

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. habil. Peter Thein, Tierärztliche Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt über die Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie des Fachbereichs  
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Leitung: Prof. Dr. Bodo Hertsch

**Untersuchungen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit eines Lebendimpfstoffes gegen  
die Druse - Equilis® StrepE (Intervet International, Niederlande) - an trächtigen und  
laktierenden Stuten sowie an Absetzfohlen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Albert Röhm  
Tierarzt  
aus Hohenstein

Berlin 2008

Journal-Nr.: 3221

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Erster Gutachter: Prof. Dr. Bodo Hertsch  
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Dr. habil. Peter Thein  
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Lothar H. Wieler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

ELISA, foals, horses, horse diseases, immunization, mares, pregnancy,  
Streptococcus equi subsp. equi, vaccination

Tag der Promotion: 26.08.2008

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-86664-528-8

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2008

Nordendstr. 75 - 13156 Berlin – 030-45494866

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Literaturübersicht</b> .....	<b>10</b>
2.1 Geschichte der Druseforschung .....	10
2.2 Erreger .....	11
2.2.1 Taxonomie .....	11
2.2.2 Biologische Eigenschaften .....	12
2.2.3 Virulenzfaktoren .....	13
2.2.3.1 Hyaluronsäurekapsel .....	13
2.2.3.2 Streptokinase .....	14
2.2.3.3 Streptolysin .....	14
2.2.3.4 Peptidoglykan .....	15
2.2.3.5 Superantigene .....	15
2.2.3.6 M-Protein .....	15
2.2.3.7 IgG bindende Proteine .....	16
2.2.3.8 Leukozytenschädigendes Toxin .....	16
2.2.3.9 Hyaluronidase .....	16
2.2.3.10 Weitere Oberflächenproteine .....	17
2.2.4 Tenazität .....	17
2.2.5 Antibiotikasensitivität .....	18
2.2.6 Erkrankungen durch <i>S. equi</i> .....	19
2.3 Vorkommen, Epizootiologie und Übertragungsmöglichkeiten .....	19
2.4 Pathogenese .....	22
2.5 Klinik .....	24
2.5.1 Druse .....	24
2.5.2 Komplikationen im Zusammenhang mit einer Druseerkrankung .....	27
2.5.2.1 Metastatische Formen der Druse .....	27
2.5.2.2 Immunvermittelte Komplikationen einer <i>S. equi</i> -Infektion .....	28
2.5.2.2.1 Immunvermittelte Vaskulitis - Purpura haemorrhagica .....	28
2.5.2.2.2 Myopathien .....	29
2.6 Immunologie .....	30
2.6.1 Humorale Immunität .....	30
2.6.2 Zelluläre Immunität .....	31
2.7 Diagnostik .....	31
2.7.1 Klinik .....	31

2.7.2	Bildgebende Diagnostikverfahren.....	32
2.7.3	Hämatologie.....	32
2.7.4	Kultureller Nachweis, biochemische Differenzierung, Phänotypisierung.....	33
2.7.5	Molekularbiologischer Nachweis .....	35
2.7.6	Serologie.....	35
2.8	Therapie .....	37
2.9	Prävention .....	40
2.9.1	Immunpräventive .....	40
2.9.1.1	Aktive Immunisierung.....	40
2.9.1.2	Passive Immunisierung.....	43
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>44</b>
3.1	Probanden.....	44
3.1.1	Trächtige Stuten .....	44
3.1.2	Saugfohlen.....	46
3.1.3	Absetzfohlen .....	47
3.2	Impfungen.....	49
3.2.1	Impfstoff .....	49
3.2.2	Impfprotokolle .....	53
3.2.2.1	Trächtige Stuten.....	53
3.2.2.2	Absetzfohlen .....	55
3.3	Klinische Kontrollen .....	57
3.3.1	Trächtige Stuten .....	57
3.3.1.1	Untersuchung der lokalen und allgemeinen Impfreaktionen.....	57
3.3.1.2	Untersuchung der Trächtigkeiten.....	58
3.3.1.3	Untersuchung des Abfohlgeschehens und des Puerperiums .....	59
3.3.1.4	Untersuchung der laktierenden Stuten .....	60
3.3.2	Saugfohlen.....	60
3.3.3	Absetzfohlen .....	62
3.3.3.1	Untersuchung der lokalen und allgemeinen Impfreaktionen.....	62
3.3.3.2	Untersuchung der Krankheitsgeschehen geimpfter und nicht geimpfter Absetzfohlenherden .....	62
3.4	Serologische Untersuchungen .....	63
3.4.1	Blutentnahmen.....	63
3.4.1.1	Trächtige Stuten.....	63
3.4.1.2	Saugfohlen.....	64
3.4.1.3	Absetzfohlen .....	65
3.4.2	Serumgewinnung und Bearbeitung .....	65
3.4.3	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay.....	66

