

## Erste Fälle von Besnoitiose bei Rindern in der Schweiz

M. Lesser<sup>1</sup>, U. Braun<sup>1</sup>, P. Deplazes<sup>2</sup>, B. Gottstein<sup>3</sup>, M. Hilbe<sup>4</sup>, W. Basso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departement für Nutztiere und <sup>2</sup>Institut für Parasitologie, Universität Zürich, <sup>3</sup>Institut für Parasitologie, Universität Bern, <sup>4</sup>Institut für Veterinärpathologie, Universität Zürich

### Zusammenfassung

Die bovine Besnoitiose wurde bisher in den Nachbarländern, nicht aber in der Schweiz selbst diagnostiziert. In Frankreich tritt sie endemisch auf, in Deutschland und Italien wurde von einzelnen, fokalen Ausbrüchen berichtet. Um zu bestimmen ob durch den Import von Rindern aus endemischen Gebieten Frankreichs *Besnoitia besnoiti* bereits in die Schweiz gelangt ist, wurde eine systematische serologische Untersuchung durchgeführt. Insgesamt wurden 412 Zuchtrinder (aus 114 Betrieben), die zwischen 2005 und 2011 aus Frankreich in die Schweiz importiert wurden, serologisch auf Antikörper gegen *B. besnoiti* mit einem kommerziellen ELISA Kit (ELISA PrioCHECK® Besnoitia Ab 2.0, Prionics AG, Zürich, Schweiz) untersucht. Bei 64 (15.5 %) Tiere wurden positive ELISA Werte erhalten. Die serologische Diagnose konnte mittels Immunfluoreszenztest (IFAT) und Westernblot (WB) nur bei 2 aus Frankreich importierten Limousin-Kühen aus einem Betrieb in der Ost-Schweiz bestätigt werden. Anschliessend wurde in diesem Betrieb die ganze Herde (n = 16) klinisch und serologisch untersucht. Aus dieser Herde reagierten 2 weitere Limousin-Kühe aus Deutschland, ebenfalls positiv in allen 3 Tests. Eine dieser Kühe zeigte *B. besnoiti*-Zysten an den skleralen Konjunktiven und typische Hautveränderungen in der Kopfregion. Die Infektion wurde zytologisch, histopathologisch und mittels PCR bestätigt. Es muss davon ausgegangen werden, dass der Parasit durch den Import von infizierten Tieren in die Schweiz gelangt ist.

Schlüsselwörter: *Besnoitia besnoiti*, Rind, Schweiz, Diagnose, Tierimport

### First cases of besnoitiosis in cattle in Switzerland

Bovine besnoitiosis has been diagnosed in neighboring countries but not in Switzerland so far. This disease occurs endemically in France and focal outbreaks have been reported in Germany and Italy. To determine if *Besnoitia besnoiti* is introduced into Switzerland through the import of breeding cattle from France, a systematic serological survey was performed. A total of 412 breeding cattle (from 114 farms) imported from France into Switzerland between 2005 and 2011, were serologically examined for antibodies against *B. besnoiti* using a commercial ELISA kit (PrioCHECK® Besnoitia Ab 2.0, Prionics AG, Zurich, Switzerland). Sixty-four (15.5 %) animals reacted positive in ELISA. The serologic diagnosis was confirmed by an indirect immunofluorescence test (IFAT) and a Western blot (WB) in only 2 Limousin cows imported from France on a farm in Eastern Switzerland. Subsequently, this whole herd (n = 16) was examined clinically and serologically and 2 additional Limousin cows imported from Germany also reacted positive in the three serological tests. One of these cows presented *B. besnoiti* tissue cysts in the scleral conjunctiva and typical skin lesions in the head region. The infection was further confirmed cytologically, histopathologically and by PCR. It can be concluded that the parasite is most likely being introduced into Switzerland through the import of infected animals.

