

RISIKOBEWERTUNG

Rinderaborte durch *Neospora caninum* - Welche Gefahren gehen von Hundekot auf Weiden aus?

G. Schares, K. Tackmann, M. Ziller, F. J. Conraths

Institut für Epidemiologie, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit – Friedrich-Loeffler-Institut, Seestrasse 55, 16868 Wusterhausen

1. Einleitung

Seit fast zwei Jahrzehnten ist bekannt, dass *Neospora caninum*, ein einzelliger Parasit, Verkaltungen, Totgeburten oder die Geburt lebensschwacher Kälber auslösen kann. *N. caninum*-Infektionen gehören weltweit zu den am häufigsten nachgewiesenen infektiösen Abortursachen beim Rind. In Herden mit dauerhaft erhöhter Abortrate oder zeitlich gehäuftem Abortgeschehen kann *N. caninum* die Ursache sein.

Hunde und Kojoten sind Endwirte von *N. caninum*. Sie scheiden mit dem Kot nach einer Präpatenzzeit von mindestens 5 Tagen für einen kurzen Zeitraum (wenige Tage bis zu 3 Wochen) Oozysten aus, die für Zwischenwirte (z. B. Rinder) infektiös sind und eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen Umwelteinflüsse aufweisen. Eine von infizierten Endwirten ausgehende Futter- bzw. Trinkwasserkontamination mit Oozysten gilt als wichtige Quelle für exogene, postnatale Infektionen bei Rindern (McAllister et al., 1998a; Gondim et al., 2004b).

Experimente zur Überprüfung, ob auch Katzen oder Rotfüchse Endwirte von *Neospora caninum* sein könnten, verliefen negativ (McAllister et al., 1998b; Schares et al., 2002b). Daher spielen in Europa nur Hunde als Endwirte von *N. caninum* eine Rolle.

Neben der beschriebenen horizontalen Übertragung des Parasiten über Oozysten spielt der vertikale Übergang von einer Rindergeneration auf die nächste über das Tachyzoiten-Stadium des Parasiten eine entscheidende Rolle für die Epidemiologie der Neosporose. Die hohe Effizienz dieses Übertragungswegs führt dazu, dass einmal infizierte Zuchtlinien über mehrere Generationen infiziert bleiben (Scharès et al., 1998). Eine Seroprävalenzstudie in Rheinland-Pfalz zeigte, dass dort etwa 4% der Milchrinder und etwa 5% der Mutterkühe mit *N. caninum* infiziert sind (Von Blumröder et al., eingereicht).

Epidemiologische Studien in Belgien, in England und in Wales ergaben, dass *N. caninum* eine wichtige infektiöse Abortursache beim Rind darstellt und dort offenbar mit rund 12% der

Rinderaborte in Verbindung steht (Davison et al., 1999; De Meerschman et al., 2000). Bei der Untersuchungen von abortierten Rinderföten in Nordrhein-Westfalen wurden eine große Zahl von *N. caninum*-Infektionen nachgewiesen (Söndgen et al., 2001).

Mehrere epidemiologische Untersuchungen in chronisch (endogen-diaplazentar) infizierten Herden zeigten, dass Zuchttiere, die sich pränatal (vertikal) infiziert hatten, einem 2 bis 7,4-fach erhöhten Abortrisiko unterlagen (Thurmond & Hietala, 1997; Wouda et al., 1998).

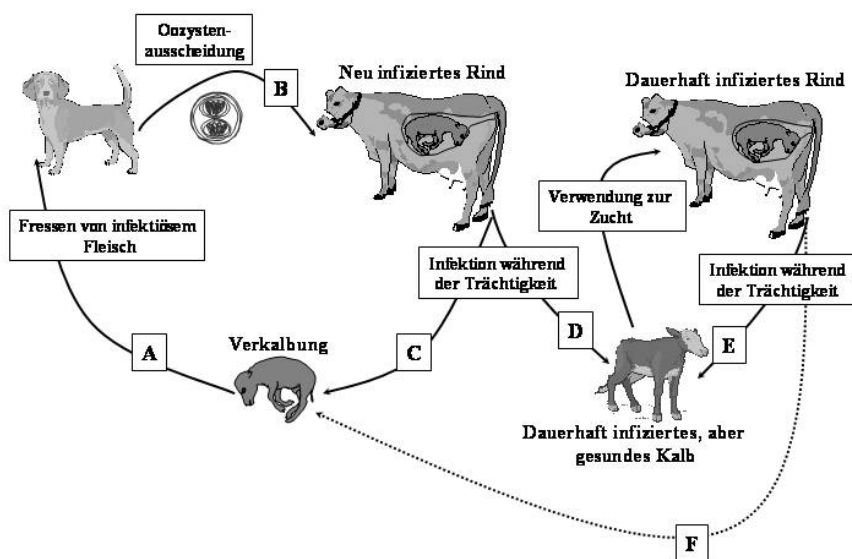


Abb. 1: (A) Das Fressen von Körpergewebe infizierter Zwischenwirte (z.B. Abortmaterial oder Nachgeburten) kann bei Hunden eine 1- bis 3-wöchige Ausscheidung von *Neospora-caninum*-Oozysten über den Kot auslösen. (B) Rinder können sich über Oozysten exogen infizieren. Oozysten sind

sehr widerstandsfähig. Sie können in der Umwelt (im Futter oder Wasser) wahrscheinlich Wochen bis Monate überleben. (C) Mit Oozysten infizierte Rinder können aufgrund der Infektion verkalben, eine Totgeburt oder die Geburt eines lebensschwachen Kalbes erfahren. (D) Oft überlebt das Kalb die Infektion und es werden dauerhaft (exogen-diaplazentar) infizierte, aber gesunde Kälber geboren. (E) Wird mit solchen dauerhaft, eventuell lebenslang infizierten Kälbern weitergezüchtet, so übertragen diese Tiere ihre Infektion auf ihre eigenen Nachkommen (über eine endogen-diaplazentare Infektion). Einmal infizierte Rinderzuchtlinien bleiben so für mehrere Generationen infiziert. (F) Chronisch (endogen-diaplazentar) infizierte Tiere können ebenfalls verkalben. Sie verkalben im Durchschnitt zwei- bis dreimal häufiger als nicht-infizierte Tiere.

In akut (exogen) infizierten Herden kann das Abortrisiko sehr unterschiedlich sein. Bis zu 28% der tragenden Rinder einer Herde abortieren (Schaes et al., 2002a). Es wird jedoch auch von einem Fall berichtet, bei dem es trotz akuter Infektionen bei einem großen Teil der Herde zu keinen Aborten gekommen ist (Dijkstra et al., 2002). Neuere experimentelle Untersuchungen zeigen, dass neben der Infektionsdosis auch das Trächtigkeitsstadium zum

Zeitpunkt der Infektion ausschlaggebend ist, ob es bei exogenen Infektionen zum Abort kommt oder nicht (Gondim et al., 2004a).

2. Risikofaktoren: Welche Faktoren beeinflussen die Gefahr, die von Hundekot auf einem Grünlandareal (Weiden, Mähweiden oder Wiesen) ausgeht?

2.1. Fragestellung / Analysenaufbau / Strategie der Betrachtung

Auftragsgemäß wurde in der Risikobewertung das Risiko von Rinderaborten betrachtet, das durch exogene Infektionen mit *N. caninum* verursacht wird, d.h. das Abortrisiko, das unmittelbar mit von Hunden verursachten Oozystenkontaminationen auf Grünlandarealen in Verbindung steht. Die Fragestellung bezieht dagegen die Bewertung des Einschleppungsrisikos einer *N. caninum*-Infektion über kontaminiertes Futter / kontaminierte Grünlandareale in einen Rinderbestand, und die Bewertung des daraus resultierenden indirekten Abortrisikos durch endogene Infektionen mit *N. caninum* ausdrücklich nicht ein.

Für die Bewertung des direkten Abortrisikos von Rindern durch Hundekot auf Grünland, das als Nahrungsgrundlage für Rinder genutzt wird, wurde im Folgenden versucht, einzelne Faktoren zu beschreiben, die Einfluss auf das Risiko eines *N. caninum*-assoziierten Aborts bei Rindern nehmen könnten.

In einem ersten Schritt wurden die Faktoren betrachtet, die das Abortrisiko direkt beeinflussen könnten. Der zweite Schritt beschäftigt sich mit Faktoren, die das Risiko beeinflussen, dass Grünlandareale mit *N. caninum*-Oozysten kontaminiert werden (Kontaminationsrisiko). In der Zusammenführung der Ergebnisse beider Schritte wird ein Kontaminationsszenario beschrieben, in dem mit *N. caninum*-assoziierten Aborten in Rinderherden gerechnet werden muss (siehe Anhang). Dabei wird bei allen Annahmen bezüglich der Einflussfaktoren von einem Wertebereich ausgegangen, der so realistisch wie möglich ist, im Zweifelsfalle aber stets die das Risiko erhöhenden Bereiche einschließt („worst case“- Szenario).

2.2. Faktoren, die das Abortrisiko direkt beeinflussen können

2.2.1. Mindestzahl infektionsfähiger Oozysten, die einen Abort beim Rind auszulösen können

Trees et al. (2002) zeigten, dass 600 Oozysten ausreichend sind, um bei tragenden Rindern serologische Reaktionen, d.h. Anzeichen für eine Infektion mit *N. caninum*, zu induzieren. Eine diaplazentare Infektion tragender Rinder gelang mit dieser Dosis und zu dem gewählten Infektionszeitpunkt (in der 10. Woche der Trächtigkeit) allerdings nicht.

Bei den Untersuchungen von Gondim et al. (2004a) kam es nur bei 6 von 19 Rindern, die mit unterschiedlichen Dosen von *N. caninum*-Oozysten infiziert worden waren, zur diaplazentaren Infektion von Föten (Infektionsdosen: 1.500, 41.000, 86.000 Oozysten). Bei zwei von vier 120 bzw. 130 Tage lang tragenden Rindern, die mit einer Infektionsdosis von 41.000 Oozysten infiziert worden waren, gab es einen Abort bzw. die Geburt eines lebensschwachen Kalbes. Bei den beiden anderen 130 Tage lang infizierten Tieren, die ebenfalls eine Dosis von 41.000 Oozysten erhalten hatten, kam es weder zum Abort noch zur diaplazentaren Infektion von Föten.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für die Risikobewertung angenommen, dass die Aufnahme von mindestens 41.000 Oozysten ausreichend ist, um bei Rindern zum Abort zu führen („worst case“-Szenario). Um der Tatsache Rechnung zu tragen, dass nicht alle Tiere, die diese erforderliche Mindestdosis erhalten, auch tatsächlich verkalben (Gondim et al., 2004a), wurde folgende Verteilung der relativen Häufigkeit für das Abortieren nach Aufnahme der entsprechenden Oozystendosis zu einem sensiblen Trächtigkeitzeitpunkt angenommen. Es wurde eine Dreiecksverteilung mit der Annahme simuliert, dass meist 50%, gelegentlich aber keine oder aber auch alle Tiere einer infizierten Tiergruppe abortieren.

