Open Access

Berl Münch Tierärztl Wochenschr 128, 437–450 (2015)
DOI 10.2376/0005-9366-128-437

© 2015 Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG
ISSN 0005-9366

Korrespondenzadresse:
christina.strube@tiho-hannover.de

Eingegangen: 04.06.2015
Angenommen: 13.07.2015

Online first: 06.11.2015
http://vetline.de/open-access/158/3216/

Institut für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover[1]
Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig[2]

Antiparasitäre Vakzinen beim Nutztier: Wunsch und Wirklichkeit

Vaccines against livestock parasites: expectations and reality

Christina Strube[1], Arwid Daugschies[2]

Zusammenfassung

Parasiteninfektionen sind bei Nutztieren von großer wirtschaftlicher Bedeutung und die zunehmende Resistenzproblematik, die insbesondere bei parasitischen Helminthen und Geflügelkokzidien verbreitet ist, könnte über kurz oder lang die Wirtschaftlichkeit mancher Erwerbszweige infrage stellen, wenn nicht neue effiziente Werkzeuge zur Parasitenbekämpfung gefunden werden. Neben den Bemühungen, neue antiparasitäre Wirkstoffe oder selektive Behandlungsstrategien (sog. Targeted Selective Treatment) zu entwickeln, stellen Impfstoffe eine zukunftsweisende Alternative dar. Inwieweit die Entwicklung antiparasitärer Vakzinen bei Nutztieren Wirklichkeit oder noch immer ein Wunsch ist, soll in diesem Übersichtsartikel dargestellt werden.

Schlüsselwörter: Impfstoffe, Rekombinante Antigene, Prophylaxe, Protozoen, Helminthen, Arthropoden

Summary

Parasitic infections in livestock are of major economic importance. However, increasing resistance against antiparasitic drugs, which is particularly prevalent among parasitic helminths and poultry coccidia, might sooner or later call the economic viability of certain livestock branches into question. Thus, there is a need to develop new efficient parasite control tools. In addition to efforts to discover new antiparasitic compounds or to implement targeted selective treatment strategies, development of vaccines would be a future-orientated alternative. The current review elucidates to what extend antiparasitic livestock vaccines are reality or still expectations.

Keywords: subunit vaccine, recombinant antigens, prophylaxis, protozoans, helminths, arthropods

U.S. Copyright Clearance Center Code Statement:
0005-9366/2015/12811-437 $ 15.00/0

Einleitung

Eine sinnvolle Bekämpfung von Parasitosen bei Nutztieren hat grundsätzlich einen präventiven Charakter. Gegenwärtig sind vor allem eine Verbesserung der Haltungsbedingungen und der strategisch geplante Einsatz von Antiparasitika probate Wege, um Schäden durch Erkrankung oder verminderte Leistung der Tiere zu verhindern. Auch wenn es auf dieser Basis erprobte und geeignete Konzepte zur Parasitenkontrolle gibt, stoßen eigentlich notwendige Verbesserungen des Betriebsmanagements oftmals auf Grenzen der Umsetzbarkeit und der metaphylaktische Einsatz von Antiparasitika ist durchaus nicht unumstritten. Eine steigende Sensibilität der Öffentlichkeit gegenüber häufig als überflüssig oder sogar gefährlich empfundenem Einsatz von Tierarzneimitteln kann nicht ignoriert werden. Zudem kann der breite und über längere Zeit erfolgende Einsatz von Antiparasitika eine Resistenzentwicklung begünstigen. Antiparasitäre Vakzinen stellen vor diesem Hintergrund eine zukunftsweisende Alternative dar. Weltweit gibt es seit Jahrzehnten Bemühungen, solche Vakzinen zu entwickeln.

Protozoäre Erreger

Protozoen-Infektionen sind bei Nutztieren weltweit von anhaltend großer Bedeutung und gehören zu den ökonomisch wichtigsten Hemmnissen in der landwirtschaftlichen Tierhaltung, besonders in Ländern der Dritten Welt und unter tropischen Klimakonditionen. Aber insbesondere Kokzidien und Kryptosporidien sind auch in Intensivhaltungen in gemäßigten Breiten durchaus bedeutende Störfaktoren, und Erreger wie *Toxoplasma gondii* oder *Cryptosporidium parvum* haben zudem ein zoonotisches Potenzial. Zwar kann über Haltungsmaßnahmen oder eine gezielte Behandlung zumindest eine partielle Kontrolle solcher Infektionen erreicht werden, allerdings sind trotz jahrzehntelanger intensiver Bemühungen von Forschergruppen in der ganzen Welt erst enttäuschend wenige antiprotozoäre Vakzinen zur Marktreife gelangt und noch weniger haben überdauert.

Impfstoffentwicklung gegen zystenbildende Kokzidien

In Ländern mit einer bedeutenden Schafproduktion wie Neuseeland, Großbritannien, Frankreich oder Irland kann die Toxoplasmose als Abortauslöser erhebliche Verluste verursachen, und Ziegen gelten sogar als noch empfindlicher. Da sich die Infektion unter den Bedingungen insbesondere der extensiven Haltung kleiner Wiederkäuer nicht vermeiden lässt, wird versucht, über einen Lebendimpfstoff (Toxovax®) die Problematik zu kontrollieren. In Deutschland ist die Zulassung für diesen Impfstoff seit einigen Jahren erloschen, er kann jedoch gemäß § 11 TierGesG aus einem anderen EU-Land importiert und angewendet werden. Der Impfstoff enthält Tachyzoiten des Impfstamms S48, der ursprünglich aus einem abortierten Schaffötus stammt, dann aber in Mäusen passagiert wurde und in der Folge die Eigenschaft der Zysten- und Oozystenbildung verloren hat. Die Tachyzoiten vermehren sich nur über kurze Zeit. In dieser Phase setzt sich das Immunsystem mit dem Erreger auseinander. Insbesondere der Aktivierung der zellulären Komponenten (CD4+, CD8+, Interferon) wird die anschließende Immunität zugeschrieben, die zwar nicht die Infektion sicher verhindert, wohl aber die diaplazentare Übertragung (Innes et al., 2009).

Eine moderne Option der Attenuierung von *Toxoplasma* (*T.*) *gondii* ist die Induktion eines Gendefekts des Parasiten („knock out-Mutante" für MIC1 und MIC3). Insbesondere die intraperitoneale Gabe der entsprechenden Vakzine erwies sich als Protektionsstimulierend, allerdings konnte die Mutante dennoch in gewissem Maße Gewebezysten bilden, die aber zumindest für Mäuse nicht infektiös waren (Mevelec et al., 2010). Experimentell konnte die Zystenbildung nach Infektion mit Wildstämmen von *Toxoplasma* im Fleisch durch eine Gabe lebender Tachyzoiten des RH-Stamms, der selbst keine Zysten bildet, bei Schweinen reduziert, aber nicht gänzlich verhindert werden (Dubey et al., 1991). Durch Applikation von Tachyzoiten des eher apathogenen, aber Zysten-bildenden ME49-Stammes konnte bei Schafen die Etablierung von Zysten eines pathogenen Stammes unterdrückt werden (Falcon und Freyre 2009). Die Autoren argumentierten, dass es eines „kompletten" Stammes (der also alle Stadien im Tier durchläuft) bedarf, um die zur Immunisierung benötigten Antigene ausreichend bereit zu stellen, sodass die Immunantwort den Zyklus des Erregers unterbricht und damit die Zystenreifung verhindert. Das Ziel einer Unterdrückung der Zystenbildung ist dabei nicht, den Gesundheitsstatus der Tiere zu verbessern, sondern den Verbraucher vor Übertragungsrisiken von *Toxoplasma*-Zysten über Lebensmittel zu schützen (Innes et al., 2009; Katzer et al., 2014). Zu einer Maßnahme, die in der Praxis angewendet wird, haben diese berichteten Erfolge nicht geführt, allerdings kann mit dem bereits erwähnten inkompletten Impfstamm S48 (Toxovax®) die Zystenbildung im Schaf ebenfalls deutlich reduziert werden (Katzer et al., 2014), auch wenn dies nicht die eigentliche Indikation für die Anwendung dieses Produktes ist.

Da Lebendvakzinen eine Reihe von Nachteilen (z. B. aufwendige Erzeugung, Kühlkette, zoonotisches Potenzial, Reversion zur Virulenz?) in sich bergen, gibt und gab es zahlreiche Ansätze für eine Suche nach Alternativen, die allerdings meist nur in Labornagermodellen untersucht wurden. Grundsätzlich haben sich inaktivierte Erreger als nicht in der Lage erwiesen, eine hinreichende zellvermittelte Protektion zu stimulieren, auch wenn eine humorale Reaktion nachgewiesen werden kann. Andererseits berichteten Da Cunha et al. (2012), dass mit der intranasalen Gabe aufgereinigter Rhoptrienproteine aus *T. gondii* an Schweine zwar keine deutliche humorale Reaktion, wohl aber die Anzahl von *T. gondii*-Zysten im Fleisch reduziert werden konnte.

Als Bestandteil einer Subunit-Vakzine oder zur Erzeugung von DNA-Vakzinen drängen sich oberflächenassoziierte Proteine (SAG = surface antigen glycoproteins), denen bei der Anheftung an die Wirtszelle und der Invasion eine Rolle zukommt, als interessante Kandidaten-Antigene auf. Allerdings exprimiert *T. gondii* zahlreiche SAGs, die zudem eine hohe Heterogenität zwischen verschiedenen Entwicklungsstadien des Erregers aufweisen (Garcia et al., 2014). Damit ist die Suche nach einem zur Induktion von Protektion geeigneten Antigen oder Antigen-Cocktail alles andere als einfach. Weitere funktionell mehr oder weniger charakterisierte Proteine des Parasiten, die mit dem Apikalkomplex (AMA = apical membrane antigen), den Rhoptrien (ROP1, ROP2) oder den Dichten Granula (GRA1, GRA4, GRA6, GRA7) assoziiert sind, werden ebenfalls als gute Vakzinekandidaten angesehen. DNA-Vakzinen sind eine interessante Möglichkeit, um die Zielantigene nach Applikation im Tier exprimieren zu lassen. Garcia et al. (2014) beschrieben in ihrer Übersicht einige entsprechende Versuchsansätze. Für die Expression von GRA1 wurde beispielsweise ein attenuierter *Mycobacterium bovis*-Stamm (BCG) als rekombinanter Vektor im Schaf getestet, wobei zwar eine Immunreaktion feststellbar war, eine Protektion aber nicht eindeutig nachgewiesen wurde (Supply et al., 1999). Im Zeitraum von 2009 bis 2013 wurden 109 Publikationen zu Vakzinen gegen *T. gondii* veröffentlicht, wobei nur in sechs Fällen an veterinärmedizinisch relevanten Modellen (Schaf, Schwein) untersucht wurde (Garcia et al., 2014). Auch wenn unzweifelhaft Labornagermodelle gut geeignet sind, um grundsätzliche immunologische Fragestellungen zu bearbeiten, ist doch die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere Spezies nicht uneingeschränkt gegeben. Die eher überschaubaren Publikationsaktivitäten mit Bezug zu landwirtschaftlichen Nutztieren lassen nicht erwarten, dass in absehbarer Zeit neue Vakzinen gegen *T. gondii* für Nutztiere verfügbar sein werden. Insgesamt wurde trotz wichtiger wissenschaftlicher Erkenntnisse, die sich aus den Bemühungen um eine moderne Vakzine ergaben,

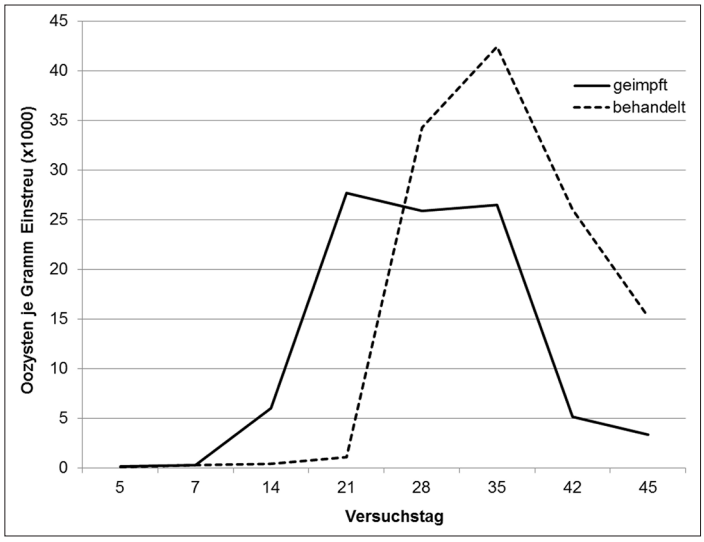

ABBILDUNG 1: *Oozysten in der Einstreu nach Applikation einer Lebendvakzine (Paracox®) am 5. Lebenstag von Hühnerküken oder bei Behandlung mit Antikokzidia (nach Williams et al., 1999). Die Impfung sorgt für eine Oozystenausscheidung, die eine natürliche Boosterung aus der Umgebung erlaubt.*

das Ziel eines neuen im Feld anwendbaren Produkts nicht erreicht.