Keywords: *Besnoitia besnoiti*, cattle, Switzerland, diagnosis, animal trade

### Einleitung

*Besnoitia besnoiti* gehört zur Gruppe der zystenbildenden Kokzidien und ist eng mit *Toxoplasma gondii* und *Neospora caninum* verwandt. Dieser Parasit wurde erst-

malig vor ca. 100 Jahren in Südfrankreich beschrieben (Besnoit and Robin, 1912) und schien Jahrzehnte auf endemische Gebiete Frankreichs, Portugals und Spaniens beschränkt zu sein. In den letzten Jahren haben sich jedoch die Berichte über die Ausbreitung der Fälle von

## 470 Originalarbeiten/Original contributions

boviner Besnoitiose in diesen Ländern gehäuft (Cortes et al., 2006b; Alzieu et al., 2007; Fernandez-Garcia et al., 2008; Liénard et al., 2011). Ende 2008 wurde die Besnoitiose erstmals in Deutschland diagnostiziert (Schaes et al., 2009; Rostaher et al., 2010), und 2009 und 2011 wurde über autochthone Fälle in Norditalien berichtet (Gollnick et al., 2010; Manuali et al., 2011; Gentile et al., 2012). Die European Food Safety Authority (EFSA) stufte die bovine Besnoitiose in einer Stellungnahme im Jahre 2010 als «emerging disease» ein und sprach eine Empfehlung aus, weitere epidemiologische Untersuchungen, vor allem in endemischen Gebieten, durchzuführen, um die noch unklaren Übertragungswege aufzudecken (EFSA, 2010).

Die bovine Besnoitiose kommt bei Rindern aller Altersgruppen und Rassen vor. In betroffenen Herden kann die Besnoitiose zu grossen wirtschaftlichen Verlusten führen, sei es durch eine Reduktion der Milch- und Fleischproduktion sowie der Fruchtbarkeit, aber auch durch den Verlust der erkrankten Tiere durch vorzeitige Schlachtung oder Tod im finalen Stadium. Allerdings zeigt nur ein Teil (< 1/3) der infizierten Tiere in einer Herde klinische Symptome (Fernandez-Garcia et al., 2010; Jacquiet et al., 2010). Während der akuten Infektionsphase (1–3 Wochen nach der Infektion) können Fieber, Inappetenz, Augen- und Nasenausfluss, Tachykardie und Tachypnoe, gefolgt von Lymphknotenschwellungen sowie Ausbildung subkutaner Ödeme vor allem in der Kopf- und Halsregion, im ventralen Brust- und Abdomenbereich sowie an den Gliedmassen auftreten. Die Tiere bewegen sich aufgrund starker Schmerzen steif und langsam und zum Teil liegen sie bereits in diesem Stadium fest. Männliche Tiere können an Orchitis erkranken mit vorübergehender oder dauerhafter Infertilität. Während der febrilen Phase können auch Aborte auftreten. In der chronischen Phase (ab 3–4 Wochen nach der Infektion) bilden sich zahlreiche Parasiten-Zysten vor allem in der Haut, den Schleimhäuten und im Bindegewebe aus, die zu den typischen Symptomen führen wie Verdickung, Verhärtung und Faltenbildung der Haut und Alopezie, dies vor allem im Bereich des Kopfes, des Halses, der Vordergliedmassen und des Perineums. Auf der skleralen Konjunktiva und der Nasen- und Vestibulum vaginae-Schleimhaut können die Zysten manchmal mit blossem Auge nachgewiesen werden (Grösse 0.2–0.6 mm) (Cortes et al., 2005; Stöber, 2006; Eckert et al., 2008; Jacquiet et al., 2010). Befallene Rinder bleiben lebenslang infiziert. Klinisch unauffällige Trägartiere können bei der Verbreitung des Parasiten eine wichtige Rolle spielen und so nach Zukauf eine unerkannte Infektionsquelle für naive Herden darstellen.

Der Lebenszyklus von *B. besnoiti* ist noch nicht völlig aufgeklärt (Basso et al., 2011). Die *Besnoitia*-Zysten im Rind entsprechen Zwischenwirts-Stadien, aber ein Endwirt von *B. besnoiti* ist bisher nicht bekannt. In Tierversuchen konnte die mechanische Übertragung von *B. besnoiti* durch blutsaugende Insekten, unter anderem Tabaniden und *Stomoxys calcitrans*, gezeigt werden. Diese Insekten können

mit ihren Mundwerkzeugen die Wände der Parasiten Zysten durchdringen und den Inhalt (Bradyzoiten) mechanisch vom Tier zu Tier übertragen (Bigalke, 1967; 1968). Die iatrogene Übertragung durch kontaminierte Injektionsnadeln ist ebenfalls experimentell erwiesen (Bigalke, 1968). Nach der Infektion gelangt der Parasit hämatogen in die Haut und Unterhaut sowie in die Schleimhäute von Respiration- und Genitaltrakt, in die Blutgefässwände und die Augen und bildet dort dickwandige Gewebesysten. Aufgrund der geographischen Nähe zu Frankreich und dem steten Import von Tieren aus endemischen Gebieten Europas muss mit der Gefahr einer Einschleppung dieses Erregers in die Schweiz gerechnet werden.