3.5	Bakteriologische Untersuchungen.....	69
3.5.1	Entnahme von Tupferproben zum Erregernachweis .....	69
3.5.2	Kultivierung von Probenmaterial.....	70
3.5.3	Bestimmung der biochemischen Eigenschaften von kultivierten $\beta$ - hämolisierenden Streptokokken .....	70
3.5.4	Kapseldiagnostik von kultivierten $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken.....	71
3.5.5	Differenzierung von <i>S. equi</i> und <i>S. zooepidemicus</i> .....	71
3.5.6	Antibiogramm.....	71
3.6	Untersuchung präpartaler Fohlenverluste .....	72
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>73</b>
4.1	Impfung von trächtigen Stuten.....	73
4.1.1	Klinische Kontrollen der Zuchtstuten .....	73
4.1.2	Verträglichkeit der Vakzine bei trächtigen Stuten .....	73
4.1.2.1	Lokale Verträglichkeit der Vakzine.....	73
4.1.2.2	Allgemeine Verträglichkeit der Vakzine .....	75
4.1.2.3	Spezielle Verträglichkeit der Vakzine bezüglich des Reproduktions- geschehens.....	76
4.1.2.3.1	Trächtigkeiten .....	76
4.1.2.3.2	Abfohlgeschehen und Puerperium.....	80
4.1.3	Saugfohlen.....	80
4.1.3.1	Reifegrad der Neonaten.....	80
4.1.3.2	Gewichtsentwicklung der Neonaten in Abhängigkeit von der Graviditätsdauer.....	81
4.1.3.3	Anatomische und funktionelle Abnormalitäten bei Neonaten .....	82
4.1.3.4	Kolostraler Antikörpertransfer .....	82
4.1.3.5	Klinische Kontrollen der Saugfohlen.....	85
4.1.4	Serologische Untersuchungen der Zuchtstuten.....	85
4.1.4.1	Verumstuten.....	86
4.1.4.1.1	Impfgruppe I.....	86
4.1.4.1.2	Impfgruppe II.....	90
4.1.4.2	Placebostuten .....	91
4.1.4.3	Zusammenfassung der serologischen Befunde der Zuchtstuten.....	91
4.1.5	Serologische Untersuchungen der Saugfohlen .....	93
4.1.5.1	Vorkommen und Persistenz SeM-spezifischer Antikörper bei den Fohlen aus den Verumstuten vs. den Fohlen aus Placebostuten.....	94
4.1.5.2	Beziehung der peripartalen Titer der Mutterstuten zu den postkolostralen Titern der Saugfohlen .....	95
4.2	Impfung von Absetzfohlen .....	96

4.2.1	Verträglichkeit der Vakzine bei Absetzfohlen .....	96
4.2.1.1	Lokale Verträglichkeit der Vakzine.....	96
4.2.1.2	Allgemeine Verträglichkeit der Vakzine .....	98
4.2.2	Serologische Untersuchungen der Absetzfohlen.....	98
4.2.2.1	Untersuchungen zum Vorkommen prävakzinaler Antikörper.....	98
4.2.2.2	Untersuchungen zur Quantität der postvakzinalen Antikörper.....	100
4.2.2.3	Antikörpervorkommen bei nicht geimpften Fohlen der Vergleichsherden	102
4.2.2.4	Zusammenfassung der serologischen Befunde der Absetzfohlen.....	104
4.2.3	Klinik der Absetzfohlen .....	104
4.2.3.1	Geimpfte Fohlen .....	104
4.2.3.2	Nicht geimpfte Fohlen .....	106
4.2.4	Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen .....	109
4.2.5	Vergleich der Krankheitsgeschehen geimpfter und nicht geimpfter Absetzfohlenherden.....	110
<b>5</b>	<b>Besprechung der Ergebnisse.....</b>	<b>112</b>
5.1	Serologische Untersuchungen .....	112
5.2	Bakteriologische Untersuchungen.....	112
5.3	Anwendung der Vakzine.....	113
5.4	Lokale und allgemeine Verträglichkeit.....	114
5.5	Verträglichkeit bezüglich des Reproduktionsgeschehens .....	118
5.6	Verträglichkeit bezüglich der Laktation.....	120
5.7	Impfindikation und Impfschema.....	120
5.8	Wirksamkeit der Impfung bei trächtigen Stuten.....	123
5.9	Passiver Antikörpertransfer .....	126
5.10	Persistenz maternaler Antikörper in den Saugfohlen .....	127
5.11	Wirksamkeit der Impfung bei Absetzfohlen .....	128
5.12	Klinischer Vergleich geimpfter und nicht geimpfter Fohlen .....	131
5.13	Gegenüberstellung des kulturellen Nachweises von <i>S. zooepidemicus</i> in Nasen- und Konjunktivalupfern mit den klinischen Befunden .....	134
5.14	Epizootiologische Situation der Versuchsherden .....	135
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>138</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>140</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>142</b>
<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>157</b>
9.1	Tabellen.....	157
9.2	Abkürzungen .....	166
	<b>Danksagung.....</b>	<b>167</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>168</b>