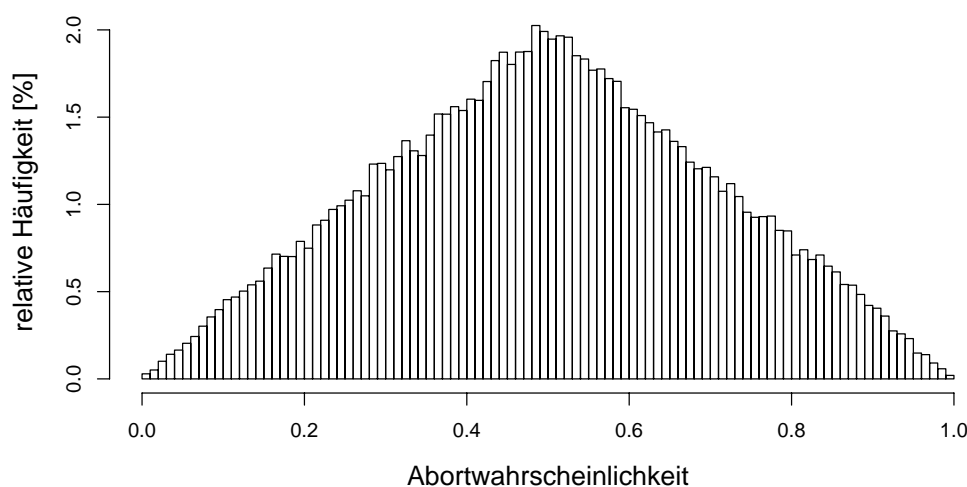


Abb. 2: Simulation der Verteilung der relativen Häufigkeit des Abortierens nach Verabreichung einer geeigneten Infektionsdosis. Die generelle Abortwahrscheinlichkeit nach

Oozystenaufnahme schwankt zwischen 0 und 100%. Über eine simulierte Dreiecksverteilung wurde angenommen, dass meistens 50% der infizierten Tiergruppe abortieren.

2.2.2. Sensibler Zeitraum der Trächtigkeit für exogen verursachte *N. caninum*-assoziierte Rinderaborte

N. caninum-assoziierte Rinderaborte treten vor allem zwischen dem 4.-6. Monat der Trächtigkeit auf (Thurmond et al., 1994). Die Abortwahrscheinlichkeit nimmt mit zunehmender Trächtigkeitsdauer offenbar ab (Williams et al., 2000). In frühen Stadien der Trächtigkeit scheint die Wahrscheinlichkeit des diaplazentaren Übergangs der Infektion noch gering zu sein. Diese Wahrscheinlichkeit steigt mit zunehmender Trächtigkeitsdauer (Gondim et al., 2004a). Die Resultierende beider Eintrittswahrscheinlichkeiten könnte dafür verantwortlich sein, dass die im Feld beobachtete Häufung *N. caninum*-assoziierter Aborte um den 5. Monat der Trächtigkeit zustande kommt.

Für die Risikobewertung wurde daher folgende Verteilung der Abortwahrscheinlichkeit für exogen verursachte, d.h. durch postnatale Infektionen hervorgerufene *N. caninum*-assoziierte Aborte angenommen.

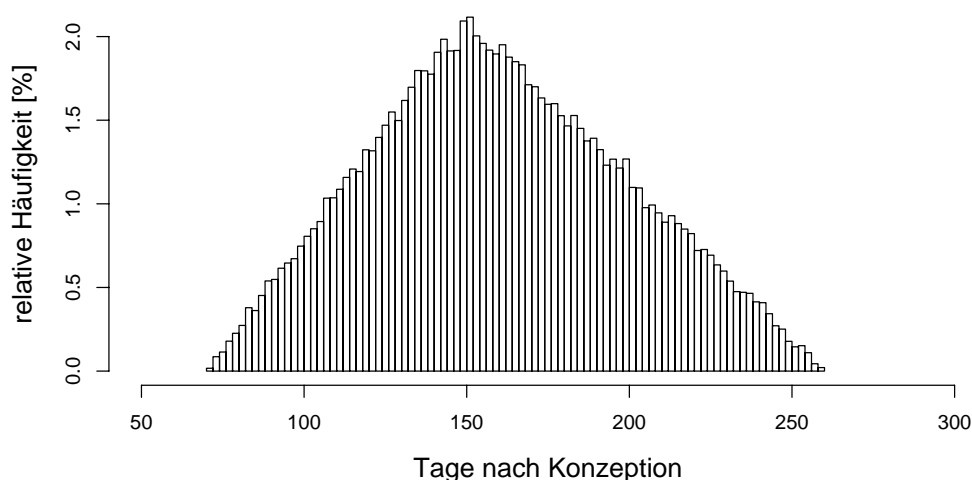


Abb. 3: Relative Häufigkeit für exogen verursachte, d.h. durch postnatale Infektionen hervorgerufene *N. caninum*-assoziierte Abort in Abhängigkeit vom Trächtigkeitsstadium. Tiere in Trächtigkeitsstadien zwischen 70 bis 260 Tage nach Konzeption wurden als empfänglich angenommen. Über eine simulierte Dreiecksverteilung wurde angenommen, dass

Tiere 150 Tage nach Konzeption am Häufigsten von exogen verursachten *N. caninum*-assoziierten Aborten betroffen sind.

2.3. Faktoren, die das Risiko beeinflussen, dass ein Grünlandareal mit *N. caninum*-Oozysten kontaminiert wird (Kontaminationsrisiko)

2.3.1. Anwesenheit von Hunden auf einem Grünlandareal

Es gibt keine Daten über das Ausmaß, in dem Grünlandareale von Hunden begangen werden. Weil anzunehmen ist, dass nicht-umzäunte Grünlandareale (Wiesen) häufiger von Hunden begangen werden als solche, die ganzjährig oder nur zeitweise umzäunt sind (Mähweiden, Standweiden, Portionsweiden), hängt das Aufsuchen von Grünland durch Hunde sicherlich auch von der Art der Grünlandnutzung ab. Die vorliegende Risikobewertung bezieht sich ausschließlich auf Wiesen, bei denen Hunde jederzeit zur gesamten Fläche Zugang haben. Da Stand-, Portions- und Mähweiden von Hunden nur eingeschränkt begangen werden dürften, ist das Risiko dort als geringer anzusehen. Die Risikobewertung bezieht sich somit auch hinsichtlich dieses Faktors auf ein „worst case“-Szenario.

2.3.2. Kotabsatz durch Hunde auf einem Grünlandareal

Über das Ausmaß des Kotabsatzes von Hunden auf Grünlandarealen ist nichts bekannt. Wir sind daher bei der Risikobewertung von der Annahme ausgegangen, dass Hunde ihre gesamte Tages-Kotmenge ausschließlich auf dem betrachteten Grünlandareal absetzen. Diese Annahme ist zwar eher unwahrscheinlich, stellt aber das „worst case“-Szenario dar, mit dem nach dem logischen Ansatz dieser Studie zu operieren ist.

2.3.3. Anzahl infizierter Hunde (Infektionsrisiko in Abhängigkeit von der Art der Fütterung)

Grundsätzlich besteht nur für Hunde, die rohes Fleisch von potenziellen Zwischenwirten (z.B. Rind) fressen, das Risiko, *N. caninum* als Endwirt zu dienen und Oozysten (Dauerstadien) dieses Einzellers im Kot auszuscheiden. Es gibt keine verlässlichen Daten über die Art der Ernährung von Hunden in Deutschland. Auf eine zusammen mit der Vet Med Labor GmbH durchgeführte Umfrage antworteten lediglich 124 Halter, darunter 21 Halter von Gebrauchshunden (darunter 7 Wachhunde, 2 Jagdhunde, 8 Zuchthunde, 1 Hofhund). Von 124 Hunden hatten 10 (8,1%), darunter 4 Gebrauchshunde, im vergangenen Monat rohes Rindergewebe erhalten.

Da nicht jeder Zwischenwirt mit *N. caninum* infiziert ist, wird auch nicht jeder Hund, der Risikogewebe erhält, mit *N. caninum* infiziert werden. Basierend auf einer Studie, die in Rheinland-Pfalz durchgeführt wurde, kann angenommen werden, dass dort ca. 4% der Milch- und Fleischrinder mit *N. caninum* infiziert sind (von Blumröder et al., eingereicht). Da regionale Unterschiede zu erwarten sind (Schaes et al., 2003), können diese Zahlen nicht ohne weiteres für andere Bundesländer in Deutschland übernommen werden. Über die Vorkommenshäufigkeit von *N. caninum*-Infektionen bei Schafen und Ziegen liegen für Deutschland keine Zahlen vor. Bei Schweinen scheint die Infektion - falls überhaupt - nur sehr selten vorzukommen (Damriyasa et al., 2004). Aufgrund lückenhafter Daten wurde dieser Parameter nicht in die Risikobewertung einbezogen, sondern der Einflussfaktor im Folgenden über den Parameter „Anzahl Oozysten-ausscheidender Hunde“ berücksichtigt.

2.3.4. Anzahl der Hunde, die *N. caninum*-Oozysten ausscheiden (d.h. patente Infektionen aufweisen)

Eine in Deutschland durchgeführte Studie, bei der Kotproben von 24.089 (meist privat gehaltener) Hunden untersucht wurden, ermittelte nur bei 47 (0,19%) der Tiere Oozysten, die eine *N. caninum* entsprechende Größe aufwiesen (d.h. 9-14 µm große Oozysten von Isospora-Typ) (Schaes et al., eingereicht). Dieser Befund deckt sich zum Teil mit früheren Befunden anderer Autoren (Epe et al., 2004; Epe et al., 1993). Barutzki und Schaper (2003) ermittelten allerdings mit 1,7% eine deutlich höhere Prävalenz. Da in der Studie von Schaes et al. (eingereicht) eine wesentlich größere Stichprobe untersucht worden war, wurde für Deutschland 0,2% als maximal mögliche Tagesprävalenz *N. caninum*-Oozysten-ausscheidender Hunde angenommen.

23 (ca. 50%) der 47 *N. caninum*-verdächtigen Isolate konnten in der oben genannten Studie weiter charakterisiert werden: 7 *N. caninum*-, 12 *Hammondia heydorni*-, 2 *Toxoplasma gondii*- und 2 *Hammondia hammondi*-Isolate wurden identifiziert (Schaes et al., eingereicht). Es kann daher angenommen werden, dass in der Studienpopulation mindestens 0,03%, der untersuchten Hunde *N. caninum*-Oozysten ausschieden. Unter der Annahme, dass *N. caninum* unter den nicht näher charakterisierten Isolaten genauso häufig vertreten war wie unter den charakterisierten Isolaten, erscheint eine Prävalenz von ca. 0,06% nicht unrealistisch.

Für die Risikobewertung wurde – basierend auf dem Ergebnis dieser Studien - angenommen, dass die Tagesprävalenz *N. caninum*-ausscheidender Hunde in Deutschland zwischen 0% und maximal 0,2% liegt, mit einer wahrscheinlichen Tagesprävalenz von 0,06%.