Mit diesem Artikel sollen erste Ergebnisse einer schweizweiten, systematischen Untersuchung von aus Frankreich importierten Rindern dargelegt werden.

## Material und Methoden

Alle zwischen 2005 und 2010 aus Frankreich in die Schweiz importierten Rinder wurden über das Bundesamt für Veterinärwesen (BVET) ausfindig gemacht. Tiere, die nur zur Sömmerung beziehungsweise zur Schlachtung bestimmt waren, wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. Identifiziert wurden 517 von Schweizer Betrieben zur Zucht importierte Tiere, von denen mit Hilfe der betreuenden Tierärzte 308 beprobt werden konnten. Die Beprobung der restlichen Tiere war nicht möglich, da die Teilnahme an der Studie freiwillig war und einige Besitzer die serologischen Untersuchungen nicht bewilligten. Zusätzlich wurden 104 Blutproben von Tieren, die im Jahr 2011 importiert worden waren, über die entsprechenden Laboratorien eingesandt. So wurden insgesamt 412 Serumproben aus 114 Standorten in einem ersten Schritt mit dem ELISA PrioCHECK® *Besnoitia* Ab 2.0 (Prionics AG, Zürich, Schweiz) auf Antikörper gegen *B. besnoiti*-Antigene untersucht. Um die Diagnose abzusichern, wurden alle im ELISA positiv reagierenden Serumproben mittels *B. besnoiti* Tachyzoiten-Westernblot (WB) und indirektem Immunfluoreszenz Antikörper Test (IFAT) wie beschrieben (Schaes et al., 2010) weiter untersucht. Tiere, die in allen drei Tests positiv waren, wurden als eindeutig seropositiv eingestuft. Zudem wurden alle Tiere aus Betrieben, in denen eindeutig seropositiven Rindern diagnostiziert wurden, serologisch (ELISA, IFAT und WB) und klinisch untersucht. Von Hautveränderungen wurden Hautbiopsien entnommen, die direkt mikroskopisch beziehungsweise histologisch sowie mittels PCR (Cortes et al., 2006b) untersucht wurden.

## Ergebnisse

Bei der systematischen Untersuchung der aus Frankreich zur Zucht in die Schweiz importierten Rinder wurden bei 64 (15.53%) der insgesamt 412 Proben

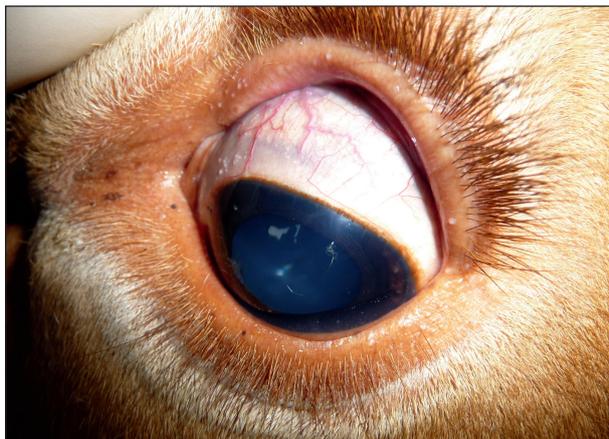


Abbildung 1: Weissliche, punktförmig-erhabene *Besnoitia besnoiti*-Zysten in der skleralen Konjunktiva einer aus Deutschland importierten Limousin-Kuh.

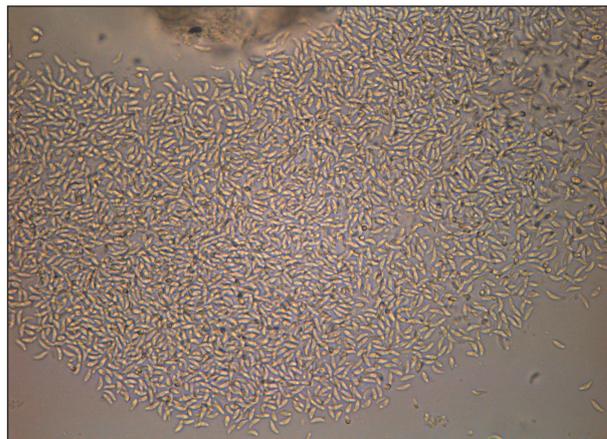


Abbildung 3: Lichtmikroskopische Aufnahme von typisch bananenförmigen Bradyzoiten aus einer eröffneten *B. besnoiti*-Zyste.

