sie zwischen ≤ 10 und 40. Ebenso bei Proben die für einen der beiden Parasiten als fraglich eingestuft worden waren. Sämtliche 101 zufällig ausgewählten negativen Proben hatten reziproke Titer von ≤ 10

Es wurde eine TG-ROC Analyse aller Sera durchgeführt, die im NC-IFAT bei einer Verdünnung von 1:20 nicht positiv reagiert hatten. Hierfür wurde ein reziproker Titer von 10 verwendet. Unter diesen Bedingungen ergab sich ein reziproker Cut-off Titer von $d_0 = 13,8$, bei welchem der Test eine Sensitivität von 94,3 % erreichte.

**Abbildung 23:**

Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* in Serumproben von Neuweltkameliden in Peru im P38-ELISA: Sera positiv im *N. caninum*-Immunoblot (NC-POS), fraglich im *N. caninum*-Immunoblot aber negativ im *T. gondii*-Immunoblot (NC-FR), positiv im *T. gondii*-Immunoblot (TG-POS), im *T. gondii*-Immunoblot fraglich aber negativ im *N. caninum*-Immunoblot (TG-FR) und Sera negativ in beiden Tests (NC-NEG & TG-NEG).

Tabelle 17: Vergleich der Immunoblot- Ergebnisse (NC-IB, TG-IB) zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* in Seren von Neuweltkameliden mit Antikörpertitern im *N. caninum*-IFAT.

Immunoblot-Ergebnisse	Reziproker <i>N. caninum</i> IFAT Titer						
	≤ 10	20	40	80	160	320	640
<i>N. caninum</i> -positiv	1	1	1	6	4	4	1
<i>N. caninum</i> fraglich und <i>T. gondii</i> -negativ	2	1	1	0	0	0	0
<i>T. gondii</i> -positiv	25	4	1	0	0	0	0
<i>T. gondii</i> - fraglich und <i>N. caninum</i> -negativ	2	1	0	0	0	0	0
<i>N. caninum</i> - und <i>T. gondii</i> - negativ	101	0	0	0	0	0	0

4.3.2.4 Altersabhängigkeit im Auftreten von Antikörpern gegen *N. caninum*

Bei der Untersuchung in Quimsachata wurden 161 Alpakafohlen und 319 adulte Alpakas im Immunoblot auf Antikörper gegen *N. caninum* und *T. gondii* untersucht (Tab. 16). Adulte Tiere (n=10; 3,6 %) schienen im Gegensatz zu Fohlen (n=1; 0,6 %) tendenziell häufiger *N. caninum*-positiv zu sein, aber dies erwies sich nicht als statistisch signifikant ($p = 0.109$, Fisher Exakt Test). Im Gegensatz dazu konnte bei Infektionen mit *T. gondii* ein signifikant häufigeres Auftreten bei älteren (n=17; 5,3 %) Tieren gegenüber Jungtieren (n=1, 0,6 %) festgestellt werden ($p = 0.0209$; Yates korrigiert χ^2).

Auf der deutschen Farm wurden 5 Alpakafohlen und 7 adulte Alpakas sowie 8 Lamafohlen und 12 adulte Lamas untersucht. Davon wurden ein Lamafohlen sowie 7 adulte Lamas und 4 adulte Alpakas im Immunoblot positiv auf *T. gondii* getestet. Ältere Alpakas hatten in der Tendenz, häufiger Antikörper gegen *T. gondii* als Jungtiere ($pP = 0.081$; Fisher Exakt Test), und eine signifikant höhere Seroprävalenz wurde bei adulten Lamas gegenüber den Jungtieren beobachtet ($p = 0.01$; Fisher Exakt Test).

4.3.3 Untersuchungen von Sera von Neuweltkameliden aus Peru und einem deutschen Betrieb auf Antikörper gegen *Sarcocystis* spp.

Die Seroprävalenz von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp. bei Neuweltkameliden sollte untersucht werden. Da kein Antigen von *Sarcocystis*-Arten zu Verfügung stand welche originär bei Neuweltkameliden parasitieren, wurden zwei *Sarcocystis*-Arten von anderen Tierarten auf ihre Kreuzreaktionsfähigkeit getestet.

4.3.3.1 Evaluierung des Immunoblot-Verfahrens anhand von Sera definitiv-infizierter und unverdächtiger-negativer Kontrolltiere

Zunächst wurden 14 Serumproben von bei der Fleischschau makroskopisch als mit *Sarcocystis* spp. befallenen Lamas im Immunoblot auf ihre Reaktion gegen Antigene von *S. miescheriana* und *S. singaporensis* untersucht und dabei mit den Reaktionen von Seren von Fohlen aus dem deutschen Betrieb (n=2) und mit Seren von experimentell mit *S. miescheriana* infizierten Schweinen (n=4) verglichen (Abb. 24 und

Abb. 25). Seren von Schweinen mit experimenteller *S. miescheriana*-Infektion erkannten bei Verwendung von *S. miescheriana*- und *S. singaporensis*-Antigen ein einheitlich breites Muster von 14 bzw. 18 Banden im Bereich von 30 kDa bis 100 kDa (Bahnen 18-21, Abb. 24; Bahnen 17-18, Abb. 25). Seren der als Positivkontrollen eingesetzten peruanischen Lamas mit makroskopisch sichtbaren *Sarcocystis*-Muskelzysten erfassten ein variables Antigenmuster von 2-9 Banden (*S. miescheriana*-Antigen) bzw. 2-10 Banden (*S. singaporensis*-Antigen) im Bereich von 25 kDa bis 100 kDa (Bahnen 1-14; Abb.24 und Abb. 25). Dagegen zeigten Seren der als Negativkontrolle verwendeten Alpakafohlen (Bahnen 16-17; Abb. 24; Bahn 16, Abb. 25) aus einem deutschen Betrieb keine Reaktionen im Bereich von 25 kDa bis

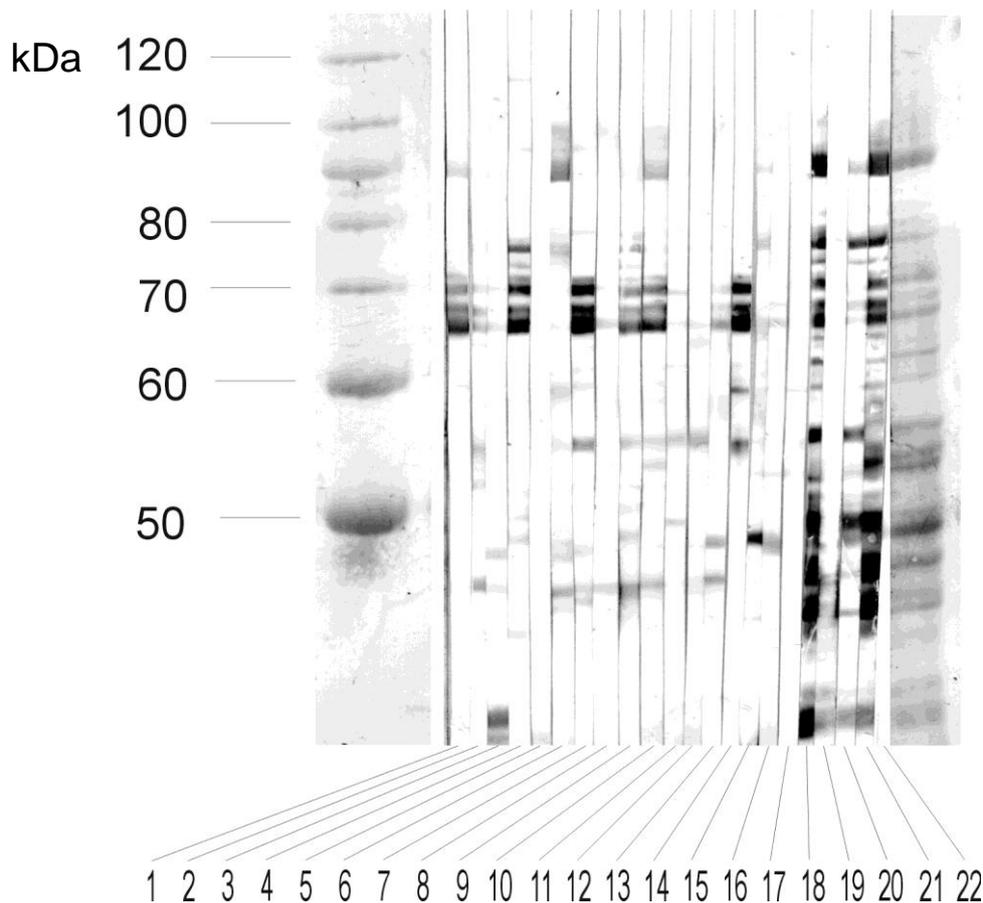


Abbildung 24:

Nachweis von Antikörpern gegen *S. miescheriana* mittels Immunoblot in Seren von nach Schlachtbefunden mit *Sarcocystis* spp. befallenen Lamas (1-14), Lamafohlen aus einem Betrieb in Deutschland (16-17) sowie experimentell mit *S. miescheriana* infizierten Schweinen (18-21) und einem negativen Kontrollschwein (22). Ganz links: Molekulargewichtsmarker. Ganz rechts: Tusche-gefärbte Folie zur Darstellung der Proteinbanden

100 kDa bei der Verwendung von *S. singaporensis*-Antigen, bei der Verwendung von *S. miescheriana*-Antigen wurden 2 bis 4 schwache Banden erkannt (Bahnen 16 - 17, Abb. 24; Bahn 16, Abb. 25).

4.3.3.2 Immunoblot-Untersuchungen von serologisch *T. gondii*- und *N. caninum*-positive Seren von Alpakas und Lamas auf Antikörper gegen *Sarcocystis* spp.

Bei Alpakas und Lamas die im Westernblot als seropositiv auf *T. gondii* befundet wurden, traten mit keinem der beiden *Sarcocystis*-Antigene Kreuzreaktionen auf. Die Seren des experimentell mit *N. caninum* infizierten Lamas erkannten nur bei *S. miescheriana*-Ag im Zeitraum von 16–51 Tagen p.i. vorübergehend 3 prominente Banden im Bereich von 50 bis 60 kDa auf.

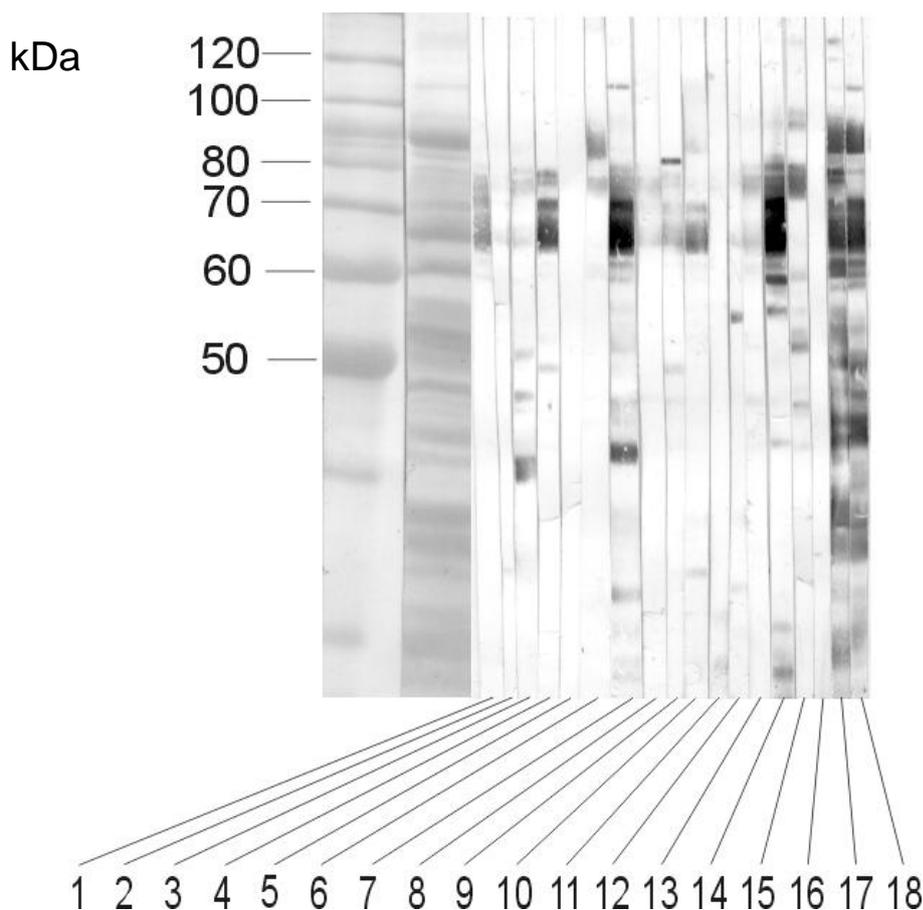


Abbildung 25:

Nachweis von Antikörpern gegen *S. singaporensis* mittels Immunoblot in Seren von nach Schlachtbefunden mit *Sarcocystis* spp. befallenen Lamas (1-14), Lamafohlen aus einem Betrieb in Deutschland (16) sowie experimentell mit *S. miescheriana* infizierten Schweinen (17-18). Ganz links: Molekulargewichtsmarker und Tusche-gefärbte Folie zur Darstellung der Proteinbanden.

4.3.3.3 Evaluierung von ELISAs unter Verwendung von *S. miescheriana* und *S. singaporensis*-Antigenen anhand von Seren von nach Schlachtbefunden mit *Sarcocystis* spp. befallenen Lamas und Seren von Alpakafohlen aus einem deutschen Betrieb

Zur Evaluierung der ELISAs wurden zunächst Seren von Lamas aus Peru mit makroskopisch sichtbaren *Sarcocystis*-Muskelzysten, die als Positivkontrollen dienen sollten mit Seren von Alpakafohlen des deutschen Betriebes, die als Negativkontrollen dienen sollten, verglichen. Seren der Alpaka-Fohlen hatten gegen *S. miescheriana*-Antigen (Abb. 26, Bahnen 1-11) und *S. singaporensis*-Antigen (Abb. 27, Bahnen 1-11) niedrigere Antikörpertiter als Seren der Lamas aus Peru mit makroskopisch sichtbaren *Sarcocystis*-Muskelzysten (Abb. 26 und 27, Bahnen 12-25). Die Höhe der OD-Werte der einzelnen Proben korrelierte weitgehend mit Anzahl und Ausprägung der Banden im Westernblot. Bei Verwendung des *S. miescheriana*-Antigens waren die OD-Werte insgesamt höher als beim Einsatz des *S. singaporensis*-Antigens. Dies zeigte sich insbesondere bei den schwächer reagierenden Positivkontrollen. Bei den als Negativkontrollen verwendeten Jungtieren war dagegen praktisch kein Unterschied in Bezug auf die Antigene erkennbar.

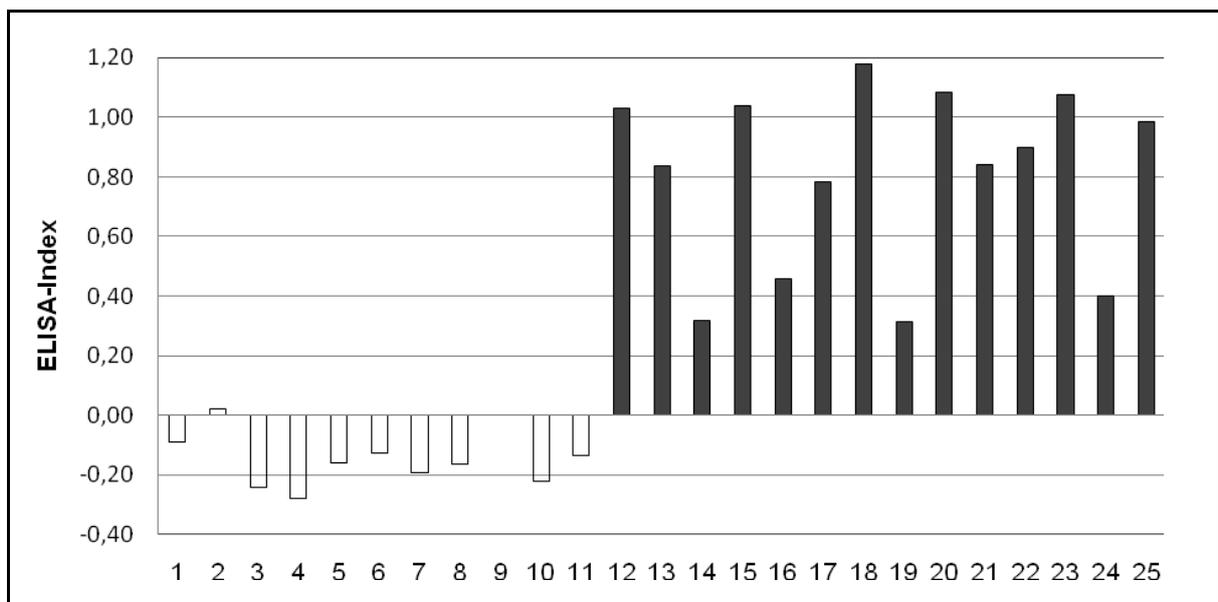


Abbildung 26:

ELISA-Ergebnisse der Serumproben von nach Schlachtbefunden mit *Sarcocystis* spp. befallenen Lamas (schwarz) sowie der als Negativkontrollen verwendeten Alpakafohlen (weiß) auf Basis von *S. miescheriana*-Antigen. OD-Werte dargestellt als Indizes ($SIn = (S_n - N) / (P - N)$, Kap. 3.7.3) mit Probe 9 als Negativkontrolle.

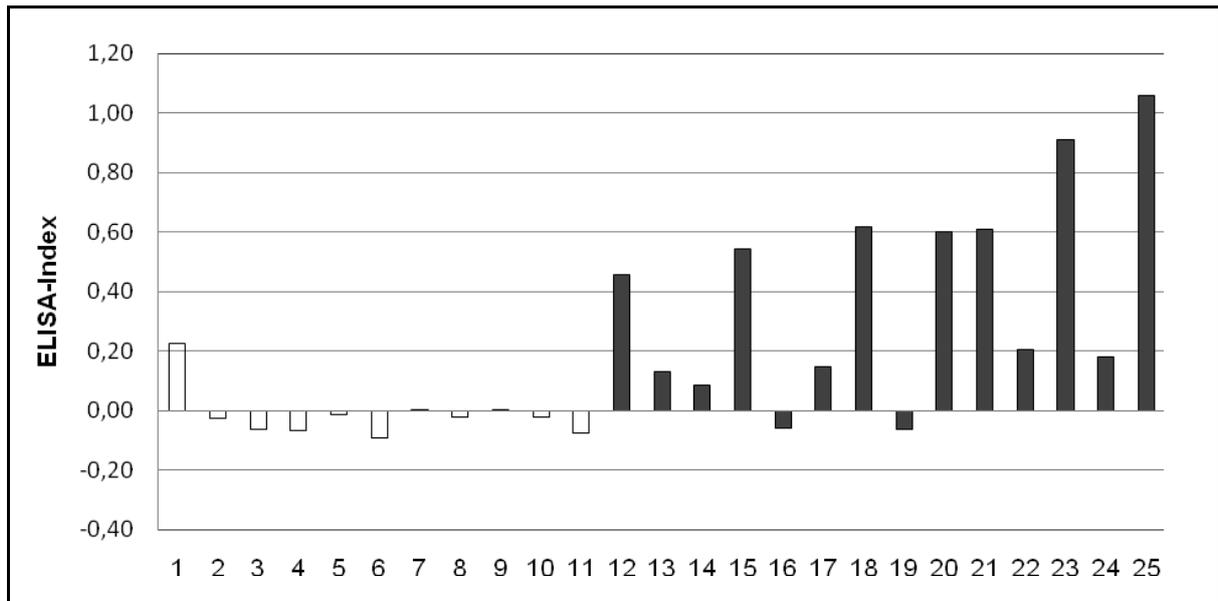


Abbildung 27:

ELISA-Ergebnisse der Serumproben von nach Schlachtbefunden mit *Sarcocystis* spp. befallenen Lamas (schwarz) sowie der als Negativkontrolle verwendeten Alpakafohlen-Fohlen (weiß) auf Basis von *S. singaporensis*-Antigen. OD-Werte dargestellt als Indizes ($S_{In} = (S_n - N) / (P - N)$, Kap. 3.7.3) mit Probe 9 als Negativkontrolle.

4.3.3.4 ELISA-Untersuchungen von Neuweltkameliden aus Peru auf Antikörper gegen *Sarcocystis* spp.

Für die anschließende serologische Querschnittsstudie bei Neuweltkameliden in Peru mittels ELISA wurde *S. singaporensis*-Antigen verwendet, da nur von diesem genügend Material zur Verfügung stand.

Von einer eindeutigen Cut-off-Bestimmung mittels TG-ROC-Analyse wurde abgesehen weil die Anzahl definitiver Positiv- und Negativkontrollen zu gering war, ein echter Goldstandard nicht zur Verfügung stand sowie Überschneidungen der OD-Bereiche der Positiv- und Negativkontrollen auftraten. Stattdessen wurde in Anlehnung an Martin-Pacho et al. (2005) der Cut-off-Wert bestimmt als Mittelwert plus doppelter Standardabweichung der Indizes von den OD-Werten der Negativkontrollen. Dieser Cut-off-Wert betrug 0,16. Antikörper gegen *Sarcocystis* spp. wurden mittels ELISA in 201 (76,8 %) aller 868 untersuchten Seren von Alpakas Lamas und Vikunjas nachgewiesen (Abb. 28).

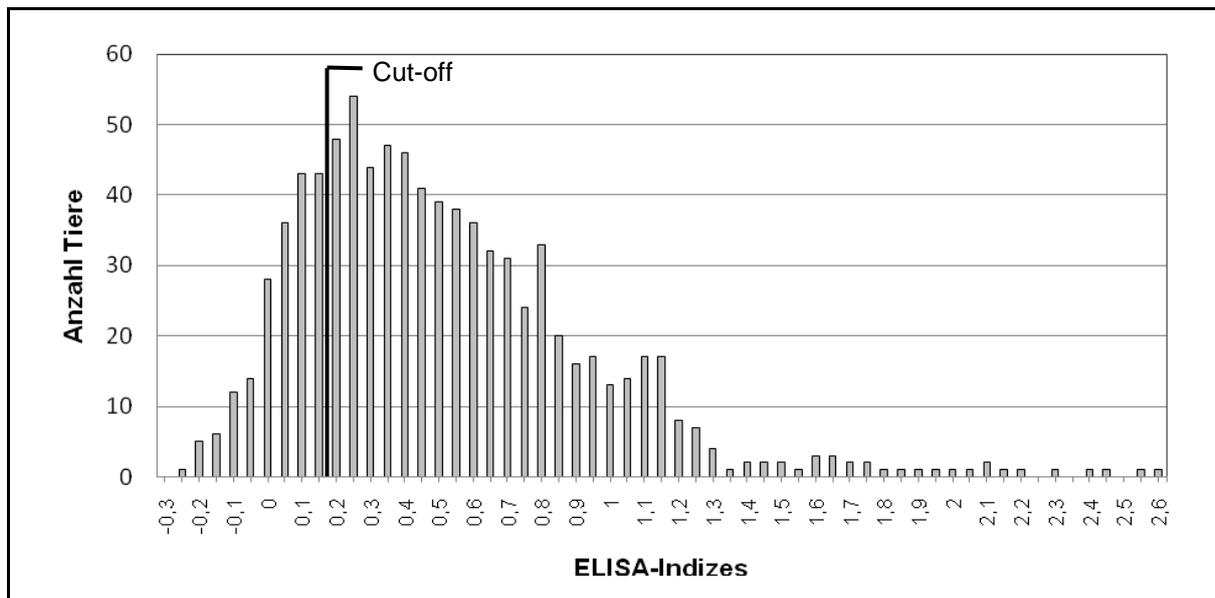


Abbildung 28:

Häufigkeitsverteilung der ELISA-Ergebnisse der Serumproben **aller untersuchter Neuweltkameliden** aus Peru (n = 868) Der Cut-off wurde festgelegt als Mittelwert plus doppelte Standardabweichung der Indizes von den OD-Werten der Negativkontrollen (= 0,16).