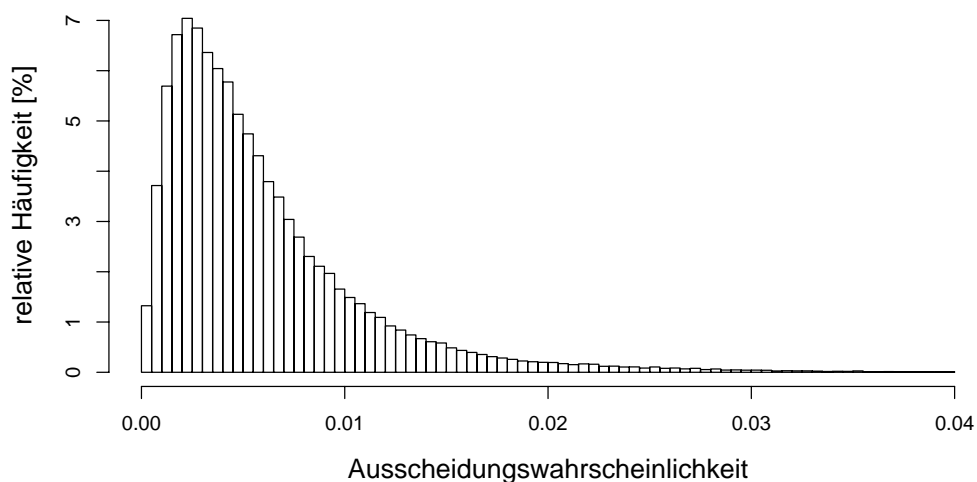


Abb. 4: Relative Wahrscheinlichkeit für die Prävalenz *N. caninum*-Oozysten-ausscheidender Hunde in Deutschland. Es wurde angenommen, dass die Tagesprävalenz *N. caninum*-ausscheidender Hunde in Deutschland zwischen 0% und maximal 0,2% liegt. Als wahrscheinlichster Wert wurde eine Tagesprävalenz von 0,06% angenommen. Die Wahrscheinlichkeit, dass die Tagesprävalenz über 0,1% liegt, wurde in dieser Simulation als gering angesehen.

Um die Prävalenz Oozysten-ausscheidender Hunde zu schätzen, die während einer Vegetationsperiode zu erwarten ist, wurden auch Daten zur Dauer der Patenz (Dauer der Oozystenausscheidung) berücksichtigt (Abschnitt 2.3.5.).

2.3.5. Dauer der Ausscheidung von Oozysten (Patenz)

N. caninum-infizierte Hunde scheiden bei einer patenten Infektion nur wenige Tage lang Oozysten im Kot aus. Um eine Grundlage für die Risikobewertung zu erhalten, wurden Daten von experimentell infizierten Hunden verwendet, denen Körpergewebe von Wiederkäuern (z.B. Muskelfleisch) verabreicht wurde (Schaes et al., 2001; Gondim et al., 2002). Die Daten von Hunden, die experimentell mit Hirnen oder anderen Körpergeweben von Kleinnagern gefüttert worden waren (McAllister et al., 1998; Lindsay et al., 1999; Schaes et al., 2001) wurden nicht berücksichtigt, da diese Gewebe einerseits kaum zur Fütterung verwendet werden dürften, also auch nicht als natürliche Infektionsquelle anzusehen sind, andererseits aber die Ausscheidungscharakteristiken (Beginn, Dauer, Intensität) möglicherweise durch die Herkunft und die Art des verfütterten Gewebes beeinflusst werden (Dijkstra et al., 2001; Gondim et al., 2002). Da Hunde, die nicht zusammen mit Rindern gehalten werden, in der

Regel keinen Zugang zu Nachgeburten infizierter Rinder haben dürften, wurden auch die Daten von Dijkstra et al. (2001) nicht in die Untersuchung mit einbezogen.

Augrund der Literaturdaten (Schaes et al., 2001; Gondim et al., 2002) wurde für das Erstellen der Risikobewertung angenommen, dass die Dauer der Patenz (Oozystenausscheidung) zwischen 3 und 14 Tagen liegt. Es wurde ferner angenommen, dass die Hälfte der Hunde ca. 5-8,5 Tage lang Oozysten ausscheiden (Tabelle 1, 25%-75% Perzentil). Basierend auf den Daten aus Tabelle 1 wurde folgende relative Häufigkeit für die Patenz *N. caninum*-ausscheidender Hunde angenommen:

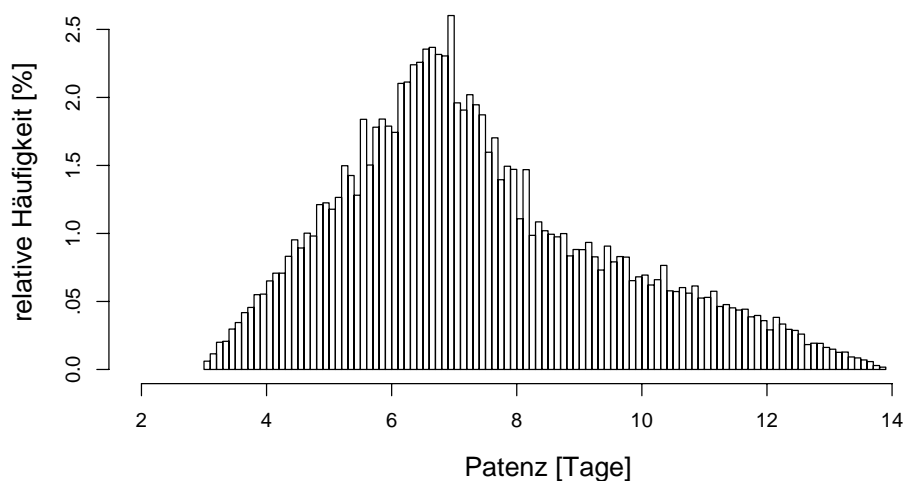


Abb. 5: Simulation der relativen Häufigkeit der Ausscheidungsdauer (Patenz) bei *N. caninum*-Oozysten-ausscheidenden Hunden.

2.3.6. Gesamtanzahl der während einer patenten Infektion von Hunden ausgeschiedenen *N. caninum*-Oozysten

Um eine Grundlage für die Risikobewertung zu erstellen, wurden Daten über die Gesamtzahl der bei den oben erwähnten Experimenten gewonnen Oozysten berücksichtigt. Diese Zahlen unterschätzen wahrscheinlich die Gesamtzahl der tatsächlich ausgeschiedenen Oozysten, da von Oozystenverlusten während des Isolierungsvorgangs ausgegangen werden muss. Daher ist eine Sensitivitätsanalyse anhand verschiedener Wertebereiche erforderlich, um zu prüfen,

ob und wie sich eine Unterschätzung der Zahl der ausgeschiedenen Oozysten auf das Endergebnis auswirkt.

Die Untersucher (Schaes et al., 2001; Gondim et al., 2002) hatten während der Ausscheidungsphase (Patenz) der experimentellen Infektionen meist die gesamte Menge des ausgeschiedenen Kots aufgearbeitet. Eine Arbeitsgruppe (Schaes et al., 2001) isolierte bei Hunden, die nur wenige Oozysten ausschieden, keine Oozysten. Prof. Dr. Heydorn, Institut für Parasitologie und Internationale Tiergesundheit, Freie Universität Berlin, der die Gewinnung von Oozysten bei den in Schaes et al. (2001) publizierten Hunderversuchen durchführte, schätzt, dass die Zahl der Oozysten, die bei diesen Hunden gewonnen worden wären, unter 25.000 gelegen hätte (pers. Mitteilung). Daher wurde für die Untersuchungen, in denen keine Oozysten gewonnen worden waren, eine Oozystenanzahl von 25.000 angenommen. Bei anderen Hunden mit patenten Infektionen der Studie von Schaes et al. (2001) wurden zwar Oozysten isoliert, aber ihre exakte Zahl nicht bestimmt. Laut Herrn Prof. Heydorn war dies dann der Fall, wenn die Oozystenausbeute unter 250.000 lag. Um eine Datengrundlage für die Zahl der pro Patenz ausgeschiedenen Oozysten zu erhalten, wurde daher bei Hunden mit patenten Infektionen eine Oozystenausbeute von 250.000 angenommen, wenn die Zahl der gewonnenen Oozysten nicht exakt bestimmt worden war. Aus diesen Annahmen ergibt sich der in Tabelle 1 dokumentierte Wertebereich für die Anzahl während der Patenz ausgeschiedener Oozysten pro Hund.

Tabelle 1: Dauer der Ausscheidungsperiode (Patenz) und Oozystenanzahl, die bei experimentell infizierten Hunden während der Patenz mindestens ausgeschieden wurde.

| | Minimum | 25% Perzentil | 50% Perzentil | 75% Perzentil | Maximum |
|------------------------|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------|
| Patenz | 3 | 5 | 6 | 8,5 | 14 |
| Oozystenanzahl* | 5700 | 21750 | 200000 | 369350 | 1,5 Mio. |

* Bei Hunden der Studie von Schaes et al. (2001) wurde dann, wenn zwar Oozysten isoliert worden waren, aber keine exakte Oozystenanzahl bestimmt worden war, 250.000 als Oozystenanzahl eingesetzt. Bei Hunden, bei denen aufgrund der geringen Ausscheidung keine Gewinnung durchgeführt worden war (Schaes et al., 2001), wurde 25.000 als Oozystenanzahl eingesetzt.

Aufgrund dieser Literaturdaten (Schaes et al. 2001; Gondim et al., 2002) und den Einschätzungen von Herrn Prof. Heydorn lässt sich für die Risikobewertung ableiten, dass die Zahl der ausgeschiedenen Oozysten zwischen 5700 und 1,5 Mio. liegen kann. Es wurde

ferner angenommen, dass die Hälfte der Hunde zwischen 21.750 und 369.350 Oozysten pro Patenz ausscheiden (Tabelle 1, 25%-75% Perzentil). Basierend auf den Daten aus Tabelle 1 wurde folgende Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Oozystenauscheidung/Patenz bei *N. caninum*-ausscheidenden Hunde angenommen:

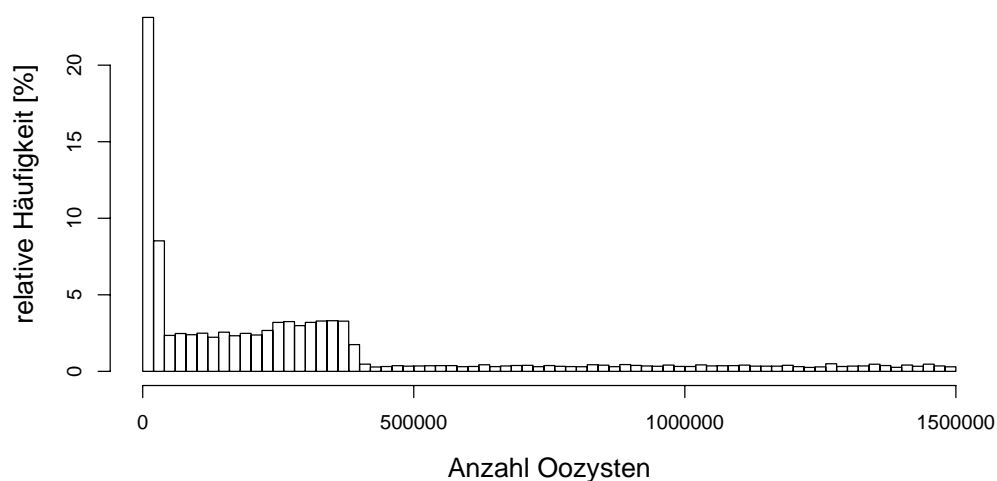


Abb. 6: Simulierte Verteilung der relativen Häufigkeit der Zahl der insgesamt während einer Ausscheidungsphase (Patenz) eines Hundes ausgeschiedenen Oozysten

2.3.7. Kontamination innerhalb des Grünlandareals, in dem es zum Kontakt zu Rindern kommen kann

Vermutlich sind nicht alle Bereiche eines Grünlandareals gleichermaßen von Kontaminationen mit Hundekot betroffen. Es kann angenommen werden, dass Kontamination eher den Randbereich dieser Areale betrifft. Randbereiche werden aber häufig nicht genutzt (z.B. zur Mahd) oder sind durch Auszäunen für Weiderinder nicht erreichbar. Da es keine Daten über die Verteilung der Kontaminationen durch Hundekot auf Grünlandarealen gibt, wurde für die Risikobewertung angenommen, dass die Kontaminationen durch Hundekot das Grünlandareal homogen flächendeckend betrifft und dass alle Rinder daher mit diesen in Kontakt kommen können („worst case“-Szenario).