# 1 Einleitung

Die Druse, verursacht durch eine Infektion mit *Streptococcus equi spp. equi*, ist nach wie vor eine der weltweit am häufigsten diagnostizierten respiratorischen Infektionen der Pferde (WALLER and JOLLEY 2006). Diese Erkrankung besitzt wegen der mit ihr verbundenen langzeitigen Leistungseinbrüche und Rekonvaleszenzphasen, Folgekrankheiten, Behandlungskosten sowie Quarantänemaßnahmen in der Pferdezucht und im Pferdesport auch eine hohe wirtschaftliche Bedeutung. Da besonders Fohlen nach Abklingen des passiven Immunschutzes empfänglich für die Infektion mit *Streptococcus equi spp. equi* sind (BRYANS and MOORE 1972), ist die manifeste Infektion gerade in Zucht- und Aufzuchtbetrieben mit einem großen Schadenspotential verbunden.

Im Jahre 2004 wurde die Drusevakzine Equilis® StrepE (Intervet International, Niederlande) auf dem europäischen Markt eingeführt. Dieser Impfstoff besteht aus einem attenuierten, lebenden Stamm von *Streptococcus equi equi*, welcher durch eine submuköse Injektion in die Innenseite der Oberlippe appliziert wird (JACOBS et al. 2000). Über die Verträglichkeit der Vakzine für trächtige und laktierende Stuten liegen bisher keine Erkenntnisse vor, ebenso über die Schutzwirkung einer Vakzinierung trächtiger Stuten für ihre Nachkommen.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, die Verträglichkeit sowie die Wirksamkeit der Immunisierung mit Equilis® StrepE an trächtigen und laktierenden Stuten sowie Absetzfohlen unter den Feldbedingungen eines Gestütsbetriebes zu untersuchen.

Ziel ist es, die Kenntnislücken bezüglich der Anwendung dieser Vakzine bei den unterschiedlichen Alters- und Nutzungsgruppen zu schließen, da eine wirksame und gut verträgliche Vakzine ein sinnvolles Element der praktischen Gesundheitsvorsorge in der Pferdehaltung sein könnte.

Die Arbeit umfasst folgende Aufgabenstellungen:

1. Die Untersuchung der allgemeinen und lokalen Verträglichkeit von Equilis<sup>®</sup> StrepE bei tragenden Zuchtstuten.
2. Die Untersuchung der postvakzinalen Ausbildung und des Verlaufes SeM-spezifischer Serumtiter bei den Verum- und Placebostuten.
3. Die Prüfung quantitativer Unterschiede der systemischen Antikörperbildung trächtiger Stuten unterschiedlicher Altersgruppen (Jungstuten von drei bis acht Jahren vs. Altstuten von acht bis 17 Jahren) und Rassen (Deutsches Warmblut vs. Arabisches Vollblut).
4. Die Untersuchung der Auswirkung wiederholter Immunisierungen mit Equilis<sup>®</sup> StrepE während unterschiedlicher Trächtigkeitsstadien (erste Hälfte bzw. zweite Hälfte der Trächtigkeit) auf das Reproduktionsgeschehen der geimpften Stuten.
5. Die Untersuchung der Auswirkung wiederholter Immunisierungen mit Equilis<sup>®</sup> StrepE während der Trächtigkeit auf die Entwicklung und Gesundheit der Feten.
6. Die Untersuchung der Auswirkung wiederholter Immunisierungen mit Equilis<sup>®</sup> StrepE während der Laktation auf die Gesäugegesundheit und -funktion sowie die Entwicklung und Gesundheit der Saugfohlen.
7. Die Untersuchung des Transfers SeM-Protein-spezifischer Antikörper des Typs IgG auf die neugeborenen Fohlen von im letzten Trimester der Trächtigkeit mit Equilis<sup>®</sup> StrepE geimpften Stuten.
8. Die Untersuchung der allgemeinen und lokalen Verträglichkeit des Impfstoffes bei Fohlen, die im Alter von vier bis sieben Monaten mit Equilis<sup>®</sup> StrepE grundimmunisiert werden.
9. Die Erfassung SeM-spezifischer postvakzinaler, humoraler Serumtiter bei den vier bis sieben Monate alten Absetzfohlen.