4.3.3.5 Altersabhängige Unterschiede bei Alpakas im Auftreten von Antikörpern gegen *S. singaporensis*

Mögliche Unterschiede in der Seroprävalenz von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp. ließen sich an den domestizierten Neuweltkameliden der Farm Quimsachata prüfen¹. Die Seroprävalenz betrug bei erwachsenen Alpakas und Lamas 91,0 % (363 von 399 Tieren, Abb. 29) und bei Jungtieren 31,0 % (49 von 158 Tieren, Abb. 29). Diese Unterschiede waren hochsignifikant (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,001$).

4.3.3.6 Vergleich der Seroprävalenzen von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp. bei Jungtieren in den beiden Farmen Quimsachata und Malkini

Die Seroprävalenzen der Jungtiere in den beiden Farmen wichen hochsignifikant voneinander ab (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,001$); bei Jungtieren der gleichen Altersgruppe in Malkini betrug die Seroprävalenz 83,8 (165 von 197 Tieren), in Quimsachata dagegen nur 31,0 % (49 von 158 Tieren).

4.3.3.7 Vergleich der Antikörperspiegel gegen *S. singaporensis*-Antigen bei domestizierten (Alpakas, Lamas) und wildlebenden (Vikunjas) Neuweltkameliden

Die Seroprävalenz von *Sarcocystis* spp.-Antikörpern unterschied sich ebenfalls hochsignifikant (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,001$) zwischen domestizierten Alpakas und Lamas (91,7 %) und wildlebenden Vikunjas (79,1 %, Abb. 30)

¹ Auf der Farm Malkini waren nur von Jungtieren Serumproben gesammelt worden.

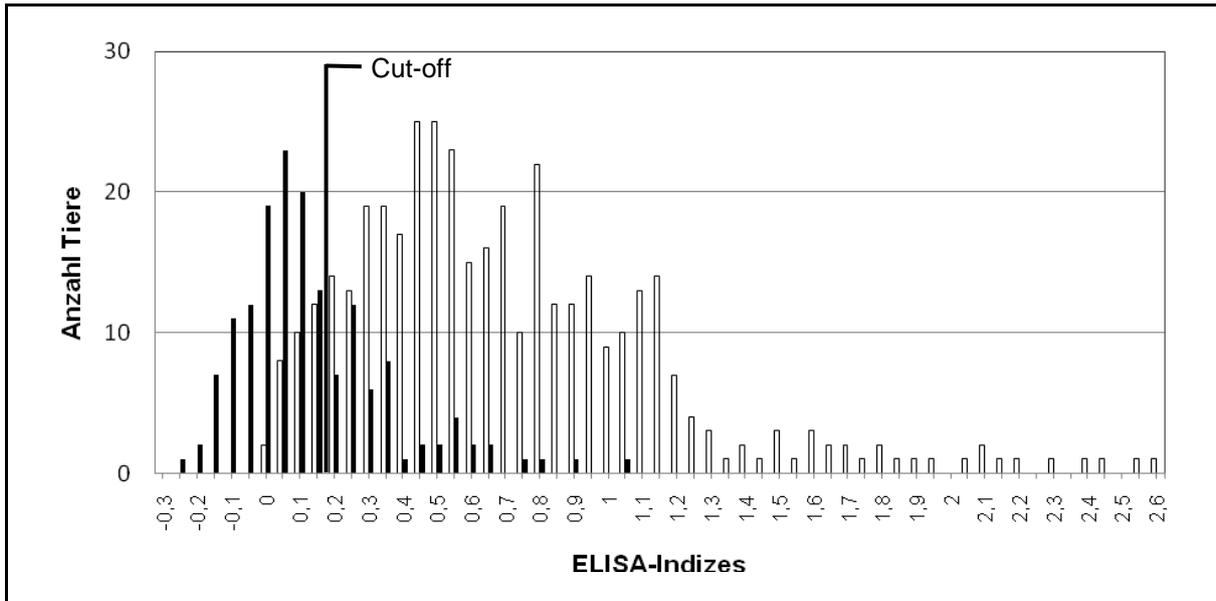


Abbildung 29:

Häufigkeitsverteilung der ELISA-Ergebnisse der Serumproben der Alpaka-**Fohlen** bis zu 12 Monaten (schwarz, n=158) sowie der **adulten** Lamas und Alpakas (weiß, n=398) aus Quimsachata. Der Cut-off wurde festgelegt als Mittelwert plus doppelte Standardabweichung der Indizes von den OD-Werten der Negativkontrollen (= 0,16).

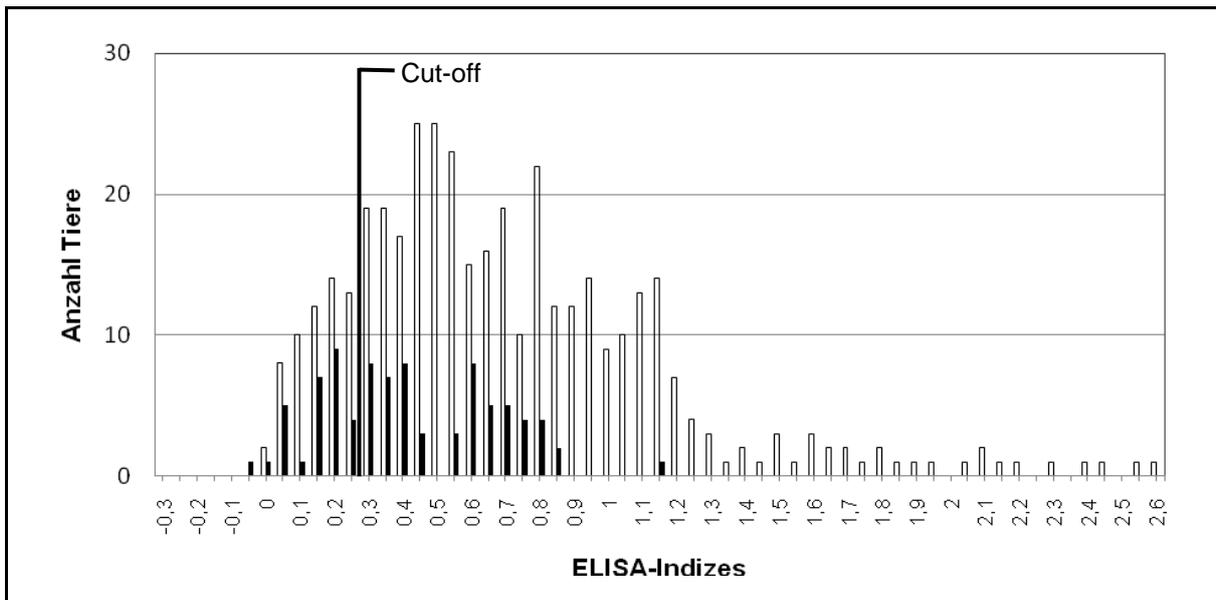


Abbildung 30:

Häufigkeitsverteilung der ELISA-Ergebnisse der Serumproben von adulten **domestizierten** Neuweltkameliden (weiß, n = 398) und adulten **wildelebenden** Vikunjas (schwarz, n = 86). Der Cut-off wurde festgelegt als Mittelwert plus doppelte Standardabweichung der Indizes von den OD-Werten der Negativkontrollen (= 0,16)

5 Diskussion

5.1 Betriebsstruktur

Die Haltung von Neuweltkameliden in Südamerika findet, insbesondere in Peru, fast ausschließlich extensiv statt. Die karge Vegetation der Puna erlaubt nur eine Weidehaltung, die sich dementsprechend über sehr ausgedehnte Flächen erstrecken muß. Dies trifft für kleinere, annähernd subsistenzwirtschaftlich arbeitende Familienbetriebe ebenso zu wie für größere Agrargenossenschaften, staatliche Untersuchungsstationen oder größere private Farmen. Im Gegensatz dazu werden Tiere in Mitteleuropa auf wesentlich kleineren Flächen gehalten. Dies lässt vermuten, daß die Intensität der Weidekontamination mit parasitären Stadien in Peru geringer ist als bei europäischen Wiederkäuerweiden.

Der Großteil der Tierhalter verfügt nur in den seltensten Fällen über die finanziellen Mittel, um antiparasitäre Behandlungen durchführen zu können. Dies war im Falle der untersuchten Betriebe anders, hier wurden einmal jährlich Entwurmungen mit makrozyklischen Laktonen durchgeführt (Kap. 3.1).

Auch halten beide untersuchten Betriebe ausschließlich Neuweltkameliden, im Fall der Malkini-Farm sogar nur Alpakas, während ansonsten meist gemischte Herden gehalten werden, die auch Schafe und Rinder mit einschließen (Kap. 2.3), was das Infektionsrisiko für Kameliden deutlich steigen lässt (Hertzberg, 2002).

Einflüsse sowohl der klimatischen Bedingungen wie auch der Betriebsstruktur zeigen sich am Beispiel der „Krankenstation“ der Farm Malkini in der kranke oder schwache Tiere eingestellt werden, meist über einen Zeitraum von ein bis zwei Monaten. Während die Weiden sich über mehrere Hügelketten erstrecken, liegt diese an einem relativ geschützten Ort am Fuße eines dieser Hügel. Sie besteht im Wesentlichen aus einer eingezäunten Wiese mit einem Unterstand. Ein vorhandener Bach wird zur Bewässerung genutzt, was die karge Vegetation – im Rahmen des möglichen – deutlich verbessert, jedoch gleichzeitig auch optimalere Bedingungen für die Entwicklung von Nematoden-Larven bietet. Die Befallsextenstivität von Magen-Darm-Strongylyden einschließlich *L. chavezii* und der Gattung *Nematodirus* war in der Krankenstation signifikant, die Ausscheidungsprävalenz von Eiern vom MDS-Typ sogar hochsignifikant höher als bei den Tieren auf den normalen Weiden (Kap. 4.3.4).

Neben den oben genannten mikroklimatischen Verhältnissen gibt es verschiedene weitere Erklärungen für diesen Befund. Zunächst die Kriterien für eine Aufnahme der Tiere in diesen Bereich; dies sind v. a. Anzeichen wie mangelnde Gewichtszunahme oder schlechter Ernährungszustand, schlechtes Fell, Abgeschlagenheit oder ähnliche unspezifische Symptome, die gemeinhin gerade durch eine parasitäre Belastung ausgelöst sein können. Zweitens die Konzentration dieser Tiere auf einem (im Vergleich zu den übrigen Weiden) extrem begrenzten Raum, der infolge der oben angeführten Punkte wahrscheinlich eine hohe Kontamination aufweisen dürfte. Schließlich werden hier genau solche Tiere einem erhöhten Infektionsdruck ausgesetzt, die durch eine wie auch immer geartete Vorerkrankung vermutlich eine größere Anfälligkeit für eine Infektion zeigen.

5.2 Klimatische Bedingungen

Das andine Hochland, insbesondere die Puna (spanisch auch páramo – Ödland - genannt) stellt mit seinen kalten und niederschlagsarmen klimatischen Bedingungen, vor allem in der Trockenzeit von Mai bis Oktober, eine für Nematodenlarven eher ungünstige Umwelt dar, da in dieser Zeit die geringen Niederschläge mit niedrigen Temperaturen einhergehen.

Laut Rojas et al. (1986) ist die Entwicklung der Larven und ihre Überlebensdauer begünstigt, wenn die Eier während der Regenzeit ausgeschieden werden. Dies stimmt überein mit den Ergebnissen der Longitudinalstudie; hier blieben die durchschnittlichen OpG-Werte von April bis Juli konstant auf niedrigem Niveau, erst ab Oktober stieg die Ausscheidung von MDS-Eiern an. Die anschließend durchgeführte antihelminthische Behandlung ließ die Werte zwar zunächst abfallen, ab Dezember war jedoch für alle Arten wieder ein deutlicher Anstieg erkennbar. Parallel dazu verlief der Anstieg der Prävalenzen und erreichte für *Nematodirus*-Arten und *Lamanema chavezii* die höchsten Werte des Jahres.

Andere Autoren fanden ebenfalls jahreszeitlich bedingte Unterschiede. Laut einer Studie tragen Alpakas während der Regenzeit signifikant höhere Wurmbürden an Magen-Darm-Strongyliden des Labmagens (wie *Camelostrongylus menthulatus* und *Trichostrongylus axei*) in sich als zur Trockenzeit (Yucra, 2002). Für Nematoden des Dünndarms ließen sich hingegen keine signifikanten Unterschiede nachweisen. Hier wird die Wurmpopulation größtenteils von Vertretern der Gattung *Nematodirus* und, in

geringerem Maße, von *Lamanema chavezii* gestellt, welche eine geringere Anfälligkeit für ungünstige Umwelteinflüsse aufweisen (Leguía und Bendezu, 1974; Rojas et al., 1987).

5.3 Protozoen

Die Erkenntnisse über Vorkommen, Verbreitung, und Epidemiologie von Parasitosen bei Neuweltkameliden in Peru sind sehr unterschiedlich, was einzelne Parasitenarten betrifft. Insbesondere die zystenbildenden Kokzidien waren bisher nur selten Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. So gab es bis 1999 nur eine einzige Arbeit über *T. gondii* bei Alpakas (Leguía et al., 1984) und erst 2002 wurde *N. caninum* erstmals bei Alpakas und Lamas bestätigt (Chavez-Velasquez et al., 2002b). Epidemiologische Untersuchungen zu *Sarcocystis* spp. sind zwar verschiedentlich durchgeführt worden, bisher aber fast ausschließlich auf Basis von post mortem-Untersuchungen an Schlachttierkörpern.

Die vorliegende Arbeit liefert erstmals eine breit angelegte serologische und koproskopische Untersuchung zu verschiedenen zystenbildenden Kokzidien an einer großen Zahl von Alpakas, Lamas und erstmals auch Vikunjas im peruanischen Altiplano. Dabei wurde zur Testevaluierung des Nachweises von Antikörpern gegen *N. caninum* erstmals ein Lama experimentell mit Tachyzoiten infiziert. Ergänzend dazu liefern die koproskopischen Untersuchungen inklusive Differenzierung der Larven 3 ein umfassendes Bild der Belastung mit Gastrointestinalparasiten.

5.3.1 *Eimeria* spp.

5.3.1.1 Longitudinalstudie

Um die Oozystenausscheidung von *Eimeria* spp. bei Neuweltkamelidenfohlen über einen neunmonatigen Zeitraum zu dokumentieren wurden in monatlichen Abständen quantitative Kotuntersuchungen durchgeführt. Die Tiere waren zu Beginn der Untersuchungen durchschnittlich 2,9 Monate alt. Dies ist die erste Longitudinalstudie zum Kokzidienbefall bei Alpakas und Lamas in Peru. Eine ähnliche Studie existiert bisher nur bei Neuweltkameliden in Deutschland (Rohbeck, 2006). Allerdings lassen sich die Arbeiten aufgrund der verschiedenen Haltungsbedingungen und klimatischen

Unterschiede nicht vergleichen. Interessanterweise erreichte in Peru die Ausscheidungsprävalenz mit *Eimeria*-Oozysten bis zur 2. Probennahme im Mai bereits 96,0 % (Abb. 9). Zu diesem Zeitpunkt waren die Tiere im Schnitt etwa 4 Monate alt. Auch andere Autoren berichten von Prävalenzen von 90 % bis 100 % bei Tieren im Alter von 2 bis 5 Monaten (Guerrero et al., 1970b; Pelayo, 1973). Es ist davon auszugehen, daß sich Lamas und Alpakas bereits in den ersten Lebenstagen mit Kokzidien infizieren (Rosadio und Ameghino, 1994; Rohbeck, 2006). Eine derart schnelle Verbreitung mag angesichts der extensiven Haltungsbedingungen und der klimatischen Bedingungen zunächst ungewöhnlich erscheinen. Offensichtlich stellen jedoch die epidemiologischen Faktoren wie Klima und extensive Haltung im Gegensatz zur Situation bei Magen-Darm-Strongyliden keine signifikanten Hindernisse für die Verbreitung der Infektion dar. Dafür sprechen auch andere Untersuchungen über den exogenen Zyklus von *Eimeria* spp. So sind Oozysten von *E. macusaniensis* zwar bei 6-7° C nicht in der Lage zu sporulieren, bei einem Anstieg der Temperatur kann dieser Prozeß jedoch wieder aufgenommen werden (Rohbeck, 2006). Untersuchungen von *Eimeria*-Infektionen des Rindes zeigen, das Kälber pro Tag mehrere Millionen Oozysten ausscheiden können und diese über Monate hinweg infektiös bleiben, so daß auch eine Kontamination großflächiger Weiden möglich ist (Daugschies und Najdrowski, 2005). Interessanterweise scheint auch die Angewohnheit von Neuweltkameliden ihren Kot nur auf einer engbegrenzten Fläche („Latrine“) abzusetzen, dies nicht zu verhindern.

5.3.1.2 Querschnittsstudie

Die **Befallsextenstität** von *Eimeria* spp. wurde koproskopisch bei Fohlen der beiden Farmen Quimsachata und Malkini untersucht. Die Prävalenz der Ausscheidung von *Eimeria*-Oozysten lag bei 95,7 % respektive 97,9 %. Die hohe Verbreitung bewirkte, daß in diesem Falle die Mittlere Intensität nur geringgradig höher war als die Abundanz. Nach Ende der, je nach Art unterschiedlichen, Präpatenz kommt es bei *E. alpaca*., *E. punoensis* und *E. macusaniensis* zu einem Anstieg der Oozystenausscheidung bis zum 4. Lebensmonat, und einem anschließenden, mehr oder weniger starken Abfall. Diese Verläufe dürften Ausdruck der sich ausbildenden, speziesabhängigen Immunität sein (Rohbeck, 2006).

Bei Guerrero et al (1970b) lag die durchschnittliche **Oozystenausscheidung** von Fohlen unter 2 Monaten mit knapp über 1000 OpG, ähnlich wie in den hier dargelegten

Ergebnissen. In einer anderen Studie schieden Tiere bis zum Alter von 5 Monaten sogar im Schnitt fast 5.800 OpG aus (wobei Abundanz und Mittlere Intensität aufgrund der hundertprozentigen Durchseuchung identisch waren); bei Tieren zwischen 5 und 12 Monaten sank die durchschnittliche Ausscheidung zwar, lag aber immer noch bei fast 2.400 OpG (Pelayo, 1973). Legt man die Saisondynamik der Oozystenausscheidung aus der Longitudinalstudie des Vorjahres zugrunde (Abb. 8 und 9), so müßte diese zum Zeitpunkt der Probennahme in etwa ihren Höhepunkt erreicht gehabt haben.

Es gibt verschiedene Berichte über **Erkrankungs- und auch Todesfälle** bei Neuweltkameliden, die in Zusammenhang mit Eimerieninfektionen gebracht wurden. Dabei werden *E. macusaniensis* (Schrey et al., 1991; Rosadio und Ameghino, 1994; Palacios et al., 2006), *E. lamae* (Guerrero et al., 1970a; Palacios et al., 2004) und evtl. *E. punoensis* (Hanichen et al., 1994) als Hauptverursacher angesehen. Die hohe Verbreitung bei ebensolcher Abundanz und Mittlerer Intensität, lässt jedoch eine per se pathogene Wirkung zunächst wenig plausibel erscheinen. Grundsätzlich wäre zu erwarten, daß eine höhere Oozystenausscheidung mit einer höheren Wahrscheinlichkeit zu Erkranken einhergeht, jedoch gibt es bisher keine wirklich aussagekräftigen Untersuchungen, die eine Art Grenzwert oder -bereich erkennen ließen. So wurde nach experimenteller Infektion mit 20.000 Oozysten von *E. macusaniensis* vorübergehend Durchfall festgestellt, andere Infektionen mit 20.000 und 100.000 Oozysten von *E. macusaniensis*, bzw. 100.000 Oozysten von *E. lamae*, verursachten dagegen keinerlei klinische Symptome (Rohbeck, 2006).

In den eigenen Untersuchungen wiesen nur sehr wenige Fohlen zum Zeitpunkt der Probennahme einen leichten Durchfall auf, welcher in keinen Zusammenhang mit einer erhöhten Oozystenausscheidung gebracht werden konnte.

Im Vergleich dazu waren andere Tiere mit einer Ausscheidung von über 100.000 OpG, klinisch vollkommen unauffällig. Laut Schnieder (2006) verlaufen Eimerieninfektionen auch bei anderen Tierarten unter stabilen endemischen Bedingungen meistens subklinisch, und Erkrankungen treten meist nur dann auf, wenn nicht immune Tiere in eine kontaminierte Umgebung gebracht werden.

Bei Neuweltkameliden scheinen der hohe Infektionsdruck durch Überbesatz von Weiden oder Ställen gelegentlich für eine klinisch verlaufende Eimeriose verantwortlich zu sein (Hanichen et al., 1994). In den untersuchten Farmen Quimsachata und Malkini werden die Tiere jedoch unter extensiven Bedingungen gehalten (Kap. 3.1 und 5.1.)

Es gibt einzelne Berichte von Todesfällen, bei denen die Tiere - wenn überhaupt - außer Abmagerung und Abgeschlagenheit keine weiteren Symptome, insbesondere keinen Durchfall zeigten, aber post mortem Enteritis und Vermehrungsstadien von *E. macusaniensis* in der Darmwand diagnostiziert werden konnten (Lenghaus et al., 2004; Palacios et al., 2006; Chigerwe et al., 2007). In der vorliegenden Untersuchung wurden in Quimsachata Infektionen mit *E. macusaniensis* gesondert erfasst und kamen in 46,0 % der untersuchten Proben vor, in 2 Fällen als Monoinfektion. Während die Oozysten der meisten Kokzidien aufgrund ihres geringen spezifischen Gewichtes im Flotationsverfahren mit gesättigter Kochsalzlösung nachgewiesen werden können (Rommel, 2000) gilt dies jedoch nur bedingt für spezifisch schwere Gebilde, wie den Oozysten von *E. leuckarti* des Pferdes, welche morphologisch denen der von *E. macusaniensis* ähnlich sind (Kutzer, 1969). Dies bedeutet, daß die in der vorliegenden Untersuchung gefundenen Werte dahingehend zu interpretieren sind, daß die realen Prävalenzen und Ausscheidungen sehr wahrscheinlich höher liegen (in der hier dargestellten Arbeit wurde kein gesondertes Sedimentationsverfahren eingesetzt, da der Schwerpunkt auf der Untersuchung der Gastrointestinal-Nematoden lag). Die verschiedentlich geäußerte Vermutung, daß *E. macusaniensis* ein besonderes Maß an Pathogenität aufweise (Guerrero et al., 1970b; Lenghaus et al., 2004; Palacios et al., 2006), konnte durch die vorliegende Arbeit nicht erhärtet werden.