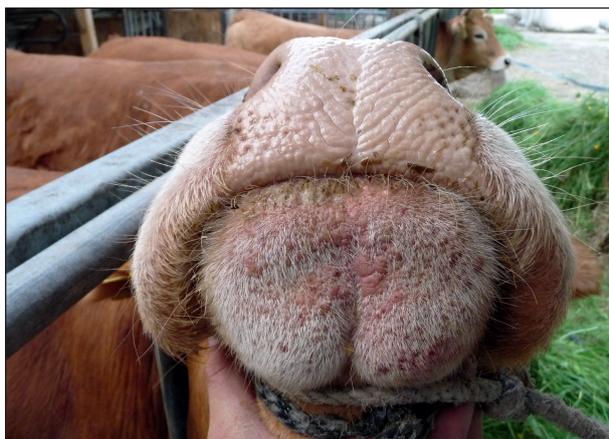


Abbildung 2: Knotenartige Verdickungen der Haut an der Unterlippe einer aus Deutschland importierten Kuh.

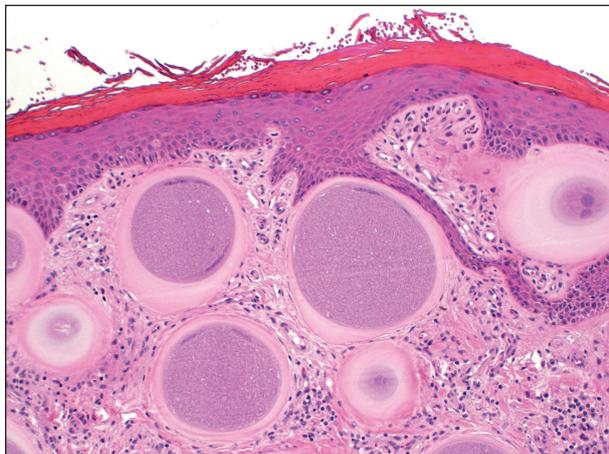


Abbildung 4: Histologisches Präparat der veränderten Haut der Unterlippe (Hämatoxylin-Eosin-Färbung): multipel, mit Bradyzoiten gefüllte abgekapselte Zysten in der Subkutis und Hyperkeratose.

positive ELISA Werte erhalten; zwei dieser Proben wurden im Westernblot und IFAT als seropositiv bestätigt. Diese zwei Proben stammten von 2 Limousin-Kühen, die in einem Betrieb in der Ostschweiz gehalten wurden. Beide Tiere wurden vor 19 Monaten aus einem endemischen Gebiet im Süden Frankreichs importiert. Durch weitere serologische Untersuchungen des gesamten Bestands (16 Tiere) wurden 2 weitere Limousin-Kühe als serologisch positiv identifiziert. Diese beiden Kühe waren 18 beziehungsweise 9 Monate vorher in Deutschland erworben. Die vier positiven Kühe wurden klinisch untersucht. Dabei wurden bei der vor 18 Monaten aus Deutschland importierten Kuh weissliche, punktförmig-erhabene Parasitenzysten in den skleralen Konjunktiven (Abb. 1) und knotige Hautveränderungen an der Unterlippe (Abb. 2) beobachtet. Von den Veränderungen an der Unterlippe wurden Stanzbiopate entnommen. Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung eines nativen Abklatschpräparats der Haut wurden Zysten und zahlreiche Bradyzoiten dargestellt (Abb. 3). Histologisch waren in HE-gefärbten Schnitten der entnommenen Hautbiopate die multipel abgekapselten Zysten in der Dermis zu sehen (Abb. 4). Die Zysten wiesen einen Durchmesser von 110 bis 262  $\mu\text{m}$  (Messungen aus histologischen Schnitten) auf und waren von einer dreischichtigen Kapsel umgeben (Abb. 5). Eindeutig voneinander zu unterscheiden waren die äussere Hyalinschicht, die mittlere Schicht mit Zytoplasma und Zellkern der Wirtszelle sowie die innere Schicht als Membran der parasitophoren Vakuole, welche unzählige Parasiten enthielt. Das umliegende dermale Gewebe wies zahlreiche Lymphozyten, Eosinophile Granulozyten, wenige Plasmazellen und Makrophagen auf, was auf eine sekundäre Dermatitis hindeutete. Zudem war die Epidermis leicht verdickt und zeigte eine orthokeratotische Hyperkeratose. Eine PCR-Untersuchung der Hautbiopsie fiel positiv aus und bestätigte die Diagnose bovine Besnoitiose definitiv.