10. Die vergleichende Untersuchung der Auswirkung der Immunisierung der Absetzfohlen auf das Vorkommen und die Art respiratorischer Erkrankungen in der frühen Aufzuchtphase.
  
11. Die Erhebung epizootiologischer und klinischer Daten, einschließlich stichprobenartiger, bakteriologischer Untersuchungen im Verlauf von Druse oder Druse-ähnlichen Erkrankungen bei geimpften und nicht geimpften Stuten und Fohlen. *Streptococcus equi zooepidemicus* als Erreger purulenter Atemwegserkrankungen wird speziell bei den bakteriologischen Untersuchungen mit berücksichtigt.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Geschichte der Druseforschung

Die durch eine Infektion mit *Streptococcus equi* *spp. equi* verursachte Erkrankung des Pferdes, welche allgemein als Druse bezeichnet wird, wurde schon in der frühen veterinärmedizinischen Literatur thematisiert und von Giordano Ruffo, dem Hufschmied Kaiser Fredericks von Italien, im Jahre 1251 erstmals detailliert beschrieben (SWEENEY et al. 2005). Im Jahre 1790 konnte Lafarse erstmalig die ansteckende Wirkung der Druse nachweisen (TODD 1910). Fast zeitgleich experimentierte Richard Ford mit ersten Impfversuchen gegen die Druse. Als Anleitung dienten ihm dabei die vorangegangenen Versuche zur Pockenimpfung beim Menschen (SMITH 1924). Wenige Jahrzehnte später reifte die Erkenntnis, dass es sich bei der Druse um eine katarrhalische Erkrankung der oberen Luftwege und peripheren Lymphknoten handelt (SAND und JENSEN 1888; GRINI 1948). Im Jahre 1873 gelang Rivolta der Nachweis von kettenartig aneinanderliegenden Kokken im Eiter von Druseabszessen (TODD 1910). Schütz (1888) isolierte erstmalig Kokkenbakterien aus dem Eiter erkrankter Pferde. Außerdem experimentierte er mit diesen Erregern an fremden Wirten (Mäuse) und konnte auch hier dieselben Erreger nachweisen. Die so gewonnenen Erreger spritzte er Pferden subkutan und erreichte damit eine Abszessbildung an der Injektionsstelle. Außerdem konnte er durch die nasale Verabreichung dieser Erreger bei Pferden das typische Krankheitsbild der Druse herbeiführen. Sand und Jensen (1888) gelang aus Nasensekreten erkrankter Pferde auf einer Nährlösung der Nachweis einer Streptokokkenform mit typisch schleimiger Wachstumscharakteristik. Sie benannten diese *Streptococcus equi*. Die Ätiologie der Druse blieb trotz der beschriebenen Erkenntnisse lange Zeit umstritten. Während einige Wissenschaftler davon ausgingen, dass die Druse primär eine Virusinfektion sei und *Streptococcus equi* lediglich ein Begleitbakterium darstelle (RICHTERS 1935; KÖBE 1939), sahen andere Autoren in *S. equi* den alleinigen Erreger der Druse (van DORSEN 1939). Erst Bazeley (1943) gelang die bis dato gültige Klärung der Ätiologie der Druse. In seinen Experimenten erbrachte er den Nachweis, dass v.a. junge Kulturen von *S. equi* hoch virulent sind und eine ausgeprägte Kapselstruktur aufweisen. Außerdem beobachtete er den mit der Abnahme des Kapselmaterials einhergehenden ausgeprägten Virulenzverlust bei älteren Kulturen (BAZELEY 1940a).