5.3.2 *T. gondii*

Zur Bestimmung der Seroprävalenz von *Toxoplasma*-Infektionen wurden Blutproben von domestizierten Alpakas und Lamas sowie wildlebender Vikunjas auf Antikörper gegen *T. gondii* untersucht. Nach der Studie von Chavez-Velasquez et al. (2005) wurde in der vorliegenden Arbeit erst zum zweiten Mal eine größere Anzahl von Neuweltkameliden mittels Immunoblot untersucht. Bei der vorliegenden Arbeit in Peru erwiesen sich im Immunoblot 3,5 % aller beprobten Neuweltkameliden als *Toxoplasma*-seropositiv. Die Seroprävalenz unter adulten Alpakas und Lamas betrug 5,3 % bei Alpakas und 8,6 % bei Lamas (Tab. 16). Diese Werte erscheinen gering im Vergleich zu den früher durchgeführten Studien (Tab. 3). Die bisher im südamerikanischen Altiplano festgestellten Seroprävalenzen lagen zwischen 11,8 % und 50 % bei Alpakas (Leguía et al., 1984; Patitucci et al., 2006) und zwischen 10,2 % und 44,2 % bei Lamas (Saravia P. et al., 2004; Chavez-Velasquez et al., 2005). Eine dieser Studien wurde ebenfalls in Quimsachata an Tieren verschiedener Altersgruppen

durchgeführt und der dabei verwendete indirekte Hämglutinationstest ergab eine Seroprävalenz von 44,5 % bei Alpakas und von 25,0 % bei Lamas (Gómez O. et al., 2003). Es ist davon auszugehen, daß diese Werte zu hoch sind und die realen Seroprävalenzen erheblich niedriger liegen, da der **indirekte Hämglutinationstest** wie auch der **IFAT** durchgeführt, eine vergleichsweise geringere Spezifität aufweisen (Patitucci et al., 2006) und somit möglicherweise einen höheren Anteil an falsch-positiven Ergebnissen liefern.

Chavez-Velasquez et al. (2005) untersuchten Serumproben von Lamas und Vikunjas zunächst im IFAT und kontrollierten anschließend die positiven Proben im Immunoblot. Dabei zeigte sich, daß v. a. Sera mit niedrigen AK-Titern im Immunoblot keine für *T. gondii* spezifischen Banden erkannten, woraufhin sie den Cut-off auf 1:200 erhöhten. Auf diese Weise reduzierte sich so die im IFAT gemessene Seroprävalenz von 55,8 % auf 44,2 %. Die Autoren erklären sich die unspezifischen Bindungen mit einer möglichen Kreuzreaktion von Antikörpern gegen andere nahe verwandte Kokzidien, wie *Sarcocystis* spp., jedoch nicht *N. caninum*. Dies konnte in den hier durchgeführten Untersuchungen jedoch nicht bestätigt werden; Proben von Alpakas und Lamas die im Immunoblot als seropositiv auf *T. gondii* befundet wurden, zeigten keine Kreuzreaktionen mit den verwendeten *Sarcocystis*-Antigenen (Kap 4.4.32). Eine Erklärung könnte sein, dass Chavez-Velasquez et al. (2005) nur adulte Tiere untersuchten. In den eigenen Untersuchungen konnte für Infektionen mit *T. gondii* ein signifikant häufigeres Auftreten bei älteren Tieren gegenüber Jungtieren festgestellt werden ($p = 0,0209$), was sich durch die, im Verlauf der Zeit, steigende Wahrscheinlichkeit einer Ansteckung erklären lässt und auch von anderen Autoren festgestellt wurde (Dubey et al., 1992). Bei der Seroprävalenz der Fohlen in den eigenen Untersuchungen gab es zwischen den beiden Farmen Quimsachata (0,6 %) und Malkini (1,0 %) kaum Unterschiede, so daß man davon ausgehen kann, daß Fohlen nur eine sehr geringe Prävalenz von *Toxoplasma*-Antikörpern aufweisen.

Bei den peruanischen Alpakas und Lamas in Quimsachata zeigten die serologischen Unterschiede zwischen den verschiedenen **Altersgruppen**, daß sich die meisten Tiere postnatal infiziert hatten (Kap. 4.4.1.4).

Die serologischen Untersuchungen der Tiere aus dem **deutschen Gestüt** konnten nur Infektionen mit *T. gondii* nachweisen. Zwar wurde hier nur eine sehr begrenzte Anzahl von Individuen beprobt, doch war die Prävalenz mit 43,8 % sehr hoch. Dies kann mit den vergleichsweise kleinen Weiden erklärt werden, die sich in größerer Nähe zu

menschlichen Behausungen befinden und von den dort lebenden Hauskatzen viel stärker kontaminiert werden können als dies bei der extensiven Weidehaltung in Peru der Fall ist. Umgekehrt lassen sich Hunde hier von Weiden und Stallgebäuden fernhalten, was in Peru wiederum nicht möglich ist. Trotz der vergleichsweise geringen Zahl an Proben waren Adulte, genau wie bei den peruanischen Tieren, signifikant häufiger *Toxoplasma*-seropositiv als Fohlen.

Im Gegensatz zu *N. caninum*, zeigten die serologischen Tests auf *T. gondii*, daß nicht nur Lamas und Alpakas, sondern auch Vikunjas mit diesem Parasiten infiziert sein können. Dies mag ein weiterer Hinweis sein, daß *T. gondii* nicht nur durch domestizierte Hauskatzen, sondern auch durch **Wildfeliden** wie dem Puma (*Felis concolor*), der Andenkatze (*Felis jacobita*) oder der Pampaskatze (*Felis colocolo*) übertragen wird. Bereits früher wurden Oozysten von Toxoplasma im Kot von südamerikanischen Wildfeliden wie dem Jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) und Ozelot (*Leopardus pardalis*) gefunden (Jewell et al., 1972). Bei südamerikanischen Pumas in Gefangenschaft konnte *T. gondii* zumindest serologisch nachgewiesen werden (Kikuchi et al., 2004). Dies zeigt, daß unter sehr extensiven Bedingungen einzelne Wildfeliden ausreichen können um große Flächen mit *T. gondii* -Oozysten zu kontaminieren, mit der Folge einer hohen Infektionsrate in Zwischenwirtpopulationen. Ähnliches konnte bspw. an Kamelen gezeigt werden die im Sudan in Extensivhaltung in der semi-ariden Butana-Ebene, in Abwesenheit jeglicher Hauskatzen gehalten werden und zu einem hohen Anteil Antikörper gegen *T. gondii* besaßen (Elamin et al., 1992).

Bei der Untersuchung von 114 **Vikunjas** fand sich eine Prävalenz von 2,6 % für *T. gondii*. Dies ist nur geringfügig niedriger als die von Chavez-Velasquez et al. (2005) gefundene Verbreitung von 5,5 %. Eine andere Studie fand mit dem gleichen IFAT wie bei Chavez-Velasquez et al. (2005) verwendeten bei 191 Tieren aus dem Nationalpark Pampa Galeras, in der Provinz Ayacucho eine beinahe identische Prävalenz von 5,5 % (Zuzunaga et al., 2006). Es wurde vermutet, daß trotz der großen Areale, die wenigen Wasserstellen sowohl von Endwirten wie auch Vikunjas aufgesucht werden müssen, und somit mögliche Infektionsorte sein können.

Infektionen mit *T. gondii* sind bei nicht immunen, tragenden Schafen eine große Gefahr für die Trächtigkeit (Schnieder, 2006). Inwieweit Neuweltkameliden in gleicher Weise betroffen sind, läßt sich bisher noch nicht mit Sicherheit sagen. In zwei

Abortfällen von Lamastuten im letzten Drittel der Gravidität in den USA konnte im Anschluß ein Anstieg des AK-Titers gegen *T. gondii* gemessen werden (Cheney und Allen, 1989). Die in einer anderen Studie durchgeführte experimentelle Infektion einer graviden Lamastute am 82. Trächtigkeitstag hatte jedoch keinerlei klinische Folgen für Muttertier oder Foetus. Während die Stute eine Serokonversion zeigte, war das Fohlen bei der Geburt frei von Antikörpern gegen *T. gondii*. Diese konnten erst nach Kolostrumaufnahme serologisch nachgewiesen werden (Jarvinen et al., 1999).

Inwieweit für den Menschen eine Infektionsgefahr durch den **Verzehr von zystenhaltigem Neuweltkamelidenfleisch** besteht, lässt sich nur schwer abschätzen. Aus dem Kot von Katzen die mit Fleisch von Dromedaren gefüttert wurden, konnten Oozysten isoliert und im Bioassay an Mäusen als *T. gondii* bestätigt werden (Hilali et al., 1995). Der Verzehr von Fleisch von Neuweltkameliden könnte also möglicherweise zur Infektion beim Menschen führen, insbesondere bei der im Altiplano verbreiteten Form des Konsums als Trockenfleisch (Kap. 2.3). Zwar können durch diese Zubereitungsart Sarkosporidienzysten abgetötet werden (Ayala, 1999), ob dies auch für *T. gondii*-Zysten gilt ist bisher allerdings nicht untersucht worden. Die Widerstandsfähigkeit letzterer ist erheblich und auch in langgereiften Rohwürsten erhalten sie ihre Infektiosität, wie erst kürzlich gezeigt werden konnte (Rosa, 2009).

5.3.3 *N. caninum*

Zur Bestimmung der Seroprävalenz von *Neospora*-Infektionen wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals eine größere Anzahl von Alpakas, Lamas und Vikunjas mittels Immunoblot auf Antikörper gegen *N. caninum* untersucht. Ähnlich wie *T. gondii* bei Schafen gilt *N. caninum* als wichtiger Aborterreger bei Rindern. Ob und inwieweit *N. caninum* auch bei Neuweltkameliden als Abortauslöser involviert ist, muß noch Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. In verschiedenen Fällen konnte jedoch bei abortierten Feten aus Peru, welche histologisch mit protozoären Infektionen kompatible Läsionen des ZNS aufwiesen, eine *N. caninum*-Infektion nachgewiesen werden (Serrano-Martinez et al., 2004; Serrano-Martinez et al., 2007). Zu Vorkommen und Verbreitung von *N. caninum* bei Neuweltkameliden lagen bis jetzt nur wenige Erkenntnisse vor. Darum wurden in dieser Studie mehrere Tests evaluiert, welche dazu dienen könnten, spezifische Antikörper im Serum von Neuweltkameliden nachzuweisen. Für die vorliegende Studie wurde erstmals ein Vertreter der Neuweltkameliden experimentell mit infektiösen Stadien von *N. caninum* infiziert und

die Immunantwort des Wirtes über einen kontinuierlichen Zeitraum dokumentiert. Dabei zeigte sich, daß Antikörper gegen *N. caninum* erstmals nach 12 Tagen p.i. und bis mindestens 100 Tage p.i. nachweisbar sind.

Basierend auf der Erkennung spezifischer Banden im **Immunoblot** wurden Sera von Neuweltkameliden aufgeteilt in folgende Gruppen: *Neospora*-positiv, -negativ und fraglich. Da es keine Überlappung von *Neospora*-positiven und *Toxoplasma*-positiven Sera gab, konnte von einer hohen Spezifität ausgegangen werden.

Auf der Basis der Immunoblot-Ergebnisse (NC-IB, TG-IB) wurde ein **p38-ELISA** zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* evaluiert. Der Cut-off wurde nach Anwendung einer TG-ROC Analyse festgelegt, so das sich für Sera aus Peru für diesen Test eine Sensitivität und Spezifität von je 95,4 % ergab. Sera die im Immunoblot positiv auf *T. gondii* reagierten, hatten dabei stets Indizes unterhalb eines Cut-offs von $-0,0006$.

Die TG-Roc Analyse auf Basis des NC-IFAT ergab eine ähnliche Sensitivität und Spezifität bei einem reziproken IFAT-Titer von 13,8. Es zeigte sich jedoch, daß 5 von 30 Sera welche im *T. gondii*-Immunoblot positiv reagiert hatten dies ebenso im NC-IFAT taten, bei einem reziproken Cut-off Titer von 20. Im Gegensatz zu dem modifizierten p38-ELISA könnte es deshalb im NC-IFAT zu einer hohen Zahl von falsch positiven Ergebnissen kommen, sollte die untersuchte Neuweltkameliden-Population einen hohen Anteil *Toxoplasma*-positiver Tiere aufweisen. Ähnliche Probleme traten auch in einer anderen Studie auf, die Lamas und Alpakas mittels IFAT serologisch auf Antikörper gegen *N. caninum* untersuchte (Chavez-Velasquez et al., 2004). Die meisten der Seren mit niedrigen AK-Titern reagierten bei der Untersuchung im Immunoblot nur auf unspezifische Banden. Für epidemiologische Untersuchungen erweisen sich Westernblot und ELISA somit als vorteilhaftere Untersuchungsmethode, insbesondere, da sie unabhängig von der subjektiven Fluoreszenzbeurteilung des Untersuchers sind.

Chavez-Velasquez et al. (2004) hatten erstmals den serologischen Nachweis einer *N. caninum*-Infektion bei Neuweltkameliden erbracht. Zuvor war *N. caninum* serologisch bei Altweltkameliden nachgewiesen worden (Hilali et al., 1998), später auch bei Dromedaren (Sadrebazzaz et al., 2006).

Bisher waren aus **Südamerika** nur von Infektionen bei Rindern und Hunden berichtet worden (Barber et al., 1997; Campero et al., 1998; Patitucci et al., 2000; Patitucci et al., 2001; Osawa et al., 2002; del Campo S. et al., 2003; Quevedo V. et al., 2003; Cornejo et al., 2004; Kashiwazaki et al., 2004). Die Prävalenzen in Rinderherden lagen dabei zwischen 18 % und 35 % (Tab. 4). Bei einer Untersuchung von Abortkühen in Argentinien erwiesen sich dagegen 65 % als seropositiv (Venturini et al., 1999). Eine Studie bei Kühen in mehreren Herden in der Sierra Central im Departament Junin in Peru zeigte, daß 12,4 % der Tiere serologisch positiv waren (Puray et al., 2006), im Gegensatz zu Lamas aus derselben Region, welche nur eine Prävalenz von 2,9 % aufwiesen (Casas V. et al., 2006). Die klinische Diagnose einer *N. caninum*-Infektion in adulten Rindern ist schwierig, da chronisch infizierte Tiere keinerlei klinischen Symptome zeigen und auch bei akuten Infektionen sind Aborte oftmals das einzige Erscheinungsmerkmal. Demzufolge sind indirekte serologische Nachweise von parasitenspezifischen Antikörpern das Mittel der Wahl zur Stellung einer Diagnose. Auf diese Weise konnten bei verschiedenen, auch in Peru vorkommenden Hirscharten wie dem Weißwedelhirsch (*Odocoileus virginianus*) (Lindsay et al., 2002; Vianna et al., 2005) und den Spießhirschen (*Mazama* spp.) (Tiemann et al., 2005) natürliche Infektionen nachgewiesen werden. Weiterhin können sich auch Ratten infizieren und so eine Rolle als Erregerreservoir spielen (Huang et al., 2004; Ferroglio et al., 2007; Jenkins et al., 2007). Dasgleiche konnte experimentell auch für Meerschweinchen gezeigt werden (Schaes et al., 2001). Diese Tiere sind ursprünglich Wildtiere und normale Bewohner der Hochebene, werden dort aber auch als nahrungsmittelliefernde Haustiere gehalten.

In den eigenen Untersuchungen in **Peru** erwiesen sich im Immunoblot 2,4 % aller untersuchten Alpakas und Lamas als *Neospora*-seropositiv. Die Seroprävalenz unter adulten Alpakas und Lamas betrug 3,1 % bzw. 1,2 % (Tab. 16). Ähnlich wie bei *T. gondii* fanden andere Autoren sehr viel höhere Seroprävalenzen von bis zu 42,4 % bei Alpakas und 31,5 % bei Lamas (Chavez-Velasquez et al., 2002a; Chavez-Velasquez et al., 2004). Allerdings wurden auch diese Untersuchungen zunächst mittels IFAT durchgeführt. Dabei erkannte die Mehrzahl der Serumproben die bei einer Verdünnung von 1:50 im IFAT als positiv befundet worden waren im anschließend durchgeführten Immunoblot keine immunodominanten Antigene von *N. caninum*. In den vorliegenden Untersuchungen wurden dagegen nur solche Proben als positiv

bewertet, die mindestens 3 Banden immunodominanter Neospora-Antigene erkannten (Kap. 4.4.2.1). Dabei deuteten die serologischen Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen der peruanischen Alpakas die Tendenz an, daß sich die meisten Tiere postnatal infiziert hatten, was sich aber als statisch signifikant erwies (Kap. 4.4.1.4).

Eine weitere Ursache für die niedrige Seroprävalenz in den eigenen Untersuchungen liegt vermutlich in den ausgeprägt extensiven **Haltungsbedingungen**. Die einzige Infektionsquelle dürften die ein bis zwei Begleithunde der Alpakeros sein. Hunde sind Endwirte von *N. caninum* und können durch fäkale Oozystenausscheidung die Umwelt kontaminieren. Insbesondere Hofhunde werden dabei als Risikofaktor angesehen (Schaes et al., 2004). Auf beiden untersuchten Farmen hielten die Alpakeros einen oder mehrere Hunde in ständiger Begleitung der Herden, welche sich gemeinsam mit diesen über ausgedehnte Areale bewegen. Anscheinend sind sie dabei aber nicht in der Lage diese massenhaft zu kontaminieren. Über die Widerstandsfähigkeit der ausgeschiedenen Oozysten gegenüber Umweltfaktoren ist bisher wenig bekannt. Von den strukturell ähnlichen Oozysten von *T. gondii* weiß man jedoch, daß sie in der Außenwelt über mehrere Monate hinweg infektiös bleiben können. Ebenso wird zwar die Patenz mit 11 bis 20 Tagen angegeben, es konnten jedoch bei einem Hund auch nach 4 Monaten noch Oozysten im Kot nachgewiesen werden, was entweder eine verlängerte Patenz oder ein abermaliges Ausscheiden nach erneuter Infektion bedeuten würde (McGarry et al., 2003).

Die Hunde werden zum Schutz der Fohlen gehalten, v.a. vor Füchsen, welche in der Umgebung zahlreich vorkommen. Letztere wurden, ebenso wie Kojoten, ebenfalls als **Endwirte** für *N. caninum* identifiziert (Gondim et al., 2004b; Wapenaar et al., 2006). Wie groß ihre epidemiologische Bedeutung ist lässt sich jedoch nur schwer abschätzen. Zwar konnte im Gewebe von wildlebenden Füchsen in Nordspanien mittels PCR in 10.7 % Antigen von *N. caninum* nachgewiesen werden, allerdings wurden in keinem Fall Oozysten im Kot gefunden (Almeria et al., 2002). In den Kotproben von ebenfalls wildlebenden Füchsen in Kanada gelang zwar vereinzelt der Nachweis von Oozysten, jedoch waren Prävalenz und die Intensität der Ausscheidung in diesen Fällen gering, so daß die Autoren vermuteten, daß *N. caninum* unter wildlebenden Kaniden nicht weit verbreitet sei. Ähnliche Schlussfolgerungen legen auch andere Studien nahe. So schieden Hunde die mit *N. caninum* infizierten Gewebe

gefüttert worden Spitzenwerte von über 10.000 Oozysten pro Tag aus und im Laufe der Präpatenz sogar mehr als 500.000 Oozysten (Gondim et al., 2002). Dagegen schieden Kojoten nur in einem von vier Fällen nach experimenteller Infektion überhaupt Oozysten aus, wobei die Gesamtzahl gerade einmal 500 Oozysten in zwei Tagen betrug (Gondim et al., 2004b). Untersuchungen an Füchsen aus dem peruanischen Altiplano liegen bis heute nicht vor.

Interessanterweise erwiesen sich nur Alpakas und Lamas, aber keines der 114 **Vikunjas** *N. caninum*-positiv. Nur zwei Tiere, deren Sera auf zwei Banden immunodominanter Neospora-Antigene reagierte, wurden als fraglich eingestuft. Zwar erscheint es naheliegend, daß Vikunjas aufgrund ihrer engen Verwandtschaft genauso empfänglich sein dürften wie die restlichen Neuweltkameliden, allerdings sind Vikunjas wildlebende Tiere, welche höchstens einmal im Jahr im Rahmen eines Chakku zur Schur zusammengetrieben werden (Kap. 2.3), was bedeutet, das sie nur extrem selten in engen Kontakt zu Menschen und ihren Hunden kommen.

Da Hunde, wie oben erwähnt, anscheinend die Weiden der domestizierten Neuweltkameliden nur geringgradig kontaminieren scheint es naheliegend daß auch wildlebende peruanische Caniden wie der Andenschakal (*Pseudalopex culpaeus*) oder der Argentinienfuchs (*Dusicyon griseus*) nicht in der Lage sind eine bedeutende epidemiologische Rolle für die Infektion mit *N. caninum* zu spielen.

Die serologischen Untersuchungen der Tiere aus dem **deutschen Gestüt** konnten nur Infektionen mit *T. gondii* nachweisen aber keine mit *N. caninum*. Allerdings wurde hier nur eine sehr begrenzte Anzahl von Neuweltkameliden beprobt. Größer angelegte Populationsstudien sind notwendig, um herauszufinden ob *N. caninum* bei Neuweltkameliden in Deutschland vorkommt oder nicht.

5.3.4 Sarcocystis spp.

Ziel der Untersuchungen war es, die Kreuzreaktionsfähigkeit verschiedener heterologer *Sarcocystis*-Antigene zu testen und zur serologischen Diagnostik von Antikörpern bei Neuweltkameliden einzusetzen. Dazu wurde lösliches Zystozoenantigen von *S. miescheriana* und *S. singaporensis* mittels SDS-PAGE aufgetrennt und im Immunoblot mit Sera von experimentell infizierten Schweinen sowie von Neuweltkameliden inkubiert, welche bei der Schlachtkörperuntersuchung

makroskopischen Zystenbefall aufwiesen. Daß verschiedene *Sarcocystis*-Arten immunologisch intensiv kreuzreagieren, hatten verschiedene Autoren mit Versuchen an diversen *Sarcocystis*-Arten gezeigt (O'Donoghue et al., 1990; Mencke et al., 1991; Sommer et al., 1992). Mencke (1989) fand außerdem, daß die elektrophoretische Auftrennung von *S. miescheriana*-Antigen in 44 verschiedenen Banden mit Molekulargewichten zwischen 11 und 220 kDa, darunter 11 Hauptbanden zwischen 23 und 88 kDa resultiert. In den eigenen Versuchen konnten nur 27 Banden dargestellt werden. In Untersuchungen bei Wanderratten beschreiben Jäkel et al. (2001) 10 verschiedene erkannte Banden zwischen 20 und 100 kDa. In den eigenen Versuchen konnten die Seren der experimentell infizierten Schweine ein breites Muster von 18 Banden im Bereich von 26 bis 100 kDa nachweisen. Die peruanischen **Positivkontrollen** zeigten demgegenüber eine überraschend große Heterogenität, konnten aber in der Summe ebenfalls eine vergleichbare Anzahl an Banden erkennen. Die unterschiedlichen Bandenausprägungen korrelierten auch mit den Ergebnissen des ELISAs in Form unterschiedlich starker OD-Werte. Über die Ursachen der starken Heterogenität kann nur gemutmaßt werden. Leider fehlen konkrete Details über die Intensität des Zystenbefalls, das genaue Alter der Tiere (einzige Angabe; „adulte“) oder ihren Allgemeinzustand.