Neospora caninum ist ein heteroxener Parasit, der *T. gondii* in vielerlei Hinsicht ähnelt und beim Rind zu den wichtigsten Abortverursachern weltweit gehört. Es gibt zahlreiche Studien zur Immunreaktion und Vakzinekandidaten v. a. im Mausmodell, zu denen auch Subunit-Vakzinen und rekombinante Antigene gehören. Bislang ist nur eine einzige Vakzine kommerzialisiert worden (NeoGuard®, Bovilis® NeoGuard), die aus inaktivierten Tachyzoiten besteht, aber inzwischen nicht mehr vermarktet wird (Lightowlers, 2014). Diese Vakzine stimuliert bei zweimaliger Applikation vor der Belegung oder im ersten Trimester der Tragezeit eine humorale Immunantwort, weniger die zelluläre Reaktion, und soll das Risiko der Erregerübertragung auf die Frucht mindern (Reichel und Ellis 2009). Zur Wirksamkeit der Vakzine im Feld gibt es variable und auch widersprüchliche Befunde. So steigerte die Impfung nach Weston et al. (2012) das Risiko der vertikalen Übertragung des Erregers unter natürlichem Infektionsdruck und nur in einer von fünf Herden wurde die Abortrate tatsächlich signifikant vermindert. Zudem vermuteten die Autoren, dass die Frühabortrate bei den vakzinierten Tieren sogar erhöht gewesen sein könnte. Reichel und Ellis (2009) merkten kritisch an, dass *Neospora*-Tachyzoiten zwar gut zu kultivieren sind und sich so für Laborstudien besonders eignen, aber in der spezifischen Immunantwort eine eher geringe Rolle spielen. So stellt sich die Frage, ob dieses Stadium, insbesondere wenn es nicht mehr lebensfähig ist, eine ideale Komponente einer Vakzine sein kann. Vor diesem Hintergrund wurden Lebendvakzinen als eine gangbare Option vorgeschlagen (Reichel et al., 2015). Geeignet könnten hierfür vor allem Stämme sein, die aus klinisch gesunden Tieren isoliert wurden und von denen daher angenommen werden kann, dass sie eine relativ geringe Virulenz haben (Rojo-Montejo et al., 2013). Nach Vakzination von Jungrindern mit lebenden *Neospora*-Tachyzoiten des Stamms Nc-Spain 1H vor der Besamung war die Abortrate nach einer Belastungsinfektion auf die Hälfte reduziert. Mazuz et al. (2015) testeten kürzlich eine Vakzine aus lebenden *Neospora*-Tachyzoiten im Feld und berichteten eine reduzierte Abortrate (16 % gegenüber 26 % bei den Kontrollen), wobei der Anteil seropositiver Nachkommen in beiden Gruppen gleich war. Auch wenn dieser pragmatische Ansatz durchaus einen quantifizierbaren Nutzen erbrachte, stellt sich die Frage, ob die Schutzwirkung tatsächlich als befriedigend betrachtet werden kann, zumal die vertikale Übertragung nach experimentellem oder natürlichem Challenge anscheinend nicht verhindert werden kann. Andererseits zeigt diese Studie aber auch ein grundsätzliches Problem auf: wenn schon eine Lebendimpfung keinen überzeugenden Schutz induzieren kann, wird es umso schwieriger bis unmöglich sein, dies über alternative Impfstrategien zu erreichen.

Impfstoffentwicklung gegen Eimerien

Die Eimeriose (Kokzidiose) ist eine Jungtiererkrankung, die bei verschiedenen Nutztierarten und vor allem bei Geflügel und Wiederkäuern bedeutsam ist. Eimerien sind sehr wirtsspezifisch und hinterlassen nach Durchlaufen eines Infektionszyklus und bei weiterer natürlicher Boosterung aus der kontaminierten Umgebung einen stabilen Immunschutz („Infektionsimmunität"), der nicht ausschließlich, aber im Wesentlichen zellulär determiniert ist (Lillehoj et al., 2004). Dass auch die humorale Komponente eine gewisse Bedeutung hat, spiegelt sich in der zumindest partiellen Protektion, die durch IgY beim Huhn erreicht werden kann (Lee et al., 2008).

Wirtschaftlich bedeutend ist die Eimeriose insbesondere beim Geflügel. Daher gab es hier schon lange Bemühungen, eine für die Praxis taugliche Vakzine zu entwickeln. Virulente Lebendimpfstoffe gegen die Hühner- und Puteneimeriose werden beispielsweise in Nordamerika seit Langem und durchaus erfolgreich eingesetzt (Sharman et al., 2010). Allerdings haben die entsprechenden Produkte ein pathogenes Potenzial, sodass ihr Einsatz mit Vorsicht erfolgen muss und unter Umständen auch die zusätzliche Behandlung mit Antikokzidia erfordert. Bei der Suche nach weniger virulenten Impfstämmen stieß man auf das Phänomen der hereditären Frühreife. Dies ermöglichte die Selektion von in ihrer Virulenz abgeschwächten Erregern, die in Produkten aus attenuierten („precocious" = frühreife) Impfstämmen verschiedener *Eimeria*-Arten verwendet werden (Sharman et al., 2010). Solche attenuierten Lebendimpfstoffe sind in vielen Ländern und auch in Deutschland besonders in Zuchtbeständen und in der Legehennenaufzucht im Einsatz (Tab. 1, in Deutschland: Paracox-8®). Aufgrund der kurzen Haltungsperioden ist eine Protektion durch Impfung in Mastbeständen schwieriger, aber auch für diese Situation ist ein kommerzieller attenuierter Lebendimpfstoff mit einem reduzierten Spektrum an Impfstämmen entwickelt worden (Tab. 1, Paracox-5®, Hipracox Broilers®), der insbesondere für solche Mastbestände interessant ist, die keine Antikokzidia im Mastfutter verwenden können oder wollen und die eine verlängerte Mast betreiben. Durch Selektion auf „Frühreife" hergestellte attenuierte Lebendvakzinen zeichnen sich dadurch aus, dass sie in der natürlichen Lokalisation ihren Lebenszyklus vollziehen, der zu einer patenten Infektion führt. Damit sind alle Voraussetzungen gegeben, dass sich die Immunabwehr auf den Erreger in allen seinen Ausprägungen

TABELLE 1: *Kommerzielle Vakzinen zum Schutz vor Hühner-Eimeriose*

Impfstoff	enthaltene Eimeria-Arten	Attenuierung
Paracox-8	*E. tenella, E. acervulina, E. mitis, E. maxima* (2 Stämme), *E. brunetti, E. necatrix, E. praecox*	frühreif
Paracox-5	*E. tenella, E. acervulina, E. mitis, E. maxima (*2 Stämme)	frühreif
Hipracox Broilers	*E. acervulina, E. maxima, E. mitis, E. praecox, E. tenella*	frühreif
Livacox T	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima*	frühreif (nicht in D)
Livacox Q	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. necatrix*	frühreif (nicht in D)
Eimeriavax 4m	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. necatrix*	frühreif (nicht in D)
Inovocox	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima*	in ovo (nicht in D)
Coccivac-B	E. *tenella, E. acervulina, E. maxima, E. mivati*	frühreif (nicht in D)
Coccivac-D2	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. mivati E. necatrix, E. praecox, E. brunetti, E. hagani*	frühreif (nicht in D)
Immucox I	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. necatrix*	frühreif (nicht in D)
Immucox II	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. necatrix, E. brunetti*	frühreif (nicht in D)
CoxAbic	*E. maxima*	Gametozyten-Antigen, maternale Impfung (nicht in D)

und wechselnden Antigenmustern einstellen kann. Die reduzierte Virulenz erklärt sich daraus, dass „frühreife" Stämme eine verkürzte Phase der asexuellen Vermehrung (Merogonie) in der Darmschleimhaut haben und sich damit weniger stark vermehren als die Wildtypen, was letztlich weniger Zerstörung von Mukosazellen bedeutet. In jedem Fall wird es aber infolge der Vakzination zu patenten Infektionen kommen, sodass geimpfte Tiere Oozysten der Impfstämme ausscheiden (Williams et al., 1999, Abb. 1), die anschließend einen natürlichen Booster für die spezifische Immunabwehr ermöglichen (Sharman et al., 2010). Ein gleichzeitig verabreichtes Antikokzidium würde dies verhindern und wäre also kontraindiziert.

Ein recht neuer Ansatz für eine Lebendvakzinierung ist der Impfstoff Inovocox®, der aber hierzulande nicht verfügbar ist. Diese Vakzine aus Oozysten von drei *Eimeria*-Arten (Tab. 1) wird in das bebrütete Ei injiziert, sodass ein sehr früher Immunschutz induziert wird.

Mit einer Impfung wird nicht nur ein Schutz vor den Schadeffekten einer Infektion mit Wildstämmen von Eimerien erreicht. Es konnte gezeigt werden, dass über die frühe Infektion mit attenuierten Impfstämmen in Geflügelherden, in denen eine Resistenz oder verminderte Sensitivität gegenüber Antikokzidia aufgetreten war, diese Feldstämme verdrängt werden konnten (Chapman und Jeffers, 2015). Damit steht eine Option zur Verfügung, um einer Resistenzsituation begegnen zu können oder möglicherweise, wenn ein Wechsel zwischen Antikokzidia und Vakzine frühzeitig geplant und umgesetzt wird, die Effizienz der Antikokzidia länger zu erhalten.

Eine Kokzidiose kann auch in Vergesellschaftung mit anderen Erregern eine Erkrankung verursachen, die schwerer verläuft als es bei einer Monoinfektion zu erwarten wäre. So prädisponiert die Kokzidiose für eine Nekrotische Enteritis (NE) durch *Clostridium perfringens* (Alnassan et al., 2014). Es konnte gezeigt werden, dass mit einer Paracox®-Impfung Hühner, letztlich indem der prädisponierende Faktor ausgeschaltet wurde, effizient vor NE geschützt werden konnten (Bangoura et al., 2014).

Die Suche nach Vakzinen aus definiertem Antigen, im Idealfall rekombinant exprimiert, hat dagegen bis jetzt die Kokzidienbekämpfung nicht überzeugend vorangebracht. Einzig für *Eimeria maxima* des Huhnes gibt es eine kommerzielle Vakzine aus definiertem Gametozyten-Antigen (CoxABic®, Tab. 1, Sharman et al., 2010), die aber nicht in allen Ländern erhältlich und in Deutschland nicht verfügbar ist. Dieser Impfstoff wird Hennen intramuskulär appliziert, die anschließend über eine humorale Komponente (IgY) maternal den Immunschutz auf die Nachkommen übertragen. Das soll zu einer deutlichen Reduktion der Oozystenausscheidung und zudem zu einer Kreuzprotektion gegen andere *Eimeria*-Arten (*Eimeria* (*E*). *tenella, E. acervulina*) führen (Sharman et al., 2010). Letzteres ist insofern erstaunlich, als eine protektive Kreuzimmunität selbst bei natürlichen Infektionen eher nicht auftritt. Lee et al. (2008) zeigten, dass durch Verfütterung von IgY aus dem Eigelb mit *E. tenella, E. acervulina* und *E. maxima* immunisierter Hühner die *E. acervulina*-Kokzidiose in ihrem Verlauf abgemildert werden konnte. Dies gelang allerdings in einem experimentellen Modell mit einer geringen Erregerbelastung und auch dort nur partiell, sodass zwar ein „proof of principle" erfolgte aber daraus keine anwendbare Bekämpfungsoption entstand.