## 2.2 Erreger

### 2.2.1 Taxonomie

*Streptococcus equi* spp. *equi* gehört zur Familie der Streptokokken (Fam. *Streptococcaceae*), einer großen heterogenen Gruppe grampositiver Bakterien, die in der Natur weit verbreitet ist. Einige Streptokokkenspezies sind Teil der physiologischen Bakterienflora bei Mensch und Tier. Potentiell pathogene (opportunistische) und apathogene (saprophytäre) Spezies kommen als Kommensalen auf der Haut sowie auf den Schleimhäuten des oberen Respirationstraktes, des Urogenitaltraktes und des Verdauungstraktes vor (HARDIE and WHILEY 1995; CARTER and WISE 2004). Manche Streptokokkenspezies sind obligat pathogen und hoch virulent.

Taxonomische Einordnung von *S. equi* spp. *equi* (EUZÉBY 2004):

Reich:	<i>Bacteriae</i>
Stamm:	<i>Firmicutes</i>
Klasse:	<i>Bacilli</i>
Ordnung:	<i>Lactobacillales</i>
Familie:	<i>Streptococcaceae</i>
Genus:	<i>Streptococcus</i>
Spezies:	<i>Streptococcus equi</i>
Subspezies:	<i>S. equi</i> spp. <i>equi</i>
	<i>S. equi</i> spp. <i>zooepidemicus</i>
	<i>S. equi</i> spp. <i>ruminatorum</i>

Die Spezies *Streptococcus equi* besteht aus den drei Subspezies *S. equi* spp. *equi*, *S. equi* spp. *zooepidemicus* (SONGER and POST 2004) und *S. equi* spp. *ruminatorum* (FERNANDEZ et al. 2004), welche im Weiteren als *S. equi*, *S. zooepidemicus* und *S. ruminatorum* bezeichnet werden. *S. equi* und *S. zooepidemicus* sind weltweit unter den Equiden verbreitet (TIMONEY 2004a) und zählen zu den wichtigsten Erregern von eitrigen Erkrankungen bei Pferden (CARTER and WISE 2004). *S. ruminatorum* ist ein Erreger, der bei Mastitiden kleiner Wiederkäuer isoliert werden konnte (FERNANDEZ et al. 2004).

In DNA-DNA-Hybridisierungs-Versuchen zeigte sich eine enge Verwandtschaft zwischen *S. equi* und *S. zooepidemicus* (GALÁN and TIMONEY 1988). Nach derzeitigen Erkenntnissen scheint *S. equi* einen Klon von *S. zooepidemicus* darzustellen. Diese Vermutung wird gestützt durch die Ergebnisse vergleichender Untersuchungen der 16S-23S rRNA und der Enzymmuster beider Subspezies (JORM et al. 1994; CHANTER et al. 1997; TIMONEY 2004a). Obwohl *S. zooepidemicus* und *S. equi* eine sehr hohe DNA-Homologie aufweisen,

unterscheiden sie sich stark hinsichtlich ihrer Biologie und Pathogenität. Anhand ihrer biochemischen Leistungen lassen sich *S. equi* und *S. zooepidemicus* voneinander sowie von anderen Streptokokken der Lancefield-Gruppe C differenzieren (TIMONEY 2004a).

Eine der ersten Eigenschaften, die zur Differenzierung von Streptokokken-Isolaten genutzt wurde, ist die Fähigkeit einiger klinisch bedeutsamer Streptokokken zur vollständigen ( $\beta$ -) Hämolyse auf festen Nährmedien mit Blutzusatz (HARDIE and WHILEY 1995). Die *S. equi* -Subspezies gehören zur Gruppe der  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken.

Im Jahre 1933 führte Lancefield eine Methode ein, um die  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken, basierend auf gruppenspezifischen Polysaccharid-Antigenen, weitergehend zu differenzieren und in serologische Gruppen einzuteilen. Diese Polysaccharidantigene lassen sich unter anderem durch kombinierte Säure-Hitze-Extraktion und mittels Trichloressigsäure aus der Zellwand lösen und über gruppenspezifische Antiseren bestimmen. Die Einteilung der *S. equi* -Subspezies innerhalb der Streptokokken erfolgt in die serologische Gruppe C nach Lancefield (LANCEFELD 1933).

Im Jahre 1937 unterteilte Sherman die Streptokokken anhand kultureller, biochemischer und serologischer Eigenschaften in vier Gruppen nämlich die „pyogenic group“, die „viridans group“, die „lactic group“ und die „enterococci“ (SHERMAN 1937). Derzeit werden nur noch die beiden ersten Gruppen der Gattung *Streptococcus* zugeordnet. Die „lactic group“ und die „enterococci“ wurden als separate Gattungen reklassifiziert. Ein Großteil der pathogenen Streptokokken gehört zur pyogenen Gruppe, die hauptsächlich die  $\beta$ -hämolisierenden Arten mit definierten Gruppenantigenen umfasst. Die *S. equi* -Subspezies werden der Gruppe der pyogenen Streptokokken zugeordnet (HARDIE and WHILEY 1995).