2.3.8. Kontakt innerhalb der Überlebenszeit der Oozysten in der Umwelt und Überleben infektiöser Oozysten (Anwelken, Silieren, Frischfutter)

Bislang gibt es keine Studien zur Widerstandsfähigkeit von *N. caninum*-Oozysten gegenüber möglicherweise schädigenden Umweltbedingungen (z.B. Austrocknung, Wärme, Kälte, Frost, UV-Strahlen). Die Oozysten des eng verwandten Parasiten *Toxoplasma gondii* sind

gegenüber solchen Einflüssen sehr widerstandsfähig. Dieser Erreger kann offenbar sowohl in der Arktis als auch in den Tropen horizontal, d.h. über Oozysten, übertragen werden (z.B. Kutz et al., 2001; Lovelace et al., 1978). Experimentelle Studien zur Temperaturresistenz von *T. gondii*-Oozysten zeigen, dass 4°C für das Überleben sporulierter Oozysten optimal sind (Dubey et al., 1970; Bergler et al., 1980). Die Überlebenswahrscheinlichkeit sinkt offenbar mit steigenden Temperaturen. So konnten Bergler et al. (1980) bei 50°C nach 1-3 Tagen keine überlebenden Oozysten nachweisen. Temperaturen von 40°C über einen Zeitraum von 9 Tagen wurden dagegen überlebt (Dubey et al., 1970). Das einmalige Einfrieren in Kot oder Wasser überlebten *T. gondii*-Oozysten ebenfalls (Bergler et al., 1980).

Zur Tenazität von Oozysten in verschiedenen Arten von Rinderfutter (z.B. Heu, Silage, etc.) gibt es derzeit keinerlei Daten. Hier besteht Forschungsbedarf.

Da auf der Grundlage der fehlenden Datenbasis die Tenazität als Faktor nicht in die Risikobewertung einbezogen werden konnte, wurde im Sinne des „worst case“-Szenarios angenommen, dass alle Oozysten, die auf ein Grünlandareal gelangen, dort auch bis zum Ende der Vegetationsperiode überleben.

Der Möglichkeit, dass ein Teil der Oozysten die Wintermonate überlebt und damit bereits zu Beginn der neuen Vegetationsperiode für einen gewissen Zeitraum zusätzlich zur Kontamination eines Grünlandareals beitragen können, konnte in der Risikobewertung nicht berücksichtigt werden. Auch im Hinblick auf diesen Punkt ist Forschungsbedarf vorhanden.

3. Risikobewertung

3.1. Bestimmung der kritischen Dosis, die auf einem Grünlandareal während einer Vegetationsperiode vorhanden sein muss, damit es in der betroffenen Herde zu mindestens einem Abort kommt.

3.1.1. Berechnung

Die Ermittlung der Oozysten-Dosis, die für einen *N. caninum*-assoziierten Abort notwendig ist, basiert auf 100.000 Rechenzyklen. Bei diesen Rechenzyklen wurden mit Hilfe von Zufallszahlen die Modellannahmen entsprechend der verwendeten Verteilungen, modelliert.

3.1.2. Annahmen und Zwischenergebnisse

a. Der betrachtete Zeitraum entsprach einer Vegetationsperiode (April bis Oktober) und wurde mit 210 Tagen angesetzt.

- b. Es wurde angenommen, dass jedes Rind einmal im Jahr trächtig wird.
- c. Es wurde angenommen, dass die relative Häufigkeit des Aborts für Rinder im sensiblen Trächtigkeitsstadium, die die Dosis von 41.000 Oozysten aufgenommen haben, durch die unter 2.2.1. gezeigte Verteilungsdichte bestimmt ist.
- d. Für die Bestimmung des Abortrisikos sind nur Rinder im betreffenden Trächtigkeitsstatus relevant. Für die Risikobewertung wurde daher die unter 2.2.2. beschriebene relative Häufigkeit des Aborts in Abhängigkeit vom Trächtigkeitsstatus für exogen verursachte, d. h. durch postnatale Infektionen hervorgerufene *N. caninum*-assoziierte Aborte angenommen.

Zwischenergebnis: Aus diesen Annahmen (3.1.2.a. und 3.1.2.d.) ergibt sich folgende Wahrscheinlichkeit, dass ein tragendes Rind – unabhängig vom Trächtigkeitsstadium - abortiert, falls es die Grunddosis von 41.000 Oozysten aufgenommen hat.

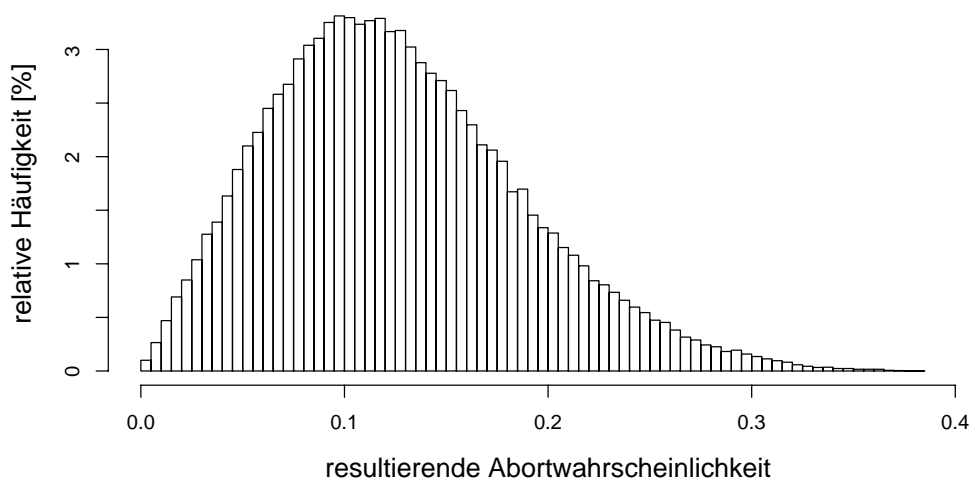


Abb. 7: Simulierte Verteilung der resultierenden Abortwahrscheinlichkeit für exogen verursachte, d.h. durch postnatale Infektionen mit 41.000 Oozysten hervorgerufene *N. caninum*-assoziierte Aborte unter den in 3.1.2.a bis 3.1.2.d gemachten Annahmen.

- e. Die Wahrscheinlichkeit, dass es zum Abort in einer Herde kommt, wird zusätzlich durch die Herdengröße, die mit Futter eines Grünlandareals gefüttert wird, bestimmt. Die Annahmen für die Anzahl fortpflanzungsfähiger weiblicher Tiere in Bezug auf die Herdengrößen mussten auf eine realistische Basis gestellt werden. Dazu wurden eher für die alten Bundesländer geltende Originaldaten aus Schares et al. (2004) herangezogen:

Minimalgröße - 1 Tier, 25% Perzentil - 28 Tiere, 50% Perzentil - 43 Tiere, 75% Perzentil - 60 Tiere und Maximalgröße - 198 Tiere. Daraus wurde folgende Annahme für die Verteilung der Herdengröße für die Risikobewertung abgeleitet.

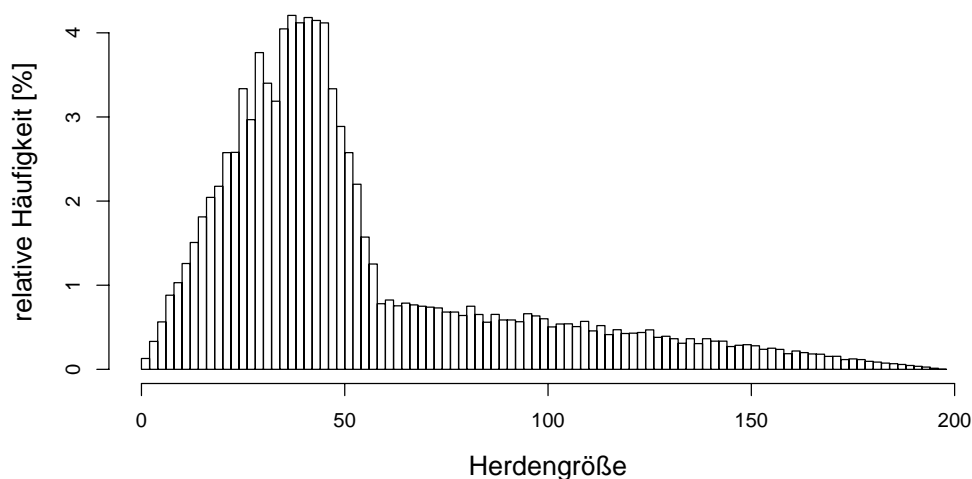


Abb. 8: Simulation der relativen Häufigkeit der Herdengröße

- f. Zur Bestimmung der kritischen Dosis, die auf einem Grünlandareal während einer Vegetationsperiode vorhanden sein muss, damit es in der betroffenen Herde zu mindestens einem Abort kommt, wurde angenommen, dass alle auf diesem Areal vorhandenen Oozysten vollständig und gleichmäßig von allen Rindern einer Herde aufgenommen werden („worst case“-Szenario).
- g. Nur für M von N Rindern besteht überhaupt eine Abortwahrscheinlichkeit (siehe oben), falls sie eine Dosis von 41.000 Oozysten aufnehmen. Diese Rinder gelten in dieser Risikobewertung als Risikorinder. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Nichtrisikorind eine infektiöse Futtereinheit aufnimmt, ist $(N-M)/N$. Die Anzahl infektiöser Futtereinheiten m soll nun so groß sein, dass die Wahrscheinlichkeit, dass kein Risikorind eine infektiöse Futtereinheit erhält, kleiner als 5% wird (Der Einfachheit halber wurden hier eine binomiale Verteilung für diese Wahrscheinlichkeit angenommen.), d.h. mit 95% Wahrscheinlichkeit soll im angenommenen Szenario mindestens eine infektiöse Dosis von einem Risikorind aufgenommen werden.