## 472 Originalarbeiten/Original contributions

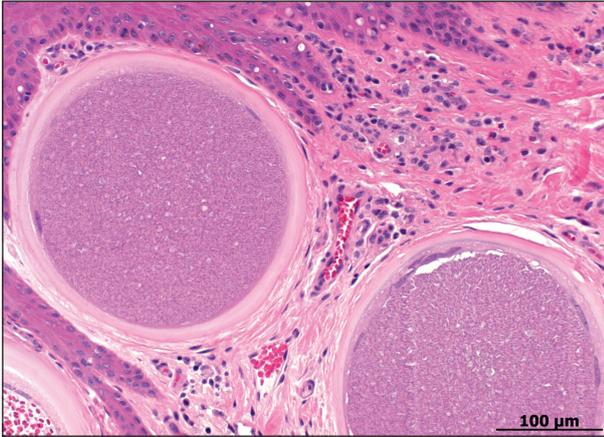


Abbildung 5: Drei lagige Zystenwand: äussere Hyalinschicht, mittlere Schicht mit Zytoplasma und Zellkern der Wirtszelle und die innere Schicht als Membran der Vakuole, die unzählige Parasiten enthält. In unmittelbarer Umgebung befinden sich eosinophile Granulozyten und Makrophagen.

## Diskussion

In den letzten Jahren wurden verschiedene ELISAs für die Diagnose von *B. besnoiti* Infektionen entwickelt und evaluiert (Cortes et al., 2006a; Fernandez-Garcia et al., 2010; Schares et al., 2011; Garcia-Lunar et al., 2012). In unseren Untersuchungen scheint die Spezifität des PrioCHECK Besnoitia Ab 2.0 niedriger zu sein als es in einer multizentrischen Studie in vier Labors in Europa beobachtet wurde, wo dieser Test eine Spezifität von 98.8% zeigte (Garcia-Lunar et al., 2012). Die Studie wurde mit einem Panel von 241 gut charakterisierten Seren von infizierten und nicht infizierten Rindern durchgeführt. Allerdings konnten in einer Studie in Australien 160 (18.4%) von 869 Rinder, die als positiv im PrioCHECK® Besnoitia Ab 2.0 ELISA gefunden wurden, nicht mittels IFAT und Westernblot bestätigt werden (Nasir et al., 2012). Der Grund der niedrigeren Spezifität des kommerziellen Tests in unserer Studie und in der Studie von Nasir et al. (2012) ist nicht klar. Um die Spezifität des Test Kits zu erhöhen, haben Nasir et al. (2012) einen höheren Cut-off vorgeschlagen (40 statt 15 «percent positivity», wie von der Firma empfohlen). In unserer Studie waren 64 (15.53%) der insgesamt 412 Proben im ELISA positiv, und nur 2 dieser Proben konnten im Westernblot und IFAT bestätigt werden. Allerdings, mit dem vom Nasir et al (2012) vorgeschlagenen ELISA-Cut-off hätten wir nur eins der 2 bestätigten positiven Tiere als positiv beurteilt.

Ziel unserer Studie war es, durch die systematische Untersuchung der französischen Importtiere das Risiko einer Einschleppung und nachträglichen Endemisierung von *B. besnoiti* in der Schweiz abzuschätzen. Zwei der untersuchten Tiere und zusätzlich 2 aus Deutschland importierte Kühe waren in den verschiedenen Tests seropositiv. Nur eine aus Deutschland importierte Kuh