Die als **Negativkontrollen** verwendeten Sera von Alpakafohlen des deutschen Gestüts reagierten in keinem der beiden Immunoblots und zeigten auch im ELISA durchgehend niedrige OD-Werte die nur knapp über dem Leerwert lagen und wurden somit als geeignete Negativkontrollen erachtet.

Bei Neuweltkameliden mit gesicherter *T. gondii*-Infektion traten mit keinem der beiden *Sarcocystis*-Antigen Banden im Westernblot auf, so das davon ausgegangen werden kann, daß eine Infektion mit *T. gondii* den ELISA auf *Sarcocystis* spp. nicht durch Kreuzreaktion beeinflussen kann.

Anders war die Situation bei Infektionen mit *N. caninum*; hier erkannten die Seren des experimentell infizierten Lamas bei Antigen von *S. miescheriana* im Zeitraum von 16 - 51 Tage p.i. 3 prominente Banden, so daß davon auszugehen ist, daß eine akute Infektion das Ergebnis eines ELISAs beeinflussen könnte. In Anbetracht der relativ geringen Prävalenz von *N. caninum* sowie des begrenzten Zeitraumes während der Infektion in der die Reaktion auftritt, ist dieser Einfluß allerdings vernachlässigbar. Bei dem für die eigenen ELISA-Untersuchungen verwendeten *S. singaporensis*-Antigen

waren keine Kreuzreaktionen zu beobachten. Insgesamt waren bei Verwendung des *S. miescheriana*-Antigens die OD-Werte höher als beim Einsatz von Antigen von *S. singaporensis*. Dies zeigte sich insbesondere bei den schwächeren Positivkontrollen. Bei den als Negativkontrollen verwendeten Jungtieren war dagegen praktisch kein Unterschied erkennbar. Somit scheint *S. miescheriana* insgesamt stärkere Kreuzreaktionen hervorzurufen als *S. singaporensis*.

Der *S. singaporensis*-ELISA wurde verwendet, um weitere 870 Seren von **Alpakas**, **Lamas** und **Vikunjas** aus Peru zu untersuchen. Bei der Bestimmung des Cut-off-Wertes ergab sich das grundsätzliche Problem, daß, neben dem Fehlen eines Goldstandards, die Zahl der vorhandenen Positivkontrollen zu gering war für die Durchführung einer TG-ROC Analyse, welche das Mittel der Wahl gewesen wäre (Zweig und Campbell, 1993). Um dennoch näherungsweise eine Grenze ziehen zu können, wurde der Cut-off-Wert in Anlehnung an Martín-Pacho et al. (2005) bestimmt und ergab einen Wert von 0,61. Daraus resultierte eine Seroprävalenz von 33,0 % für alle untersuchten Tiere, was im Vergleich zu den hohen Prävalenzen die bei Schlachthofuntersuchungen gefunden wurden, eine geringe Verbreitung bedeuten würde. Dabei ist allerdings zu bedenken, das in der vorliegenden Studie ein nicht unerheblicher Anteil an Jungtieren enthalten war, während in den Schlachthöfen, bedingt durch die wirtschaftliche Situation der Bevölkerung, fast ausschließlich alte Tiere der Verarbeitung zugeführt werden. Es ist davon auszugehen, daß diese, ebenso wie bei *T. gondii*, eine durch den Zeitverlauf steigende Wahrscheinlichkeit einer Ansteckung haben, mithin keinen repräsentativen Populations- und Altersquerschnitt darstellen. Ebenso sind in diesem Wert auch die Ergebnisse der Vikunjas enthalten. Diese hatten im Schnitt geringere Titer und wiesen insgesamt nur eine geringe Prävalenz auf.

Nichtsdestotrotz bleibt festzuhalten, daß nach Stand unserer Untersuchungen auch Vikunjas mit Erregern der Gattung *Sarcocystis* infiziert sein können. Ob es sich dabei um die bisher bei Neuweltkameliden bekannten bzw. postulierten Vertreter oder aber um eine neue Art handelt muß Gegenstand weiterer Forschung sein. Bei *Sarcocystis*-Arten ist die Spezifität für Zwischenwirte in der Regel eng und meist auf eine Spezies beschränkt, während das Spektrum der Endwirte breiter ist (Eckert et al., 2005). Welche Karnivoren als **Endwirt** für die wildlebenden Zwischenwirte fungieren, kann zum jetzigen Zeitpunkt ebenfalls noch nicht gesagt werden. Infrage kommen sicherlich die gleichen Vertreter, die auch in der Epidemiologie von *T. gondii* und *N. caninum*

eine Rolle spielen könnten. Für die domestizierten Alpakas und Lamas sind die Begleithunde der Schäfer eine bedeutende und ganzjährige Infektionsquelle, allerdings mit signifikanten jahreszeitlichen Unterschieden. So schieden von 211 untersuchten Hunden während der Regenzeit 72 % Zysten von *Sarcocystis* spp. aus, aber nur 42 % während der Trockenzeit (Choque et al., 2007).

Es bleibt letztlich festzuhalten, daß Neuweltkameliden in der südamerikanischen Andenregion unter normalen Haltungsbedingungen im Laufe ihres Lebens eine fast 100%ige Wahrscheinlichkeit einer *Sarcocystis*infektion haben.

5.4 Helminthen

Aktuelle und umfassende parasitologische Surveys zum Befall von Neuweltkameliden mit Magen-Darm-Parasiten in Südamerika liegen, nur in sehr begrenztem Maße vor. Ebenso hat es bisher keine Abschätzung eventueller genetischer Resistenzen gegenüber Infektionen mit Magen-Darm-Strongyliden bei Neuweltkameliden gegeben. Daher war ein weiteres Ziel dieser Studie ein möglichst umfassendes parasitologisches Survey über den Befall mit Magen-Darm-Strongyliden bei zwei Betrieben im peruanischen Altiplano zu erstellen und dies mit einer Abschätzung genetischer Resistenzen für das Merkmal EpG zu verbinden.

5.4.1 Longitudinalstudie

Um die Eiausscheidung von Magen-Darm-Strongyliden bei Neuweltkameliden über einen neunmonatigen Zeitraum zu dokumentieren wurden in monatlichen Abständen quantitative Kotuntersuchungen durchgeführt. Die Ausscheidung von Eiern von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich *Nematodirus* spp. sowie von Eiern von *Lamanema chavezii* war bei den untersuchten Jungtieren in Quimsachata generell niedrig und begann erst im Oktober stark anzusteigen. Dies wurde durch die anthelminthische Behandlung unterbrochen, doch kam es anschließend zu einem neuen Anstieg (Abb. 5 und 6). Vergleichbare Studien aus der jüngeren Vergangenheit in Südamerika liegen nicht vor. Die existierenden Arbeiten zu diesem Thema sind nur begrenzt aussagefähig, da sie keine Unterscheidung zwischen Abundanz und Mittlerer Intensität machen und teilweise auch keine Angaben zur Prävalenz (Leguía und Bendezu, 1974; Rojas et al., 1987; Nuñez und Rojas, 1992). In zwei Untersuchungen

wurden zudem Tiere beprobt die ihre Weiden gemeinsam mit Schafen (Nuñez und Rojas, 1992) oder im Anschluß an diese nutzten (Leguía und Bendezu, 1974).

Die Tiere in den eigenen Untersuchungen schieden bereits im Alter unter drei Monaten Eier aus, Dies deckt sich mit anderen Arbeiten, bei denen schon Fohlen unter zwei Monaten Eier vom MDS-Typ ausschieden (Rojas et al., 1987), während in einer weiteren Studie erst bei Tieren über fünf Monate Nematodeneier nachweisbar waren (Nuñez und Rojas, 1992).

Bei der vorliegenden Longitudinalstudie konnten Eier von Magen-Darm-Strongyliden und von *Nematodirus*-Arten von Beginn der Studie an nachgewiesen werden, Eier von *Lamanema chavezii* erst ab der zweiten Probennahme im darauffolgenden Monat. Die Abundanz der Ausscheidung blieb dabei während der Monate April bis Juli gering. Die von Mai bis September herrschende Trockenzeit bedeutet für die exogenen Stadien der meisten Strongylidenarten eher ungünstige klimatischen Bedingungen (Kap. 2.3 und 5.2). Zwei Longitudinalstudien berichten ebenfalls von abfallenden Eiausscheidungen während dieses Zeitraums (Leguía und Bendezu, 1974; Nuñez und Rojas, 1992). Eine andere Studie fand hingegen im Juli einen Peak in der Eiausscheidung von Fohlen, der hauptsächlich auf einem Anstieg der Eier von *Nematodirus*-spp. und *L. chavezii* beruhte (Rojas et al., 1987). In der vorliegenden Longitudinalstudie stieg die Ausscheidung diese Arten aber erst im Dezember an. Da *Nematodirus*-spp. und *L. chavezii* kälteresistenter als die restlichen Magen-Darm-Strongyliden sind, wäre auch eine höhere Ausscheidung während der Trockenzeit zu erwarten gewesen. Insgesamt scheint Saisonalität der Eiausscheidung in Quimsachata in Abhängigkeit der jahreszeitlichen Wetterbedingungen zu verlaufen.

5.4.2 Querschnittsstudie

Es gibt derzeit aus Peru keine aktuellen koproskopischen Surveys die epidemiologisch relevante Daten liefern. Zwar sind im Rahmen von Anthelminthika-Wirksamkeitsstudien (Vallenas et al., 1960; Vargas et al., 1972; Guerrero et al., 1986; Santiago und Montes, 1999; Condemayta et al., 2004; Casas et al., 2005) z. T. sehr umfangreiche Screenings durchgeführt worden, die Ergebnisse dieser Voruntersuchung wurden jedoch nicht veröffentlicht. Ebenso gibt es keine vergleichenden Untersuchungen bezüglich eventuell vorhandener Unterschiede zwischen verschiedenen Mikroklimazonen. Daher wurde in der hier vorliegenden Studie die Ausscheidungsprävalenz von Magen-Darm-Strongylideneiern

koproskopisch bei Fohlen der Farmen Quimsachata und Malkini untersucht. Diese beiden Betriebe stehen hierbei als repräsentative Standorte der „Puna seca“ (Quimsachata) und der „Puna húmeda“ (Malkini, Kap. 2.3 und 3.1). Weiterhin wurde versucht eine Abschätzung genetischer Resistenzen gegenüber dem Merkmal EpG durchzuführen wie es bereits erfolgreich bei Schafen praktiziert wurde (Bishop und Stear, 2001; Vanimisetti et al., 2004)

Eier von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich der Gattungen *Nematodirus* und *Lamanema* wurden bei knapp 56 % aller untersuchten Lamafohlen nachgewiesen. Dabei ließen sich Eier von *Nematodirus* spp. und *L. chavezii* morphologisch unterscheiden. Eier der übrigen Magen-Darm-Strongyliden wurden als MDS-Typ zusammengefasst. Zur weiteren Differenzierung wurden in Larvenkulturen infektiöse Strongylidendrittlarven herangezüchtet und anhand dieser Gattungsbestimmungen durchgeführt (Abb.17).

Die **Prävalenz** der Eiausscheidung war niedriger als man aufgrund anderer Studien aus Peru hätte erwarten können bei denen die Prävalenzen zwischen 61 % und 100 % lagen (Kap. 2.5.4.1.3 und Tab. 11). Eier der Gattung *Nematodirus* waren klar dominierend (Abb. 11). Dies wurde auch in anderen Studien festgestellt (Guerrero und Leguía, 1987; Rojas et al., 1987; Valenzuela et al., 1998) und erklärt sich aus der beträchtlichen Kälte- und Austrocknungstoleranz dieser Arten (Eckert et al., 2005). Durch die Entwicklung innerhalb der Eihülle ist die Larve 3 von *Nematodirus* spp. sehr widerstandsfähig. Dies gilt gleichermaßen für die Larven von *L. chavezii*, für die in anderen Untersuchungen (Tab.11) eine hohe Prävalenz nachgewiesen wurde. Die Verbreitung dieses Parasiten war dagegen in der vorliegenden Studie in beiden Farmen sehr niedrig. Auch die geometrisch gemittelte Abundanz (Abb. 12) und die Mittlere Intensität (Abb. 13) der Eiausscheidung waren in den vorliegenden Untersuchungen geringer als aufgrund der Literatur erwartet. Windsor (1992) fand maximale EpG-Werte von 1100 und beurteilte dies als sehr niedrig, jedoch auf der Basis von Referenzwerten bei Schafen. Chávez (1990) ermittelte Werte um 200 EpG. Melo (1997) berichtet für die südliche Region von Puno Werte von knapp 800 und für die nördliche von über 1200 EpG. Allerdings gelten diese Zahlen für sämtliche nachgewiesenen Eier von Strongyliden sowie *Trichuris* spp. Auch ist unklar ob diese Durchschnittswerte unter Ausschluß der negativen Befunde gemittelt wurden und somit nur das Mittel der positiven Tiere wiedergeben (Mittlere Intensität). Für die eigenen Untersuchungen hatten die niedrige Abundanz und Mittlere Intensität der

Eiausscheidung zur Folge, daß eine Schätzung genetisch bedingter Resistenzen nicht möglich war (Kap. 4.3.1). Eine Ursache für die niedrigen Prävalenzen und Eiausscheidungen ist dabei sicherlich in dem spezifischen Kotabsatzverhalten von Neuweltkameliden zu finden. Dabei dient eine eng begrenzte Fläche als „Latrine“ in deren Umgebung dann kein Grünfutter verzehrt wird, woraus ein geringeres Ansteckungsrisiko resultiert (Carmichael et al., 1998). Dies scheint jedoch nur für Nematodeninfektionen gültig zu sein, auf die Verbreitung von *Eimeria*-Infektionen hatte das Verhalten keinen Einfluß (Kap. 4.3.1 und Abb. 7).

Infektionen mit Magen-Darm-Strongyloiden wurden unter Verwendung derselben Untersuchungsmethode (modifiziertes McMasterverfahren) mit unterschiedlicher Extensität in **Quimsachata** und **Malkini** festgestellt. Dabei war die Ausscheidungsprävalenz bei Tieren der Farm Malkini höher als bei den Tieren in Quimsachata (Kap. 4.3.4.1). Dieses Ergebnis bestätigt die Erwartungen, daß Malkini aufgrund seiner günstigeren klimatischen Lage in der Puna húmeda auch bessere Verbreitungsmöglichkeiten für gastrointestinale Parasiten bietet (Riveros Salcedo und Locklin, 2001). *Nematodirus* spp. machten dabei, wie bereits oben erwähnt, den deutlich größten Anteil aus (Abb. 14). Auch bei *L. chavezii* war die Häufigkeit der Eiausscheidung in Malkini signifikant höher als in Quimsachata (Abb. 14 und Tab. 14). Dagegen stellte sich die Situation bei den restlichen Magen-Darm-Strongyloiden genau umgekehrt dar. Die Ausscheidungsprävalenz war in Quimsachata signifikant höher als in Malkini (Abb. 14 und Tab. 14) und gleichzeitig doppelt so hoch wie zum gleichen Zeitpunkt während der Longitudinalstudie des Vorjahres (Abb. 4). Dieses Ergebnis entsprach nicht den Erwartungen. Aufgrund der Lage Quimsachatas in der Puna seca war mit ungünstigeren klimatischen Bedingungen für die Parasitenverbreitung gegenüber Malkini zu rechnen.

Der Grad der Weidekontamination hängt von vielen verschiedenen Faktoren ab, die sich einerseits durch die individuelle Resistenz der unterschiedlichen Strongyloidenarten und andererseits durch die äußeren klimatischen Bedingungen, in denen die Larven sich entwickeln, ergeben. Die Hauptkriterien sind dabei Temperatur und Feuchtigkeit (Levine, 1980). Diese beziehen sich nicht nur auf das Wetter sondern besonders auf die mikroklimatischen Bedingungen. Die Larven 1 und 2 von Magen-Darm-Strongyloiden sind empfindlich gegen Kälte und Austrocknung und werden zunächst durch den sie umgebenden Kotballen geschützt (Dimander et al., 2003), wobei auch

dessen Feuchtigkeitsgehalt eine Rolle spielt (O'Connor et al., 2006). Haben sich erst einmal Larven 3 gebildet, sind diese weitaus widerstandsfähiger und zudem in der Lage durch aktive Bewegungen aus dem Kot auszuwandern (Stromberg, 1997). Wie weit sie dabei kommen, hängt auch von der Art der umgebenden Gräser ab. Auf Schwingelarten konnten Larven weiter wandern als auf Klee oder Hafer (Stromberg, 1997). Es gibt jedoch diesbezüglich keine Studien welche die Vegetation des Altiplano in Betracht ziehen. Auch sind für die L3 höhere Temperaturen ungünstig, da sie zu einem höheren Energieverbrauch führen, damit die Energiereserven der Larve aufzehren und in der Folge ihre Infektiosität senken (Stromberg, 1997).

Bei der **Differenzierung von Larven 3** aus der Larvenkultur von Kotproben aus Quimsachata waren *Ostertagia ostertagi* und *Cooperia* spp. die am häufigsten identifizierten Gattungen, wobei *Cooperia* spp. wiederum signifikant häufiger gefunden wurde als *O. ostertagi* (Abb.17). Dies deckt sich teilweise mit den Sektionsbefunden von Yucra (2002). Auch hier war *Cooperia* spp. die dominierende Gattung, allerdings während der Regenzeit.

Die bereits erwähnte Eigenmigration der L3 kann dazu dienen sich geeignete Mikrohabitate zu suchen und so ihre Überlebenschancen zu verbessern (O'Connor et al., 2006) Andere Autoren sahen jedoch die Tendenz, das *Cooperia* spp. langsamer auswanderten als *Ostertagia* und dabei länger überlebten (Boom und Sheath, 2008). Im peruanischen Altiplano können während der Trockenzeit die Temperaturen am Tag durch die starke Sonneneinstrahlung erheblich ansteigen und so evtl. die Überlebensdauer der L3 verkürzen. Ob die durch die große Höhe bedingte, starke UV-Strahlung ebenfalls einen Effekt hat kann nur vermutet werden, Untersuchungen diesbezüglich sind nicht bekannt. Die Überlebensfähigkeit der exogenen Larvenstadien wird außerdem verbessert wenn sie von einer Schneedecke geschützt werden (Stromberg, 1997). Die Wochen vor Beginn der Probennahmen für die Querschnittsstudie waren in Quimsachata von einem für die Jahreszeit untypischen Wetter mit starken Schneefällen gekennzeichnet, die teilweise eine mehrtägige geschlossene Schneedecke zur Folge hatten, somit war auch das Mikroklima ungewöhnlich feucht. Im Anschluß daran änderte sich das Wetter wieder zurück zu den typischen kalten Nächten und den trockenen, warmen Tagen die möglicherweise eine schnelle Entwicklung begünstigten.

Es gibt viele Untersuchungen zum Überleben der **exogenen Stadien** von Magen-Darm-Strongyliden. Insbesondere die Weidekontamination durch *O. ostertagi* und

C. oncophora, als den wichtigsten Erreger der Parasitären Gastroenteritis des Rindes (Eckert et al., 2005), ist in Europa eingehend erforscht worden (Dimander et al., 2003; Boom und Sheath, 2008). Zum Beispiel hat ein Austrocknen des Kuhfladens Einfluß auf die Weidekontamination. Diese Ergebnisse lassen sich aber nicht ohne weiteres auf die Situation von Neuweltkameliden in Peru übertragen, da sich die klimatischen Bedingungen und die Kotbeschaffenheit nicht vergleichen lassen. Der Kot von Neuweltkameliden ähnelt sehr dem von Schafen, es sind trockene harte Ausscheidungen und ihr Feuchtigkeitsgehalt ist gering. Zudem richten Studien zur Kontamination von Schafweiden ihr Augenmerk vor allem auf Nematodenarten die bei diesen Tieren bedeutsam sind, die aber in der eigenen Querschnittstudie nur in geringem Maße (*Trichostrongylus* spp.) oder gar nicht (*Haemonchus contortus*) vorkamen (O'Connor et al., 2006). *H. contortus*, ist eine der weltweit bedeutendsten Nematodenarten bei kleinen Wiederkäuern (Schallig, 2000), scheint jedoch bei Neuweltkameliden des Altiplano keine Rolle zu spielen, da hier die Mindestvoraussetzungen an Temperatur und Feuchtigkeit für die Entwicklung der Larven zu keinem Zeitpunkt gegeben sind (Rojas, 1990; O'Connor et al., 2006).

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, daß Magen-Darm-Strongyliden bei Neuweltkameliden in den beiden Farmen des peruanischen Altiplano während der Trockenzeit nur eine untergeordnete Bedeutung haben. Dazu tragen verschiedene Faktoren wie die Haltungsform, die klimatischen Bedingungen und Besonderheiten im Verhalten von Neuweltkameliden bei.

Für eine Abschätzung genetischer Resistenzen für das Merkmal EpG waren die Prävalenz sowie die Abundanz und Mittlere Intensität der Eiausscheidung insgesamt zu niedrig.

6 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es Erkenntnisse über den Parasitenstatus von Neuweltkameliden in Peru zu gewinnen. Untersucht wurden

- die Prävalenzen von Serumantikörpern gegen *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* und *Sarcocystis* spp. sowie
- die Extensität und Intensität der Ausscheidung von Eimeria-Oozysten und Magen-Darm-Strongylideneiern;
- darüberhinaus sollte eine Abschätzung eventueller genetischer Resistenzen gegenüber Infektionen mit Magen-Darm-Strongyliden versucht werden.

Für die serologischen Untersuchungen standen auf zwei Farmen in der „trockenen Puna“ (A) bzw. der „feuchten Puna“ (B) 81 Lamas (*Lama glama*) (Farm A) und 675 Alpakas (*Vicugna pacos*) (A: n=480; B: n=195) sowie 114 freilebende Vikunjas (*Vicugna vicugna*) zur Verfügung. Zusätzlich wurden 12 Alpakas und 20 Lamas einer Farm in Deutschland herangezogen. Für die koproskopischen Untersuchungen wurden Proben von 443 Fohlen (A: n=161; B: n=195) entnommen.

Zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* wurden ein Immunoblot-Verfahren sowie ein ELISA unter Verwendung von *N. caninum*-Tachyzoiten-Antigen etabliert. Als positive Referenz diente das Serum eines experimentell infizierten Lamas. Als negative Referenz wurde ein nicht infiziertes Kontrolltier herangezogen.

Der Nachweis von Antikörpern gegen *T. gondii* erfolgte mittels eines Immunoblot-Verfahrens analog zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum*

In Kombination der Ergebnisse für den *N. caninum*- und *T. gondii*-Antikörpernachweis wurde über eine TG-ROC-Analyse (Two-graph receiver operating characteristic) ein *N. caninum*-ELISA mit einer Spezifität und einer Sensitivität von jeweils 95 % erarbeitet.

Zum Nachweis von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp. wurde mit Zystozoen-Antigen von *S. singaporensis* ein ELISA entwickelt. Als positive Kontrollen dienten Seren von Lamas die bei der Fleischschau makroskopisch erkennbar mit *Sarcocystis* spp. befallen waren. Seren von Fohlen aus dem deutschen Betrieb dienten als negative Referenz.