Zwischenergebnis: Die Anzahl infektiöser Oozystendosen, die sich auf einem Grünlandareal befinden müssen, damit es in der Herde zu mindestens einem Abort kommt, ist dann wie folgt zu berechnen:

$$m \geq \frac{\ln 0.05}{\ln((N - M)/N)}.$$

Daraus ergibt sich als kritische Dosis für die Gesamtkontamination eines Grünlandareals (41.000 Oozysten * m)

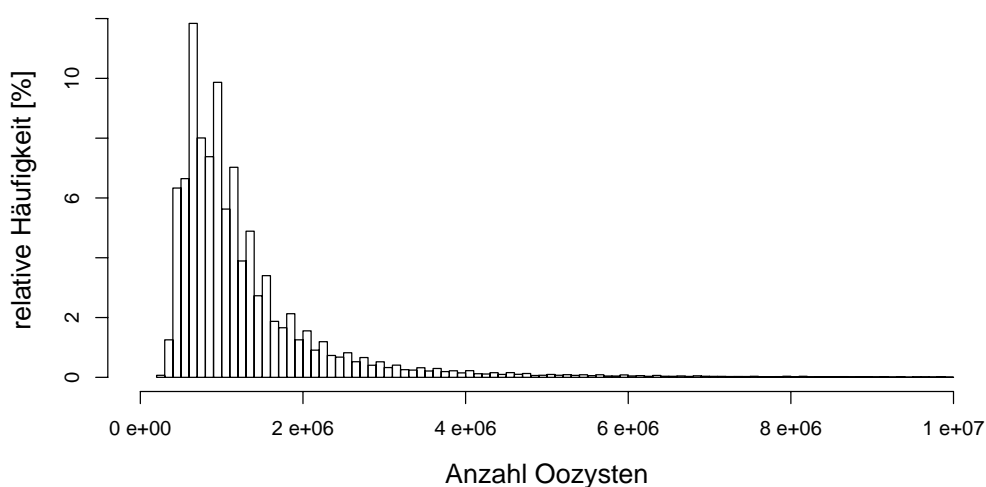


Abb. 9: Berechnungsergebnis basierend auf den in 3.1.2.a bis 3.1.2.g genannten Annahmen für die relative Häufigkeit mit der es bei bestimmten Oozystenkontaminationen (Anzahl Oozysten) eines Grünlandareals zu mindestens einem Abort in einer Herde kommt.

3.2. Umfang der Kontamination eines Grünlandareals in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die dieses in einer Woche regelmäßig begehen

3.2.1. Berechnung

Die Ermittlung des Umfangs der Kontamination eines Grünlandareals in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die dieses in einer Woche regelmäßig begehen, basiert auf 100.000 Rechenzyklen, bei denen mit Hilfe von Zufallszahlen die Modellannahmen entsprechend der verwendeten Verteilungen modelliert wurden. Die Berechnungen wurden dann beendet, wenn die Zahl von 250 Hunden überschritten war. Diese Begrenzung erfolgte vor dem Hintergrund,

dass eine noch größere Zahl an Hunden oberhalb eines in die Studie einzubeziehenden worst-case Szenarios liegt.

3.2.2. Annahmen und Zwischenergebnisse

- a. Der betrachtete Zeitraum entsprach einer Vegetationsperiode (April bis Oktober) und wurde mit 210 Tagen angesetzt.
- b. Es wurde angenommen, dass ein Hund, der regelmäßig ein Grünlandareal besucht, dort auch den gesamten Kot eines Tages absetzt.
- c. Es wurde angenommen, dass die wöchentliche Aufenthaltshäufigkeit von Hunden auf Grünlandarealen mit den folgenden Annahmen diskret verteilt ist: Ein bestimmter Hund sucht ein Grünlandareal meistens an zwei Tagen pro Woche auf, mindestens jedoch an einem und maximal an fünf Tagen pro Woche. Die Wahrscheinlichkeitsverteilung des Besuchs eines Grünlandareals ist dann:

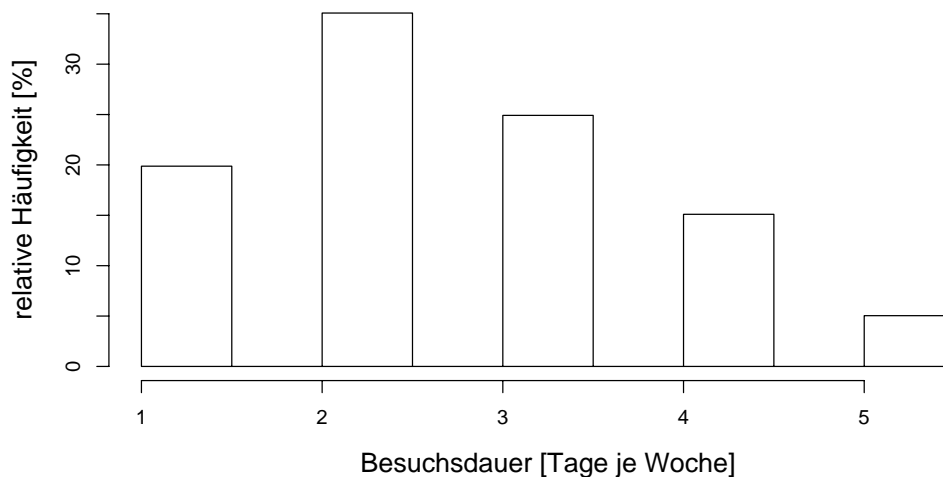


Abb. 10: Simulation der relativen Häufigkeit der Besuchsdauer, d.h. an wie vielen Tagen pro Woche ein Hund ein Grünlandareal regelmäßig aufsucht.

- d. Die Annahmen zur Wahrscheinlichkeit, dass ein Hund infiziert ist, wurde unter 2.3.4. beschrieben
- e. Die Annahmen zur Patenz wurden unter 2.3.5. beschrieben

Zwischenergebnis: Aus den bisherigen Annahmen ergibt sich folgende Wahrscheinlichkeit, dass ein regelmäßig das Grünlandareal aufsuchender Hund in der Vegetationsperiode Oozysten auf ein Grünlandareal ausscheidet:

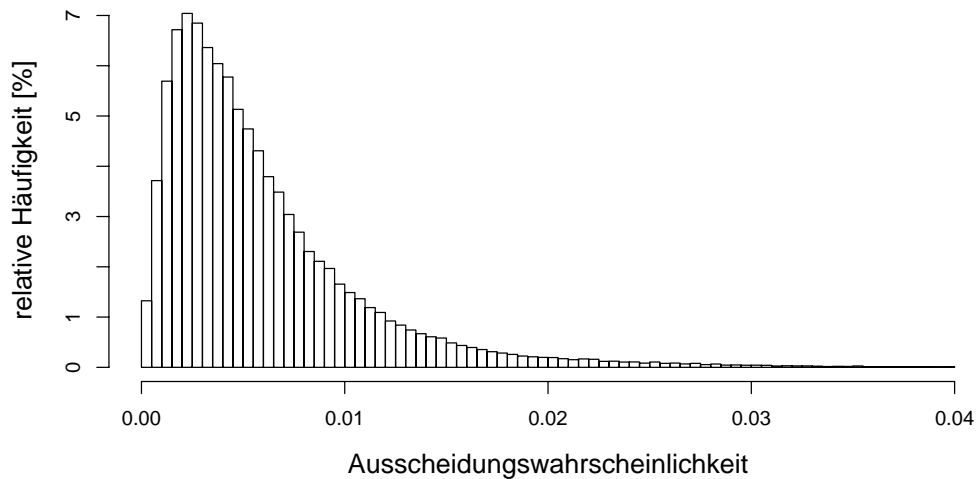


Abb. 10: Simulation der Wahrscheinlichkeit, dass ein Hund, der ein Grünlandareal regelmäßig aufsucht, Oozysten auf diesem ausscheidet. Im Mittel scheiden etwa 0.5% der Hunde während der Vegetationsperiode auf einem Grünlandareal aus.

f. Die Annahmen zur Gesamtmenge der Oozysten, die ein infizierter Hund ausscheidet, wurden unter 2.3.6 beschrieben. Es wurde ferner angenommen, dass die gesamte, während der über Tage bis Wochen dauernden Patenz, ausgeschiedene Oozystenmenge auf dieses Areal gelangt („worst-case“-Szenario).

In einem weiteren Schritt kann nun die Häufigkeitsverteilung der Anzahl der auf dem Grünlandareal abgesetzten Oozysten in Abhängigkeit von der Anzahl der die Weide regelmäßig besuchenden Hunde geschätzt werden (Tabelle 2).

Tabelle 2: Häufigkeitsverteilung der Anzahl der auf dem Grünlandareal abgesetzten Oozysten in Abhängigkeit von der Anzahl der die Weide regelmäßig besuchenden Hunde.

| Zahl der Hunde | Perzentile | | | | | | |
|----------------------|------------|----|------|--------|--------|---------|---------|
| | 1% | 5% | 25% | 50% | 75% | 95% | 99% |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10730 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 379920 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5700 | 461814 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 295881 | 1127882 |
| 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 304563 | 1140744 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 566563 | 1364945 |
| 49 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5700 | 582576 | 1369391 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 72950 | 926897 | 1455927 |
| 76 | 0 | 0 | 0 | 0 | 80577 | 935324 | 1458211 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 116 | 0 | 0 | 0 | 0 | 268085 | 1191587 | 1677850 |
| 117 | 0 | 0 | 0 | 5700 | 270785 | 1196008 | 1684575 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 129 | 0 | 0 | 0 | 5700 | 301286 | 1251134 | 1759025 |
| 130 | 0 | 0 | 0 | 6342 | 303432 | 1255802 | 1766684 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 152 | 0 | 0 | 0 | 21644 | 347348 | 1333300 | 1901106 |
| 153 | 0 | 0 | 0 | 22274 | 349371 | 1334904 | 1910298 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 174 | 0 | 0 | 0 | 58240 | 383173 | 1400422 | 2053370 |
| 175 | 0 | 0 | 0 | 61191 | 384690 | 1402306 | 2060112 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 194 | 0 | 0 | 0 | 117272 | 454243 | 1453565 | 2195899 |
| 195 | 0 | 0 | 0 | 119998 | 458120 | 1456122 | 2201569 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 211 | 0 | 0 | 0 | 160734 | 526270 | 1493492 | 2275777 |
| 212 | 0 | 0 | 0 | 163251 | 530671 | 1495459 | 2281828 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 232 | 0 | 0 | 0 | 211236 | 608801 | 1560791 | 2414129 |
| 233 | 0 | 0 | 5700 | 213195 | 611901 | 1565788 | 2418219 |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| : | : | : | : | : | : | : | : |
| 249 | 0 | 0 | 5700 | 244001 | 666259 | 1630303 | 2496124 |
| 250 | 0 | 0 | 5700 | 245335 | 670232 | 1634461 | 2500046 |

3.3. Abschätzung der Abortwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal begehen

3.3.1. Berechnung

Die Ermittlung der Abortwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal begehen, basiert auf 100.000 Rechenzyklen. Bei diesen Rechenzyklen wurden mit Hilfe von Zufallszahlen die Modellannahmen entsprechend der verwendeten Verteilungen modelliert. Die Berechnungen wurden dann beendet, wenn das Ergebnis die Zahl von 250 Hunden überschritt.

3.3.2. Annahmen und Endergebnis

Die Abschätzung der kritischen Dosis ist mit der Zahl der abgesetzten Oozysten zu kombinieren, um die Wahrscheinlichkeit mindestens eines Abortes in der Rinderherde in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal begehen, schätzen zu können. In jedem Zyklus wird in Abhängigkeit von der Zahl der Hunde die Menge der Oozysten auf der Weide 'ausgewürfelt' und für eine zufällig gezogene Herde die kritische Dosis bestimmt. Die Häufigkeit der Überschreitungen wird dann gezählt (Tabelle 3).