Im Laufe der Jahrzehnte haben zunehmende genotypische und phänotypische Erkenntnisse zu wiederholten Änderungen in der Gattung *Streptococcus* geführt. Die tatsächlichen phylogenetischen Beziehungen der Gruppe-C-Streptokokken konnten erst durch die Anwendung von DNA-DNA- und DNA-RNA-Hybridisierungen, Genomsequenzierungstechniken und chemotaxonomischen Zellwandanalysen genauer untersucht werden. Mittlerweile ist der Gebrauch von biochemischen und serologischen Tests zur Klassifizierung von Streptokokkenisolaten weitestgehend durch molekulargenetische Methoden ersetzt.

### **2.2.2 Biologische Eigenschaften**

*Streptococcus equi* gehört zu den primär pathogenen Erregern von Atemwegserkrankungen bei Pferden. Der Erreger ist ein exklusiv an Equiden adaptierter Mikroorganismus, dessen Vorkommen an die Präsenz von Equiden gebunden ist. In seltenen Fällen wurde *S. equi* auch beim Menschen isoliert (BREIMAN and SILVERBLATT 1986; EUZÉBY 2004). Genetische Variationen kommen bei *S. equi* nur in sehr begrenztem Maße vor (TAKAI et al. 2000; SONGER and POST 2004). Der Mikroorganismus ist ein fakultativ anaerobes, rund

bis länglich-ovales, ca. 1 µm großes, meist in Paaren oder Ketten zusammenliegendes, unbewegliches sowie nicht sporenbildendes Bakterium, welches sich durch Anilinfarbstoffe sowie durch die Färbung nach Gram gut färben lässt. Es ist in der Lage, verschiedene Kohlenhydrate (Galaktose, Glucose, Maltose und Saccharose) zu fermentieren, wobei vor allem Milchsäure als Stoffwechselprodukt gebildet wird (SWEENEY et al. 2005).

*S. equi* hat sich erfolgreich eine pathogenetische Nische gesucht. Seine Fähigkeit, retropharyngeale Lymphknotenabszesse zu verursachen, die sich in die Luftsäcke entleeren, hat das Pathogen in die Lage versetzt, asymptomatisch persistierende Infektionen zu verursachen, die zu seiner Ausbreitung beigetragen haben (EUZÉBY 2004; SWEENEY et al. 2005).

### 2.2.3 Virulenzfaktoren

Virulenzfaktoren von *S. equi* umfassen die Hyaluronsäurekapsel, die Hyaluronidase, das Streptolysin, die Streptokinase, FC-Rezeptoren bindende Proteine, pyrogene Exotoxine, das Peptidoglykan sowie das antiphagozytäre M-Protein (SeM) (SONGER and POST 2004). Daneben existiert ein leukozytenschädigendes Toxin (OIKAWA et al. 1994). Unterschiede bezüglich der Virulenz verschiedener Isolate beruhen hauptsächlich auf der von ihnen gebildeten Menge von antiphagozytärem M-Protein (SONGER and POST 2004).

#### 2.2.3.1 Hyaluronsäurekapsel

*S. equi* wird von einer Hyaluronsäurekapsel umhüllt, die den Mikroorganismus vor Opsonierung und anschließender Phagozytose durch neutrophile Granulozyten schützt (BAZELEY 1943; WOOLCOCK 1974). Die Hyaluronsäure ist ein Polymer mit hohem Molekulargewicht, das aus wechselnden Resten von N-Acetylglucosaminen und Glukuronsäuren besteht. Die Bildung der Kapsel ist ein wichtiges Virulenzmerkmal von *S. equi*, jedoch besitzt sie keine immunogene Wirkung, da ihre Hyaluronsäure mit der des tierischen Gewebes identisch ist (ERICKSON and NORCROSS 1975; SONGER and POST 2004). Infektionsversuche bei Fohlen und Mäusen zeigten, dass junge, bekapselte Kulturen deutlich virulenter und widerstandsfähiger gegen die Phagozytose sind als unbekapselte Mutanten (ANZAI et al. 1999b). Diese Beobachtung wurde damit erklärt, dass die antiphagozytäre Kapsel die Anzahl der Streptokokken, welche mit der Oberfläche von neutrophilen Granulozyten in Kontakt kommen und nachfolgend phagozytiert werden, stark reduziert (ANZAI et al. 1999b). Die Kapsel erhöht zudem die negative Ladung sowie die Hydrophilität der bakteriellen Oberfläche und produziert eine lokale, reduzierende Umgebung, die die Aktivität von sauerstofflabilen Proteasen und Toxinen wie z.B. Streptolysin schützt (TIMONEY 2004b). Auch für die Funktion des SeM und anderer oberflächenexponierter hydrophober Proteine wird die Kapsel benötigt, da diese in der