zeigte typische Symptome; die 3 anderen seropositiven Tiere können jedoch als subklinische Trägertiere eingestuft werden. Da die französischen Tiere aus einem endemischen Gebiet im Süden Frankreichs stammen, ist die Wahrscheinlichkeit gross, dass diese die Infektionsquelle in der Herde darstellten. Dennoch müssen weitere Untersuchungen folgen, um die deutschen Tiere, die aus einem Limousin-Zucht-Betrieb im Osten Deutschlands stammen, der ebenfalls Zuchttiere aus Frankreich importiert, als Indextiere (Erste Fälle beim Ausbruch einer Infektionskrankheit) eindeutig auszuschliessen. Untersuchungen der Ursprungsbetriebe sind geplant. Bereits im Jahr 2008 wurden autochthone Ausbrüche der bovinen Besnoitiose aus Bayern (Schares et al., 2009; Rostaher et al., 2010) und 2009 und 2011 aus dem Norden Italiens (Gollnick et al., 2010; Manuali et al., 2011; Gentile et al., 2012) gemeldet. In unserem Fall kann eine autochthone Parasitenübertragung auf andere Tiere noch nicht sicher ausgeschlossen werden, weitere Untersuchungen in den betroffenen Betrieben sind jedoch geplant.

Allerdings muss mit dem Beginn der Hauptaktivitätszeit der Insekten-Vektoren (Tabaniden, *Stomoxys calcitrans*) im Sommer mit einer potentiellen Weiterverbreitung des Parasiten gerechnet werden. Epidemiologische Untersuchungen zeigten, dass die Besnoitiose zum Teil erst Jahre nach der Einschleppung in einem Betrieb bemerkt wird, zu einem Zeitpunkt, bei dem bereits sehr viele Tiere infiziert sein können (Fernandez-Garcia et al., 2010; Liénard et al., 2011). Landwirte, deren Betrieb ein Risiko einer Einschleppung von Besnoitiose aufweist, sollten durch die Privattierärzte aufgeklärt und bezüglich erster Anzeichen der Infektion wie Fieber, Gliedmassenödeme, Speicheln, und Tränenfluss beziehungsweise Haut- und Schleimhautveränderungen sensibilisiert werden. Die Kontrollmassnahmen müssen den jeweiligen Szenarien angepasst werden. In der jetzigen Situation in der Schweiz ist es empfehlenswert, sämtliche positive Tieren so rasch wie möglich aus den betroffenen Herden zu eliminieren, um eine weitere Übertragung des Parasiten innerhalb der Herde und auf Nachbarherden zu unterbinden. Wenn diese parasitäre Infektion einmal etabliert ist, wie Erfahrungen in Portugal, Spanien und Frankreich zeigen, ist eine Elimination des Erregers äusserst schwierig. Um eine weitere Einschleppung von *B. besnoiti* in die Schweiz künftig zu verhindern, wäre es sinnvoll, alle zur Zucht importierten Rinder aus endemischen Ländern serologisch zu testen.

## Dank

Die Autoren danken dem Bundesamt für Veterinärwesen und den Kantonstierärzten für die Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen, und Dr. G. Schares (Friedrich-Loeffler Institut, Wusterhausen, Deutschland) bedanken, für die Übergabe des *B. besnoiti*-Isolats zur Herstellung von Antigenen für die serologischen Tests.

### Premiers cas de Besnoitiose chez les bovins en Suisse

La Besnoitiose bovine avait, jusqu'à ce jour, été diagnostiquée dans les pays voisins, mais pas en Suisse. Elle est endémique en France et on a rapporté des foyers isolés en Allemagne et en Italie. Une étude sérologique systématique a été réalisée pour savoir si *Besnoitia besnoiti* serait déjà arrivée en Suisse, suite à des importations de bovins provenant de régions endémiques françaises. On a examiné au total 412 bovins d'élevage (provenant de 114 exploitations), importés de France entre 2005 et 2011 au moyen d'un test ELISA commercial (ELISA PrioCHECK® *Besnoitia* Ab 2.0, Prionics AG, Zürich, Schweiz). Des valeurs positives au test ELISA ont été constatées chez 64 (15.5%) animaux. Le diagnostic sérologique n'a pu être confirmé, au moyen d'un test par immunofluorescence (IFAT) et par Westernblot (WB), que chez 2 vaches de race Limousin importées de France dans une exploitation de Suisse orientale. Suite à ce diagnostic, l'ensemble du troupeau de l'exploitation (n = 16) a été examiné cliniquement et sérologiquement. Deux autres vaches de race Limousin, provenant d'Allemagne, ont réagi positivement aux 3 tests. Une de ces vaches présentait des kystes de *B. besnoiti* dans les conjonctives sclérales et les manifestations cutanées typiques dans la région de la tête. L'infection a été confirmée cytologiquement, histopathologiquement et par PCR. On doit en conclure que le parasite est parvenu en Suisse par le biais de l'importation d'animaux infectés.