Tabelle 3: Wahrscheinlichkeit mindestens eines Abortes in der Herde (P_{Abort}) in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde (Hund), die ein Grünlandareal regelmäßig begehen.

| Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} |
|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|
| 1 | 0,0004 | 51 | 0,0285 | 101 | 0,059 | 151 | 0,0917 | 201 | 0,1284 |
| 2 | 0,0011 | 52 | 0,0287 | 102 | 0,0589 | 152 | 0,0932 | 202 | 0,1276 |
| 3 | 0,0016 | 53 | 0,0294 | 103 | 0,0613 | 153 | 0,0927 | 203 | 0,1291 |
| 4 | 0,0019 | 54 | 0,0303 | 104 | 0,0606 | 154 | 0,0936 | 204 | 0,1286 |
| 5 | 0,0024 | 55 | 0,0301 | 105 | 0,0624 | 155 | 0,0942 | 205 | 0,1311 |
| 6 | 0,0031 | 56 | 0,0314 | 106 | 0,0628 | 156 | 0,0956 | 206 | 0,1312 |
| 7 | 0,0036 | 57 | 0,0319 | 107 | 0,0638 | 157 | 0,0959 | 207 | 0,1307 |
| 8 | 0,0039 | 58 | 0,0325 | 108 | 0,063 | 158 | 0,0965 | 208 | 0,1324 |
| 9 | 0,0046 | 59 | 0,0324 | 109 | 0,0645 | 159 | 0,0978 | 209 | 0,1342 |
| 10 | 0,0052 | 60 | 0,0333 | 110 | 0,0655 | 160 | 0,0989 | 210 | 0,1338 |
| 11 | 0,0060 | 61 | 0,0334 | 111 | 0,0658 | 161 | 0,0984 | 211 | 0,1337 |
| 12 | 0,0066 | 62 | 0,0342 | 112 | 0,0669 | 162 | 0,0999 | 212 | 0,135 |
| 13 | 0,0066 | 63 | 0,0352 | 113 | 0,0665 | 163 | 0,1004 | 213 | 0,136 |
| 14 | 0,0072 | 64 | 0,0358 | 114 | 0,0675 | 164 | 0,1024 | 214 | 0,1366 |
| 15 | 0,0075 | 65 | 0,0369 | 115 | 0,0678 | 165 | 0,1015 | 215 | 0,1365 |
| 16 | 0,0083 | 66 | 0,0367 | 116 | 0,0683 | 166 | 0,1037 | 216 | 0,1387 |
| 17 | 0,0088 | 67 | 0,0372 | 117 | 0,0698 | 167 | 0,1033 | 217 | 0,1389 |
| 18 | 0,0095 | 68 | 0,0383 | 118 | 0,0697 | 168 | 0,1043 | 218 | 0,139 |
| 19 | 0,0097 | 69 | 0,0388 | 119 | 0,0697 | 169 | 0,1045 | 219 | 0,1392 |
| 20 | 0,0103 | 70 | 0,0395 | 120 | 0,0709 | 170 | 0,1051 | 220 | 0,142 |
| 21 | 0,0113 | 71 | 0,0408 | 121 | 0,0722 | 171 | 0,106 | 221 | 0,1414 |
| 22 | 0,0118 | 72 | 0,0411 | 122 | 0,0734 | 172 | 0,1063 | 222 | 0,1419 |
| 23 | 0,0124 | 73 | 0,041 | 123 | 0,0726 | 173 | 0,1076 | 223 | 0,1414 |
| 24 | 0,0135 | 74 | 0,0424 | 124 | 0,0749 | 174 | 0,1083 | 224 | 0,1431 |
| 25 | 0,0135 | 75 | 0,0429 | 125 | 0,0746 | 175 | 0,1092 | 225 | 0,1457 |
| 26 | 0,0141 | 76 | 0,0435 | 126 | 0,0757 | 176 | 0,1105 | 226 | 0,1441 |
| 27 | 0,0144 | 77 | 0,0439 | 127 | 0,0756 | 177 | 0,1096 | 227 | 0,1469 |
| 28 | 0,015 | 78 | 0,0441 | 128 | 0,0769 | 178 | 0,1101 | 228 | 0,1461 |
| 29 | 0,0159 | 79 | 0,0446 | 129 | 0,0778 | 179 | 0,1111 | 229 | 0,1485 |
| 30 | 0,0164 | 80 | 0,0461 | 130 | 0,0777 | 180 | 0,1147 | 230 | 0,1485 |
| 31 | 0,0164 | 81 | 0,047 | 131 | 0,0787 | 181 | 0,1139 | 231 | 0,1487 |
| 32 | 0,0173 | 82 | 0,0467 | 132 | 0,0789 | 182 | 0,1154 | 232 | 0,1498 |
| 33 | 0,018 | 83 | 0,0476 | 133 | 0,0801 | 183 | 0,1142 | 233 | 0,1491 |
| 34 | 0,0185 | 84 | 0,0481 | 134 | 0,0814 | 184 | 0,1149 | 234 | 0,1512 |
| 35 | 0,0193 | 85 | 0,0489 | 135 | 0,0817 | 185 | 0,1161 | 235 | 0,1516 |
| 36 | 0,02 | 86 | 0,0497 | 136 | 0,0811 | 186 | 0,1171 | 236 | 0,1527 |
| 37 | 0,02 | 87 | 0,0508 | 137 | 0,0824 | 187 | 0,1187 | 237 | 0,1532 |
| 38 | 0,0214 | 88 | 0,0512 | 138 | 0,0838 | 188 | 0,1177 | 238 | 0,1538 |
| 39 | 0,0214 | 89 | 0,051 | 139 | 0,084 | 189 | 0,1194 | 239 | 0,1547 |
| 40 | 0,0217 | 90 | 0,0523 | 140 | 0,0847 | 190 | 0,1197 | 240 | 0,1554 |
| 41 | 0,0223 | 91 | 0,0522 | 141 | 0,0853 | 191 | 0,1198 | 241 | 0,1578 |
| 42 | 0,0232 | 92 | 0,0528 | 142 | 0,0868 | 192 | 0,1212 | 242 | 0,1583 |
| 43 | 0,0239 | 93 | 0,0532 | 143 | 0,0876 | 193 | 0,1214 | 243 | 0,1584 |
| 44 | 0,0239 | 94 | 0,0535 | 144 | 0,0871 | 194 | 0,1223 | 244 | 0,1579 |
| 45 | 0,0248 | 95 | 0,0545 | 145 | 0,0888 | 195 | 0,1235 | 245 | 0,1606 |
| 46 | 0,0252 | 96 | 0,0561 | 146 | 0,089 | 196 | 0,1241 | 246 | 0,1592 |
| 47 | 0,0262 | 97 | 0,0568 | 147 | 0,0896 | 197 | 0,1248 | 247 | 0,1612 |
| 48 | 0,0262 | 98 | 0,0574 | 148 | 0,0906 | 198 | 0,1247 | 248 | 0,1609 |
| 49 | 0,0274 | 99 | 0,0578 | 149 | 0,0901 | 199 | 0,1257 | 249 | 0,162 |
| 50 | 0,0271 | 100 | 0,0577 | 150 | 0,0908 | 200 | 0,1272 | 250 | 0,163 |

3.4. Abschätzung der Abortwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal begehen, wenn von Hunden das Zehnfache der angenommenen Oozystenanzahl pro Patenz ausgeschieden würde (Sensitivitätsanalyse).

3.4.1. Berechnung

Die Ermittlung der Abortwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal begehen, basiert auf 100.000 Rechenzyklen. Bei diesen Rechenzyklen wurden mit Hilfe von Zufallszahlen die Modellannahmen entsprechend der verwendeten Verteilungen modelliert. Das Zehnfache der angenommenen Oozystenanzahl pro Patenz wurde eingesetzt, um zu ermitteln, wie sensitiv das verwendete Modell auf Veränderungen im Parameterraum reagiert (Sensitivitätsanalyse).

3.4.2. Annahmen und Endergebnis

Bis auf die Annahmen in Bezug auf die Zahl der pro Patenz ausgeschiedenen Oozysten wurde im Modell nichts verändert. Die Berechnungen erfolgten wie unter 3.3.2. beschrieben (Tabelle 4).

Tabelle 4: Wahrscheinlichkeit mindestens eines Abortes in der Herde (P_{Abort}) in Abhängigkeit von der Anzahl der Hunde (Hund), die ein Grünlandareal regelmäßig begehen, falls Hunde das Zehnfache der zunächst angenommenen Oozystenanzahl ausscheiden.

| Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} | Hund | P_{Abort} |
|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|
| 1 | 0,0037 | 51 | 0,1605 | 101 | 0,2954 | 151 | 0,411 | 201 | 0,5052 |
| 2 | 0,0069 | 52 | 0,1644 | 102 | 0,297 | 152 | 0,4122 | 202 | 0,5081 |
| 3 | 0,0103 | 53 | 0,1666 | 103 | 0,3006 | 153 | 0,414 | 203 | 0,5093 |
| 4 | 0,0137 | 54 | 0,1694 | 104 | 0,3021 | 154 | 0,4168 | 204 | 0,511 |
| 5 | 0,0173 | 55 | 0,1724 | 105 | 0,3051 | 155 | 0,4182 | 205 | 0,511 |
| 6 | 0,0201 | 56 | 0,175 | 106 | 0,3082 | 156 | 0,4218 | 206 | 0,5137 |
| 7 | 0,0236 | 57 | 0,1787 | 107 | 0,3096 | 157 | 0,4224 | 207 | 0,5148 |
| 8 | 0,0268 | 58 | 0,1812 | 108 | 0,3128 | 158 | 0,424 | 208 | 0,5166 |
| 9 | 0,0308 | 59 | 0,1846 | 109 | 0,3152 | 159 | 0,4259 | 209 | 0,519 |
| 10 | 0,0342 | 60 | 0,1869 | 110 | 0,3174 | 160 | 0,43 | 210 | 0,5205 |
| 11 | 0,0375 | 61 | 0,1892 | 111 | 0,3199 | 161 | 0,4303 | 211 | 0,5216 |
| 12 | 0,0409 | 62 | 0,1927 | 112 | 0,3226 | 162 | 0,4325 | 212 | 0,5239 |
| 13 | 0,0444 | 63 | 0,1953 | 113 | 0,3253 | 163 | 0,4343 | 213 | 0,5249 |
| 14 | 0,047 | 64 | 0,1982 | 114 | 0,3264 | 164 | 0,437 | 214 | 0,5265 |
| 15 | 0,0504 | 65 | 0,201 | 115 | 0,3292 | 165 | 0,4386 | 215 | 0,5291 |
| 16 | 0,0539 | 66 | 0,2042 | 116 | 0,3307 | 166 | 0,4402 | 216 | 0,5306 |
| 17 | 0,057 | 67 | 0,2069 | 117 | 0,3334 | 167 | 0,4422 | 217 | 0,5309 |
| 18 | 0,0606 | 68 | 0,2102 | 118 | 0,3369 | 168 | 0,4445 | 218 | 0,5325 |
| 19 | 0,063 | 69 | 0,2115 | 119 | 0,339 | 169 | 0,4468 | 219 | 0,5346 |
| 20 | 0,0668 | 70 | 0,2155 | 120 | 0,3414 | 170 | 0,4495 | 220 | 0,5359 |
| 21 | 0,0701 | 71 | 0,2176 | 121 | 0,3429 | 171 | 0,4501 | 221 | 0,5383 |
| 22 | 0,073 | 72 | 0,2212 | 122 | 0,3451 | 172 | 0,4528 | 222 | 0,5394 |
| 23 | 0,076 | 73 | 0,2234 | 123 | 0,3473 | 173 | 0,4547 | 223 | 0,542 |
| 24 | 0,0794 | 74 | 0,2259 | 124 | 0,3496 | 174 | 0,4577 | 224 | 0,5432 |
| 25 | 0,0821 | 75 | 0,2275 | 125 | 0,3526 | 175 | 0,4579 | 225 | 0,5443 |
| 26 | 0,0859 | 76 | 0,2316 | 126 | 0,3548 | 176 | 0,4597 | 226 | 0,5467 |
| 27 | 0,0889 | 77 | 0,2335 | 127 | 0,3564 | 177 | 0,4626 | 227 | 0,5493 |
| 28 | 0,0921 | 78 | 0,2358 | 128 | 0,36 | 178 | 0,4643 | 228 | 0,5497 |
| 29 | 0,0954 | 79 | 0,2393 | 129 | 0,3628 | 179 | 0,4658 | 229 | 0,5507 |
| 30 | 0,0981 | 80 | 0,2415 | 130 | 0,3634 | 180 | 0,4678 | 230 | 0,5523 |
| 31 | 0,1013 | 81 | 0,2441 | 131 | 0,367 | 181 | 0,4704 | 231 | 0,5549 |
| 32 | 0,1045 | 82 | 0,2463 | 132 | 0,3693 | 182 | 0,4717 | 232 | 0,5548 |
| 33 | 0,1076 | 83 | 0,2494 | 133 | 0,3705 | 183 | 0,4731 | 233 | 0,5567 |
| 34 | 0,1105 | 84 | 0,2522 | 134 | 0,3731 | 184 | 0,4756 | 234 | 0,5582 |
| 35 | 0,1145 | 85 | 0,2547 | 135 | 0,375 | 185 | 0,4759 | 235 | 0,5609 |
| 36 | 0,1168 | 86 | 0,2561 | 136 | 0,3782 | 186 | 0,4785 | 236 | 0,561 |
| 37 | 0,1196 | 87 | 0,2601 | 137 | 0,3796 | 187 | 0,4801 | 237 | 0,5626 |
| 38 | 0,1228 | 88 | 0,2627 | 138 | 0,3825 | 188 | 0,4827 | 238 | 0,5656 |
| 39 | 0,1259 | 89 | 0,2644 | 139 | 0,384 | 189 | 0,4834 | 239 | 0,5658 |
| 40 | 0,1293 | 90 | 0,2672 | 140 | 0,3863 | 190 | 0,4865 | 240 | 0,5663 |
| 41 | 0,1318 | 91 | 0,27 | 141 | 0,3886 | 191 | 0,4881 | 241 | 0,5695 |
| 42 | 0,1355 | 92 | 0,2724 | 142 | 0,3908 | 192 | 0,4892 | 242 | 0,5701 |
| 43 | 0,1382 | 93 | 0,2753 | 143 | 0,393 | 193 | 0,49 | 243 | 0,5714 |
| 44 | 0,1404 | 94 | 0,2779 | 144 | 0,3956 | 194 | 0,4928 | 244 | 0,5724 |
| 45 | 0,144 | 95 | 0,2797 | 145 | 0,3962 | 195 | 0,4962 | 245 | 0,5739 |
| 46 | 0,1468 | 96 | 0,2815 | 146 | 0,3985 | 196 | 0,4965 | 246 | 0,5762 |
| 47 | 0,1499 | 97 | 0,2853 | 147 | 0,402 | 197 | 0,4996 | 247 | 0,5779 |
| 48 | 0,1528 | 98 | 0,2882 | 148 | 0,4033 | 198 | 0,5004 | 248 | 0,5789 |
| 49 | 0,1552 | 99 | 0,29 | 149 | 0,4061 | 199 | 0,5019 | 249 | 0,5802 |
| 50 | 0,1581 | 100 | 0,2927 | 150 | 0,4088 | 200 | 0,505 | 250 | 0,5823 |

4. Interpretation

Im Importrisikohandbuch der Regierung Australiens (*Guidelines for Import Risk Analysis, Biosecurity Australia, Commonwealth of Australia 2001*) werden die in Tabelle 5 aufgeführten Grenzen verwendet, um Importrisiken zu klassifizieren. Da es sich bei dem Eintrag einer *N. caninum*-Infektion in eine Rinderherde mit Abortfolge um einen ähnlichen Vorgang wie der Import einer Krankheit in Tierbestände eines Landes handelt, erschien es uns gerechtfertigt, diese Interpretationshilfe zu verwenden.

Tabelle 5: Ergebnisinterpretation laut Importrisikohandbuch

| Risikostufen | P-Bereich | Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal regelmäßig begehen |
|------------------|-----------------------|--|
| vernachlässigbar | $0 \leq P < 1e-6$ | kein |
| extrem gering | $1e-6 \leq P < 0.001$ | 1 |
| sehr gering | $0.001 \leq P < 0.05$ | 2 ... 86 |
| gering | $0.05 \leq P < 0.3$ | 87 ... >250 |
| moderat | $0.3 \leq P < 0.7$ | Außerhalb des Wertebereichs (> 250 Hunde) |
| hoch | $0.7 \leq P \leq 1$ | Außerhalb des Wertebereichs (> 250 Hunde) |

Demnach müsste ein Grünlandareal regelmäßig von mindestens 87 Hunden begangen werden, damit – laut dem vorgestellten Simulationsmodell, welches eine Reihe von Annahmen auf der Basis von worst-case Szenarien enthält– zumindest ein geringes Risiko besteht, dass es innerhalb der Herde zu wenigstens einem mit einer exogenen *N. caninum*-Infektion in Verbindung stehenden Abort kommt. Ob diese Zahl an Hunden in der Realität tatsächlich erreicht wird, hängt sicher von den lokalen Gegebenheiten ab und wird für die Grünlandareale einer jeden Rinderhaltung individuell zu beurteilen sein. Nach unserer Einschätzung wird eine solche Anzahl von Hunden, die ein Grünlandareal regelmäßig begehen, extrem selten erreicht werden. Betrachtet man Daten, die zur Hundedichte in Regionen mit Rinderhaltung in Deutschland bekannt sind, so wird diese Sichtweise gestützt (Tabelle 6 basiert auf den Originaldaten aus Rheinland-Pfalz von Schares et al. (2004)). Demnach wird in Gemeinden mit Rinderhaltung eine maximale Hundedichte von 37,2 Hunde/qkm erreicht (Tabelle 6).

Tabelle 6: Hundedichte, Bevölkerungsdichte und der Quotient aus Hundedichte und Bevölkerungsdichte für ca. 1300 Rinderherden (Schaes et al., 2004)

| | Minimum | 25% Perzentil | 50% Perzenti | 75% Perzenti | Maximum |
|--|----------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------|
| | | | I | I | |
| Hundedichte (Hunde/qkm) | 0,7 | 3,0 | 4,5 | 8,0 | 37,2 |
| Bevölkerungsdichte (Bevölkerung/qkm) | 5,4 | 33,3 | 60,6 | 123,8 | 1042,5 |
| Hundedichte/ Bevölkerungsdichte | 3,1 | 10,1 | 12,9 | 17,0 | 38,1 |

Daher ist davon auszugehen, dass der Aufenthalt von Hunden auf Grünlandarealen von Rinderhaltungen kaum direkt für Abortgeschehen in Rinderherden verantwortlich gemacht werden können. Diese Einschätzung wird durch die Tatsache gestärkt, dass der vorliegenden Modellrechnung für die Risikobewertung mehrere eher unrealistische „worst-case“- Szenarien zugrunde liegen. Realistische Annahmen, für die derzeit aber keine Datengrundlagen existieren, hätten folglich ergeben, dass eine noch größere Anzahl von Hunden Grünlandarealen begehen müsste, um wenigsten zu einem geringen Abortrisiko zu führen.

Die Daten zur Gesamtmenge der von Hunden während einer Patenz ausgeschiedenen Oozysten gründeten auf den bei experimentellen Infektionen isolierten bzw. vermuteten Oozystenmengen. Da diese Zahlen die tatsächliche Ausscheidung unterschätzen könnten, musste geprüft werden, wie sich dies auf die Simulation auswirken könnte. Dazu wurde in einem zweiten Modellauf eine zehnfache der aus den experimentellen Daten abgeleiteten Oozystenmengen (siehe 2.3.6) angenommen. Auf dieser Grundlage wären bereits 14 Hunde, die ein Grünlandareal regelmäßig begehen, für ein zumindest geringes Risiko einer exogenen *N. caninum*-Infektion in Verbindung stehenden Abort in der Herde ausreichend (Tabelle 7). Die Zahl von 14 Hunden könnte - unserer subjektiven Erfahrung nach - nahe der Obergrenze des realistischen Bereich liegen und dürfte bei der überwiegenden Zahl der Rinderhaltungen nicht überschritten werden. Diese Berechnung zeigt, dass die vom Modell ausgegebene Zielvariable deutlich auf Veränderungen des Parameters „Oozysten-Ausscheidung während der Patenz“ reagiert, so dass eine realistischere Schätzung dieses Parameters wichtig wäre. Leider gestatten die derzeit vorliegenden Daten jedoch keine genauere Schätzung. Wir gehen

aber davon aus, dass die in der zweiten Modellrechnung angenommene zehnfache Menge unrealistisch hoch sein dürfte. Eher ist zu vermuten, dass die realistische Schätzung in der Nähe der ursprünglichen Annahme liegen würde.

Tabelle 7: Ergebnisinterpretation laut Importrisikohandbuch, wenn die derzeit angenommenen Oozystenausscheidung bei Hunden um das zehnfache höher liegt

| Risikostufen | P-Bereich | Anzahl der Hunde, die ein Grünlandareal regelmäßig begehen |
|---------------------|-----------------------|---|
| vernachlässigbar | $0 \leq P < 1e-6$ | Kein Hund |
| extrem gering | $1e-6 \leq P < 0.001$ | kommt bei den Berechnungen nicht vor |
| sehr gering | $0.001 \leq P < 0.05$ | 1 ... 14 |
| gering | $0.05 \leq P < 0.3$ | 14 ... 102 |
| moderat | $0.3 \leq P < 0.7$ | 103 ... >250 |
| hoch | $0.7 \leq P \leq 1$ | Außerhalb des Wertebereichs (> 250 Hunde) |

In dieser Risikobewertung wurde – auftragsgemäß - nur das Risiko von Rinderaborten betrachtet, das durch exogene Infektionen verursacht wird, d.h. das Risiko von Aborte, die unmittelbar mit von Hunden verursachten Oozystenkontaminationen auf Grünlandarealen in Verbindung stehen.