Von den 864 Feldsera aus Peru wurden im Immunoblot 2,1 % seropositiv auf *N. caninum* und 3,5 % seropositiv auf *T. gondii* getestet. Antikörper gegen *N. caninum* konnten bei Alpakas und Lamas, nicht aber bei wildlebenden Vikunjas nachgewiesen werden, Antikörper gegen *T. gondii* dagegen bei allen drei Tierarten. Antikörper gegen *T. gondii* traten signifikant häufiger bei älteren Tieren als bei Fohlen (d.h. Alter unter 12 Monate) auf. Bei den Neuweltkameliden der deutschen Farm waren alle Tiere *N. caninum*-seronegativ, aber bei 44 % konnten Antikörper gegen *T. gondii* nachgewiesen werden. Auch hier waren adulte Tiere signifikant häufiger infiziert als Jungtiere, was auf einen postnatalen Infektionsweg schließen läßt.

Zum Nachweis von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp. wurde als Cut-off-Wert $\bar{x}+2s$ der negativen Kontrollen festgesetzt. Daraus resultierte eine Seroprävalenz von 33 %. Adulte Tiere waren dabei signifikant häufiger seropositiv als Fohlen. Ebenso waren domestizierte Alpakas und Lamas signifikant häufiger seropositiv als wildlebende Vikunjas.

Die koproskopischen Untersuchungen wurden mittels eines modifizierten McMaster-Verfahrens durchgeführt. Die Prävalenz der Ausscheidung von *Eimeria*-Oozysten (*E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. lamae* und *E. macusaniensis*) war in beiden Betrieben sehr hoch und lag bei annähernd 100 %. Die Abundanz der Ausscheidung von Oozysten betrug 1185 OpG, die Mittlere Intensität 1335 OpG. Im Betrieb A wurden Infektionen mit *E. macusaniensis* gesondert erfasst und kamen in 46 % der untersuchten Proben vor.

Eier von Magen-Darm-Strongyliden einschließlich der Gattungen *Nematodirus* und *Lamanema* wurden bei 50 % aller untersuchten Lamafohlen nachgewiesen. Die höchsten Prävalenzen innerhalb der Gruppe der Magen-Darm-Strongyliden hatten *Nematodirus* spp. (39 %), und auch die Abundanz (5 EpG) und die Mittlere Intensität (86 EpG) waren bei diesen Arten am höchsten. Eier vom nicht näher zu differenzierenden MDS-Typ wurden in 16 % aller Proben gefunden, bei einer Abundanz von 4 EpG und einer Mittleren Intensität von 77 EpG. *L. chavezii* war der am seltensten artmäßig erfassbar auftretende Parasit (9 %) mit einer Abundanz von 0,4 EpG und einer Mittleren Intensität von 58 EpG. Zur genaueren Differenzierung der Eier des MDS-Typ wurden von 49 infizierten Tieren zusätzliche Kotproben entnommen und mit ihnen Larvenkulturen angelegt. Bei der Auswertung von 996 Larven waren Nematoden der Gattung *Cooperia* mit knapp 60 % am häufigsten vertreten.

Die Eiausscheidungs-Prävalenzen von *N. lamae* und *L. chavezii* waren bei den Tieren der in der „feuchten Puna“ gelegenen Farm B signifikant höher als bei den Tieren der in der „trockenen Puna“ gelegenen Farm A, bei Eiern vom MDS-Typ war es umgekehrt.

In Anbetracht der niedrigen Werte für Prävalenz sowie Abundanz und Mittlere Intensität der Eiausscheidung war die Variation insgesamt zu gering für eine Abschätzung genetischer Resistenzen für das Merkmal EpG.

7 Summary

The study was performed to evaluate the status of parasite-infections of South American camelids by

- determining the prevalence of antibodies against *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* spp.,
- assessing the prevalence and intensity of excretion of *Eimeria* spp. and of gastrointestinal strongyle eggs
- in addition, it was attempted to estimate heritabilities of resistance to gastrointestinal nematodes

Serum samples were collected from two farms located in two different climatic zones of the Peruvian altiplano, i.e., the “dry puna” (Farm A) and the “wet puna” (Farm B). 81 llamas (*Lama glama*) (Farm A) and 675 alpacas (*Vicugna pacos*) (Farm A: n=480; Farm B: n=195) as well as 114 wild living vicuñas were sampled. In addition, samples from 12 alpacas and 20 llamas from a German farm were collected. For the coproscopical examinations, faecal samples were obtained from 443 foals (A: n=161; B: n=195).

An immunoblotting assay and an ELISA were established to detect antibodies against *N. caninum*-tachyzoites. Sera of an experimentally *N. caninum* infected llama and a non-infected control llama served as positive and negative controls. Antibodies to *T. gondii* were detected by immunoblotting. The *N. caninum*-ELISA was evaluated based on the two immunoblot assays by two-graph receiver operating characteristic analysis. It exhibited a sensitivity and specificity of 95 %.

An ELISA was established to detect antibodies against *Sarcocystis* spp. employing *S. singaporensis* antigen. Serum samples from animals with macroscopically visible cysts (detected at meat inspection at the abattoir) were used as positive controls while serum samples from foals reared at the German farm served as negative controls.

Peruvian field sera (n=864) collected from llamas, alpacas and feral vicuñas, were tested for antibodies against *T. gondii* and *N. caninum* by immunoblotting. The overall prevalence antibodies were 3.5 % and 2.1 % respectively. Antibodies to *T. gondii* were found in all three species, whereas vicuñas were free of antibodies to

N. caninum. The antibody prevalence of *T. gondii* infection was significantly higher in adult animals (alpacas in Peru, llamas in Germany) than in foals (i.e. <12 months of age) suggesting predominantly postnatal infection. Animals on the German farm were free of antibodies to *N. caninum* but 44 % were seropositive for *T. gondii*.

A proportion of 33 % of the Peruvian camelids showed antibodies to *Sarcocystis* spp. under the present test conditions. The seroprevalence was significantly higher in adult animals than in foals. Alpacas and llamas reacted positive more frequently than vicuñas.

Coprospectical examinations were performed employing a modified McMaster-technique. Prevalence of oocyst shedding was high, reaching almost 100 %. Abundance of oocyst shedding was 1185 opg and mean intensity 1335 opG. Infections with *E. macusaniensis*, recorded separately in Farm A, were found in 46 % of the animals.

Strongyle eggs - including the genera *Nematodirus* and *Lamanema* - were found in 50 % of all alpaca foals examined. Highest prevalences were found for *Nematodirus* spp. (39 %); also abundance (5 EPG) and mean intensity (86 EPG) were highest within this group. Strongyle eggs of other Trichostrongyloidea than the above mentioned were found in 16 % of faecal samples, with an abundance of 4 EPG and a mean intensity of 77 EPG. *L. chavezii* was the most uncommon species. Its prevalence was 9 %, with abundance and mean intensity values of 0.4 EPG and 58 EPG, respectively.

Faecal samples from 49 animals were cultured for recovery of third stage infective larvae. Examination of 996 larvae showed that *Cooperia* was the most predominant species.

The prevalence of egg shedding of *N. lamae* and *L. chavezii* was significantly higher in animals from the "wet puna" (Farm B) than in animals in the "dry puna" (Farm A). An inverse situation was observed considering all strongyle eggs.

The low values for prevalence, abundance and mean intensity resulted in too small variations to estimate heritabilities of resistance to strongyle infections.

Considering the low values for prevalence, abundance and mean intensity, the variation was too little to attempt to estimate heritabilities of resistance for the attribute epg.

8 Literaturverzeichnis

- Aguilar, A. (1970). "Efectividad antihelmíntica del tartrato de pyrantel en Alpacas." Bol Ext IVITA 4, 1970 4.
- Albers, G. A., G. D. Gray, L. R. Piper, J. S. Barker, L. F. Le Jambre & I. A. Barger (1987). "The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young merino sheep." Int J Parasitol 17(7): 1355-63.
- Alcaino, H., T. Gorman & M. Burgos (1991). "Helmintiasis gastrointestinal en llamas (*Lama glama*) de la I Región de Chile." Parasitol. día 15((3/4) jul.-dic): 93-6.
- Almeria, S., D. Ferrer, M. Pabon, J. Castella & S. Manas (2002). "Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*." Vet Parasitol 107(4): 287-94.
- Alva, B., Guerrero, Nuñez (1981). Observaciones del ciclo de vida del *S. aucheniae* de alpacas. Resumen 5° Cong Peruano Microbiol Parasitol Perú: Arequipa, 1981:75, Proy. Inv. Univ. Nac, S. Marcos. 3: 4.
- Anderson, M. L., C. W. Palmer, M. C. Thurmond, J. P. Picanso, P. C. Blanchard, R. E. Breitmeyer, A. W. Layton, M. McAllister, B. Daft, H. Kinde & et al. (1995). "Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California." J Am Vet Med Assoc 207(9): 1206-10.
- Anderson, M. L., J. P. Reynolds, J. D. Rowe, K. W. Sverlow, A. E. Packham, B. C. Barr & P. A. Conrad (1997). "Evidence of vertical transmission of *Neospora sp* infection in dairy cattle." J Am Vet Med Assoc 210(8): 1169-72.
- Atlee, B. A., A. A. Stannard, M. E. Fowler, T. Willemse, P. J. Ihrke & T. Olivry (1997). "The histology of normal llama skin." Veterinary Dermatology 8: 165-176.
- Ayala (1999). Estudio detallado de la ocurrencia de *Sarcocystis* en el altiplano Boliviano. 3rd European Symposium and Supreme European seminar Göttingen 1999, EAAP publication, 2001.
- Barber, J. S., R. B. Gasser, J. Ellis, M. P. Reichel, D. McMillan & A. J. Trees (1997). "Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations." J Parasitol 83(6): 1056-8.
- Barber, J. S. & A. J. Trees (1996). "Clinical aspects of twenty-seven cases of neosporosis in dogs." Vet. Rec. 139(18): 439-443.
- Barber, J. S. & A. J. Trees (1998). "Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs." Int J Parasitol 28(1): 57-64.
- Barger, I. A. & K. M. Dash (1987). "Repeatability of ovine faecal egg counts and blood packed cell volumes in *Haemonchus contortus* infections." Int J Parasitol 17(4): 977-80.

- Barr, B. C., P. A. Conrad, K. W. Sverlow, A. F. Tarantal & A. G. Hendrickx (1994). "Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate." Lab Invest **71**(2): 236-42.
- Barta, J. R. & J. P. Dubey (1992). "Characterization of anti-*Neospora caninum* hyperimmune rabbit serum by western blot analysis and immunoelectron microscopy." Parasitol Res **78**(8): 689-94.
- Bauer, C. (1990). "Praktikum der Veterinärmedizinischen Parasitologie."
- Becklund, W. W. (1963). "*Lamanema Chavezi* Gen. N., Sp. N. And *Nematodirus Lamae* Sp. N. (Nematoda: Trichostrongylidae) From The Alpaca, *Lama Pacos*, And The Vicuña, *Vicugna Vicugna*, In Peru." J Parasitol **49**: 1023-7.
- Beldomenico, P. M., M. Uhart, M. F. Bono, C. Marull, R. Baldi & J. L. Peralta (2003). "Internal parasites of free-ranging guanacos from Patagonia." Vet Parasitol **118**(1-2): 71-7.
- Bishop, S. C. & M. J. Stear (2001). "Inheritance of faecal egg counts during early lactation in Scottish Blackface ewes facing mixed, natural nematode infections." Animal Science **73**: 389–395.
- Bjerkas, I., M. C. Jenkins & J. P. Dubey (1994). "Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis." Clin Diagn Lab Immunol **1**(2): 214-21.
- Bollinger, A. & H. Dörig (1977). "Die Inka." Lausanne: Mondo: 104.
- Bomfim, T. C., F. Huber, R. S. Gomes & L. L. Alves (2005). "Natural infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties." Vet Parasitol **134**(1-2): 9-13.
- Bonacic, C. (2006). "Vicuña Ecology and Management." ECOLOGY.INFO #27.
- Boom, C. J. & G. W. Sheath (2008). "Migration of gastrointestinal nematode larvae from cattle faecal pats onto grazable herbage." Vet Parasitol. **157**(3-4): 260-6. Epub 2008 Aug 5.
- Brown, B. W. (2000). "A review on reproduction in South American camelids." Anim Reprod Sci **58**(3-4): 169-95.
- Brumpt, E. (1913). "Précise de Parasitologie." Masson et Cie., Paris, 2ieme edition.
- Bulte, E. H., G. C. van Kooten & T. Swanson (2003). "Economic Incentives and Wildlife Conservation." Workshop on economic incentives and trade policy, Geneva (Switzerland).
- Bürger, H. J. & M. Stoye (1968). "Parasitologische Diagnostik (Teil II)." Therapogen Praxisdienst, München, No.3.

- Burnette, W. N. (1981). "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A." Anal Biochem **112**(2): 195-203.
- Bustinza Choque, A. V. (1979). "The Camelidae of South America." The Camelid. Proc. Khartoum Workshop on Camels: 112-143.
- Bustinza Choque, A. V. (2001). "La Alpaka - Conocimiento del gran potencial andino." Oficina de Recursos del Aprendizaje - Sección Publicaciones - UNA - Puno, Peru.
- Bustinza Choque, V. (1986). "Los camelidos sudamericanos domesticos y el desarrollo andino." Rev Cam Sudam, Lima (por CICCIS: Centro de Información de Cam Sudam) **1**, Junio 1986.
- Buxton, D., K. M. Thomson, S. W. Maley, S. Wright & H. J. Bos (1993). "Experimental challenge of sheep 18 months after vaccination with a live (S48) *Toxoplasma gondii* vaccine." The Veterinary Record **133**(13): 310-312.
- Cabrera, M., M. Verastegui & R. Cabrera (2005). "Prevalence of entero-parasitosis in one Andean community in the Province of Victor Fajardo, Ayacucho, Peru." Rev Gastroenterol Peru **25**(2): 150-5.
- Caetano-da-Silva, A., I. Ferre, E. Collantes-Fernandez, V. Navarro, G. Aduriz, C. Ugarte-Garagalza & L. M. Ortega-Mora (2004). "Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls." Theriogenology **62**(7): 1329-36.
- Cafrune, M. M., D. H. Aguirre & L. G. Rickard (1999). "Recovery of *Trichuris tenuis* Chandler, 1930, from camelids (*Lama glama* and *Vicugna vicugna*) in Argentina." J Parasitol **85**(5): 961-2.
- Cafrune, M. M., D. H. Aguirre & L. G. Rickard (2001). "First report of *Lamanema chavezii* (Nematoda: Trichostrongyloidea) in llamas (*Lama glama*) from Argentina." Vet Parasitol **97**(2): 165-8.
- Campero, C. M., M. L. Anderson, H. G. Conosciuto, Odriozola, G. Bretschneider & M. A. Poso (1998). "*Neospora caninum* associated abortion in a dairy herd in Argentina." Veterinary Record **143**: 228-229.
- Canada, N., C. S. Meireles, P. Ferreira, J. M. Correia da Costa & A. Rocha (2006). "Artificial insemination of cows with semen in vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce neosporosis." Vet Parasitol **139**(1-3): 109-14.
- Canedi, A. (1995). "Population recovery and management of vicuña in Jujuy province - Argentina." Proc. 2nd European Symposium on South American Camelids. 30 August -2 September 1995, Camerino.
- Carette, E. (1911). "Sarcosporidiosis de los animales domésticos." Tesis Fac. Agr. y Veterinaria, Buenos Aires.

- Carmichael, I. H., R. W. Ponzoni, G. J. Judson, D. J. Hubbard, A. Howse & B. A. McGregor (1998). "Studies on parasitism in alpacas in southern Australia." Proc. Crossing Boundaries: 75-82.
- Casas, E., G. Casas & A. Chávez (2005). "Evaluación de la efectividad y residualidad de una ivermectina 3.15 % l.a (bovimec® 3.15 % etiqueta azul) en el control de parásitos gastrointestinales en alpacas naturalmente infectadas en la sierra central del Perú." Publicación Agrovetmarket.
- Casas V., G., A. Chávez V., 3, E. Casas A., V. Leyva V., A. Alvarado S., E. Serrano M., D. Ticona S. & N. Puray Ch. (2006). "Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la Sierra Central." Rev Inv Vet Perú **17**(1): 8-13.
- Castillo, H., A. Chávez, D. Hoces, E. Casas, R. Rosadio & J. Wheeler (2008). "Contribución al estudio del parasitismo gastrointestinal en guanacos." Rev Inv Vet Perú **19**(2): 168-175.
- Castro, E., R. Sam, T. López, A. González & M. Silva (2004). "Evaluación de la edad como factor de riesgo de seropositividad a *Sarcocystis* sp. en alpacas." Rev Inv Vet Perú **15**(1): 83-86.
- Castro, J. (1974). "*Sarcocystis aucheniae* en Llamas." Rev Inv Pec IVITA (Perú) **3** (1): 91-92.
- Cebra, C. K., D. E. Mattson, R. J. Baker, R. J. Sonn & P. L. Dearing (2003). "Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea." J Am Vet Med Assoc **223**(12): 1806-8.
- Chavez-Velasquez, A., G. Alvarez-Garcia, E. Collantes-Fernandez, E. Casas-Astos, R. Rosadio-Alcantara, E. Serrano-Martinez & L. M. Ortega-Mora (2004). "First report of *Neospora caninum* infection in adult alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Lama glama*)." J Parasitol **90**(4): 864-6.
- Chavez-Velasquez, A., G. Alvarez-Garcia, M. Gomez-Bautista, E. Casas-Astos, E. Serrano-Martinez & L. M. Ortega-Mora (2005). "*Toxoplasma gondii* infection in adult llamas (*Lama glama*) and vicunas (*Vicugna vicugna*) in the Peruvian Andean region." Vet Parasitol **130**(1-2): 93-7.
- Chavez-Velasquez, A., V. Leyva, S. Panez, T. Ticona, W. García V. & D. Pezo C. (2008). "Sarcocistiosis y la eficiencia productiva de la alpaca." Rev. investig. vet. Perú **19**(2): 160-167.
- Chavez-Velasquez, A., E. Serrano M., E. Casas A. & L. M. Ortega M. (2002a). "*Neospora caninum* en camélidos sudamericanos peruanos." Rev. investig. vet. Perú **13**(2): 92-93.
- Chavez-Velasquez, A., E. Serrano M., E. Casas A. & L. M. Ortega M. (2002b). "*Neospora caninum* en camélidos sudamericanos peruanos." Rev. Inv. Vet. Perú **13**(2): 92-93.

- Chávez, C. & C. Guerrero (1960). "Ecto y Endoparásitos identificados en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria (1947-1960)." Rev Fac Med Vet (Lima) **15**.
- Chávez, C., C. Guerrero, J. Alva & J. Guerrero (1967). "El parasitismo gastrointestinal en alpacas." Rev de la Fac de MV (Lima) **21**.
- Chávez, F. A. (1990). "Evaluación parasitaria de ovinos, alpacas y vacunos en diez comunidades campesinas del ámbito de la Microrregión Puno-Pichacani." Tesis Médico Veterinario y Zootecnista, FMVZ-UNA-Puno.
- Cheney, J. M. & G. T. Allen (1989). "Parasitism in llamas." Vet Clin North Am Food Anim Pract **5**(1): 217-25.
- Chigerwe, M., J. R. Middleton, F. Williams, 3rd, J. W. Tyler & J. M. Kreeger (2007). "Atypical coccidiosis in South American camelids." J Vet Diagn Invest **19**(1): 122-5.
- Choque M., J., A. Chávez V., A. Pacheco P., V. Leyva V., S. Panez L. & D. Ticona S. (2007). "Frecuencia de *Sarcocystis* sp. en perros pastores de asociaciones alpaqueras de maranganí, Cusco." Rev Inv Vet Perú **18**(1): 84-88.
- Conboy, G. A., T. D. O'Brien & D. L. Stevens (1988). "A natural infection of *Fascioloides magna* in a llama (*Lama glama*)." J. Parasitol **74**(2): 345-346.
- Condemayta, Z., M. Tapia & E. Apaza (2004). "Evaluación de la tolerancia y eficacia antisárnica y antinematodica de una ivermectina de larga acción (alpamec® l.a.) en alpacas del centro de investigación y producción la raya." Publicación Agrovvetmarket.
- Cornejo, P. N., A. Chávez V.², C. A. Eva & C. A. D.⁴ (2004). "Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro." Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú **15** (no.1).
- Cornejo, R., A. Chavez-Velasquez, V. Leyva, N. Falcón, S. Panez & D. Ticona (2007). "Relación entre el tamaño de los macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* y su viabilidad en *Canis familiaris*." Rev Inv Vet Perú **18**(1): 76-83.
- Costa, K. S., S. L. Santos, R. S. Uzeda, A. M. Pinheiro, M. A. Almeida, F. R. Araujo, M. M. McAllister & L. F. Gondim (2008). "Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*." Int J Parasitol **38**(2): 157-9.
- D'Alterio, G. L., T. G. Knowles, E. I. Eknaes, I. E. Loevland & A. P. Foster (2006). "Postal survey of the population of South American camelids in the United Kingdom in 2000/01." Vet Rec **158**(3): 86-90.
- Damriyasa, I. M. (2001). "Querschnittsstudie zu Parasitosen bei Zuchtsauen in südhessischen Betrieben." Vet. Med. Diss. Justus-Liebig-Universität Giessen.
- Daughschies, A. & M. Najdrowski (2005). "Eimeriosis in Cattle: Current Understanding." J. Vet. Med. B **52**: 417-427.

- Davies, J. (2003). "Population ecology of the Vicuña (*Vicugna vicugna*) at the Salinas y Aguada Blanca National Reserve, Arequipa, Peru: Baseline Data for sustainable management." Thesis Presented to the Graduate School of the University of Florida in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Arts.
- Davison, H. C., A. Otter & A. J. Trees (1999). "Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle." Int J Parasitol **29**(10): 1683-9.
- De Cupere, F., B. Díaz, X. Montaña, V. Valarezo & R. De Wilde (1995). "Gastrointestinal parasitism in sheep herds, camelid herds and mixed herds in Ecuador using the egg count technique." Proc. 2nd European Symposium on South American Camelids. 30 August -2 September 1995, Camerino.
- de Souza, S. L., J. S. Guimaraes, Jr., F. Ferreira, J. P. Dubey & S. M. Gennari (2002). "Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Parana, Brazil." J Parasitol **88**(2): 408-9.
- del Campo S., J., A. Chávez V., A. Delgado C., N. Falcón P., Â. Ornelas A., E. Casas A. & E. Serrano M. (2003). "Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del valle de Lima." Rev Inv Vet Perú **14**((2)): 145-149.
- Denegri, G. M. (1989). "New potential intermediate host of *Moniezia expansa* Rudolphi, 1810, in Argentina." Vet Parasitol **33**(2): 191-4.
- Dijkstra, T., H. W. Barkema, M. Eysker, M. L. Beiboer & W. Wouda (2003). "Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies." Vet Parasitol **110**(3-4): 161-9.
- Dimander, S. O., J. Hoglund & P. J. Waller (2003). "Seasonal translation of infective larvae of gastrointestinal nematodes of cattle and the effect of *Duddingtonia flagrans*: a 3-year pilot study." Vet Parasitol. **117**(1-2): 99-116.
- Dixon, J., A. Gulliver & D. Gibbon (2001). "Farming Systems and Poverty - Improving farmer's livelihoods in a changing world." joint FAO and World Bank study.
- Dodd, C. S., J. Rodriguez, D. Hoces, R. Rosadio, J. C. Wheeler & M. W. Bruford (2004). "Genetic diversity and management implications for vicuña populations in Peru." South American camelids research - Volume 1. Proceedings of the 4th European Symposium on South American Camelids and DECAMA, European Seminar.
- Dubey, J. P. (1989). "Lesions in Goats Fed *Toxoplasma gondii* Oocysts." Veterinary Parasitology **32**: 133-144.
- Dubey, J. P. (1999). "Recent advances in *Neospora* and neosporosis." Vet Parasitol **84**(3-4): 349-67.
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasmosis of animals and humans*, CRC Press.