Aus der Überlegung, dass ein passiver humoraler Schutz gegen Eimerien zumindest in einem gewissen Maße möglich ist, resultierte der Versuch, spezifische Antikörperfragmente in Pflanzen exprimieren zu lassen. Würden diese dann als Futtermittel eingesetzt, könnte über die Fütterung ein passiver Schutz vermittelt werden (Zimmermann et al., 2009). Auch wenn dies grundsätzlich möglich erscheint und solche Antikörperfragmente an Sporozoiten teils Spezies-übergreifend banden, war eine Bindung an andere Entwicklungsstadien nicht festzustellen (Khallafalla et al., 2011). Die antigene Unterschiedlichkeit zwischen *Eimeria*-Arten und innerhalb der Arten zwischen verschiedenen Stadien ist ein Problem, dem sich neben dem Grad der grundsätzlich erreichbaren Protektion alle Überlegungen zum Immunschutz über definierte Antigene oder spezifische Antikörper stellen müssen.

Bemühungen, eine DNA-Vakzine gegen Eimerien des Huhnes herzustellen, sind zahlreich dokumentiert und insbesondere in den letzten Jahren publiziert worden (u. a. Geriletu et al., 2011; Übersicht bei Chapman et al., 2013). Allerdings war die erreichte Protektion oftmals unbefriedigend. Immerhin konnte mit der Modifikation, gemeinsam mit dem das gewünschte Antigen exprimierenden Vektor Zytokine oder Zytokin-kodierende Plasmide zu verabreichen, um die zelluläre Immunantwort zu fördern, eine bessere Stimulation der zellu-

lären Antwort und auch eine Steigerung der Protektion erreicht werden. Dies hat dann zu Forschungen mit dem Ziel geführt, Zytokin- und Antigen-Expression in einer DNA-Vakzine zu kombinieren. Auf diesem Weg konnte für *E. tenella* die Oozystenausscheidung und der Läsionenindex um etwa 60 % reduziert werden (Geriletu et al., 2011), was sicher noch nicht gänzlich zufriedenstellend, aber doch vielversprechend ist. Auch in diesem Kontext ist anzumerken, dass aufgrund der Diversität der Arten und Stadien wahrscheinlich eine Palette an Antigenen berücksichtigt werden muss, was die Entwicklung von DNA-Vakzinen für die Praxis erschwert. Song et al. (2015) sind diesen Weg gegangen, indem sie eine multivalente DNA-Vakzine entwickelten, die sich auf mehrere Eimeria-Arten erstreckte und gleichzeitig für Interleukin-2 kodierte. Die umfangreichen und äußerst komplexen Forschungen, die auf dem Gebiet der gentechnisch erzeugten Vakzine-Kandidaten in den letzten Jahren durchgeführt wurden, können in einer kurzen Übersicht wie dem vorliegenden Artikel bei weitem nicht angemessen erläutert werden, aber es gibt, wie oben beispielhaft referiert, sehr innovative Ansätze, sich dem Bedürfnis nach einer effizienten, preiswerten, sicheren und leicht anwendbaren Vakzine zu stellen. Es bleibt zu hoffen, dass diese Bemühungen zu einem marktfähigen Impfstoff führen werden, auch wenn der Weg noch lang sein dürfte.

Durch *Eimeria*-Arten ausgelöste Kokzidiosen gibt es auch bei anderen Tierarten wie Puten, Rindern, kleinen Wiederkäuern oder Kaninchen. Für die Pute wurden Lebendvakzine entwickelt, wobei hier im Grunde die Feststellungen für das Huhn in Analogie zutreffen. Virulente Lebendvakzine sind bei der Pute außerhalb Europas in Anwendung, kommerzialisierte attenuierte Lebendimpfstoffe gibt es aber nach eigener Kenntnis derzeit für die Pute nicht (Chapman, 2008) und jedenfalls nicht in der EU. Die Entwicklung attenuierter Impfstämme ist für Säugetiere im Prinzip vorstellbar, aber aus verschiedenen Gründen mit kaum bis überhaupt nicht überwindbaren Schwierigkeiten versehen. Eine Ausnahme könnte das Kaninchen darstellen, da hier die Generationszeiten des Erregers und des Wirtsorganismus kurz genug sind, um eine entsprechende Selektion auf frühreife Stämme durchführen zu können (Licois et al., 1994, 1995). Auch wenn eine gewisse Protektion durch frühreife Stämme beim Kaninchen berichtet wurde (Akpo et al., 2012), wird die Wahrscheinlichkeit, dass eine für die Praxis geeignete attenuierte Lebendvakzine für das Kaninchen zur Marktreife entwickelt wird, als eher gering angesehen, weil die entsprechenden wirtschaftlichen Anreize fehlen (Pakandl, 2009).

Impfstoffentwicklung gegen Piroplasmen

In vielen Ländern der wärmeren Klimaregionen dieser Welt spielen Vektor-gebundene Protozoen wie Babesien und Theilerien eine bedeutende Rolle als Krankheitserreger (Shkap und Pipano 2000). Gegen *Theileria* (*Th.*) *annulata*, den Erreger der tropischen Theileriose des Rindes, kann ein Impfstoff aus in vitro vermehrten Lymphoblastoidzellen oder infizierten Erythrozyten verwendet werden. In beiden Fällen kommt es durch die in-vitro-Erregerpassage zu einer Attenuierung, die mit einem geringeren genetischen Polymorphismus einhergeht (Shkap und Pipano, 2000; Morrison et al., 2015). Solche Impfstoffe wurden in Ländern mit Endemieregionen kommerzialisiert und mit gutem Erfolg eingesetzt (z. B. China; Yin et al., 2008). Dagegen gestaltet sich die Impfung gegen *Th. parva*, den Erreger des Ostküstenfiebers in Afrika, schwieriger, weil es eine hohe Variabilität der natürlich vorkommenden Stämme gibt und diese nicht unbedingt immunologisch kreuzreagieren. Zwar werden Mischungen von *Th. parva*-Isolaten („Muguga Cocktail") verwendet (Morrison et al., 2015), die eine breitere Palette an Feldstämmen berücksichtigen, aber die erzielten Ergebnisse sind nicht immer überzeugend. Lebendvakzinen aus *Th. parva* sind grundsätzlich virulent, und es kann in der Folge zu schweren Erkrankungen kommen. Um dies zu vermeiden, wurde empfohlen, *Th. parva*-Impfung nur unter Oxytetrazyklin-Schutz vorzunehmen, was durchaus erfolgreich praktiziert wird (Kivaria et al., 2007), aber auch die grundsätzliche Problematik einer virulenten Lebendvakzine betont. Ein wesentliches Problem auf der Suche nach Subunit-Vakzinen ist das noch immer lückenhafte Verständnis der Immunmechanismen, die den Schutz gegen *Th. parva* vermitteln, wobei die Antigenpräsentation ein entscheidender Faktor sein dürfte und auch die Rolle der innaten Immunität noch nicht ausreichend geklärt ist. Virale Impfvektoren mögen ein Weg sein, um die zelluläre Reaktion in geeigneter Weise zu stimulieren, aber diese Ansätze befinden sich noch im experimentellen Stadium (Morrison et al., 2015).

Babesien kommen bei verschiedenen Tierarten vor und verursachen unter den Nutztieren und besonders bei Rindern in vielen Regionen der Welt erhebliche Verluste. Sie induzieren bei Rindern eine sehr starke protektive Immunität, und dies wird besonders in Herden beobachtet, in denen die Tiere schon früh durch Zecken, die den Babesien als Endwirte dienen, infiziert werden (Bock et al., 2004). In den ersten Lebensmonaten sind Rinder zwar für den Erreger empfänglich, erkranken aber in der Regel nicht und sind anschließend über ihr Immunsystem, sowohl über innate wie auch adaptive Komponenten, geschützt (Bock et al., 2004; Brown et al., 2006). Es wird geschätzt, dass, wenn 75 % der Jungrinder erfolgreich geimpft wurden oder sich natürlich infiziert haben, dies zu einer „endemischen Stabilität" führt, also in der Herde keine wesentlichen Probleme durch Babesiose entstehen (Florin-Christensen et al., 2014). Kommerzielle Impfstoffe gegen Babesien sind für das Rind in verschiedenen Ländern erhältlich und vermitteln einen hervorragenden Schutz von 95 % und mehr, wenn sie richtig gehandhabt werden (Bock et al., 2004). Es handelt sich dabei ausschließlich um Lebendvakzinen gegen *Babesia* (*B.*) *bovis* und/oder *B. bigemina*, die entweder in vitro infizierte Erythrozyten oder solche aus splenektomierten Kälbern darstellen. Für *B. divergens* wurden virulente Feldisolate in splenektomierten Kälbern oder Gerbils zur Erzeugung eines gut wirksamem Impfstoff passagiert. Als stallspezifische Vakzine wurden in Gerbils passagierte *B. divergens* auch in Deutschland mit Erfolg eingesetzt (Zintl et al. 2003). Allerdings handelt es sich um potenziell virulente Erreger, deren Einsatz eine chemotherapeutische Flankierung erfordern kann (Florin-Christensen et al., 2014). Eine kommerzielle Vakzine scheint es für *B. divergens* aktuell nicht mehr zu geben. Insgesamt ist festzustellen, dass *Babesia*-Vakzinen nur dort eingesetzt werden, wo sie über staatliche Programme gefördert werden (Bock et al., 2004).

Über die Erregerpassage in vitro oder im Tier werden nicht nur die mit Babesien infizierten Erythrozyten für die erforderlichen Impfdosen bereit gestellt, sondern

es wird auch eine Attenuierung der Babesien erreicht, von der man aber bis heute nicht genau weiß, auf welchen Mechanismen und genetischen Grundlagen sie beruht. Empfohlen wird allgemein, Kälber bis zu einem Alter von zehn Monaten zu impfen, während man bei der Impfung adulter Rinder aufgrund ihrer höheren Empfindlichkeit mit Erkrankungsfällen nach Gabe der Lebendvakzine rechnen muss. Eine natürliche Boosterung ist anschließend von Vorteil, sodass in geimpften Herden keine vollständige Kontrolle des Befalls mit Zecken, die als natürliche Vektoren dienen, nötig ist. Es gab und gibt zahlreiche Versuche, über definierte Antigene in variabler Ausprägung einschließlich transfizierter pro- oder eukaryotischer Vektoren Protektion in einem Maß zu induzieren, das für einen Einsatz unter den Bedingungen natürlichen Infektionsdrucks zureichend ist. Leider verlief die Suche nach protektiven Antigenen und rekombinanten Vakzinen bislang wenig erfolgreich. Dies wird unter anderem auf die noch nicht ausreichend verstandene Immunprotektion und besonders die innate Komponente der Abwehrreaktion, die auch für die Auswahl geeigneter Adjuvantien eine Rolle spielt, zurückgeführt (Brown et al., 2006).

Impfstoffe gegen *Tritrichomonas foetus*

Gegen die Trichomonadeninfektion des Rindes wurde ein Impfstoff entwickelt, der den Erreger in inaktivierter Form enthält (TrichGuard®, TrichGuard V5L®). Allerdings konnte eine Meta-Analyse zum Einsatz dieser Vakzine keine hinreichende Evidenz aus der Literatur zum Nutzen der Anwendung zeigen (Baltzell et al., 2013). In Deutschland gilt diese Erkrankung als getilgt, insofern wird auch kein Bedarf zur Anwendung einer Vakzine gesehen.

Impfstoffe gegen Helminthen

Kommerziell verfügbare Impfstoffe gegen Helminthen

Neben den Protozoen ist das Augenmerk der Impfstoffentwicklung gegen Parasiten auf die Helminthen gerichtet. Tatsächlich gelang es bereits in den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts, einen Lebendimpfstoff gegen den Rinderlungenwurm *Dictyocaulus* (*D.*) *viviparus* zu entwickeln. Für diesen Nematoden konnten Jarrett et al. (1955) mittels passiver Immunisierungsversuche zeigen, dass die protektive Wirkung maßgeblich über Antikörper vermittelt wird. Der Lebendimpfstoff, der unter dem Namen Bovilis® Lungworm bzw. Bovilis® Dictol oder Huskvac® in einigen europäischen Ländern, nicht jedoch in Deutschland, kommerziell erhältlich ist, enthält röntgenattenuierte infektiöse Lungenwurmlarven. Diese induzieren eine Immunität, die in der Regel, wie auch die natürliche erworbene Immunität, für sechs bis zwölf Monate vor einer klinischen Dictyocaulose schützt. Daher sind nach der Grundimmunisierung (perorale Applikation von jeweils ca. 1000 Larven im Anstand von vier Wochen) zumindest jährliche natürliche Boosterinfektionen oder Auffrischungsimpfungen notwendig, um Jungtiere wie auch Milchkühe effektiv zu schützen.