Darüber hinaus können solche Kontaminationen aber auch weitere, innerhalb dieser Risikobewertung nicht betrachtete, Risiken für Rinderhaltungen darstellen. Exogen bedingte Infektionen mit *N. caninum*-Oozysten können zum Eintrag der Infektion in eine Rinderherde führen, ohne unmittelbar Aborte auszulösen. Da einmal infizierte Tiere dauerhaft infiziert bleiben und diese Infektion aufgrund einer effizienten vertikalen Transmission auch in folgende Rindergenerationen übergehen kann, bleibt eine einmal infizierte Herde für lange Zeit infiziert. Persistent (also endogen) infizierte Tiere haben gegenüber nicht infizierten Tieren ein leicht (2 bis zu 7,5-fach) erhöhtes Abortrisiko. Folglich könnten auch nicht unmittelbar zum Abort führende exogene Infektionen indirekt zu (chronischen) Abortproblemen in Rinderherden führen. Zudem stellen infizierte Tiere in der Herde ein Infektionsrisiko für eventuell bei der Herde gehaltene Hofhunde dar, weil diese sich über von

endogen-diaplazentar infizierten Rindern stammendes Körpergewebe (z.B. Nachgeburten) selbst infizieren können. Nach Oozysten-Ausscheidung und Kontamination des Stallbereichs oder des Rinderfutters kann dies zu einem deutlichen Anstieg der Zahl infizierter Rinder im Bestand führen.

Zur Häufigkeit eines durch Oozystenkontaminationen auf Grünlandarealen verursachten Eintrags von Infektionen in Rinderbestände liegen keine Daten vor. Das Risiko dafür könnte jedoch nach unsere Einschätzung deutlich niedriger liegen als z.B. das Risiko die Infektion durch Zukauf infizierter Tiere in einen naiven Bestand einzuschleppen.

Unabhängig vom Ergebnis dieser Risikobewertung zeigen mehrere epidemiologische Studien in Europa, das das Halten von Hofhunden einen Risikofaktor für *N. caninum*-assoziierte Aborte und für Infektionen mit dem Erreger im Rinderbestand darstellt (Bartels et al., 1999; Mainar-Jaime et al., 1999; Oud-Amrouche et al., 1999; Schares et al., 2004). Da in sehr vielen Rinderhaltungen Deutschlands Hunde gehalten werden (in Rheinland-Pfalz waren es 70% der Rinderhaltungen; Schares et al., 2004), liegt aus unserer Sicht hier der wichtigste Ansatzpunkt, um *N. caninum*-Infektion bei Rindern und damit in Verbindung stehende Abortgeschehen zu verhindern. Die wichtigste präventive Maßnahme in der Rinderhaltung gegen eine Ausbreitung von *N. caninum* im Rinderbestand und damit assoziierter Rinderaborte ist daher das Fernhalten von Hunden (aller Hunde, insbesondere aber der Hofhunde) aus dem Stallbereich und von den Futterlagerplätzen. Anders als auf Grünlandarealen sind die Infektionswege im Stallbereich kurz und infektiöse Ausscheidung der Hunde können innerhalb kurzer Zeit – daher nicht ausgedünnt durch Umwelteinflüsse wie z. B. durch Niederschlag - zu den Tieren gelangen. Zudem haben gerade die sich im Stallbereich aufhaltenden Hunde leichten Zugang zu möglicherweise infektiösem Material (z. B. Nachgeburten oder ausgestoßene Rinderföten).

5. Zusammenfassung

N. caninum gilt als eine der wichtigsten infektiösen Ursachen von Rinderaborten weltweit. Dieser einzellige Parasit kann entweder exogen-diaplazentar (direkt oder indirekt) durch Oozysten-ausscheidende Endwirte oder endogen-diaplazentar auf den Fötus übertragen werden. Zudem kann der Zukauf infizierter Rinder unter bestimmten Bedingungen das

Abortrisiko der Herde erhöhen. In der vorliegenden Risikobewertung galt es, ausschließlich das direkte Abortrisiko zu betrachten, dass mit dem Aufenthalt von Hunden auf einem Grünlandareal verbunden sein könnte. In einem auf realistischen Annahmen beruhenden, im Zweifelsfall aber immer Wertebereiche eines worst-case Szenarios einschließenden Simulationsmodell wurde ermittelt, dass erst ab einem regelmäßigen (dass heißt wöchentlich am häufigsten 2 mal, jedoch mindestens einmal und höchstens fünfmal) Aufenthalt von mindestens 87 Hunden während der Weidesaison auf einem Grünlandareal (Weide, Mähweide) ein geringes Abortrisiko besteht. Selbst wenn die angenommene Oozysten-Ausscheidung verzehnfacht wird, müssten nach diesem Simulationsmodell immer noch mindestens 14 Hunde während der gesamten Weidesaison dieses Areal regelmäßig aufsuchen um ein geringes Abortrisiko für den Rinderbestand darzustellen. Die Einbeziehung von worst-case Szenarien in diese Simulation berechtigt zu der Annahme, dass die Zahl von Hunden, die sich auf einem Grünlandareal aufhalten müssen, um mindestens einen *N. caninum*-bedingten Abort auszulösen, unterschätzt wird, sodass das reale Abortrisiko für Rinderherden, dass durch Hunde auf Grünlandarealen entsteht, noch geringer ist.

Aufgrund der in den Rinderhaltungsregionen der Bundesrepublik bekannten Hundedichten wird davon ausgegangen, dass solche Begehungsintensitäten durch Hunde auf Grünlandarealen in der Regel nicht erreicht werden. Als Präventionsmaßnahmen hinsichtlich *N.caninum*-assoziiierter Aborte in Rinderbeständen ist daher die Unterbindung des Zugang von Hunden, insbesondere von Hofhunden, zum Stall und den Futterlagerplätzen sowie die Vermeidung des Zukaufs infizierter Rinder wirksamer sein, als die Verhinderung des Zugangs von Hunden auf Grünlandareale.

6. Literatur

Bartels,C.J.M., Wouda,W., Schukken,Y.H., 1999. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology* 52, 247-257.

Barutzki,D., Schaper,R., 2003. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. *Parasitol. Res.* 90, S148-S150.

Bergler,K.G., Erber,M., Boch,J., 1980. Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit von Sporozysten bzw. Oozysten von *Sarcocystis*, *Toxoplasma*, *Hammondia* und *Eimeria* unter Labor- und Freilandbedingungen. *Berl. Münch. Tierarztl. Wschr.* 93, 288-293.

Damriyasa,IM., Bauer,C., Edelhofer,R., Failing,K., Lind,P., Petersen,E., Schares,G., Tenter,A.M., Volmer,R., Zahner,H., 2004. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. *Vet. Parasitol.*126, 271-286.

- Davison,H.C., Otter,A., Trees,A.J., 1999. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int. J. Parasitol.* 29, 1189-1194.
- De Meerschman,F., Focant,C.L.T., Losson,B., 2000. Cattle neosporosis in Belgium: a case-control study in dairy and beef cattle. *Int. J. Parasitol.* 30, 887-890.
- Dijkstra,T., Barkema,H.W., Bjorkman,C., Wouda,W., 2002. A high rate of seroconversion for *Neospora caninum* in a dairy herd without an obvious increased incidence of abortions. *Vet. Parasitol.* 109, 203-211.
- Dubey,J.P., Miller,N.L., Frenkel,J.K., 1970. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 56, 447-456.
- Epe,C., Coati,N., Schnieder,T., 2004. [Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002]. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 111, 243-247.
- Epe,C., Ising-Volmer,S., Stoye,M., 1993. Ergebnisse parasitologischer Kotuntersuchungen von Equiden, Hunden, Katzen und Igel in der Jahre 1984-1991. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 100, 421-460.
- Gondim,L.F.P., Gao,L., McAllister,M.M., 2002. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J. Parasitol.* 88, 1159-1163.
- Gondim,L.F., McAllister,M.M., Anderson-Sprecher,R.C., Björkman,C., Lock,T.F., Firkins,L.D., Gao,L., Fischer,W.R., 2004a. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. *J. Parasitol.* 90, 1394-1400.
- Gondim,L.F., Mcallister,M.M., Pitt,W.C., Zemlicka,D.E., 2004b. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34, 159-161.
- Kutz,S.J., Elkin,B.T., Panayi,D., Dubey,J.P., 2001. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in barren-ground caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus*) from the Canadian Arctic. *J. Parasitol.* 87, 439-442.
- Lindsay,D.S., Dubey,J.P., Duncan,R.B., 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.* 82, 327-333.
- Lovelace,J.K., Moraes,M.A., Hagerby,E., 1978. Toxoplasmosis among the Ticuna Indians in the state of Amazonas, Brazil. *Trop. Geogr. Med.* 30, 295-300.
- Mainar-Jaime,R.C., Thurmond,M.C., Berzalherranz,B., Hietala,S.K., 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet. Rec.* 145, 72-75.
- McAllister,M.M., Dubey,J.P., Lindsay,D.S., Jolley,W.R., Wills,R.A., McGuire,A.M., 1998a. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28, 1473-1478.
- McAllister,M.M., Jolley,W.R., Wills,R.A., Lindsay,D.S., McGuire,A.M., Tranas,J.D., 1998b. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Amer. J. Vet. Res.* 59, 441-444.
- Ould-Amrouche,A., Klein,F., Osdoit,C., Mohammed,H.O., Touratier,A., Sanaa,M., Mialot,J.P., 1999. Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet. Res.* 30, 531-538.
- Schaes,G., Bärwald,A., Staubach,C., Söndgen,P., Rauser,M., Schröder,R., Peters,M., Wurm,R., Selhorst,T., Conraths,F.J., 2002a. p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Vet. Parasitol.* 106, 293-305.
- Schaes,G., Bärwald,A., Staubach,C., Ziller,M., Klöß,D., Wurm,R., Rauser,M., Labohm,R., Dräger,K., Fasen,W., Hess,R.G., Conraths,F.J., 2003. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression. *Int. J. Parasitol.* 33, 1631-1640.

- Schares,G., Bärwald,A., Staubach,C., Ziller,M., Kloss,D., Schröder,R., Labohm,R., Dräger,K., Fasen,W., Hess,R.G., Conraths,F.J., 2004. Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. *Parasitology* 129, 301-309.
- Schares,G., Heydorn,A.O., Cüppers,A., Conraths,F.J., Mehlhorn,H., 2001. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. *Parasitol. Res.* 87, 808-816.
- Schares,G., Heydorn,A.O., Cüppers,A., Mehlhorn,H., Geue,L., Peters,M., Conraths,F.J., 2002b. In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues. *Parasitol. Res.* 88, 44-52.
- Schares,G., Peters,M., Wurm,R., Bärwald,A., Conraths,F.J., 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.* 80, 87-98.
- Söndgen,P., Peters,M., Bärwald,A., Wurm,R., Holling,F., Conraths,F.J., Schares,G., 2001. Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. *Vet. Parasitol.* 102, 279-290.
- Thurmond,M.C., Blanchard,P.C., Anderson,M.L., 1994. An example of selection bias in submissions of aborted bovine fetuses to a diagnostic laboratory. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 269-271.
- Thurmond,M.C., Hietala,S.K., 1997. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Amer. J. Vet. Res.* 58, 1381-1385.
- Trees,A., McAllister,M., Guy,C., McGarry,J., Smith,R., Williams,D., 2002. *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. *Vet. Parasitol.* 109, 147.
- Williams,D.J.L., Guy,C.S., McGarry,J.W., Guy,F., Tasker,L., Smith,R.F., MacEachern,K., Cripps,P.J., Kelly,D.F., Trees,A.J., 2000. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitology* 121, 347-358.
- Wouda,W., Moen,A.R., Schukken,Y.H., 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49, 1311-1316.