- Dubey, J. P., J. L. Carpenter, C. A. Speer, M. J. Topper & A. Uggla (1988a). "Newly recognized fatal protozoan disease of dogs." J Am Vet Med Assoc **192**(9): 1269-85.
- Dubey, J. P., A. L. Hattel, D. S. Lindsay & M. J. Topper (1988b). "Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission." J Am Vet Med Assoc **193**(10): 1259-63.
- Dubey, J. P., C. W. Leathers & D. S. Lindsay (1989a). "*Neospora caninum*-like protozoon associated with fatal myelitis in newborn calves." J Parasitol **75**(1): 146-8.
- Dubey, J. P., M. Z. Levy, C. Sreekumar, O. C. Kwok, S. K. Shen, E. Dahl, P. Thulliez & T. Lehmann (2004). "Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru." The Journal of parasitology **90**(5): 1015–1018.
- Dubey, J. P. & D. S. Lindsay (1996). "A review of *Neospora caninum* and neosporosis." Vet Parasitol **67**(1-2): 1-59.
- Dubey, J. P., D. S. Lindsay, D. Hill, S. Romand, P. Thulliez, O. C. Kwok, J. C. Silva, M. C. Oliveira-Camargo & S. M. Gennari (2002). "Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil." J Parasitol **88**(6): 1251-2.
- Dubey, J. P., J. K. Lunney, S. K. Shen, O. C. Kwok, D. A. Ashford & P. Thulliez (1996). "Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs." J Parasitol **82**(3): 438-43.
- Dubey, J. P., L. G. Rickard, G. L. Zimmerman & D. M. Mulrooney (1992). "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in llamas (*Lama glama*) in the northwest USA." Vet Parasitol **44**(3-4): 295-8.
- Dubey, J. P., G. Schares & L. M. Ortega-Mora (2007). "Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*." Clin Microbiol Rev **20**(2): 323-67.
- Dubey, J. P., C. A. Speer & R. Fayer (1989b). "Sarcocystosis of Animals and Man." CRC Press.
- Dubey, J. P. & P. Thulliez (2005). "Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild animals." J Parasitol **91**(5): 1217-8.
- Dubey, J. P., P. Thulliez & E. C. Powell (1995). "*Toxoplasma gondii* in Iowa sows: comparison of antibody titers to isolation of *T. gondii* by bioassays in mice and cats." J Parasitol **81**(1): 48-53.
- Dunn, D., M. Wallon, F. Peyron, E. Petersen, C. Peckham & R. Gilbert (1999). "Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling." The Lancet **353**(9167): 1829-1833.
- Eckert, J., K. Z. Friedhoff, H. Zahner & P. Deplazes (2005). Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin, Enke Verlag Stuttgart.

- Elamin, E. A., S. Elias, A. Dauschies & M. Rommel (1992). "Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pastoral camels (*Camelus dromedarius*) in the Butana plains, mid-Eastern Sudan." Vet Parasitol **43**(3-4): 171-5.
- Fairfield, T. (2004). "The Politics of Livestock Sector Policy and the Rural Poor in Bolivia." FAO Pro-Poor Livestock Policy Initiative, Working Paper.
- Fairfield, T. (2006). "The Politics of Livestock Sector Policy and the Rural Poor in Peru." FAO Pro-Poor Livestock Policy Initiative (PPLPI) Working Paper **32**.
- Fernandez, R. M. (1995). "Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas del Centro Experimental La Raya, Cusco."
- Ferroglio, E., M. Pasino, A. Romano, D. Grande, P. Pregel & A. Trisciuglio (2007). "Evidence of *Neospora caninum* DNA in wild rodents." Vet Parasitol **148**(3-4): 346-9.
- Fowler, M. E. (1997). "Evolutionary history and differences between tylopods and ruminants." J. Camel Pract. and Research **4** (2), 99 – 105 **4**(2): 99-105.
- Fowler, M. E. (1998). "Medicine and Surgery of South American Camelids." Ames: Iowa State University Press.
- Friedrich, P. (2002). "Lama-Therapie." Lamas **4**: 22-23.
- Furuta, P. I., T. W. Mineo, A. O. Carrasco, G. S. Godoy, A. A. Pinto & R. Z. Machado (2007). "*Neospora caninum* infection in birds: experimental infections in chicken and embryonated eggs." Parasitology **134**(Pt.14): 1931-9.
- Gauly, M., W. Egen & M. Trah (1997). "Zur Haltung von Neuweltkameliden in Europa." Tierärztliche Umschau **52**: 343-350.
- Gauly, M. & G. Erhardt (2001). "Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhon sheep following natural infection." Vet Parasitol **102**(3): 253-9.
- Gerken, M. (1997). "Leistungen und Produkte." In: Gauly, M. (Hrsg.), Neuweltkameliden.
- Godoy, R., M. Vilca, A. Gonzáles, V. Leyva & R. Sam (2007). "Saneamiento y detoxificación de carne de llama (*Lama glama*) infectada con *Sarcocystis aucheniae* mediante cocción, horneado, fritura y congelado." Rev. investig. vet. Perú **18**(1).
- Gómez O., F., A. Chávez V., E. Casas A., E. Serrano M. & Ó. Cárdenas (2003). "Determinación de la Seroprevalencia de la toxoplasmosis en alpacas y llamas en la Estación Experimental Inia-Puno." Rev Inv Vet Perú **14**(1): 49-53.
- Gondim, L. F. (2006). "*Neospora caninum* in wildlife." Trends Parasitol **22**(6): 247-52.
- Gondim, L. F., L. Gao & M. M. McAllister (2002). "Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts." J Parasitol **88**(6): 1159-63.

- Gondim, L. F., M. M. McAllister, R. C. Anderson-Sprecher, C. Bjorkman, T. F. Lock, L. D. Firkins, L. Gao & W. R. Fischer (2004a). "Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts." J Parasitol **90**(6): 1394-400.
- Gondim, L. F., M. M. McAllister, W. C. Pitt & D. E. Zemlicka (2004b). "Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*." Int J Parasitol **34**(2): 159-61.
- Gorman, T. R., H. A. Alcaino, H. Munoz & C. Cunazza (1984). "*Sarcocystis* sp. in guanaco (*Lama guanicoe*) and effect of temperature on its viability." Vet Parasitol **15**(2): 95-101.
- Granados, L., M. Vilca & R. Sam (2007). "Saneamiento y detoxificación de carne de llama (*Lama glama*) infectada con *Sarcocystis aucheniae* mediante métodos químicos: marinado, ahumado, curado seco y curado húmedo." Rev. investig. vet. Perú **18**(1): 57-63.
- Gray, G. D. (1997). "The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism." Vet Parasitol **72**(3-4): 345-57; discussion 357-66.
- Green, R. S., P. G. Douch, F. I. Hill, A. F. Death, T. K. Wyeth & M. J. Donaghy (1996). "Antibody responses of grazing alpacas (*Lama pacos*) in New Zealand to intestinal nematodes." Int J Parasitol **26**(4): 429-35.
- Greiner, M. (1995). "Two graph-receiver operating characteristics (TGROC): a Microsoft-EXCEL template for the selection of cut-off values in diagnostic tests." J. Immunol. Meth. **185**: 145-146.
- Grzimek, B. (1968). Die Schwielensohler, Kindler Zürich.
- Grzimek, B. (1988). Grzimeks Enzyklopädie, Säugetiere, Band 5, Kindler Zürich.
- Guerrero, C., A. & C. Chávez, A. (1967). "Helminthos comunicados por primera vez en alpacas (*Lama pacos*), con una descripción de *Spiculopteragia peruvianus* n. sp." Bol Chil Parasitol **XXII**: 147-150.
- Guerrero, C. & J. Alva (1986). "Gastroenteritis nematodica y Sarna en alpacas." Boletín de Divulgación IVITA, Lima, Perú **21**.
- Guerrero, C., J. Alva, H. Bazalar & L. Tabacchi (1970a). "Infección experimental de Alpacas con *Eimeria lamae*." Bol Ext IVITA 4, 1970 **4**.
- Guerrero, C., J. Alva, G. Leguía & H. Bazalar (1970b). "Prevalencia de coccidias (Protozoa: Eimeriidae) en Alpacas." Bol Ext IVITA 4, 1970 d **4(d)**.
- Guerrero, C., J. Alva, I. Vega, J. Hernandez & M. Rojas (1973). "Algunos aspectos biológicos y patológicos del *Lamanema chavez*i en alpacas." Rev Inv Pec IVITA (Perú) 2 enero-junio(1): 29-42.
- Guerrero, C., J. Hernández & J. Alva (1967a). "Coccidiosis en Alpacas." Bol Extr. IVITA **2**: 66-68.

- Guerrero, C., J. Hernández & J. Alva (1967b). "Sarcocystis en alpacas." Rev Fac Med Vet: Univ Nac Mayor San Marcos (Perú) 1967;21:69-76.
- Guerrero, C. & G. Leguía (1987). "Enfermedades Parasitarias de las Alpacas." Revista de camelidos sudamericanos. Enfermedades infecciosas y parasitarias de las alpacas(aktualisierte Version von: Bol de divulgación n° 8, "La Alpaca" - Enf infecc y paras, IVITA, 1971).
- Guerrero, C. A. (1967). "Coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of the alpaca *Lama pacos*." J Protozool 14(4): 613-6.
- Guerrero, C. A., J. Alva & A. Nuñez (1986). "Evaluacion antihelmintica de la ivermectina contra infecciones naturales de nematodos gastrointestinales de alpacas." Boletin de Divulgación IVITA, Lima, Peru 21.
- Guerrero, J. & C. Chávez (1963-66). "Evaluación Antihelmintica del 2 - (Thiazolill) Benzimidazole ("Thibenzole") en Alpacas." Rev Fac Med Vet (Lima) 1820.
- Gündüz, R. (2000). "The Valorization of Cultural and Natural Resources For Development in Peru."
- Güttler, E. (1986). "Untersuchungen über die Haltung, Zucht, Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und Krankheiten von Lamas in den Anden Argentiniens." Inaugural-Dissertation.
- Hack, W. (2001). "The Peruvian alpaca meat and hide industries. A travel report presented to Rural Industries Research and Development Corporation." RIRDC Publication No. 01/19. Project No. TA001-18, 11p.
- Hagemoser, W. A., J. P. Dubey & J. R. Thompson (1990). "Acute toxoplasmosis in a camel." Journal of the American Veterinary Medical Association 196(2): 347.
- Hall, C. A., M. P. Reichel & J. T. Ellis (2005). "Neospora abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control." Vet Parasitol 128(3-4): 231-41.
- Hammond, J., I. Johansson & F. Haring (1959). "Handbuch der Tierzucht. Bd. 2. Haustiergenetik."
- Hanichen, T., H. Wiesner & E. Göbel (1994). "Zur Pathologie, Diagnostik und Therapie der Kokzidiose bei Wiederkäuern im Zoo." Verhandlungsber. Erkrankungen Zootiere. 36: 375-380.
- Herre, W. (1982). "Zur Stammesgeschichte der Tylopoden." Verh Dtsch Zool Ges: 159 - 171.
- Hertzberg, H. (2002). "Vorkommen und Bedeutung von Endoparasitosen bei Neuweltkameliden in der Schweiz." Proc. Tg. Dtsch. Veterinärmed. Ges. "Bekämpfung und Epidemiologie von Parasitosen", Travemünde, Abstract.

- Hertzberg, H. & C. Bauer (2000). "Anthelminthika-Resistenzen bei Magen-Darm-Strongyliden von Schafen und Ziegen: Aktuelles über Verbreitung, Epidemiologie, Vorbeugemassnahmen und Alternativen zum Anthelminthika-Einsatz." Berl Munch Tierarztl Wochenschr. **113**(4): 122-8.
- Hertzberg, H. & L. Kohler (2006). "Prevalence and significance of gastrointestinal helminths and protozoa in South American Camelids in Switzerland." Berl Munch Tierarztl Wochenschr **119**(7-8): 291-4.
- Hietala, S. K. & M. C. Thurmond (1999). "Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies." Int J Parasitol **29**(10): 1669-76.
- Hilali, M., A. Fatani & S. al-Atiya (1995). "Isolation of tissue cysts of *Toxoplasma*, *Isospora*, *Hammondia* and *Sarcocystis* from camel (*Camelus dromedarius*) meat in Saudi Arabia." Veterinary Parasitology **58**: 353-356.
- Hilali, M. & A. Mohamed (1980). "The dog (*Canis familiaris*) as the final host of *Sarcocystis cameli* (Mason, 1910)." Tropenmed Parasitol **31**(2): 213-4.
- Hilali, M., S. Romand, P. Thulliez, O. C. Kwok & J. P. Dubey (1998). "Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt." Vet Parasitol **75**(2-3): 269-71.
- Hill, F. I., A. F. Death & T. K. Wyeth (1993). "Nematode burdens of alpacas sharing grazing with sheep in New Zealand." N Z Vet J **41**(4): 205-8.
- Hoberg, E. P. (1996). "Emended description of *Mazamastrongylus peruvianus* (Nematoda:Trichostrongylidae), with comments on the relationships of the genera *Mazamastrongylus* and *Spiculoptera*." J Parasitol **82**(3): 470-7.
- Holt, C. (2006). "A survey of the relationships of crimp frequency, micron character and fibre curvature." A Report to the Australian Alpaca Association.
- Horna M., S., A. Chávez V., E. Casas A. & E. Serrano M. (2003). "Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas." Rev Inv Vet Perú **14**((2)): 150-154.
- Huang, C. C., C. H. Yang, Y. Watanabe, Y. K. Liao & H. K. Ooi (2004). "Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*)." Vet Res **35**(3): 283-90.
- Hurtado, E., J. Bustinza & C. Sanchez (1985a). "Estudio parasitológico en llamas (*Lama glama*) del altiplano peruano." Res. 5. Convencion Internacional sobre Camelidos Sudamericanos, Cuzco, Peru: 51.
- Hurtado, E., J. Bustinza & C. Sanchez (1985b). "Parasitismo gastrointestinal por examen de heces de guanacos (*Lama guanicoe*)." Res. 5. Convencion Internacional sobre Camelidos Sudamericanos, Cuzco, Peru: 50.

- Huskinson, J., P. N. Stepick-Biek, F. G. Araujo, P. Thulliez, Y. Suzuki & J. S. Remington (1989). "Toxoplasma antigens recognized by immunoglobulin G subclasses during acute and chronic infection." J Clin Microbiol **27**(9): 2031-8.
- Iñiguez, L. & R. Alem (1996). "La función de los camélidos como medio de transporte e intercambio en la región andina de Bolivia." World animal review - the FAO journal on animal health, production and products **86**(1).
- Jackson, F. (1993). "Anthelmintic resistance—The state of play." Br. vet. J. **149**: 123-138.
- Jakel, T., Y. Khoprasert, D. Kliemt & U. Mackenstedt (2001). "Immunoglobulin subclass responses of wild brown rats to *Sarcocystis singaporensis*." Int J Parasitol **31**(3): 273-83.
- Jansen, J. (1986). "Redescription of *Mazamastrongylus trinitatis* Cameron, 1935 and a discussion on the systematic position and species composition of the genus *Mazamastrongylus* Cameron, 1935 (Nematoda: Trichostrongyloidea)." Systematic Parasitology **8**(4): 179-283.
- Jarvinen, J. A. (1999). "Prevalence of *Eimeria macusaniensis* (Apicomplexa: Eimeriidae) in midwestern *Lama* spp." J Parasitol **85**(2): 373-6.
- Jarvinen, J. A., J. P. Dubey & G. C. Althouse (1999). "Clinical and serologic evaluation of two llamas (*Lama glama*) infected with *Toxoplasma gondii* during gestation." J Parasitol **85**(1): 142-4.
- Jenkins, M. C., C. Parker, D. Hill, R. D. Pinckney, R. Dyer & J. P. Dubey (2007). "*Neospora caninum* detected in feral rodents." Vet Parasitol **143**(2): 161-5.
- Jewell, M. L., J. K. Frenkel, K. M. Johnson, V. Reed & A. Ruiz (1972). "Development of *Toxoplasma oocysts* in neotropical felidae." Am J Trop Med Hyg **21**(5): 512-7.
- Kadwell, M., M. Fernandez, H. F. Stanley, R. Baldi, J. C. Wheeler, R. Rosadio & M. W. Bruford (2001). "Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca." Proc Biol Sci **268**(1485): 2575-84.
- Kashiwazaki, Y., R. E. Giannechini, M. Lust & J. Gil (2004). "Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay." Vet Parasitol **120**(1-2): 139-44.
- Kessler, M., M. Gaulty, C. Frese & S. Hiendleder (1995). "DNA-Studies on South American Camelids." Proceedings of the 2nd. European Symposium on South American Camelids, Camerino: 269-278.
- Kikuchi, Y., B. B. Chomel, R. W. Kasten, J. S. Martenson, P. K. Swift & S. J. O'Brien (2004). "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in American free-ranging or captive pumas (*Felis concolor*) and bobcats (*Lynx rufus*)." Vet Parasitol **120**(1-2): 1-9.
- Kiorpes, A. L., C. E. Kirkpatrick & D. D. Bowman (1987). "Isolation of *Giardia* from a llama and from sheep." Can J Vet Res **51**(2): 277-80.

- Kirkbride, C. A., J. P. Dubey & M. C. Libal (1992). "Effect of feeding lasalocid to pregnant ewes experimentally infected with *Toxoplasma gondii*." Veterinary Parasitology **44**: 299-303.
- Klinger, B. (2007). "Uncertainty in the Search for New Exports." Working Paper - Center for International Development at Harvard University **16**.
- Koiwai, M., T. Hamaoka, M. Haritani, S. Shimizu, T. Tsutsui, M. Eto & I. Yamane (2005). "Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan." Vet Parasitol **130**(1-2): 15-8.
- Kowalik, S., M. Gauly & C. Bauer (1998). "Untersuchungen zur Endoparasitenfauna von Lamas (*Lama glama*) in Hessen." Proc. 18. Tag. Dtsch. Ges. Parasitol. Dresden, Abstract Nr. p69.
- Kutzer, E. (1969). "*Eimeria leuckarti*, ein seltener Parasit von Pferd und Esel." Dtsch. Tierärztl. W.schr. **76**: 35-37.
- La Perle, K. M., F. Silveria, D. E. Anderson & E. A. Blomme (1999). "Dalmeny disease in an alpaca (*Lama pacos*): sarcocystosis, eosinophilic myositis and abortion." J Comp Pathol **121**(3): 287-93.
- Larrieu, E., R. Bigatti, R. Lukovich, C. Eddi, E. Bonazzi, E. Gomez, R. Niec & N. Oporto (1982). "Contribución al estudio del parasitismo gastrointestinal en guanacos y llamas." Gac. Vet. B. Aires **TXLIV**(374): 958-960.
- Leguía, Guerrero, Sam & Chávez (1989). "Infección experimental de perros y gatos con micro y macroquistes de *Sarcocystis* de alpacas." MV Rev Cien Vet (Perú). 1989;5(3):10-13.
- Leguía, Guerrero, Sam & Rosadio (1990). "Patología del *Sarcocystis lama canis* n. sp. En alpacas infectadas experimentalmente." MV Rev Cien Vet (Perú). 1990;6(3):11-13.
- Leguía, Samamé, Guerrero, Rojas & Nuñez (1984). "Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en alpakas."
- Leguia, G. (1991). "The epidemiology and economic impact of llama parasites." Parasitol Today **7**(2): 54-6.
- Leguía, G. (1991). "Parasitismo gastrointestinal y pulmonar en vacunos, ovinos y alpacas." Lima, Mayo de 1991, 1a Edición.
- Leguía, G. & P. Bendezu (1974). "Observaciones de campo sobre la epidemiología de la gastroenteritis verminosa en alpacas de cerro de pasco." Rev Inv Pec (IVITA) UNMSM **3**, enero-junio(1): 3-7.
- Leguía, G. & E. Casas A. (1999). Enfermedades Parasitarias y Atlas Parasitológico de Camélidos Sudamericanos. Lima, Peru, Editorial de Mar.

- Leguía, G., T. López, R. Rosadio & M. Sumari (1993). "Biología y Patogenesis del *Spiculoteragia peruvianus* en Alpacas." Rev Inv Pec IVITA (Perú) **6**(1): 28-30.
- Lenghaus, C., M. G. O'Callaghan & C. Rogers (2004). "Coccidiosis and sudden death in an adult alpaca (*Lama pacos*)." Aust Vet J **82**(11): 711-2.
- Levine, N. D. (1980). "Weather and the Ecology of Bursate Nematodes." Int. J. Biometeorol. **24**(4): 341-346.
- Lichtenstein, G., F. Oribe, M. Grieg-Gran & S. Mazzucchelli (2002). "Manejo Comunitario de Vicuñas en Perú - Estudio de caso del manejo comunitario de vida silvestre." PIE Series No. 2, IIED.
- Lichtenstein, G. & N. Renaudeau d'Arc (2004). "Vicuña Use by Andean Communities: A Risk or an Opportunity?" The Commons in an Age of Global Transition: Challenges, Risks and Opportunities, the Tenth Conference of the International Association for the Study of Common Property, Oaxaca, Mexico, August 9-13.
- Lindsay, D. S., E. J. Kelly, R. D. McKown, F. J. Stein, J. Plozer, J. Herman, B. L. Blagburn & J. P. Dubey (1996). "Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*." J Parasitol **82**(4): 657-9.
- Lindsay, D. S., S. E. Little & W. R. Davidson (2002). "Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*, from the southeastern United States." J Parasitol **88**(2): 415-7.
- Lobato, J., D. A. Silva, T. W. Mineo, J. D. Amaral, G. R. Segundo, J. M. Costa-Cruz, M. S. Ferreira, A. S. Borges & J. R. Mineo (2006). "Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders." Clin Vaccine Immunol **13**(1): 84-9.
- Maco Flores, V., L. A. Marcos Raymundo, A. Terashima Iwashita, F. Samalvides Cuba & E. Gotuzzo Herencia (2002). "Distribution of entero-parasitic infections in the Peruvian Highland: study carried out in six rural communities of the department of Puno, Peru." Rev Gastroenterol Peru **22**(4): 304-9.
- Margolis, L., G. W. Esch, J. Holmes, A. M. Kuris & G. A. Schad (1982). "The Use of Ecological Terms in Parasitology (Report of an Ad Hoc Committee of the American Society of Parasitologists)." The Journal of Parasitology **68**(1): 131-133.
- Marín, J. C., B. Zapata, B. A. Gonzalez, C. Bonacic, J. C. Wheeler, C. Casey, M. W. Bruford, R. E. Palma, E. Poulin, M. A. Alliende & A. E. Spotorno (2007). "Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular." Revista Chilena de Historia Natural **80**(2): 121-140.
- Markham, D., P. Hilton, D. Hochsprung, D. Schreiner, J. Tompkins; & G. Yohe (1995). "Guard Llamas: An Alternative for Effective Predator Management." International Llama Association Educational Brochure #2.