### Primi casi di besnoitiosi dei bovini in Svizzera

La besnoitiosi dei bovini finora era stata diagnosticata nei paesi limitrofi, ma mai in Svizzera. In Francia è endemica, in Germania e in Italia sono stati segnalati dei focolai isolati. Per determinare se l'importazione di bestiame da aree endemiche della Francia avesse fatto giungere in Svizzera la *Besnoitia besnoiti*, è stata eseguita un'analisi sierologica sistematica. Su un totale di 412 bovini da allevamento (provenienti da 114 aziende) importati tra il 2005 e il 2011 dalla Francia in Svizzera, sono stati effettuati test sierologici per individuare gli anticorpi contro la *B. besnoiti* utilizzando un kit ELISA commerciale (ELISA PrioCHECK® *Besnoitia* Ab 2.0, Prionics AG, Zurigo, Svizzera). In 64 (15.5%) animali i valori del test ELISA erano positivi. La diagnosi sierologica è stata confermata in soli 2 bovini di razza Limousin importati dalla Francia in un'azienda della Svizzera orientale, mediante test di immunofluorescenza (IFAT) e Western Blot (WB). Successivamente, nella stessa azienda, l'intera mandria (n = 16) è stata esaminata clinicamente e sierologicamente. Da qui altri 2 bovini provenienti dalla Germania hanno reagito positivamente a tutti e 3 i test. Uno di questi bovini mostrava delle cisti di *B. besnoiti* nella congiuntiva sclerale e tipiche lesioni dermatologiche nella zona della testa. L'infezione è stata confermata tramite citologia, istopatologia e PCR. Si può quindi presumere che il parassita sia arrivato in Svizzera tramite l'importazione di animali infetti.

## Literatur

Alzieu J., Cortes H., Gottstein B., Jacquiet P., Dorchies P., Schelcher F., L'Hosties M.: La besnoitiose bovine: actualités épidémiologiques et diagnostiques Bull. G.T.V.-Hors-serie parasitisme des bovins. 2007, 41–49.

Basso, W., Schares, G., Gollnick, N. S., Rütten, M., Deplazes, P.: Exploring the life cycle of *Besnoitia besnoiti* – experimental infection of putative definitive and intermediate host species. Vet. Parasitol. 2011, 178: 223–234.

Besnoit C., Robin V.: Sarcosporidiosis cutanée chez une vache. Rec. Vet. 1912, 37: 649.

Bigalke R. D.: The artificial transmission of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) from chronically infected to susceptible cattle and rabbits. Onderstepoort J. Vet. Res. 1967, 34: 303–316.

Bigalke R. D.: New concepts on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. Onderstepoort J. Vet. Res. 1968, 35: 3–138.

Cortes H., Leitao A., Vidal R., Vila-Vicosa M. J., Ferreira M. L., Caeiro V., Hjerpe C. A.: Besnoitiosis in bulls in Portugal. Vet. Rec. 2005, 157: 262–264.

Cortes H. C., Nunes S., Reis Y., Staubli D., Vidal R., Sager H., Leitao A., Gottstein B.: Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. Vet. Parasitol. 2006a, 141: 216–225.

Cortes H. C., Reis Y., Waap H., Vidal R., Soares H., Marques I., Pereira da Fonseca I., Fazendeiro I., Ferreira M. L., Caeiro V., Shkap V., Hemphill A., Leitao A.: Isolation of *Besnoitia besnoiti* from infected cattle in Portugal. Vet. Parasitol. 2006b, 141: 226–233.

Eckert J., Friedhoff K. T., Zahner H., Deplazes P.: Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin, 2. Auflage. Enke Verlag, Stuttgart, 2008, 1–632.

EFSA, European Food Safety Authority: Scientific statement on bovine besnoitiosis. EFSA Journal, 2010, 8: 1–15.

Fernández-García A., Álvarez-García G., Risco-Castillo V., Aguado-Martínez A., Marcén, J. M., Rojo-Montejo S., Castillo J. A., Ortega-Mora L. M.: Development and use of an indirect ELISA in an outbreak of bovine besnoitiosis in Spain. Vet. Rec. 2010, 166: 818–822.