Nach Anwendung des Bovilis® Dictol-Impfstoffs nach Herstellerangaben (zweimalige Impfung mindestens zwei Monate alter Kälber im Abstand von vier Wochen, anschließend mindestens zwei Wochen Stallhaltung zum Aufbau der Immunität) und nachfolgender experimenteller Belastungsinfektion schieden 13 (76,5 %) von insgesamt 17 in die Studien inkludierten Kälber Lungenwurmlarven aus (Bain und Urquhart, 1988; Düwel, 1963; Strube et al., 2015). Im Vergleich zu den mit derselben Belastungsdosis infizierten Kontrolltieren wurde eine Reduktion der Larvenausscheidung von 94 % und eine Reduktion der Wurmbürde von 93–97 % verzeichnet (Bain und Urquhart, 1988; Strube et al., 2015). In einer Studie von Johnson et al. (2003) hingegen gelang bei den sechs geimpften Rindern eine vollständige Unterbindung der Larvenausscheidung bzw. der Etablierung adulter Lungenwürmer nach experimenteller Belastungsinfektion. Allerdings schied eines der geimpften Tiere eine geringe Menge an Larven nach der ersten Impfdosis aus. Insgesamt kann gesagt werden, dass die Ausbildung einer patenten Infektion nach Belastungsinfektion ein durchaus übliches Ereignis ist und auch unter Feldbedingungen zu beobachten ist. So schieden in Feldstudien 43–88 % der geimpften Tiere Larven aus (Eisenegger und Eckert, 1975; Menear und Swarbrick, 1968; Schnieder et al., 1992). Diese Ausscheidung trägt zur natürlichen Boosterung der geimpften Tiere bei, kann jedoch für ungeimpfte (z. B. zugekaufte) Tiere eine Gefährdung darstellen (Düwel, 1963; Peacock und Poynter, 1980). Wenn auch die Impfung keine sterile Immunität vermittelt, so schützt sie doch durchaus zuverlässig vor klinisch manifesten Erkrankungen: Peacock und Poynter (1980) berichteten, dass nur bei 0,13 % der geimpften Herden klinische Dictyocauloseausbrüche zu verzeichnen waren. Die Autoren ergänzten aber auch, dass wahrscheinlich mit einer höheren Dunkelziffer zu rechnen sei, da milde Verlaufsformen möglicherweise nicht gemeldet wurden. Düwel (1963) sieht als zugrunde liegende Ursache Belastungen durch andere Erreger. Sei eine solche zusätzliche Belastung nicht gegeben, blieben auch klinische Lungenwurmerkrankungen geimpfter Rinder aus.

Obwohl insgesamt gut wirksam, besteht gegenüber der Lungenwurmvakzine eine gewisse Zurückhaltung, da für die Herstellung experimentell infizierte Rinder benötigt werden. Neben diesen ethischen Aspekten ist der Herstellungsprozess aufwendig und mit hohen Kosten verbunden. Anschließend ist eine kühle Lagerung notwendig, um das Überleben der Impflarven zu gewährleisten – entsprechend ist der Lebendimpfstoff auch nur wenige Monate haltbar. Selbst nach der Applikation muss noch Sorge für die Impfwirkung getragen werden: So dürfen Anthelminthika frühestens zwei Wochen nach erfolgter Grundimmunisierung verabreicht werden. Neben den genannten Faktoren, die bei Nichtbeachtung den Tod der Larven und damit ein Impfversagen zur Folge haben, ist zu bedenken, dass eine Lebendvakzine auch nicht sterilisierbar ist. Entsprechend kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass mit der Vakzine auch andere Pathogene übertragen werden.

Seit kurzer Zeit ist eine weitere Vakzine gegen einen parasitischen Nematoden kommerziell in Australien erhältlich, nämlich Barbervax gegen den roten Magenwurm *Haemonchus contortus* (engl.: Barber´s pole worm). Dieser Parasit ist ein Blutsauger, der im Labmagen von Schaf und Ziege parasitiert und hohe Verluste insbesondere bei Lämmern verursachen kann. Die Vakzine wurde im Oktober 2014 zugelassen und innerhalb von zehn Tagen waren alle der 300 000 bereitgestellten Impfdosen verkauft (mündliche Mitteilung von David Smith, Moredun Research Institute, Edinburgh, UK). Es handelt sich um einen Totimpfstoff, der native *H. contortus*-Antigene

mit einem Saponin-basierten Adjuvans (Quil A) enthält. Diese nativen Antigene, der H-gal-GP-Komplex, sind integrale Membranglykoproteine, die im Darm des Wurmes lokalisiert sind und von Würmern geschlachteter Schafen mittels Lektin-Affinitätschromatografie gewonnen werden (Bassetto et al., 2014; Smith et al., 1999). Somit zählen sie zu den hidden antigens, also Antigenen, mit denen das Immunsystem des Wirtes normalerweise nicht in Kontakt kommt und daher auch keine Antikörper gegen sie ausbildet. Das bedeutet einerseits, dass es zwar keinen Boostereffekt durch natürliche Infektionen gibt, andererseits aber unterlagen die hidden antigens keinem evolutionären Selektionsdruck durch das Immunsystem des Wirtes. Entsprechend sind keine spezifischen Immunevasionsmechanismen ausgebildet, die eine Erkennung durch das Immunsystem des Wirtes verhindern würden – hidden antigens können daher die Achillesferse eines Parasiten sein (Munn, 1997).

Die Schutzwirkung von Barbervax beruht auf einer um durchschnittlich 80 % reduzierten Ausscheidung von *H. contortus*-Eiern durch die geimpften Lämmer (http://barbervax.com.au/about). Somit wird die Kontamination der Weide und folglich der Infektionsdruck stark reduziert. Die Effizienz einer Vakzine muss also nicht zwangsläufig 100 % betragen, sondern nach Modellrechnungen von Barnes et al. (1995) ist ein wirtschaftlicher Impferfolg gegen gastrointestinale Helminthen bei Schafen bereits dann gegeben, wenn eine Vakzine, die eine mit der natürlichen Immunität vergleichbare Immunantwort hervorruft, mit 60%iger Effizienz 80 % der Tiere einer Herde schützt. Im Falle einer hidden antigen-Vakzine wie Barbervax hingegen muss die Effizienz höher sein, um einen substanziellen Effekt zu erreichen – dem Modell nach ist hier eine 80%ige Effizienz bei 80 % der Tiere einer Herde notwendig. Das Ziel einer Impfung gegen parasitische Helminthen ist aber ohnehin nicht unbedingt eine vollständige Unterbindung der Eiausscheidung und Eliminierung der Wurmbürde, sondern die Induktion einer belastbaren Immunität, die durch weitere natürliche Boosterung aufrecht erhalten wird, um somit die wirtschaftlichen Verluste zu minimieren.

Durch den Charakter eines Totimpfoffs ist Barbervax länger haltbar (bis 2,5 Jahre) als der oben erwähnte Lungenwurm-Lebendimpfstoff und die Herstellung wirft auch keine ethischen Bedenken auf. Sie ist jedoch von der Verfügbarkeit von Schlachtschafen mit *H. contortus*-Befall abhängig. Zudem können die einzelnen Chargen der aus den Würmern isolierten Antigene variieren, zumal es sich hierbei um ein Proteingemisch handelt. Was die potenzielle Übertragung von Pathogenen angeht, so soll der eingesetzte Puffer, der 1 % Triton X-100 enthält, das Border Disease-, Parainfluenza 3- und Orf-Virus inaktivieren (persönliche Mitteilung von David Smith, Moredun Research Institute, Edinburgh, UK). Dennoch kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, dass keinerlei andere Pathogene übertragen werden können. So zeigten Peretz et al. (2006), dass Triton X-100 zumindest bei niedrigen pH-Werten nicht in der Lage ist, Prionproteine zu inaktivieren. Da jedoch Scrapie in Australien, wo die Vakzine bislang alleinig zugelassen ist, nicht vorkommt und die Vakzine ausschließlich aus „australischen" Würmern hergestellt wird, scheint diese potenzielle Transmissionsmöglichkeit gegenwärtig nicht gegeben zu sein. Bei einer Ausweitung der Zulassung auf andere Länder muss dieser Punkt jedoch aufgegriffen und geklärt werden – oder aber es dürften nur Würmer von australischen bzw. neuseeländischen Schafen zur Antigenproduktion verwendet werden. Ob es auf diesem Weg jedoch realistisch wäre, eine bedarfsdeckende Menge an Impfstoff zur Verfügung zu stellen, ist fraglich.

Neben den oben genannten Aspekten ist auch das intensive Barbervax-Impfschema, das fünf subkutane Injektionen pro Weidesaison vorsieht, mit einem hohen Arbeitsaufwand verbunden und nicht immer in bestehende Routinemaßnahmen zu integrieren. Ferner wird ein koproskopisches Monitoring der Lämmer in der Woche vor der zweiten Vakzinierung empfohlen, da insbesondere bei einem feuchten Frühjahr zeitgleich mit der zweiten Impfung auch eine anthelminthische Behandlung gegen *H. contortus* notwendig sein kann. Fasst man sämtliche kritischen Aspekte zusammen, so ist anzunehmen, dass eine gewinnbringende Vermarktung von Barbervax vorrangig in solchen Ländern gelingen kann, die wie Australien mit einer erheblichen Anthelminthika-Resistenzproblematik zu kämpfen haben.

Impfstoffentwicklung gegen Nematoden

Die Impfstoffentwicklung gegen parasitäre Nematoden ist insbesondere bei Wiederkäuern von prioritärer Bedeutung, da in manchen Ländern wie Australien und Neuseeland die Resistenzsituation bei gastrointestinalen Schafnematoden als dramatisch zu bezeichnen ist. Aber auch in Europa wurden Anthelminthikaresistenzen gegen die verbreitet eingesetzten Benzimidazole, Levamisol oder makrozyklischen Laktone wiederholt beschrieben, ebenso wurde bereits über Multiresistenzen gegen genannte Wirkstoffe bzw. Wirkstoffgruppen berichtet (Geurden et al., 2014; Papadopoulos et al., 2012). Besorgniserregend ist zudem, dass selbst gegen Monepantel, einem erst vor wenigen Jahren entdeckten Wirkstoff aus der neuen Klasse der Amino-Acetonitrilderivate, bereits drei Jahre nach der Markteinführung erste Resistenzen in niederländischen Schafherden zu verzeichnen sind (van den Brom et al., 2015). Aber auch das veränderte Verbraucherbewusstsein verlangt nach der Entwicklung von Impfstoffen, fordert es doch den Verzicht auf Chemotherapeutika. Diese Forderung ist in Betrieben, die nach den Richtlinien der biologischen Landwirtschaft produzieren, bereits insofern umgesetzt, als der Einsatz von Anthelminthika aus anderen als Tierschutzgründen verboten ist. Bei den Bemühungen zur Impfstoffentwicklung wird vorrangig eine rekombinante Vakzine angestrebt. Diese wäre kostengünstig zu produzieren und zudem unabhängig von Ausscheider- oder Schlachttieren als Materiallieferanten und damit seuchenhygienisch unbedenklich. Unter Berücksichtigung genannter Punkte ist davon auszugehen, dass sich derzeit nur ein rekombinanter Impfstoff global auf dem Markt behaupten könnte.