- Martin-Pacho, J. R., M. N. Montoya, T. Aranguena, C. Toro, R. Morchon, C. Marcos-Atxutegi & F. Simon (2005). "A coprological and serological survey for the prevalence of *Ascaridia* spp. in laying hens." J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health **52**(5): 238-42.
- Martínez, A. (1998). "Vicuña fibre from Peru." IAA - Alpaca Market report, Bulletin #6, June 1998.
- Mason, F. E. (1910). "Sarcocysts in the camel in Egypt." J. Comp. Pathol. Ther. **23**: 168.
- Matuschka, F. R. (1983). "Infectivity of *Sarcocystis* from donkey for horse via sporocysts from dogs." Z Parasitenkd **69**(3): 299-304.
- McGarry, J. W., C. M. Stockton, D. J. Williams & A. J. Trees (2003). "Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound." J Parasitol **89**(3): 628-30.
- McKenna, P. B. (1998). "The effect of previous cold storage on the subsequent recovery of infective third stage nematode larvae from sheep faeces." Vet Parasitol **80**(2): 167-72.
- Medina, A. N., J. Alva & M. Rojas (1975). "Fase exogena de *Lamanema chavezii* (Nematoda: Trichostrongylidae) de la alpaca, *Lama pacos*." Res. 2' Jor Peruana Microbiol y Parasitol. Perú: Trujillo.1975:H-32.
- Meerburg, B. G. & R. de Jong (2003). "Vicuanas in Bolivia: An opportunity for their sustainable use." Outlook on Agriculture **32**(2): 105-109(5).
- Melo, A. M. (1997). "Sistemas de control y manejo sanitario de las alpacas y llamas en la región andina del sur peruano." Rev FMVZ-UNA, Puno **1**: 54-59.
- Mencke, N. (1989). "Untersuchung von Sarkosporidien-Zystozoen in der Immuno-Elektrophorese (Western Blot) und der Immuno-Elektronenmikroskopie mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen *Sarcocystis muris*."
- Mencke, N., P. O'Donoghue, R. Lumb, P. Smith, A. M. Tenter, P. Thummel & M. Rommel (1991). "Antigenic characterisation of monoclonal antibodies against *Sarcocystis muris* by western blotting and immuno-electron microscopy." Parasitol Res **77**(3): 217-23.
- Mercado, E. C., S. M. Rodriguez, A. M. Elizondo, G. Marcoppido & V. Parreno (2004). "Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from a South American camelid (*Lama guanicoe*) with diarrhea." J Clin Microbiol **42**(10): 4809-11.
- Moog, G. (1995). "Die Nutzung von Lamahaut zur Lederherstellung." Lamas: 27.
- N.N. (1998). "IAA – Alpaca Market report." IAA – Bulletin **6**(June).
- N.N. (2006a). CONACS - Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos, http://www.minag.gob.pe/pecuaria/pec_real_camelidos.shtml.

- N.N. (2006b). FIDA report - Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola / International Fund for Agricultural Development, 1990
http://www.minag.gob.pe/pecuaria/pec_real_camelidos.shtml.
- Nuñez, A. & M. Rojas (1992). "Programa integral de control del parasitismo de la alpaca y del ovino." Theorema UNMSM Dic. 1992.
- Nuñez, A., M. Rojas & V. Leyva (1995). "Anematodico antes del parto y produccion de fibra y peso vivo en alpacas." Rev Inv Pec IVITA (Perú) 7(2): 119-121.
- Nuñez, L. A., V. Leyva & C. M. Rojas (1985). "Nematodiasis gastroenterica de alpacas en pastura cultivada antes y despues de la parición." Res. 5. Convencion Internacional sobre Camelidos Sudamericanos, Cuzco, Peru.
- Nürnberg, M. & A. Valle Zárate (1999). "Lamahaltung in den Hochanden Boliviens: Erklärungen unter lokalen und wissenschaftlichen Gesichtspunkten." Proceedings. Tropentag, Berlin/Germany, 14.10.-15.10.
- O'Connor, L. J., S. W. Walkden-Brown & L. P. Kahn (2006). "Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep." Vet Parasitol. 142(1-2): 1-15. Epub 2006 Sep 29.
- O'Donoghue, P., R. Lumb, P. Smith, J. Brooker & N. Mencke (1990). "Characterization of monoclonal antibodies against ovine *Sarcocystis* spp. antigens by immunoblotting and immuno-electron microscopy." Vet Immunol Immunopathol 24(1): 11-25.
- O'Donoghue, P. J. & H. Weyreter (1983). "Detection of *Sarcocystis* antigens in the sera of experimentally-infected pigs and mice by an immunoenzymatic assay." Vet Parasitol 12(1): 13-29.
- Odening, K. (1998). "The present state of species-systematics in *Sarcocystis* Lankester, 1882 (Protista, Sporozoa, Coccidia)." Systematic Parasitology 41: 209-233.
- Omata, Y., Y. Umeshita, M. Watarai, M. Tachibana, M. Sasaki, K. Murata & T. K. Yamada (2006). "Investigation for presence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Brucella*-species infection in killer whales (*Orcinus orca*) mass-stranded on the coast of Shiretoko, Hokkaido, Japan." J Vet Med Sci 68(5): 523-6.
- Ortega-Mora, L. M., I. Ferre, I. del-Pozo, A. Caetano-da-Silva, E. Collantes-Fernandez, J. Regidor-Cerrillo, C. Ugarte-Garagalza & G. Aduriz (2003). "Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls." Vet Parasitol 117(4): 301-8.
- Osawa, T., J. Wastling, L. Acosta, C. Ortellado, J. Ibarra & E. A. Innes (2002). "Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay." Vet Parasitol 110(1-2): 17-23.
- Pabon, M., F. Lopez-Gatius, I. Garcia-Ispierto, G. Bech-Sabat, C. Nogareda & S. Almeria (2007). "Chronic *Neospora caninum* infection and repeat abortion in dairy cows: a 3-year study." Vet Parasitol 147(1-2): 40-6.

- Palacios, C., R. Perales, A. Chavera & T. López (2005). "Caracterización anatómo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca." Rev Inv Vet Perú 2005; 16 (1):34-40.
- Palacios, C., L. Tabacchi N., A. Chavera C., T. López U., G. Santillán A., N. Sandoval Ch., D. Pezo C. & R. Perales C. (2004). "Eimeriosis en crías de alpacas: estudio anátomo histopatológico." Rev. Inv. Vet. Péru 15(2): 174-178.
- Palacios, C. A., R. A. Perales, A. E. Chavera, M. T. Lopez, W. U. Braga & M. Moro (2006). "*Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* co-infection in fatal cases of diarrhoea in young alpacas (*Lama pacos*) in Peru." Vet Rec 158(10): 344-5.
- Parish, S. M., L. Maag-Miller, T. E. Besser, J. P. Weidner, T. McElwain, D. P. Knowles & C. W. Leathers (1987). "Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves." J Am Vet Med Assoc 191(12): 1599-600.
- Parreno, V., V. Constantini, S. Cheetham, J. Blanco Viera, L. J. Saif, F. Fernandez, L. Leoni & A. Schudel (2001). "First isolation of rotavirus associated with neonatal diarrhoea in guanacos (*Lama guanicoe*) in the Argentinean Patagonia region." J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 48(9): 713-20.
- Pastor S., S., J. Muscari Greco, J. Chávez Cossio, V. Leyva Vallejos, B. Barbieri, M. Rosemberg Barrón, E. Flores Mariazza, M. García P. & E. Moya Bendezú (2004). "Peru - Primer Informe Nacional sobre la Situación de los Recursos Zootenéticos." INIA.
- Patitucci, A. N., *, M. J. Pérez, G. Barril, C. M. Cárcamo & A. Muñoz (2006). "Detección de anticuerpos séricos contra *Toxoplasma gondii* (Nicolle y Manceaux, 1909) en llamas (*Lama glama* Linneaus, 1758) y alpacas (*Lama pacos* Linneaus, 1758) de Chile." Arch. med. vet. 38(2): 179-182.
- Patitucci, A. N. M. V., R.S.A., M.Phil., M. V. M.J. Pérez, R.S.A., M.Sc., M. V. K.F. Israel & M. V. M.A.Rozas (2000). "Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX Región de Chile." Arch. med. vet. 32(2).
- Patitucci, A. N. M. V., R.S.A., M.Phil., M. V. M.J. Pérez, R.S.A., M.Sc., M. V. M.A.Rozas & M. V. K.F. Israel (2001). "Neosporosis canina: presencia de anticuerpos sericos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile." Archivos de medicina veterinaria 33 (n.2).
- Patton, S., A. Rabinowitz, S. Randolph & S. S. Johnson (1986). "A coprological survey of parasites of wild neotropical felidae." J Parasitol 72(4): 517-20.
- Payer, A. (2001). "Entwicklungsländerstudien - Teil I: Grundgegebenheiten. -- Kapitel 8: Tierische Produktion. -- 3. Kameliden: Kamele, Lamas, Alpakas, Vicunjas."
- Pelayo, P. (1973). "Prevalencia de Coccidias (Protozoa: Eimeriidae) en Llamas, *Lama glama*."

- Peters, M., P. Wohlsein, A. Knieriem & G. Schares (2001). "Neospora caninum infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*)."
Vet Parasitol **97**(2): 153-7.
- Petersen, E., M. Lebech, L. Jensen, P. Lind, M. Rask, P. Bagger, C. Bjorkman & A. Uggla (1999). "Neospora caninum infection and repeated abortions in humans."
Emerg Infect Dis **5**(2): 278-80.
- Puray, C., Nidia 1, A. Chávez V., 3, E. Casas A., N. Falcón P. & G. Casas V. (2006).
"Prevalencia de *N. caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la Sierra Central del Perú." Rev Inv Vet Perú **17**(2): 189-194.
- Quevedo V., J., A. Chávez V., H. Rivera G., E. Casas A. & E. Serrano M. (2003).
"Neosporosis e bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas." Rev Inv Vet Perú **14** (1): 33-37.
- Quiroga, D., O. Lombardero & R. Zorilla (1969). "*Sarcocystis tilopodi* n. sp. en Guanacos (*Lama guanicoe*) de la Republica Argentina." Gaceta Veterinaria de Buenos Aires **31**: 67-70.
- Raggi, L. A. (1997). "Exportaciones de camélidos sudamericanos domesticos; crónica de un error que pudo ser evitado." TECNO VET: Año **3**(3).
- Raggi Saini, L. A. (1993). "Características fisiológicas y productivas de los camelidos sudamericanos domésticos." Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos, 19 al 21 de Octubre de 1993, Arica, Chile.
- Rainsford, F. (2000). "Continuing revival of vicuña as a comercial fibre." IAA – Alpaca Market report Bulletin #14, October 2000, Special Edition.
- Reichel, M. P., J. T. Ellis & J. P. Dubey (2007). "Neosporosis and hammondiosis in dogs." J Small Anim Pract **48**(6): 308-12.
- Revollo, M., M. Liberman & A. Lescano (2003). "Lake Titicaca." Lake Basin Management Initiative - Regional Workshop for Europe, Central Asia and the Americas, Vermont, USA.
- Rickard, L. G. (1994). "Update on llama medicine. Parasites." Vet Clin North Am Food Anim Pract **10**(2): 239-47.
- Rickard, L. G. & J. K. Bishop (1988). "Prevalence of *Eimeria* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) in Oregon llamas." J Protozool **35**(3): 335-6.
- Rickard, L. G. & J. K. Bishop (1991). "Helminth parasites of llamas (*Lama glama*) in the Pacific Northwest." Proceedings of the Helminthological Society of Washington **58**(1): 110-115.
- Rivera, H., B. R. Madewell & E. Ameghino (1987). "Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*)." Am J Vet Res **48**(2): 189-91.

- Riveros Salcedo, J. C. & C. Locklin (2001). "Central Andean Wet Puna." World Wildlife Fund - Report.
- Rohbeck, S. (2006). "Parasitosen des Verdauungstrakts und der Atemwege bei Neuweltkameliden - Untersuchungen zu ihrer Epidemiologie und Bekämpfung in einer südhessischen Herde sowie zur Biologie von *Eimeria macusaniensis*." Vet. Med. Diss. Justus-Liebig-Universität Giessen.
- Rojas, C. M. (1990). "Parasitismo de los Rumiantes domésticos; terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. Lima: Maijosa Editorial."
- Rojas, C. M., I. Lobato & M. Montalvo (1988). "*Cryptosporidium* en camelidos sudamericanos." Resumen, 11. Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Lima, Peru.
- Rojas, M., I. Lobato & M. Montalvo (1993). "Fauna Parasitaria de Camelidos Sudamericanos y ovinos en pequeños rebaños mixtos familiares." Rev Inv Pec (IVITA) Peru 6(1): 22-27.
- Rojas, M., A. Nuñez & J. Alva (1986). "Observaciones del desarrollo y sobrevivencia de *Lamanema chavezii* en condiciones naturales." Rev Cam Sudam (CICCS), IVITA, UNMSM 2 2.
- Rojas, M., A. Nuñez & J. Alva (1987). "Análisis longitudinal de la gastroenteritis nematodica de las alpacas." Rev Cam Sudam (CICCS), IVITA, UNMSM 5 5.
- Rommel, M. (2000). "Protozoologische Methoden." In: M. Rommel, J. Eckert, E. Kutzer, W. Körting and T. Schnieder, Editors, Veterinärmedizinische Parasitologie, 5. Auflage: 61-68.
- Rosa, S. U. (2009). "Real Time-PCR-Untersuchungen zur Persistenz von Infektiosen *Toxoplasma gondii*-Dauerstadien in Rohwurst-Erzeugnissen." Vet. Med. Diss. Justus-Liebig-Universität Giessen.
- Rosadio, R. H. & E. F. Ameghino (1994). "Coccidial infections in neonatal Peruvian alpacas." Vet Rec 135(19): 459-60.
- Rossi, P. (1983). "[On the genus *Nematodirus* Ransom 1907 (Nematoda: Trichostrongyloidea)]." Ann Parasitol Hum Comp 58(6): 557-81.
- Saavedra, G. M. & Y. R. Ortega (2004). "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Swine From Slaughterhouses in Lima, Peru, and Georgia, U.S.A." The Journal of parasitology 90(4): 902-4.
- Sabin, M. D. (1941). "Toxoplasmic encephalitis in children." J Am Med Assoc. 116(9): 801-807.
- Sadrebazzaz, A., H. Haddadzadeh & P. Shayan (2006). "Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in camels (*Camelus dromedarius*) in Mashhad, Iran." Parasitol Res 98(6): 600-1.

- Sam, R., González, López & Verástegui (1999). "Desarrollo de un método de electroinmunotransferencias para la detección de anticuerpos anti *S. aucheniae* en alpacas." Rev Inv Vet Perú; 1999; 10(2):82-85.
- Sam, R., I. Mansilla, C. Morales & A. Ramirez (1998). "Efecto Tóxico de Macroquistes *Sarcocystis aucheniae* en ratones, cobayos y conejos." Revista de Investigaciones Pecuarias Vol. 9, Nº 2, Edición Extraordinaria 9(2 Edición Extraordinaria): 11-18.
- Sam, T. R., R. Oré & G. Leguía (1978). Cambios hematológicos y serológicos en alpacas experimentalmente infectadas con *S. aucheniae*. Resumen 11° Cong Panam Ciencias Vet. Perú: Lima, 1978:E.11.4.
- Sanborn, G. (2002). "Llamas as Therapy." NHLA Newsletter 12(5): 10-11.
- Santiago, B. & G. Montes (1999). "Efectividad Antinematódica y Acaricida de la Ivermectina LA (Trust) en ovinos y alpacas." MV Rev. de Cien. Vet., Lima - Peru 15(1): 31-32.
- Saravia P., M., A. Chavez V., E. Casas A. & e. al. (2004). "Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas de una empresa pecuaria en Melgar, Puno." Rev. investig. vet. Perú Jan./Jun. 2004, vol.15, (no.1): p.49-55.
- Sawada, M., C. H. Park, H. Kondo, T. Morita, A. Shimada, I. Yamane & T. Umemura (1998). "Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs." J Vet Med Sci 60(7): 853-4.
- Schallig, H. D. (2000). "Immunological responses of sheep to *Haemonchus contortus*." Parasitology 120 **Suppl**: S63-72.
- Schares, G., A. Barwald, C. Staubach, M. Ziller, D. Kloss, R. Schroder, R. Labohm, K. Drager, W. Fasen, R. G. Hess & F. J. Conraths (2004). "Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers." Parasitology 129(Pt 3): 301-9.
- Schares, G., J. F. Dubremetz, J. P. Dubey, A. Barwald, A. Loyens & F. J. Conraths (1999a). "*Neospora caninum*: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies." Exp Parasitol 92(2): 109-19.
- Schares, G., A. O. Heydorn, A. Cuppers, F. J. Conraths & H. Mehlhorn (2001). "*Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished." Parasitol Res 87(10): 808-16.
- Schares, G., A. O. Heydorn, A. Cuppers, H. Mehlhorn, L. Geue, M. Peters & F. J. Conraths (2002). "In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues." Parasitol Res 88(1): 44-52.

- Schares, G., M. Peters, R. Wurm, A. Barwald & F. J. Conraths (1998). "The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques." Vet Parasitol **80**(2): 87-98.
- Schares, G., M. Rauser, P. Sondgen, P. Rehberg, A. Barwald, J. P. Dubey, R. Edelhofer & F. J. Conraths (2000). "Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis." Int J Parasitol **30**(10): 1123-30.
- Schares, G., M. Rauser, K. Zimmer, M. Peters, R. Wurm, J. P. Dubey, D. C. de Graaf, R. Edelhofer, C. Mertens, G. Hess & F. J. Conraths (1999b). "Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions." J Parasitol **85**(4): 688-94.
- Scherf, B. D. (1997). "Lista Mundial de Vigilancia para la Diversidad de los Animales Domésticos. (2a EDICIÓN)."
- Schmid, S. (2006). "The value chain of alpaca fiber in Peru, an economic analysis." Master thesis, Institut für Agrarwirtschaft, ETH Zürich.
- Schnieder, T. (2006). "Veterinärmedizinische Parasitologie." **6.** Enke Verlag Stuttgart.
- Schnieder, T., F. J. Kaup, W. Drommer, W. Thiel & M. Rommel (1984). "Fine structure and development of *Sarcocystis aucheniae* in llamas." Z Parasitenkd **70**(4): 451-8.
- Schrey, C. F., T. A. Abbott, V. A. Stewart & W. C. Marquardt (1991). "Coccidia of the llama, *Lama glama*, in Colorado and Wyoming." Vet Parasitol **40**(1-2): 21-8.
- Serrano-Martinez, E., E. Collantes-Fernandez, A. Chavez-Velasquez, A. Rodriguez-Bertos, E. Casas-Astos, V. Risco-Castillo, R. Rosadio-Alcantara & L. M. Ortega-Mora (2007). "Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted fetuses from Peru." Vet Parasitol **150**(1-2): 39-45.
- Serrano-Martinez, E., E. Collantes-Fernandez, A. Rodriguez-Bertos, E. Casas-Astos, G. Alvarez-Garcia, A. Chavez-Velasquez & L. M. Ortega-Mora (2004). "*Neospora* species-associated abortion in alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Llama glama*)." Vet Rec **155**(23): 748-9.
- Serrano, E., I. Ferre, K. Osoro, G. Aduriz, A. Mateos-Sanz, A. Martinez, R. Atxaerandio, C. O. Hidalgo & L. M. Ortega-Mora (2006). "Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers." Vet Parasitol **135**(3-4): 197-203.
- Sommer, I., K. Horn, A. O. Heydorn, H. Mehlhorn & W. Ruger (1992). "A comparison of sporozoite and cyst merozoite surface proteins of *Sarcocystis*." Parasitol Res **78**(5): 398-403.
- Stankewitz, S. (2008). "Immunologische und parasitologische Untersuchungen zur natürlichen Krankheitsresistenz gegenüber *Sarcocystis miescheriana* beim Schwein." Vet. Med. Diss. Justus-Liebig-Universität Giessen.

- Stanley, H. F., M. Kadwell & J. C. Wheeler (1994). "Molecular evolution of the family Camelidae: a mitochondrial DNA study." Proc Biol Sci **256**(1345): 1-6.
- Stear, M. J., S. C. Bishop, B. A. Mallard & H. Raadsma (2001). "The sustainability, feasibility and desirability of breeding livestock for disease resistance." Res Vet Sci **71**(1): 1-7.
- Stromberg, B. E. (1997). "Environmental factors influencing transmission." Vet Parasitol. **72**(3-4): 247-56; discussion 257-64.
- Suaréz-Aranda, F., A. J. Galisteo, R. M. Hiramoto, R. P. Cardoso, L. R. Meireles, O. Miguel & H. F. J. Andrade (2000). "The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru." Veterinary Parasitology **91**: 23-32.
- Sumar, J. B. (1993). "Evolución y desarrollo de la ganadería camélida en el altiplano de Latinoamérica." Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos, 19 al 21 de Octubre de 1993, Arica, Chile.
- Sumar, J. B. (1999). "Reproduction in female South American domestic camelids." J Reprod Fertil Suppl **54**: 169-78.
- Talbot, M. (2006). "Marketing alpaca on a commercial scale using the fibre's competitive advantage." Australian Alpaca Association 2006 National Conference.
- Tenter, A. M., A. R. Heckerroth & L. M. Weiss (2000). "*Toxoplasma gondii*: from animals to humans." Int J Parasitol **30**(12-13): 1217-58.
- Thurmond, M. C. & S. K. Hietala (1997). "Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle." Am J Vet Res **58**(12): 1381-5.
- Tiemann, J. C., A. A. Rodrigues, S. L. de Souza, J. M. Duarte & S. M. Gennari (2005). "Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in Brazilian cervids kept in captivity." Vet Parasitol **129**(3-4): 341-3.
- Towbin, H., T. Staehelin & J. Gordon (1979). "Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications." Proc Natl Acad Sci U S A **76**(9): 4350-4.
- Tranas, J., R. A. Heinzen, L. M. Weiss & M. M. McAllister (1999). "Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*." Clin Diagn Lab Immunol **6**(5): 765-7.
- Uhart, M. & F. Milano (2002). "Multiple species production systems: reversing underdevelopment and nonsustainability in Latin America." Ann N Y Acad Sci **969**: 20-3.
- Urquieta, B. & J. Rojas (1990). "An introduction to South American camelids. En: Livestock Reproduction in Latin America. IAEA, Viena."