Fernández-García A., Risco-Castillo V., Pedraza-Díaz S., Aguado-Martínez A., Álvarez-García G., Gómez-Bautista M., Collantes-

**474 Originalarbeiten/Original contributions**

Fernández E., Ortega-Mora L. M.: First Isolation of *Besnoitia besnoiti* from a Chronically Infected Cow in Spain. *J. Parasitol.* 2008, 94: 474–476.

García-Lunar P., Ortega-Mora L. M., Schares G., Gollnick N. S., Jacquet P., Grisez C., Prévot F., Frey C. F., Gottstein B., Álvarez-García G.: An Inter-Laboratory Comparative Study of Serological Tools Employed in the Diagnosis of *Besnoitia besnoiti* Infection in Bovines. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012, doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01318.x. [Epub ahead of print].

Gentile A., Militerno G., Schares G., Nanni A., Testoni S., Bassi P., Gollnick N. S.: Evidence for bovine besnoitiosis being endemic in Italy—first in vitro isolation of *Besnoitia besnoiti* from cattle born in Italy. *Vet. Parasitol.* 2012, 184: 108–115.

Gollnick, N. S., Gentile, A., Schares, G.: Diagnosis of bovine besnoitiosis in a bull born in Italy. *Vet Rec.* 2010, 166, 599.

Jacquet P., Lienard E., Franc M.: Bovine besnoitiosis: epidemiological and clinical aspects. *Vet Parasitol.* 2010, 174: 30–36.

Liénard E., Salem A., Grisez C., Prévot F., Bergeaud J. P., Franc M., Gottstein B., Alzieu J. P., Lagalisse Y., Jacquet P.: A longitudinal study of *Besnoitia besnoiti* infections and seasonal abundance of *Stomoxys calcitrans* in a dairy cattle farm of southwest France. *Vet. Parasitol.* 2011, 177: 20–27.

Manuali E., Lepri E., Salamida S., D'Avino N., Mangili P., Vitellozzi G., Grelloni V., Filippini G.: An outbreak of bovine besnoitiosis in beef cattle born in central Italy. *Transbound. Emerg. Dis.* 2011, 58: 464–467.

Nasir A., Lanyon S. R., Schares G., Anderson M. L., Reichel M. P.: Sero-prevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Vet. Parasitol.* 2012, 186: 480–485.

Rostaher A., Mueller R. S., Majzoub M., Schares G., Gollnick, N.S.: Bovine besnoitiosis in Germany. *Vet. Dermatol.* 2010, 21: 329–334.

Schares G., Basso W., Majzoub M., Cortes H. C., Rostaher A., Selmair J., Hermanns W., Conraths F. J., Gollnick N. S.: First in vitro isolation of *Besnoitia besnoiti* from chronically infected cattle in Germany. *Vet. Parasitol.* 2009, 163: 315–322.

Schares G., Basso W., Majzoub M., Rostaher A., Scharr J. C., Langenmayer M. C., Selmair J., Dubey J. P., Cortes H. C., Conraths F. J., Gollnick N. S.: Comparative evaluation of immunofluorescent antibody and new immunoblot tests for the specific detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti* tachyzoites and bradyzoites in bovine sera. *Vet. Parasitol.* 2010, 171: 32–40.

Schares G., Basso W., Majzoub M., Rostaher A., Scharr J. C., Langenmayer M. C., Selmair J., Dubey J. P., Cortes H. C., Conraths F. J., Haupt T., Pürro M., Raeber A., Buholzer P., Gollnick N. S.: Evaluation of a commercial ELISA for the specific detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti*. *Vet Parasitol.* 2011, 175: 52–59.

Stöber M.: Besnoitiose, In: Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Hrsg. G. Dirksen, H.D. Gründer und M. Stöber, Parey Verlag, Stuttgart, 2006, 75–77.

**Korrespondenz**

Walter Basso  
Institut für Parasitologie  
Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich  
Winterthurerstrasse 266a  
CH-8057 Zürich  
Tel.: +41 (0)44 635 85 10  
Fax: +41 (0)44 635 89 13  
walter.basso@access.uzh.ch

Manuskripteingang: 2. Juli 2012

Angenommen: 15. August 2012