Leider zeigen die Erfahrungen, dass ein protektives natives Antigen längst noch keinen vielversprechenden rekombinanten Vakzinekandidaten darstellt. Während die Proteine des H-gal-GP-Komplexes von *H. contortus* in nativer Form als Barbervax-Impfstoff auf dem Markt sind, konnte mit einem Cocktail aus verschiedenen rekombinanten Proteinen dieses Komplexes keine Protektion erreicht werden (Cachat et al., 2010). Auch das rekombinant im Nematoden *Caenorhabditis*

(C.) *elegans* exprimierte integrale Membranglykoprotein H11 führte weder zu einer verminderten Wurmbürde noch zu einer verminderten Eiausscheidung (Roberts et al., 2013), während es sich in nativer Form als protektives Antigen erwies (Tab. 2; Übersicht bei Bassetto und Amarante, 2015). Als mögliche Ursachen vermuten die Autoren Unterschiede in der Konformation oder im Glykosylierungsmuster zwischen dem nativen und dem rekombinanten Antigen. Tatsächlich gibt es bei den zur Glykosylierung verwendeten Zuckermolekülen Unterschiede zwischen den parasitischen Nematoden und dem Modellorganismus *C. elegans* (mündliche Mitteilung von Cornelis [Ron] Hokke, Leiden University Medical Centre, Leiden, Niederlande). Durchaus erfolgreiche Pilotstudien hingegen kann eine spanische Arbeitsgruppe mit dem nativem wie auch rekombinant exprimiertem somatischen Antigen Hc23 sowie einer rekombinant exprimierten katalytischen Region der Serin/Threonin-Phosphatase 2A (PP2Ar) von *Angiostrongylus costaricensis*, die intranasal appliziert wurde, vorweisen: Die Impfung mit Hc23 gegen *H. contortus* resultierte in einer Reduktion der Wurmbürde als auch der Eiausscheidung von bis zu 86 % (Fawzi et al., 2015; Fawzi et al., 2014), mit dem heterologen PP2Ar wurde eine 78%ige bzw. 69%ige Reduktion der abomasalen *H. contortus*- bzw. *Teladorsagia circumcincta*-Bürde verzeichnet (Fawzi et al., 2013). Detaillierte sowie weitere Ergebnisse von Impfstudien gegen *H. contortus* und *T. circumcincta* sowie gegen die gastrointestinalen Rinderparasiten *Ostertagia ostertagi* und *Cooperia oncophora* sind in Tabelle 2 dargestellt. Ob die gegen den letztgenannten Parasiten so vielversprechenden Impfversuche mit nativem activation-associated secreted protein (ASP), die nach experimenteller Belastungsinfektion eine 91%ige Reduktion der Eiausscheidung und eine 41%ige Reduktion der Wurmbürde und im anschließenden Feldversuch eine 59%ige Reduktion der Eiausscheidung und eine 82%ige Reduktion der Wurmbürde ergaben (Vlaminck et al., 2015), auch mit rekombinantem ASP reproduzierbar sind, werden zukünftige Immunisierungsversuche zeigen müssen. Die hierfür notwendigen Ressourcen sind durch die Bewilligung des EU-Horizon2020-Projektes „PARAGONE – vaccines for animal parasites“ (Grant Agreement-Nummer H2020-SFS-2014-2-635408) bereitgestellt. Dieses Projekt führt in Teilen das EU-FP7-Projekt „PARAVAC- Vaccines against helminth infections“ (Grant Agreement-Nummer KBBE-2010-4-265862) fort. Das PARAGONE-Projekt, das eine Laufzeit von vier Jahren hat und erst kürzlich (April 2015) begonnen wurde, inkludiert neben *C. oncophora* noch *O. ostertagi, T. circumcincta* und *H. contortus* als weitere Nematoden-Zielkandidaten.

Neben den Anstrengungen zur Subunit-Vakzineentwicklung gegen gastrointestinale Nematoden des Rindes wurden auch Versuche unternommen, einen solchen Impfstoff gegen *D. viviparus* zu entwickeln (Übersicht: Tab. 2). Basierend auf den Ergebnissen von McKeand et al. (1995), die nach Immunisierung des Modellwirts „Meerschweinchen“ mit Acetylcholinesterase (AChE)-angereichertem exkretorisch-sekretorischen (ES)-Produkt adulter Lungenwürmer und anschließender Belastungsinfektion eine signifikante Reduktion der Wurmbürde erreicht hatten, testeten Matthews et al. (2001) rekombinant exprimierte AChE als Impfantigen. Dieser erste Versuch einer rekombinanten Vakzinierung gegen den Rinderlungenwurm resultierte jedoch weder in einer Reduktion der Larvenausscheidung noch der Wurmbürde. Dahingegen konnte von Holtum (2006) nach Quil A-adjuvantierter Impfung mit rekombinantem Major Sperm Protein (MSP), das für die Reproduktion des Nematoden essenziell ist und zudem ein immundominantes Protein adulter Lungenwürmer darstellt (Schnieder, 1992), eine 25%ige Reduktion der Larvenausscheidung erreichen, die Wurmbürde blieb jedoch unbeeinflusst. Deutlich erfolgreicher waren zwei Immunisierungsstudien mit rekombinant in *Escherichia*

TABELLE 2: *Erzielte Protektion bei Immunisierungsversuchen gegen Nematoden der Wiederkäuer*

Impfantigen	Reduktion der Ei- bzw. Larvenausscheidung	Reduktion der Wurmbürde	Referenz
Haemonchus contortus			
H11, nativ	71 %–nahezu 100 %	56 %–94 %	Übersicht bei Bassetto und Amarante (2015)
H11, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	Roberts et al. (2013)
Hc23, nativ	71 %–86 %	67 %/86 %	Fawzi et al. (2014)
Hc23, rekombinant	> 80 %	> 80 %	Fawzi et al. (2015)
H-gal-GP-Komplex-Proteincocktail, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	Cachat et al. (2010)
RPP2Ar von *A. costaricensis*, rekombinant	signifikante Reduktion	78 %	Fawzi et al. (2013)
Teladorsagia circumcincta			
RPP2Ar von *A. costaricensis*, rekombinant	signifikante Reduktion	69 %	Fawzi et al. (2013)
Proteincocktail, rekombinant	70 %/58 %	75 %/56 %	Nisbet et al. (2013)
Ostertagia ostertagi			
API, nativ	keine Protektion	keine Protektion	de Maere et al. (2005)
API, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	de Maere et al. (2005)
OPA, nativ	60 %	keine Protektion	Vercauteren et al. (2004)
OPA, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	Vercauteren et al. (2004)
ASP-1, nativ	74 %	47 %	Meyvis et al. (2007)
ASP-1, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	Geldhof et al. (2008)
HSP18, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	Vercauteren et al. (2006)
Cooperia oncophora			
ASP, nativ	91 %/59 %	41 %/82 %	Vlaminck et al. (2015)
Dictyocaulus viviparus			
AChE, rekombinant	keine Protektion	keine Protektion	Matthews et al. (2001)
MSP, rekombinant	25 %	keine Protektion	von Holtum (2006)
PMY, rekombinant	23 %–71 %, in einem Versuch auch fehlende Protektion	18 %–86 %	Joekel (2015); Strube et al. (2015)
Cysteinproteasen (Cathepsine und Legumaine)	bis zu 53 %, jedoch teilweise auch keine Protektion	bis zu 64 %, jedoch teilweise auch keine Protektion	unveröffentlicht

coli exprimiertem, Quil A-adjuvantierten *D. viviparus*-Paramyosin (PMY). Hierbei senkte dieses Impfantigen im Vergleich zur Kontrollgruppe die Larvenausscheidung im geometrischen Mittel um 67 % und 71 %, die entsprechende Wurmbürde war um 86 % und 68 % reduziert (Strube et al., 2015). In Folgestudien im Rahmen des EU-FP7-Projektes PARAVAC, in denen PMY rekombinant in der Hefe *Pichia pastoris* statt in *E. coli* produziert bzw. das Adjuvans Quil A gegen Matrix-Q™ ausgetauscht wurde, konnte jedoch nicht an die Protektionswirkung der initialen Versuche angeknüpft werden. Je nach PMY-Adjuvans-Kombination wurde eine um maximal 44 % reduzierte Larvenausscheidung und eine um maximal 36 % reduzierte Wurmbürde verzeichnet (Joekel, 2015). Neben PMY wurde im PARAVAC-Projekt auch das protektive Potenzial sechs verschiedener rekombinanter Cysteinproteasen (Cathepsin L, Cathepsine B1, B2, B3 sowie Legumain 1 und 2) des bovinen Lungenwurms evaluiert. Wenn auch bei der singulären Applikation der einzelnen rekombinanten Impfproteine die Larvenausscheidung um bis zu 46 % (Legumain 2) und die Wurmbürde um bis zu 64 % (Cathepsin B3) verringert war, ergab keine der evaluierten Cysteinproteasen eine deutliche Reduktion beider Parameter. Lediglich die Kombinationsimpfung mit den vier Cathepsinen resultierte mit einer um 53 % geringeren Larvenausscheidung und 48 % geringeren Wurmbürde in einer augenfälligen Reduktion beider Parameter (unveröffentlichte Ergebnisse). Die Ergebnisse rekombinanter Vakzineversuche gegen *D. viviparus* sind teilweise also durchaus ermutigend, bedürfen aber noch weiterer Forschung und Investitionen, bevor die Perspektive eines Impfstoffes auf dieser Basis seriös abgeschätzt werden kann.

Impfstoffentwicklung gegen Trematoden

Der bedeutsamste Trematode bei landwirtschaftlichen Nutztieren in Europa ist zweifelsfrei der große Leberegel *Fasciola* (*F.*) *hepatica*. Da in verschiedenen europäischen Ländern bereits Resistenzen des Parasiten gegen Triclabendazol vorliegen (zusammengefasst von Fairweather, 2005, 2009) und aus Spanien von Albendazol- und Clorsulonresistenzen berichtet wurde (Alvarez-Sanchez et al., 2006; Martinez-Valladares et al., 2014), besteht wie bei den Nematoden ein dringlicher Forschungsbedarf, um alternative Bekämpfungsstrategien wie beispielsweise Impfstoffe zu entwickeln.

Bereits 30–45 Exemplare von *F. hepatica* können bei Rindern und Schafen zu merklichen Produktionseinbußen führen (Dargie, 1987). Legt man den Schwellenwert bei 40 Egeln an, so würde von einer Vakzine bei einer nur niedrigen Wurmbürde von 80 Egeln eine Effizienz von 50 % verlangt, um wirtschaftliche Verluste zu vermeiden. Bei einer hohen Infektionsintensität von etwa 200 Egeln wäre hingegen eine Effizienz von 80 % erforderlich, um einen Impfstoff erfolgreich am Markt zu platzieren (Toet et al., 2014). Bei verschiedenen Impfstudien an Schafen und Rindern mit röntgenattenuierten Metazerkarien ergab sich - neben erfolglosen Versuchen – je nach Impfschema und Dauer bis zur Belastungsinfektion eine Verminderung der Egelbürde um 30–71 % (zusammengefasst von Haroun und Hillyer, 1986). Daher erschien es realistisch, einen Impfstoff gegen *F. hepatica* entwickeln zu können, obwohl die Ausbildung einer natürlichen Immunität zumindest beim Schaf nicht beobachtet wird und beim Rind auf die Fähigkeit, die parasitenbedingte Leberschädigung durch Fibrosierung zu begrenzen bzw. zu reparieren und die adulten Egel mittels Kalzifizierung der Gallengänge zu eliminieren, zurückgeführt wird (Dalton et al., 2013). Bezüglich der Vakzineentwicklung wurde in jüngerer Zeit wie auch bei den Nematoden auf einzelne Antigene fokussiert, also auf die Entwicklung einer Subunitvakzine hingearbeitet. Einige der Vakzinekandidaten sind dabei von den Bemühungen, einen Impfstoff gegen humane *Schistosoma*-Infektionen zu entwickeln, abgeleitet. Teilweise wurden sogar mit den jeweiligen *Schistosoma* spp.-Antigenen gegen den großen Leberegel geimpft (Tendler et al., 1995; Tendler et al., 1996; Almeida et al., 2003). Im Fokus der *F. hepatica*-Impftstoffentwicklung stehen dabei Proteasen wie Mitglieder der Cathepsinfamilie (z. B. Cathepsin L1 oder L2 sowie Cathepsin B2) oder die Leucin-Aminopeptidase (LAP), des Weiteren Fatty acid binding proteins (FABP), Hämoglobin, Paramyosin, Peroxiredoxin oder die Glutathion-S-Transferase (GST). Betrachtet man die von Toet et al. (2014) zusammengetragenen Ergebnisse nach Impfung von Wiederkäuern mit den genannten Antigenen in nativer wie auch rekombinanter Form, fällt die recht geringe Zahl erfolgreicher Studien auf. Lässt man Orientierungsversuche mit nur drei bis vier Tieren unberücksichtigt, erscheint Cathepsin L als vielversprechendster rekombinanter Vakzinekandidat. So erzielte rekombinantes Cathepsin L1 in einer Studie von Golden et al. (2010), in der geimpfte Rinder einer Leberegel-kontaminierten Weide exponiert wurden, immerhin eine Reduktion der Egelbürde von 48 %. Die Kombination aus rekombinanten Cathepsin L5 mit Cathepsin B erreichte sogar 83 % Protektion, jedoch wurde dieser Erfolg nicht unter Verwendung von Wiederkäuern, sondern im Rattenmodell erzielt (Jayaraj et al., 2009). Ebenfalls vielversprechend erscheinen Immunisierungsversuche von kleinen Wiederkäuern mit Cathepsin L-Mimotopen, also Peptiden, die natürliche Epitope eines Antigens imitieren. Die diesbezüglich von mexikanischen Wissenschaftlern durchgeführten Studien resultierten in einer signifikanten Schutzwirkung von 46–79 % (Villa-Mancera und Mendez-Mendoza, 2012; Villa-Mancera et al., 2008; Villa-Mancera et al., 2014). Letztlich konnte es bislang aber nicht gelingen, die für eine kommerzielle Vakzine notwendigen 80 % Protektion im Wirt „Wiederkäuer" zu erreichen. Dalton et al. (2013) sahen den Grund dafür in der immunmodulatorischen Fähigkeit des Parasiten, den schützenden Arm der Immunantwort des Wirtes zu unterdrücken, indem die Th2-Antwort vorangetrieben, die Th1-Antwort jedoch inhibiert wird. Könnte man also durch eine Impfung, die immunmodulierende Moleküle von *F. hepatica* enthält, verhindern, dass der Parasit eine Th2-Antwort induzieren kann, könnte die immunevasorische Fähigkeit von *F. hepatica* nicht mehr zum Tragen kommen (Dalton et al., 2013). Es bleibt abzuwarten, ob diese Vakzinierungsstrategie – insbesondere auch in Kombination mit anderen Antigenen wie beispielsweise Cathepsin L einen erfolgreichen Anfang finden kann.