Abwesenheit der hydrophilen Kapsel aggregieren und somit die für ihre Funktion essentielle dreidimensionale Konformation verlieren. Deswegen werden unkapselte *S. equi*, trotz der Bildung von antiphagozytärem SeM, effizient phagozytiert (TIMONEY 2004a).

Die Kapselsynthese wird durch das *hasOperon* - zusammengesetzt aus *hasA* (Hyaluronsäuresynthase), *hasB* (UDP-Glukose Dehydrogenase) und *hasC* (UDP-Glukose Pyrophosphorylase) - gesteuert. Deletionen entweder in *hasA*- oder *hasB*-Genen resultieren im Verlust der Kapselsynthese und führen somit zu einer Reduktion der Virulenz der Erreger (WALKER and TIMONEY 2002; SONGER and POST 2004).

#### 2.2.3.2 Streptokinase

Das durch *S. equi* freigesetzte Protein Streptokinase (Fibrinolysin) interagiert mit der C-terminalen Serin-Protease-Domäne von equinem Plasminogen und überführt dieses in aktives Plasmin, welches eine fibrinolytische Wirkung besitzt (McCOY et al. 1991). McCoy et al. (1991) wiesen nach, dass Streptokokken der Lancefield-Gruppe-C über einen Oberflächenrezeptor für Plasmin verfügen. Die Bindung des Plasmins, das eine fibrinolytische Aktivität besitzt, könnte bei der Ausbreitung und Verteilung der Erreger im Gewebe sowie bei der Bereitstellung niedermolekularer Stickstoffsubstrate für das Bakterienwachstum von Nutzen sein (SONGER and POST 2004). Die Streptokinase von *S. equi* aktiviert equines, nicht aber porcines oder humanes Plasminogen. Diese speziesgebundene Plasminogenaktivierung könnte die Basis der selektiven Virulenz des Erregers für Equiden bilden und damit ein entscheidender Faktor in der Pathogenese der Druse sein (McCOY et al. 1991; NOWICKI et al. 1994).

#### 2.2.3.3 Streptolysin

Auf Blutagar kultivierte Kolonien von *S. equi* sind von einer mehrere Millimeter breiten Zone vollständiger Hämolyse ( $\beta$ -Hämolyse) umgeben, für welche ein Streptolysin (Hämolysin, Streptokokkenlysin) verantwortlich ist (FLANAGAN et al. 1998). Dieses Oligopeptid benötigt für seine biologische Aktivität die Stabilisierung durch weitere Proteine, wie z.B. Albumin. Die Bindung eines solchen Hämolysin-Komplexes an Erythrozyten führt zur Bildung transmembranöser Poren und der irreversiblen osmotischen Lysis der Zelle (Hämolyse) (CARR et al. 2001). Zusätzlich zu dem hämolytischen Effekt besitzt dieses Protein auch eine toxische Wirkung auf andere Zellen und Zellorganellen (TIMONEY 2004b).

#### 2.2.3.4 Peptidoglykan

Die Zellwand grampositiver Bakterien weist eine dicke Schicht aus Peptidoglykan (Murein) auf und verleiht dem Mikroorganismus somit Form und strukturelle Integrität. Damit geht auch eine Reihe biologischer Effekte im Wirt einher. Peptidoglykan ist ein potenter Aktivator des alternativen Weges der Komplementaktivierung. Die dadurch freigesetzten Komplementfaktoren (C<sub>3</sub>a, C<sub>5</sub>a) haben eine starke chemotaktische Wirkung auf equine, polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) (OIKAWA et al. 1994). Das Ausströmen von PMN auf die Schleimhäute des oberen Respirationstraktes sowie deren Wanderung in infizierte Lymphknoten mit der Entstehung von Abszessen stellen grundlegende Prozesse in der Pathogenese der Druse dar. Peptidoglykan ist zudem ein potentes Pyrogen, das die Freisetzung von pyrogenen Zytokinen, wie dem Interleukin 6 und dem Tumornekrosefaktor aus Leukozyten induziert. Die Anhäufung von neutrophilen Granulozyten an der Infektionsstelle und die Fieberreaktion gehören zu den charakteristischen Symptomen der Druse (SONGER and POST 2004).