- Valenzuela, G., M. P. y. Leiva & I. Quintana (1998). "Estudio epidemiológico de larvas de nemátodos gastrointestinales en praderas pastoreadas por alpacas (*Lama pacos*) en Valdivia, Chile." Arch. med. vet., 1998, Vol. 30, No. 2, pp. 79-90. ISSN 0301-732X. **30**(2): 79-90.
- Vallenas, A., J. F. Cummings & J. F. Munnell (1971). "A gross study of the compartmentalized stomach of two new-world camelids, the llama and guanaco." J Morphol **134**(4): 399-423.
- Vallenas, A., J. Ochoa, C. Chávez & C. Guerrero (1960). "Dosificación Antihelmíntica en Alpacas." Rev Fac Med Vet (Lima) **15**.
- Vanimisetti, H. B., S. L. Andrew, A. M. Zajac & D. R. Notter (2004). "Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*." Journal of Animal Science **82**: 1602-1611.
- Vargas-Terán, M. (2005a). "Situación actual de los camélidos sudamericanos en Peru Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914." FAO - Oficina Regional para América Latina y el Caribe - Prioridades regionales / Seguridad alimentaria.
- Vargas-Terán, M. (2005c). "Situación actual de los camélidos sudamericanos en Argentina. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914." FAO - Oficina Regional para América Latina y el Caribe - Prioridades regionales / Seguridad alimentaria.
- Vargas, J., C. Guerrero & M. Rojas (1972). "Pruebas de campo controladas del Levamisole contra Nematodes de Alpacas." Rev Inv Pec (IVITA) **1** julio-diciembre(1): 137-144.
- Vega, M. (2002). "The Alpaca: A South American Camelid." TED Case Studies (Trade Environment Database) **667**.
- Venturini, L., C. Di Lorenzo, M. C. Venturini & J. Romero (1995). "Anticuerpos anti *Neospora* sp en vacas que abortaron." Vet. Arg. **12**: 167-170.
- Venturini, M. C., L. Venturini, D. Bacigalupe, M. Machuca, I. Echaide, W. Basso, J. M. Unzaga, C. Di Lorenzo, A. Guglielmone, M. C. Jenkins & J. P. Dubey (1999). "*Neospora caninum* infections in bovine foetuses and dairy cows with abortions in Argentina." Int J Parasitol **29**(10): 1705-8.
- Vera, R. R. (2000). "Peru - Country Pasture Profiles." FAO Crop and Grassland Service - Electronic library.
- Vianna, M. C., C. Sreekumar, K. B. Miska, D. E. Hill & J. P. Dubey (2005). "Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)." Vet Parasitol **129**(3-4): 253-7.

- Vilca, J., F. Vilca, A. Chávez, M. Urviola & V. Leyva (2007). "Efecto del toltrazuril al 2.5% durante el periodo prepatente de la sarcocistiosis intestinal canina." Rev Inv Vet Perú **18**(1): 64-68.
- Vinella, S. (1994). "The European Market for South American camelid Wool." Proc 1st European Symposium for South American Camelids, Bonn, 1993.
- Wanha, K., R. Edelhofer, C. Gabler-Eduardo & H. Prosl (2005). "Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria." Vet Parasitol **128**(3-4): 189-93.
- Wapenaar, W., M. C. Jenkins, R. M. O'Handley & H. W. Barkema (2006). "*Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*)." J Parasitol **92**(6): 1270-4.
- Webb, S. D. & J. Meachen (2004). "On the origin of Lamine Camelidae including a new genus from the Late Miocene of the High Plains." Carnegie Museum of Natural History Bulletin **36**: 349–362.
- Weisbrot, M. (2006). "Peru's Election: Background on Economic Issues." Center for Economic and Policy Research, Washington, DC - Issue Brief, April 2006.
- Wernery, U., M. E. Fowler & R. Wernery (1999). "Color Atlas of Camelid Hematology."
- West, T. (1981). "Llama Caravans of the Andes. Natural History." **90**(12): 62-73.
- Wheeler, J. (1995). "Evolution and Present Situation of the South American Camelidae." Biological Journal of the Linnean Society **54**: 271-295.
- Wheeler, J. C., L. Chikhi & M. W. Bruford (2006). "Case study in genetics of animal domestication: South American Camelids." (Chapter 23): 331-341.
- Wheeler, J. C., A. Russel, J.,F. & H. Redden (1992). "A Measure of Loss: Prehispanic Llama and Alpaca Breeds. Razas Prehispánicas de Llamas and Alpacas; la Medida de lo que se ha Perdido." Archivos de Zootécnica, No. 41 (extra), Córdoba.: 467-475.
- Windsor, R. H., M. Teran & R. S. Windsor (1992). "Effects of parasitic infestation on the productivity of alpacas (*Lama pacos*)." Trop Anim Health Prod **24**(1): 57-62.
- Windsor, R. S. (1997). "Type II ostertagiasis in llamas." Vet Rec **141**(23): 608.
- Windsor, R. S. (2002). "Relating national veterinary services to the country's livestock industry: case studies from four countries - Great Britain, Botswana, Peru, and Vietnam." Ann N Y Acad Sci **969**: 39-47.
- Woolaston, R. R. & R. L. Baker (1996). "Prospects of breeding small ruminants for resistance to internal parasites." Int J Parasitol **26**(8-9): 845-55.

- Wouda, W., C. J. Bartels & A. R. Moen (1999a). "Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997)." Theriogenology **52**(2): 233-45.
- Wouda, W., T. Dijkstra, A. M. Kramer, C. van Maanen & J. M. Brinkhof (1999b). "Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle." Int J Parasitol **29**(10): 1677-82.
- Wouda, W., A. R. Moen & Y. H. Schukken (1998). "Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic." Theriogenology **49**(7): 1311-6.
- Yakimoff, W. L. (1934). "Two new species of coccidia: *Eimeria truffitt* n. sp. of the eland (*Orias canna*), and *Eimeria peruviana* n.sp. of the llama (*Lama glama*)." Parasitology **26**: 510-511.
- Yucra, D. (2002). "Carga parasitaria gastrointestinal, lesiones anatomohistopatológicas, respuesta celular y patrón de respuesta humoral en alpacas de una comunidad campesina - Puno." Tesis para optar el grado Académico de: Magister En Salud Animal.
- Zuzunaga, M., A. Chávez, O. Li & R. Evaristo (2006). "*Toxoplasma gondii* en vicuñas de la reserva nacional de Pampa Galeras." Rev. investig. vet. Perú **17**(2): 173-177.
- Zweig, M. H. & G. Campbell (1993). "Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine." Clin Chem **39**(4): 561-77.

9 Anhang

Anhang 1: Durchführung des modifizierten McMaster-Verfahrens zum quantitativen Nachweis von Nematodeneiern und Kokzidienoozysten

Reagenzien:

- gesättigte NaCl-Lösung (spez. Gewicht: 1,18 – 1,2),

Geräte:

- Zählkammern (MSD-Agvet)
- Mörser und Pistill
- Messzylinder (100 ml), Trichter, Siebe, Spritzflaschen

Durchführung:

1. 4g Kot der zu untersuchenden Probe abwiegen und zusammen mit einer geringen Menge gesättigter Kochsalzlösung mithilfe eines Pistills in einer Reibschale zu einem homogenen Brei verrühren.
2. Diesen in ein Teesieb überführen, welcher auf einem Trichter mit passendem Durchmesser ruht. Dieser wiederum steckt in einem 100ml-Meßzylinder. Die Reibschale sparsam mit Kochsalzlösung auswaschen, um die Probe möglichst vollständig zu erhalten.
3. Mithilfe einer Spritzflasche die Probe kräftig mit gesättigter Kochsalzlösung durchspülen bis der Messzylinder 60ml enthält.
4. Die so gewonnene Lösung mischen, anschließend mit einer Pipette die Zählkammer füllen und diese vor dem Durchmustern zehn Minuten stehengelassen.
5. bei 40 – 100facher Vergrößerung untersuchen.
6. Berechnung der Ei- bzw. Oozystenanzahl je Gramm Kot: gezählte Eier / Oozysten in beiden Kammern x 50.

Anhang 2: Durchführung des Larvenkultur-Verfahrens zur Gattungs- und Artbestimmung des MDS-Befalls.

Material & Geräte:

- Petrischalen
- Kunststoffbecher
- Sägespäne
- Pasteurpipetten
- Objektträger und Deckgläser

Durchführung:

1. 10 bis 30 g Kot in einem Schraubglas zerkleinern, mit Sägespänen vermischen und mit Wasser anfeuchten. Den Deckel locker aufschrauben.
2. bei Raumtemperatur 10 Tage bebrüten.
3. Glas bis zum Rand mit Wasser füllen, Petrischale über den Glasrand legen und Glas mit Öffnung nach unten stülpen. Raum zwischen Glas und Petrischale mit Wasser füllen.
4. mind. 12 Stunden stehenlassen.
5. mit Pasteurpipette vom Boden des Zwischenraumes zwischen Glas und Petrischale Flüssigkeit entnehmen.
6. bei 40- bis 100facher Vergrößerung untersuchen.

Anhang 3: Durchführung des Immunoblots zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* im Serum von Neuweltkameliden

SDS-Page

Reagenzien:

- Parasitensuspension:
3 x 10⁶ *N. caninum* Tachyzoiten in Probenpuffer
- Probenpuffer:
2 Gew.-% SDS, 10 Vol.-% Glycerol, 62 mM TrisHCl, pH 6,8
- 5x Laufpuffer
125 mM Tris, 960 mM Glycin, 17 mM SDS, Aqua dest. ad 1000 ml
- Polyacrylamid-Gel:
Laufgel 12,5 %: 2,5 ml Lösung B, 4,2 ml Lösung C, 3,2 ml Aqua dest., 25,0 µl APS 40 Gew.-%, 10 µl TEMED
Sammelgel: 1,5 ml Lösung A, 0,7 ml Lösung C, 3,6 ml Aqua dest., 8,0 µl APS 40 Gew.-%, 16 µl TEMED
Lösung A (Sammelgelpuffer, pH 6,8): 50 mM Tris, 4 ml 10%iges SDS, Aqua dest. ad 100 ml, mit HCl auf pH 6,8
Lösung B (Laufgelpuffer, pH 8,8): 150 mM Tris, 4 ml 10%iges SDS, Aqua dest. ad 100 ml, mit HCl auf pH 8,8
Lösung C (Acrylamid-Stammlösung): 411 mM Acrylamid, 5 mM N,N'-Methylen-bis-acrylamid, Aqua dest. ad 100 ml
- Molekulargewichtsmarker (BenchMark™ Protein Ladder, Invitrogen)
- Ethanol

Geräte:

- Gießstand mit präparativen Kämmen (Keutz)
- Pipetten (Eppendorf)
- pH-Meter (766 Calimatic, Knick)

Durchführung:

1. Die Kammer mit den alkoholgereinigten Glasplatten zusammensetzen und justieren.
2. Die Laufgellösung einfüllen, mit Ethanol überschichten und über Nacht auspolimerisieren lassen.
3. Alkohol abgießen, mit Aqua dest. spülen und mit Filterpapier trockentupfen.
4. Sammelgellösung auftragen, Kämmen aufstecken und 30 min erstarren lassen.
5. Die Kämmen entfernen, die Gelkassetten in die Trennkammer einsetzen, mittels einer Pasteur-Pipette vorsichtig mit Laufpuffer spülen und mit den aufbereiteten Proben und dem Molekulargewichtsmarker bestücken.
6. Die Elektrophorese zunächst bei konstant 10mA durchführen, bis die Lauffront das Trenngel erreicht hat, dann bei erhöhter Stromstärke von 15 mA weiterführen bis der untere Gelrand erreicht ist.

Western Blot und Antikörperdetektion

Reagenzien:

- Transferpuffer:
Anodenlösung I: 230 mM Tris-HCl; 4,9 M Methanol; ad 1000 ml H₂O
Anodenlösung II: 19 mM Tris-HCl; 4,9 M Methanol; ad 1000 ml H₂O
Kathodenlösung: 40 mM 6-Aminohexansäure; 0,3 mM SDS, 4,9 M Methanol; ad 1000 ml H₂O
- Ponceau S-Lösung:
0,05 g Ponceau S, 0,5 ml Essigsäure 98%, Aqua dest. ad 500 ml
- Tusche:
5 ml Tusche (India-Ink, Pelikan); 5 ml Eisessig, 500ml PBST
- 10x PBS pH 7,2:
1,3 M NaCl, 26 mM KCl, 80 mM Na₂HPO₄, 18 mM KH₂PO₄ in 0,8 Liter Aqua bidestillata auflösen und pH einstellen und anschließend auf einen Liter auffüllen.
- PBST:
PBS mit 0,05 % Tween 20 (Aldrich)
- Blocking-Lösung:
PBST mit 20% Pferdenormalserum (Boehringer)
- Peroxidase-conjugated AffiniPure Rabbit Anti-Bovine IgG (H + L), (Jackson ImmunoResearch)

- Substrat zum Peroxidasenachweis:
4-Chloro-1-Naphtol-Tablets (Sigma). 1 Tablette wird in 10 ml Methanol gelöst (Stocklösung). Für die gebrauchsfertige Substratlösung werden unmittelbar vor dem Benützen 30 ml PBS und 40 µl H₂O₂ zugegeben.

Verbrauchsmaterialien:

- PVDF-Folie (Immobilon-P, Millipore)
- Filterpapier

Geräte:

- Semi-Dry-Transfer System (Pharmacia Biotech, Freiburg)
- Pipetten (Eppendorf)
- Multipipette (Eppendorf Varipette)
- Inkubationsplatten
- Schüttler
- Wasserstrahlpumpe

Durchführung:

1. Das Sammelgel vom Laufgel trennen und für 5 min in der Anodenlösung II kalibrieren.
Für die Übertragung auf die PVDF-Folie Filterpapier auf die Größe des Gels zuschneiden und in Transferpuffer tränken: 6 Blätter in Anodenlösung I, 3 Blätter in der Anodenlösung II und 9 Blatt in der Kathodenlösung. Anschließend zusammen mit dem Gel in Form eines „Sandwichs“ luftblasenfrei aufeinanderlegen, und zwar von der Kathode (oben) hin zur Anode (unten) in der Reihenfolge: Kathodenlösung (9 Blatt), Gel, Anodenlösung I (3 Blatt), Anodenlösung II (6 Blatt).
2. Den Transfer über 90 min bei 1,5 mA/cm² durchführen. Die geblottete Folie 30 min in Ponceau S-Lösung färben, um beidseitig je einen Streifen abschneiden zu können, einerseits den Marker und andererseits ein Stück des aufgetrennten Antigens. Das Hauptstück der Folie in Aqua dest. wieder entfärben, währenddessen die Streifen über 30 bis 60 min mittels Tusche dauerhaft färben.
3. Die Antigen-beschichtete PVDF-Folie in 1-2 mm breite Streifen schneiden, nummerieren und in die Vertiefungen der Inkubationsplatten legen.
4. Die Streifen mittels PBST/PNS, 20% (500 µl je Well) blockieren, anschließend die Serumprobe hinzu pipettieren und 1 h auf dem Schüttler inkubieren.
5. Probenlösung mit Wasserstrahlpumpe abnehmen und fünf mal mit PBST waschen.
6. Konjugatlösung auftragen und erneut eine Stunde auf dem Schüttler inkubieren.
7. Konjugatverdünnung ebenfalls mit der Wasserstrahlpumpe abnehmen. Anschließend dreimal mit PBST und noch zweimal mit PBS waschen.
8. Substratlösung auftragen, nach Augenmaß einwirken lassen und abziehen. Reaktion mit destilliertem Wasser stoppen, die Streifen auf Filterpapier trocknen und die Folie anschließend wieder in ihrer Form ursprünglichen Form auf Papier aufkleben. Dabei ggf. auch die beiden tuschegefärbten Streifen anfügen.

Anhang 4: Durchführung des modifizierten p38-ELISAS zum Nachweis von Antikörpern gegen *N. caninum* im Serum von Neuweltkameliden

Reagenzien:

- Probenpuffer:
Bicarbonat, 0,1 M, pH 8,3
- Probenverdünnungspuffer:
PBST mit 20% PNS
- Konjugat:
Peroxidase-conjugated AffiniPure Rabbit Anti-Bovine IgG (H + L), (Jackson ImmunoResearch), 1:1000 in PBST mit 1% PNS
- Substrat:
TMB (Sigma)
Substratpuffer:
247,5 ml 0,2 M Natriumacetat, 2,5 ml Zitronensäure, Aqua dest. ad 500 ml
pro Platte:
10 ml Substratpuffer, 100 µl TMB (1 Gew.-% in DMSO), 1,2 µl H₂O₂
- Stopplösung:
2 M H₂SO₄

Geräte:

- Pipetten (Eppendorf)
- Achtkanalpipette für ELISA (Eppendorf)
- pH-Meter
- Immunoreader

Durchführung:

1. Die Platten vor jedem Ansatz frisch mit p38-Antigen beschichten (1:100 in Bicarbonatpuffer).
2. Waschen der Platten: dreimal mit PBST mit jeweils 300 µl pro well.
3. Seruminkubation:
Die Proben in PBST/PNS 20% 1:50 verdünnen (Rinderkontrolle 1:200) und pro Well jeweils 100 µl auftragen. Abdecken und 30 min bei 37°C inkubieren.
4. Waschen der Platten: dreimal mit PBST mit jeweils 300 µl pro well.
5. Konjugatinkubation:
Konjugat in PBST/PNS 1% 1:1000 verdünnen und pro Well jeweils 100 µl auftragen. Abdecken und 30 min bei 37°C inkubieren.
Waschen der Platten: dreimal mit PBST mit jeweils 300 µl pro well.
6. Anfärben mit Substrat:
100 µl Substrat pro Well auftragen und exakt 15 min lichtgeschützt bei 37°C inkubieren.
7. Reaktion mit Stopplösung abstoppen und direkt im Anschluß messen.
8. Messung der Optischen Dichte im Immunoreader bei 420 nm.

Anhang 5: Durchführung des IFAT zum Nachweis von Bestimmen von Antikörpertitern gegen *N. caninum* im Serum von Neuweltkameliden

Reagenzien:

- Parasitensuspension:
Parasitensuspension mit 5×10^6 *N. caninum* Tachyzoiten pro ml in PBS, pH 7,2 wird auf Objektträger aufgetropft, luftgetrocknet und bis zum weiteren Gebrauch bei -20°C eingefroren.
- Aceton, eisgekühlt
- 4x FA-Puffer pH 9,0:
108 mM Na₂CO₃, 400 mM NaHCO₃, 145 mM NaCl, Aqua dest. ad 1000 ml.
- Serumverdünnung:
in PBS, beginnend mit 1:20
- Konjugat:
a-Rd FITC markiert, 1:50 in PBS mit 20% Evens blue
- PBS, pH 7,2
- Einbettungsmedium

Geräte und Materialien:

- Pipetten (Eppendorf)
- pH-Meter

- IFAT-Objektträger mit vorgefertigten Wells
- Silikonstift
- feuchte Kammer
- Wasserstrahlpumpe
- Fluoreszenzmikroskop

Durchführung:

1. Die benötigte Menge an Objektträgern aus dem Gefrierschrank nehmen, 10 min in eisgekühltem Aceton fixieren, und anschließend 10 min in PBS legen.
2. Die Objektträger trocken saugen, nummerieren und die Wells mit Silikonstift umranden.
3. Die Proben auftragen mit 10µl je Well, dabei auf jedem Objektträger eine Positivkontrolle mitführen.
4. In der feuchten Kammer 30 min bei 37°C inkubieren.
5. Den Überstand absaugen und einmal mit FA-Puffer abspülen.
6. 10 min in FA-Puffer inkubieren.
7. Die Objektträger trocken saugen.
8. Die Konjugatverdünnung auftragen, je Well 10µl.
9. In der feuchten Kammer 30 min bei 37°C inkubieren .
10. Den Überstand absaugen und einmal mit FA-Puffer abspülen.
11. 10min in FA-Puffer legen, danach weitere 10 min in PBS legen.
12. Die Objektträger abermals trocken saugen.
13. Das Einbettungsmedium auftragen (ein Tropfen/Well) und Deckglas auflegen.
14. Im Fluoreszenzmikroskop durchmustern.

Anhang 6: Durchführung des ELISAS zum Nachweis von Antikörpern gegen *Sarcocystis* spp. im Serum von Neuweltkameliden

Reagenzien:

- Probenpuffer:
0,1 M Bicarbonatpuffer, pH 8,3
- Probenverdünnungspuffer:
PBST mit 3% BSA
- Konjugat:
Peroxidase Conjugated Antisera, Camelid IgG (h&l chain) (Kent Labs), 1:1000 in PBST mit 1% BSA verdünnen
- Substratverdünnungspuffer:
100 mM Zitronensäure-1-hydrat, 100 mM Natriumacetat-3-hydrat, Aqua dest. ad 1000 ml
- Substrat:
25 ml Substratpuffer, 250 µl TMB-Stock (1 Gew.-% in DMSO), 4 µl H₂O₂
- Stopplösung:
1 M H₂SO₄

Geräte:

- Pipetten (Eppendorf)
- Achtkanalpipette für ELISA (Titertek)
- pH-Meter (SenTix20, WTW)
- Immunoreader (Emax precision microplate reader, Molecular Devices)

Durchführung:

1. Waschen der Platten: dreimal mit PBST mit jeweils 300 µl pro well.
2. Seruminkubation:
3. Die Proben in Probenverdünnungspuffer 1:50 verdünnen und pro Well jeweils 100 µl auftragen. Abdecken und 1,5 h bei 37°C inkubieren.
4. Waschen der Platten: dreimal mit PBST mit jeweils 300 µl pro well.
5. Konjugatinkubation: pro Well jeweils 100 µl auftragen. Abdecken und 1,5 h bei 37°C inkubieren.
6. Waschen der Platten: dreimal mit PBST mit jeweils 300 µl pro well.
7. Anfärben mit Substrat: 100 µl Substrat pro Well auftragen und exakt 15 min lichtgeschützt bei 37°C inkubieren.
8. Reaktion mit Stopplösung abstoppen und direkt im Anschluß messen.
9. Messung der Optischen Dichte im Immunoreader bei 450 nm.

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte, fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündliche Auskünfte beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter, wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Denis Wolf

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während dieser Arbeit unterstützt haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Zahner für Annahme und Korrektur dieser Arbeit

Herrn Dr. C. Bauer für seine energischen Korrekturen

Herrn Prof. Dr. Dr. M. Gauly für die Möglichkeit nach Peru zu gehen und Interessantes zu erleben.

Mein besonderer Dank gilt Dr. „Willy“ Huanca für seine selbstlose Unterstützung sowohl in fachlichen wie auch privaten Dingen bei allen Widrigkeiten die ein Auslandsaufenthalt mit sich bringen kann

PD Dr. F. Conraths und den Mitarbeitern vom Friedrich-Löffler-Institut insbesondere Dr. G. Schares für die wertvolle und lehrreiche Zeit in seinem Labor und seine Hilfe bei Veröffentlichungen

Dr. Oscar Cardenas, dem Tierarzt in Quimsachata für die tolle Unterstützung vor Ort und für alles was er mir über Neuweltkameliden beigebracht hat

Dr. Teodocio Huanca und seinen Mitarbeitern vom INIA.

Ignacio Garaycochea von Savarin Mitchell und seinen Mitarbeitern in Malkini

Anita Gareis für die Hilfe in kalten Laboren und offene Worte zur richtigen Zeit

Andrea Bärwald und Christine Henrich, zwei der fähigsten MTAs die ich kenne

Viktor Dyachenko und Jan Behrend für Problemlösungen am Computer und sonstiger Art

Familie Rath für das Asylgewähren im brandenburgischen Exil

Meinen „Patás“ in Peru, Enrique und Gustavo, ich mag immer noch keinen Reis

Tatja für die psychologische Unterstützung vor Ort, wie gern hätte ich am Flughafen mit Dir getauscht

Gabi, Bine und Marc dafür, daß die schlimmste Zeit meines Lebens gleichzeitig auch die schönste war

Silke für endloses Korrekturlesen, Bändigung des Microsoft-Monsters und überhaupt für alles

Ganz besonders liebevoll bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern für Ihre immer gewährte moralische und finanzielle Unterstützung und dafür, daß Ihr nie den Glauben an mich verloren habt.



ISBN 978-3-941703-67-4



**Verlag: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH
35392 Gießen · Friedrichstraße 17 · Tel. 0641 / 24466 · Fax: 0641 / 25375
e-mail: info@dvg.net · Homepage: <http://www.dvg.de>**