Impfstoffentwicklung gegen Cestoden

Äußerst erfolgreich war die Entwicklung rekombinanter Impfstoffe gegen Cestoden, zumindest solcher gegen die Bandwurmfinnen (sog. Metacestoden) im Zwi-

schenwirt „Nutztier". Hier machte man sich ähnlich wie beim Lungenwurmimpfstoff die Ausbildung einer protektiven Immunität nach natürlicher Infektion zu Nutze. Bereits in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde die Immunität des Zwischenwirts „Ratte" gegen eine Re- bzw. Superinfektion mit *Taenia* (*T.*) *taeniaeformis* beschrieben (Miller, 1931), kurz darauf wurde der protektive Effekt vom Immunserum erkannt (Miller und Gardiner, 1932). Dieser richtet sich gegen die Onkosphäre bzw. den sehr frühen Metacestoden, da sämtliche als protektiv identifizierten Antigene ausschließlich in diesen Stadien exprimiert werden (Lightowlers et al., 2003). So entdeckten 40 Jahre nach der Beschreibung durch Miller (1931) australische Wissenschaftler bei Versuchen mit *T. ovis*, dass ES-Produkte der Onkosphäre die Immunität vermitteln (Rickard und Bell, 1971a; Rickard und Bell, 1971b). Knapp 20 Jahre später wurde ein Meilenstein in der parasitologischen Forschung erreicht: die erste protektive rekombinante Vakzine gegen einen Parasiten wurde vorgestellt – die in *E. coli* exprimierte sogenannte „45W"-Vakzine gegen *T. ovis* (Johnson et al., 1989). Hierauf folgte die Entwicklung rekombinanter Impfstoffe gegen weitere Arten der Gattung *Taenia*, nämlich gegen *T. saginata* in Rindern, *T. solium* in Schweinen und *T. multiceps* in Schafen. Aber auch gegen *Echinococcus granulosus* als einem weiteren Vertreter der Familie der *Taeniidae* wurden hoch effektive Vakzinen für den Zwischenwirt „Schaf" oder „Rind" entwickelt. Mit Ausnahme des rekombinanten Antigens Tm16 der *T. multiceps*, mit dem nur eine Protektion von 74 % erreicht werden konnte (Gauci et al., 2008), erzielte zumindest jeweils ein rekombinantes Impfantigen der anderen genannten Taeniiden eine Protektion von 99–100 % (Flisser et al., 2004; Harrison et al., 1996; Lightowlers et al., 1996a; Lightowlers et al., 1996b). Die protektive Wirkung, die nach der zweiten Immunisierung einsetzt, beträgt bei *T. ovis* nach sechs Monaten noch knapp 80 % (Harrison et al., 1999), bei *E. granulosus* nach beinahe einem Jahr noch knapp 100 % (Heath et al., 2003).

Leider ist bislang noch keine Cestodenvakzine kommerziell erhältlich. Ähnlich wie der *T. ovis*-45W-Vakzine, die aus wirtschaftlichen und politischen Gründen nie kommerzialisiert wurde (Rickard et al., 1995), erging es auch den anderen rekombinanten Vakzinen gegen Metacestodenbefall im Zwischenwirt „Nutztier" – bis heute ist keiner dieser doch so hoch effizienten Impfstoffe auf dem Markt verfügbar.

Impfstoffe gegen Arthropoden

Bezüglich der Impfstoffentwicklung gegen parasitische Arthropoden bei landwirtschaftlichen Nutztieren ist hervorzuheben, dass in diesem Feld tatsächlich ein rekombinanter Impfstoff zur Marktreife entwickelt worden ist, nämlich gegen die Rinderzecke *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. Bei dem rekombinanten Impfantigen, das tief intramuskulär appliziert werden sollte, handelt es sich um ein im Mitteldarm der Zecke lokalisiertes membranständiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 86 kDa, das sog. Bm86. Die mit dem Rinderblut aufgenommenen Antikörper gegen dieses hidden antigen behindern die Nahrungsaufnahme im Zeckendarm und schädigen diesen, was zum Tod der Zecke führen kann. Die Vakzine wurde bereits in den 90er Jahren unter dem Namen TickGARD® in Australien (Willadsen et al., 1995) bzw. Gavac® in Lateinamerika (Canales et al., 1997) auf den Markt gebracht. Letztere ist auch heute noch verfügbar, findet aber wegen der hohen Zahl an überlebenden Zecken insgesamt nur begrenzte Akzeptanz.

Bedeutender für Nutztierärzte in Mitteleuropa sind die – teilweise zwischenzeitlich leider wieder eingestellten – Bemühungen hinsichtlich einer Impfstoffentwicklung gegen Räudemilben (*Psoroptes* spp. und *Sarcoptes scabiei*), die rote Vogelmilbe (*Dermanyssus* [*D.*] *gallinae*) sowie gegen Dasselfliegen (*Hypoderma* spp.) und Myiasiserreger (*Lucilia* spp.). Als aussichtsreichster Kandidat erscheint derzeit *D. gallinae*, da verschiedene Gruppen an Immunisierungsstrategien arbeiten und zudem das Transkriptom bzw. Sekretom und Transmembranom des Parasiten verfügbar ist (Schicht et al., 2013; Schicht et al., 2014). Bisherige Vakzineversuche an Legehennen mit nativen, löslichen *D. gallinae*-Proteinen resultierten in einer Milbenmortalität von 51 % (Harrington et al., 2009a). Der Einsatz von heterologen rekombinanten Proteinen, nämlich Bm86 der Zecke *Rh. microplus* sowie Subolesin der Mücke *Aedes* (*A.*) *albopictus*, führte zu einer um 23 % bzw. 35 % erhöhten Mortalität bei *D. gallinae*-Milben, die in in-vitro-Versuchen mit dem Blut immunisierter Hühner gefüttert worden waren (Harrington et al., 2009b). Im Gegensatz zur durch *A. albopictus*-Subolesin induzierten Mortalitätserhöhung war die durch *Rh. microplus*-Bm86 statistisch nicht signifikant. Dieses Ergebnis ist insofern nicht verwunderlich, als die Analyse des Transkriptoms bzw. Transmembranoms keine Hinweise auf ein Bm86-Homolog bei *D. gallinae* ergab (Schicht et al., 2013; Schicht et al., 2014). Versuche mit rekombinant exprimierten Proteinen von *D. gallinae* selbst ergaben jedoch keine besseren Ergebnisse. Entsprechende Fütterungsversuche nach Impfung von Hühnern mit rekombinantem Histamine release factor-Protein sowie Cathepsin L resultierten in 7–8 % erhöhten Mortalitätsraten (Bartley et al., 2012; Bartley et al., 2009), für Cathepsin D als Vakzinekandidat ergab sich immerhin eine 19–23%ige Steigerung der Milbenmortalität (Bartley et al., 2012). Es ist zu hoffen, dass im Zuge der COST-Aktion "COREMI – Improving current understanding and research for sustainable control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae" (*COST Action FA1404) und des EU-Horizon2020-Projektes „PARAGONE – vaccines for animal parasites", in dem neben *D. gallinae* auch *P. ovis* berücksichtigt wird, deutlich bessere Impfergebnisse erzielt werden können.

Schlussfolgerung

Effektive Impfstoffe gegen Parasiten sind zwar durchaus Wirklichkeit geworden, letztlich jedoch nur für einen sehr kleinen Teil des parasitären Erregerspektrums. Daher ist die Möglichkeit einer Impfprophylaxe für die praktische Anwendung leider noch immer in vielen Bereichen ein unerfüllter Wunsch. Insbesondere die Entwicklung einer rekombinanten Vakzine gegen Parasiten bleibt – mit Ausnahme der Metacestoden – eine wissenschaftliche Herausforderung, sodass auf absehbare Zeit nicht mit der Zulassung kommerzieller rekombinanter Vakzinen zu rechnen ist. Ein Hindernis für die Impfstoffentwicklung stellen nicht zuletzt die sehr komplexen Erreger-Wirt-Beziehungen im Verlauf von Parasitosen dar, die immer noch nicht vollständig verstanden sind.

So verändern sich Parasiten während ihrer Entwicklung im Wirtsorganismus (Stadienkonversion, Antigenmuster), wechseln teils auch die Lokalisation (somatische Wanderung, Stadien-abhängige Gewebepräferenzen) oder verstecken sich in immunologisch inkompetenten Nischen (intrazelluläre Lage, Zystenbildung, Abkapselung), was die Immunantwort des Wirtes vor erhebliche Probleme stellt. Zudem sind insbesondere gut an ihren Wirt angepasste Parasiten durchaus in der Lage, aktiv und zum eigenen Nutzen modulierend auf die Immunreaktion Einfluss zu nehmen (Antigen-Shedding, Mediatoren). Häufig induzieren selbst natürliche Infektionen mit Endoparasiten keine vollständige sondern nur eine partielle Immunität, die durch Reinfektionen fortlaufend stimuliert werden muss (Infektionsimmunität, Prämunität). Mit lebenden Erregern lässt sich für viele Parasitosen eine hinreichende Immunprotektion erreichen, wohingegen inaktivierte oder gentechnisch erzeugte Vakzinen, auch wenn sie durch geeignete Adjuvantien in ihrer Wirkung optimiert werden können, häufig in der Effizienz der Immunstimulation an Grenzen stoßen, da sie die komplexen Interaktionen zwischen Erreger und Immunsystem nur in Teilen reproduzieren können. Möglicherweise ließen sich aber mit rekombinanten Kombinationsimpfungen durchaus additive oder synergistische Effekte erzielen. Hierbei wird es gelten, die richtigen „Paarungen“ ausfindig zu machen, was neben Zeit voraussichtlich viele Ressourcen in Anspruch nehmen wird. Forschende Einrichtungen sowie Industrie und Wirtschaft sind daher gemeinsam gefordert, auch trotz teilweise ernüchternder Ergebnisse oder vermeintlichem Stillstand die Entwicklung effizienter Impfstoffe gegen Parasiten voranzutreiben.

Conflict of interest

Es bestehen keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen an einem Produkt, Service und/oder einer Firma, welche die in diesem Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Literatur

Akpo Y, Kpodekon MT, Djago Y, Licois D, Youssao IAK (2012): Vaccination of rabbits against coccidiosis using precocious lines of *Eimeria magna* and *Eimeria media* in Benin. Vet Parasitol 184: 73–76.

Almeida MS, Torloni H, Lee-Ho P, Vilar MM, Thaumaturgo N, Simpson AJ, Tendler M (2003): Vaccination against *Fasciola hepatica* infection using a *Schistosoma mansoni* defined recombinant antigen, Sm14. Parasite Immunol 25: 135–137.

Alnassan AA, Kotsch M, Shehata AA, Krüger M, Daugschies A, Bangoura B (2014): Necrotic enteritis in chickens: development of a straightforward disease model system. Vet Rec 174: 555–561.

Alvarez-Sanchez MA, Mainar-Jaime RC, Perez-Garcia J, Rojo-Vazquez FA (2006): Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole and albendazole in sheep in Spain. Vet Rec 159: 424–425.

Bain RK, Urquhart GM (1988): Parenteral vaccination of calves against the cattle lungworm *Dictyocaulus viviparus*. Res Vet Sci 45: 270–271.

Baltzell P, Newton H, O'Connor AM (2013): A critical review and meta-analysis of the efficacy of whole-cell killed *Tritrichomonas foetus* vaccines in beef cattle. J Vet Intern Med 27: 760–770.

Bangoura B, Alnassan AA, Lendner M, Shehata AA, Krüger M, Daugschies A (2014): Efficacy of an anticoccidial live vaccine in prevention of necrotic enteritis in chickens. Exp Parasitol 145: 125–134.

Barnes EH, Dobson RJ, Barger IA (1995): Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. Parasitol Today 11: 56–63.

Bartley K, Huntley JF, Wright HW, Nath M, Nisbet AJ (2012): Assessment of cathepsin D and L-like proteinases of poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer), as potential vaccine antigens. Parasitology 139: 755–765.

Bartley K, Nisbet AJ, Offer JE, Sparks NH, Wright HW, Huntley JF (2009): Histamine release factor from *Dermanyssus gallinae* (De Geer): characterization and in vitro assessment as a protective antigen. Int J Parasitol 39: 447–456.

Bassetto CC, Amarante AF (2015): Vaccination of sheep and cattle against haemonchosis. J Helminthol 89(5): 517-525.

Bassetto CC, Picharillo ME, Newlands GF, Smith WD, Fernandes S, Siqueira ER, Amarante AF (2014): Attempts to vaccinate ewes and their lambs against natural infection with *Haemonchus contortus* in a tropical environment. Int J Parasitol 44: 1049–1054.

Bock R, Jackson L, De Vos A, Jorgensen W (2004): Babesiosis of cattle. Parasitology 129: S247–S269.

Brown WC, Norimine J, Goff WL, Suarez CE, McElwain TF (2006*): Prospects for recombinant vaccines against *Babesia bovis* and related parasites. Parasite Immunol 28: 315–327.

Cachat E, Newlands GF, Ekoja SE, McAllister H, Smith WD (2010): Attempts to immunize sheep against *Haemonchus contortus* using a cocktail of recombinant proteases derived from the protective antigen, H-gal-GP. Parasite Immunol 32: 414–419.

Canales M, Enriquez A, Ramos E, Cabrera D, Dandie H, Soto A, Falcon V, Rodriguez M, de la Fuente J (1997): Large-scale production in *Pichia pastoris* of the recombinant vaccine Gavac against cattle tick. Vaccine 15: 414–422.

Chapman HD (2008): Coccidiosis in the turkey. Avian Pathol 37: 205–223.

Chapman HD, Barta JR, Blake D, Gruber A, Jenkins M, Smith NC, Suo X, Tomley FM (2013): A Selective Review of Advances in Coccidiosis Researc. Adv Parasitol 83: 93–171.

Chapman, HD, Jeffers, TK (2015): Restoration of sensitivity to salinomycin in *Eimeria* following 5 flocks of broiler chickens reared in floor-pens using drug programs and vaccination to control coccidiosis. Poultry Sci 94: 943–946.

Da Cunha IAL, Zulpo DL, Bogado ALG, de Barros LD, Taroda A, Igarashi M, Navarro IT, Garcia JL (2012): Humoral and cellular immune responses in pigs immunized intranasally with crude rhoptry proteins of *Toxoplasma gondii* plus Quil-A. Vet Parasitol 186: 216–221.

Dalton JP, Robinson MW, Mulcahy G, O'Neill SM, Donnelly S (2013): Immunomodulatory molecules of *Fasciola hepatica*: candidates for both vaccine and immunotherapeutic development. Vet Parasitol 195: 272–285.

Dargie JD (1987): The impact on production and mechanisms of pathogenesis of trematode infections in cattle and sheep. Int J Parasitol 17: 453–463.

De Maere V, Vercauteren I, Gevaert K, Vercruysse J, Claerebout E (2005): An aspartyl protease inhibitor of *Ostertagia ostertagi*: molecular cloning, analysis of stage and tissue specific expression and vaccine trial. Mol Biochem Parasitol 141: 81–88.

Dubey JP, Urban JF, Davis SE (1991): Protective immunity to toxoplasmosis in pigs vaccinated with a nonpersistent strain of *Toxoplasma gondii*. Am J Vet Res 52: 1316–1319.

Düwel D (1963): Die künstliche Immunisierung beim Lungenwurmbefall des Rindes. Monatsh für Tierheilkunde 15: 334–345.

Eisenegger H, Eckert J (1975): Epizootiology and prevention of dictyocauliasis and trichostrongyloidiasis in cattle. Schweiz Arch Tierheilkd 117: 255–286.

Falcon J, Freyre A (2009): *Toxoplasma gondii*: prototype immunization of lambs against formation of muscle and brain cysts. Vet Parasitol 166: 15–20.

Fairweather I (2009): Triclabendazole progress report, 2005–2009: an advancement of learning? J Helminthol 83: 139–150.

Fairweather I (2005): Triclabendazole: new skills to unravel an old(ish) enigma. J Helminthol 79: 227–234.

Fawzi EM, Cruz Bustos T, Gomez Samblas M, Gonzalez-Gonzalez G, Solano J, Gonzalez-Sanchez ME, De Pablos LM, Corral-Caridad MJ, Cuquerella M, Osuna A, Alunda JM (2013): Intranasal immunization of lambs with serine/threonine phosphatase 2A against gastrointestinal nematodes. Clin Vaccine Immunol 20: 1352–1359.

Fawzi EM, Gonzalez-Sanchez ME, Corral MJ, Alunda JM, Cuquerella M (2015): Vaccination of lambs with the recombinant protein rHc23 elicits significant protection against *Haemonchus contortus* challenge. Vet Parasitol 211: 54–59.

Fawzi EM, Gonzalez-Sanchez ME, Corral MJ, Cuquerella M, Alunda JM (2014): Vaccination of lambs against *Haemonchus contortus* infection with a somatic protein (Hc23) from adult helminths. Int J Parasitol 44: 429–436.

Flisser A, Gauci CG, Zoli A, Martinez-Ocana J, Garza-Rodriguez A, Dominguez-Alpizar JL, Maravilla P, Rodriguez-Canul R, Avila G, Aguilar-Vega L, Kyngdon C, Geerts S, Lightowlers MW (2004): Induction of protection against porcine cysticercosis by vaccination with recombinant oncosphere antigens. Infect Immun 72: 5292–5297.

Florin-Christensen M, Suarez CE, Rodriguez AE, Flores DA, Schnittger L (2014): Vaccines against bovine babesiosis: where we are now and possible roads ahead. Parasitology 141: 1563–1592.

Garcia JL, Innes EA, Katzer F (2014): Current progress toward vaccines against *Toxoplasma gondii*. Vaccine: Development and Therapy 4: 23–37.

Gauci C, Vural G, Oncel T, Varcasia A, Damian V, Kyngdon CT, Craig PS, Anderson GA, Lightowlers MW (2008): Vaccination with recombinant oncosphere antigens reduces the susceptibility of sheep to infection with *Taenia multiceps*. Int J Parasitol 38: 1041–1050.

Geldhof P, Meyvis Y, Vercruysse J, Claerebout E (2008): Vaccine testing of a recombinant activation-associated secreted protein (ASP1) from *Ostertagia ostertagi*. Parasite Immunol 30: 57–60.

Geriletu, Lixin Xua, Xurihua, Xiangrui Li (2011): Vaccination of chickens with DNA vaccine expressing *Eimeria tenella* MZ5-7 against coccidiosis. Vet Parasitol 177: 6–12.

Geurden T, Hoste H, Jacquiet P, Traversa D, Sotiraki S, Frangipane di Regalbono A, Tzanidakis N, Kostopoulou D, Gaillac C, Privat S, Giangaspero A, Zanardello C, Noe L, Vanimisetti B, Bartram D (2014): Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. Vet Parasitol 201: 59–66.

Golden O, Flynn RJ, Read C, Sekiya M, Donnelly SM, Stack C, Dalton JP, Mulcahy G (2010): Protection of cattle against a natural infection of *Fasciola hepatica* by vaccination with recombinant cathepsin L1 (rFhCL1). Vaccine 28: 5551–5557.

Haroun ET, Hillyer GV (1986): Resistance to fascioliasis – a review. Vet Parasitol 20: 63–93.

Harrington D, Din HM, Guy J, Robinson K, Sparagano O (2009a): Characterization of the immune response of domestic fowl following immunization with proteins extracted from *Dermanyssus gallinae*. Vet Parasitol 160: 285–294.

Harrington D, Canales M, de la Fuente J, de Luna C, Robinson K, Guy J, Sparagano O (2009b): Immunisation with recombinant proteins subolesin and Bm86 for the control of *Dermanyssus gallinae* in poultry. Vaccine 27: 4056–4063.

Harrison GB, Heath DD, Dempster RP, Gauci C, Newton SE, Cameron WG, Robinson CM, Lawrence SB, Lightowlers MW, Rickard MD (1996): Identification and cDNA cloning of two novel low molecular weight host-protective antigens from *Taenia ovis* oncospheres. Int J Parasitol 26: 195–204.

Harrison GB, Shakes TR, Robinson CM, Lawrence SB, Heath DD, Dempster RP, Lightowlers MW, Rickard MD (1999): Duration of immunity, efficacy and safety in sheep of a recombinant *Taenia ovis* vaccine formulated with saponin or selected adjuvants. Vet Immunol Immunopathol 70: 161–172.

Heath DD, Jensen O, Lightowlers MW (2003): Progress in control of hydatidosis using vaccination – a review of formulation and delivery of the vaccine and recommendations for practical use in control programmes. Acta Trop 85: 133–143.

Innes EA, Bartley PM, Maley S, Katzer F, Buxton D (2009): Veterinary vaccines against *Toxoplasma gondii*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 104: 246–251.

Jarrett WFH, Jennings FW, M. MWI, Mulligan W, Urquhart GM (1955): Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection. Passive immunisation. Vet. Rec. 67: 291–297.

Jayaraj R, Piedrafita D, Dynon K, Grams R, Spithill TW, Smooker PM (2009): Vaccination against fasciolosis by a multivalent vaccine of stage-specific antigens. Vet Parasitol 160: 230–236.

Joekel D (2015): Rekombinante Antigene als Vakzinekandidaten gegen den Rinderlungenwurm *Dictyocaulus viviparus* – in vitro Untersuchungen und Immunisierungsversuche. Hannover, Tierärztl. Hochsch., PhD-These.

Johnson M, Labes RE, Taylor MJ, Mackintosh CG (2003): Efficacy trial of an irradiated cattle lungworm vaccine in red deer (*Cervus elaphus*). Vet Parasitol 117: 131–137.

Johnson KS, Harrison GB, Lightowlers MW, O'Hoy KL, Cougle WG, Dempster RP, Lawrence SB, Vinton JG, Heath DD, Rickard MD (1989): Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. Nature 338: 585–587.

Katzer F , Canton G , Burrells A, Palarea-Albaladejo J, Horton B, Bartley PM, Pang Y, Chianini F, Innes EA, Benavides J (2014): Immunization of lambs with the S48 strain of *Toxoplasma gondii* reduces tissue cyst burden following oral challenge with a complete strain of the parasite Vet Parasitol 205: 46–56.

Khalafalla RE, Daugschies A, Dyachenko V (2011): Cross-reactivity of anti-*Eimeria tenella* antibody fragments on merozoites and sporozoites of different chicken *Eimeria* species. Parasitol Res 108: 745–749.

Kivaria FM, Ruheta MR, Mkonyi PA, Malamsha PC (2007): Epidemiological aspects and economic impact of bovine theileriosis (East Coast Fever) and its control: a preliminary assessment with special reference to Kibaha district, Tanzania. Vet J 173: 384–390.

Lee SH, Lillehoj HS, Park DW, Jang SI, Morales A, Garcia D, Lucio E, Larios R, Victoria G, Marrufo D, Lillehoj EP (2008): Induction of passive immunity in broiler chickens against *Eimeria acervulina* by hyperimmune egg yolk Immunoglobulin Y. Poutry Sci 88: 562–566.

Licois D, Coudert P, Drouet-Viard F, Boivin M (1994): *Eimeria media*: selection and characterization of a precocious line. Parasitol Res 80: 48–52.

Licois D, Coudert P, Drouet-Viard F, Boivin M (1995): *Eimeria magna*: pathogenicity, immunogenicity and selection of a precocious line. Vet Parasitol 60: 27–35.

Lightowlers MW (2014): Vaccinations. In: Bowman, D (ed.): Georgis Parasitology for Veterinarians, 10th edition, Elsevier Health Sciences, 432–450.

Lightowlers MW, Gauci CG, Chow C, Drew DR, Gauci SM, Heath DD, Jackson DC, Dadley-Moore DL, Read AJ (2003): Molecular and genetic characterisation of the host-protective oncosphere antigens of taeniid cestode parasites. Int J Parasitol 33: 1207–1217.

Lightowlers MW, Lawrence SB, Gauci CG, Young J, Ralston MJ, Maas D, Health DD (1996a): Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen. Parasite Immunol 18: 457–462.

Lightowlers MW, Rolfe R, Gauci CG (1996b): *Taenia saginata*: vaccination against cysticercosis in cattle with recombinant oncosphere antigens. Exp Parasitol 84: 330–338.

Lillehoj HS, Min W, Dalloul RA (2004): Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to *Eimeria*. Poultry Sci 83: 611–623.

Martinez-Valladares M, Cordero-Perez C, Rojo-Vazquez FA (2014): Efficacy of an anthelmintic combination in sheep infected with *Fasciola hepatica* resistant to albendazole and clorsulon. Exp Parasitol 136: 59–62.

Matthews JB, Davidson AJ, Freeman KL, French NP (2001): Immunisation of cattle with recombinant acetylcholinesterase from *Dictyocaulus viviparus* and with adult worm ES products. Int J Parasitol 31: 307–317.

Mazuz ML , Fish L, Wolkomirsky R, Leibovich R, Reznikov D, Savitsky I, Golenser J, Shkap V (2015): The effect of a live *Neospora caninum* tachyzoite vaccine in naturally infected pregnant dairy cows. Prev Vet Med 120: 232–235.

McKeand JB, Knox DP, Duncan JL, Kennedy MW (1995): Immunisation of guinea pigs against *Dictyocaulus viviparus* using adult ES products enriched for acetylcholinesterases. Int J Parasitol 25: 829–837.

Menear HC, Swarbrick O (1968): Husk vaccination: observations arising from a field trial. Veterinarian 5: 201–210.

Mevelec MN, Ducournau C, Ismael AB, Olivier M, Seche E, Lebrun M, Bout D, Dimier-Poisson I (2010): Mic1-3 knockout *Toxoplasma gondii* is a good candidate for a vaccine against *T. gondii*-induced abortion in sheep. Vet Res 41: 49–60.

Meyvis Y, Geldhof P, Gevaert K, Timmerman E, Vercruysse J, Claerebout E (2007): Vaccination against *Ostertagia ostertagi* with subfractions of the protective ES-thiol fraction. Vet Parasitol 149: 239–245.

Miller HM Jr. (1931): Immunity of the albino rat to superinfestation with *Cysticercus fasciolaris*. J Prev Med 5: 453–464.

Miller HM Jr., Gardiner ML (1932): Passive immunity to infection with a metazoan parasite, *Cysticercus fasciolaris*, in the albino rat. J Prev Med 6: 479–496.

Morrison WI, Connelley T, Hemmink JD, MacHugh ND (2015): Understanding the basis of parasite strain-restricted immunity to *Theileria parva*. Annu Rev Anim Biosci 3: 397–418.

Munn EA (1997): Rational design of nematode vaccines: hidden antigens. Int J Parasitol 27: 359–366.

Nisbet AJ, McNeilly TN, Wildblood LA, Morrison AA, Bartley DJ, Bartley Y, Longhi C, McKendrick IJ, Palarea-Albaladejo J, Matthews JB (2013): Successful immunization against a parasitic nematode by vaccination with recombinant proteins. Vaccine 31: 4017–4023.

Pakandl M (2009): Coccidia of rabbit: a review. Fol Parasitol 56: 153–166.

Papadopoulos E, Gallidis E, Ptochos S (2012): Anthelmintic resistance in sheep in Europe: a selected review. Vet Parasitol 189: 85–88.

Peacock R, Poynter D (1980): Field experience with a bovine lungworm vaccine. Symposia of the British Society for Parasitology 18: 141–148.

Peretz D, Supattapone S, Giles K, Vergara J, Freyman Y, Lessard P, Safar JG, Glidden DV, McCulloch C, Nguyen HO, Scott M, Dearmond SJ, Prusiner SB (2006): Inactivation of prions by acidic sodium dodecyl sulfate. J Virol 80: 322–331.

Reichel MP, Ellis JT (2009): *Neospora caninum* – how close are we to development of an efficacious vaccine that prevents abortion in cattle? Int J Parasitol 39: 1173–1187.

Reichel MP, Moore DP, Hemphill A, Ortega-Mora LM, Dubey JP, Ellis JT (2015): A live vaccine against *Neospora caninum* abortions in cattle. Vaccine 33: 1299–1301.

Rickard MD, Bell KJ (1971a): Induction of immunity of lambs to a larval cestode by diffusible antigens. Nature 232: 120.

Rickard MD, Bell KJ (1971b): Successful vaccination of lambs against infection with *Taenia ovis* using antigens produced during in vitro cultivation of the larval stages. Res Vet Sci 12: 401–402.

Rickard MD, Harrison GB, Heath DD, Lightowlers MW (1995): *Taenia ovis* recombinant vaccine-'quo vadit'. Parasitology 110 Suppl: S5–9.

Roberts B, Antonopoulos A, Haslam SM, Dicker AJ, McNeilly TN, Johnston SL, Dell A, Knox DP, Britton C (2013): Novel expression of *Haemonchus contortus* vaccine candidate aminopeptidase H11 using the free-living nematode *Caenorhabditis elegans*. Vet Res 44: 111.

Rojo-Montejo S, Collantes-Fernandez E, Perez-Zaballos F, Rodriguez-Marcos S, Blanco-Murcia J, Rodriguez-Bertos A, Prenafeta A, Ortega-Mora LM (2013): Effect of vaccination of cattle with the low virulence Nc-Spain 1H isolate of *Neospora caninum* against a heterologous challenge in early and mid-gestation. Vet Res 44: 106–119.

Schicht S, Qi W, Poveda L, Strube C (2013): The predicted secretome and transmembranome of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Parasit Vectors 6: 259.

Schicht S, Qi W, Poveda L, Strube C (2014): Whole transcriptome analysis of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778). Parasitology 141: 336–346.

Schnieder T (1992): *Dictyocaulus viviparus*: isolation and characterization of a recombinant antigen with potential for immunodiagnosis. Int J Parasitol 22: 933–938.

Schnieder T, Bellmer A, Wheeler S (1992): Antibody responses to natural *Dictyocaulus viviparus* exposure in first year grazing cattle using vaccination or different kinds of anthelmintic treatment. Zentralbl Veterinarmed B 39: 563–570.

Sharman PA, Smith NC, Wallach MG, Katrib M (2010): Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. Parasite Immunol 32: 590–598.

Shkap V, Pipano E (2000): Culture-derived parasites in vaccination of cattle against tick-borne diseases. In: House, JA, Kocan, KM, Gibbs EPJ: Tropical Veterinary Diseases: Control and Prevention in the Context of the New World Order. Annals NY Academy of Sciences Volume: 916 Pages: 154–171.

Smith SK, Pettit D, Newlands GF, Redmond DL, Skuce PJ, Knox DP, Smith WD (1999): Further immunization and biochemical studies with a protective antigen complex from the microvillar membrane of the intestine of *Haemonchus contortus*. Parasite Immunol 21: 187–199.

Song X, Ren Z, Yan R, Xu L, Li X (2015): Induction of protective immunity against *Eimeria tenella, Eimeria necatrix, Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina* infections using multivalent epitope DNA vaccines. Vaccine 33: 2764–2770.

Strube C, Haake C, Sager H, Schorderet Weber S, Kaminsky R, Buschbaum S, Joekel D, Schicht S, Kremmer E, Korrell J, Schnieder T, von Samson-Himmelstjerna G (2015): Vaccination with recombinant paramyosin against the bovine lungworm *Dictyocaulus viviparus* considerably reduces worm burden and larvae shedding. Parasit Vectors 8: 119.

Supply P, Sutton P, Coughlan SN, Bilo K, Saman E, Trees AJ, Cesbron Delauw MF, Locht C (1999): Immunogenicity of recombinant BCG poroducing GRA1 antigen from *Toxoplasma gondii*. Vaccine 17: 705–714.

Tendler M, Vilar MM, Brito CA, Freire NM, Katz N, Simpson A (1995): Vaccination against schistosomiasis and fascioliasis with the new recombinant antigen Sm14: potential basis of a multi-valent anti-helminth vaccine? Mem Inst Oswaldo Cruz 90: 255–256.

Tendler M, Brito CA, Vilar MM, Serra-Freire N, Diogo CM, Almeida MS, Delbem AC, Da Silva JF, Savino W, Garratt RC, Katz N, Simpson AS (1996): A *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual-purpose anti-helminth vaccine. Proc Natl Acad Sci USA 93: 269–273.

Toet H, Piedrafita DM, Spithill TW (2014): Liver fluke vaccines in ruminants: strategies, progress and future opportunities. Int J Parasitol 44: 915–927.

Van den Brom R, Moll L, Kappert C, Vellema P (2015): *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. Vet Parasitol 209: 278–280.

Vercauteren I, de Maere V, Vercruysse J, Stevens M, Gevaert K, Claerebout E (2006): A small heat shock protein of *Ostertagia ostertagi:* stage-specific expression, heat inducibility, and protection trial. J Parasitol 92: 1244–1250.

Vercauteren I, Geldhof P, Vercruysse J, Peelaers I, van den Broeck W, Gevaert K, Claerebout E (2004): Vaccination with an *Ostertagia ostertagi* polyprotein allergen protects calves against homologous challenge infection. Infect Immun 72: 2995–3001.

Villa-Mancera A, Mendez-Mendoza M (2012): Protection and antibody isotype responses against *Fasciola hepatica* with specific antibody to pIII-displayed peptide mimotopes of cathepsin L1 in sheep. Vet J 194: 108–112.

Villa-Mancera A, Quiroz-Romero H, Correa D, Ibarra F, Reyes-Perez M, Reyes-Vivas H, Lopez-Velazquez G, Gazarian K, Gazarian T, Alonso RA (2008): Induction of immunity in sheep to *Fasciola hepatica* with mimotopes of cathepsin L selected from a phage display library. Parasitology 135: 1437–1445.

Villa-Mancera A, Reynoso-Palomar A, Utrera-Quintana F, Carreon-Luna L (2014): Cathepsin L1 mimotopes with adjuvant Quil A induces a Th1/Th2 immune response and confers significant protection against *Fasciola hepatica* infection in goats. Parasitol Res 113: 243–250.

Vlaminck J, Borloo J, Vercruysse J, Geldhof P, Claerebout E (2015): Vaccination of calves against *Cooperia oncophora* with a double-domain activation-associated secreted protein reduces parasite egg output and pasture contamination. Int J Parasitol 45: 209–213.

Von Holtum C (2006): Immunreaktion im Kalb auf das rekombinante Major Sperm Protein von *Dictyocaulus viviparus* als Glutathion-S-Transferase Fusionsprotein. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

Weston JF, Heuer C, Williamson NB (2012): Efficacy of *Neospora caninum* killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle. Prev Vet Med 103: 136–144.

Willadsen P, Bird P, Cobon GS, Hungerford J (1995): Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. Parasitology 110 Suppl: S43–50.

Williams RB, Carlyle WH, Bond DR, Brown IAG (1999): The efficacy and economic benefits of Paracox®, a live attenuated anticoccidial vaccine in commercial trials with standard broiler chickens in the United Kingdom. Int J Parasitol 29: 341–355.

Yin H, Luo J, Lu W (2008): Control of tropical theileriosis with attenuated schizont vaccine in China. Vaccine 265: G11–G13.

Zimmermann J, Saalbach I, Jahn D, Giersberg M, Haehnel S, Wedel J, Macek J, Zoufal K, Glünder G, Falkenburg D, Kipriyanov SM (2009): Antibody expressing pea seeds as fodder for prevention of gastrointestinal parasitic infections in chickens. BMC Biotech 2009: 9: 79.

Zintl A, Mulcahy G, Skerrett HE, Taylor SM, Gray JS (2003): *Babesia divergens,* a blood parasite of veterinary and zoonotic importance. Clin Microbiol Rev: 16: 622–636.

Korrespondenzadresse:
Prof. Dr. Christina Strube, PhD
Institut für Parasitologie
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17
30559 Hannover
christina.strube@tiho-hannover.de