#### 2.2.3.5 Superantigene

*S. equi* exprimiert mindestens vier pyrogene Mitogene, welche als SePE-H, SePE-I, SePE-K und SePE-L bezeichnet werden. Die Gene für diese pyrogenen Exotoxine erlangte der Erreger durch Bakteriophagen vermittelten Gentransfer. Dieses Geschehen dürfte für die Ausbildung einer höheren Virulenz gegenüber seinem Vorläufer *S. zooepidemicus* von großer Bedeutung sein (ANZAI et al. 1999a; ARTIUSHIN et al. 2002). Anders als konventionelle Antigene haben die pyrogenen Mitogene durch die gleichzeitige Bindung der nicht variablen Region von MHC-II-Molekülen an Antigen-präsentierenden Zellen und der variablen Region der  $\beta$ -Kette des T-Zell-Rezeptors ein hohes immunmodulatorisches Vermögen. Eine solche unspezifische T-Zell-Stimulation und -Proliferation hat die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und die Auslösung einer Akute-Phase-Reaktion mit hohem Fieber, Neutrophilenausschüttung und Hyperfibrinogenämie zur Folge. Diese Effekte sind charakteristisch für die Druse und könnten prinzipiell durch Antikörper, die während der Rekonvaleszenz oder durch eine aktive Immunisierung mit einem Mitogen gebildet werden, neutralisiert werden (ARTIUSHIN et al. 2002).

#### 2.2.3.6 M-Protein

Das M-Protein von *S. equi* (SeM) ist ein trypsinempfindliches, hitze- und säurebeständiges, antiphagozytäres sowie fibrillär strukturiertes an die Zellwandoberfläche von *S. equi* gebundenes Protein (WOOLCOCK 1974; ERICKSON and NORCROSS 1975). Wegen seiner antiphagozytären Eigenschaften wird es als ein wichtiger Virulenzfaktor des Erregers erachtet (SRIVASTAVA et al. 1985; TIMONEY and MUKHTAR 1993). Die antiphagozytäre

Wirkung wird auf die Bindung von Fibrinogen an die N-terminale Hälfte des SeM und die Bindung von IgG an die zentrale Region des SeM zurückgeführt (BOSCHWITZ and TIMONEY 1994a; MEEHAN et al. 2002). Diese Interaktionen maskieren die Bindungsstellen des Komplementfaktors C`3 auf der Oberfläche des Bakteriums, so dass der Erreger einer Opsonisierung und anschließenden Phagozytose entgeht (BOSCHWITZ and TIMONEY 1994b). Antikörper gegen die Fibrinogen- und IgG-Bindungsstellen des SeM verhindern diese maskierenden Effekte, so dass die Streptokokken effektiv opsonisiert und phagozytiert werden (TIMONEY 2004a). Unterschiede des SeM-Gens bei verschiedenen *S. equi* -Isolaten wurden von mehreren Autoren beschrieben (MEEHAN et al. 1998; CHANTER et al. 2000). Schließlich wurde auf Grundlage der Sequenzierung der SeM-Gene ein System zur Subtypisierung von *S. equi* -Isolaten erstellt (KELLY et al. 2006). Einige Isolate aus Pferden mit persistenten Luftsackinfektionen weisen Deletionen in ihrer Erbsubstanz auf, welche zu etwa 20 % das SeM-Gen betreffen (CHANTER et al. 2000). Der dadurch bedingte Verlust der SeM-Expression führt zwar zu einer Minderung der Virulenz, nicht jedoch der Infektiosität des Erregers (TIMONEY et al. 2000). Das immunogene sowie protektive Potential von gereinigtem, isoliertem SeM-Protein wurde von Woolcock (1974) und Srivastava and Barnum (1983) in Vakzinationsversuchen gezeigt.

#### 2.2.3.7 IgG bindende Proteine

*S. equi* besitzt Immunglobulin G (IgG) bindende Oberflächenproteine. Diese Proteine können, in ähnlicher Weise wie das ProteinA von *Staphylococcus aureus*, die Opsonisierung des Erregers durch Bindung an die Fc-Region der Antikörper verhindern (SONGER and POST 2004). Somit kann der Erreger der Phagozytose durch neutrophile Granulozyten entgehen.

#### 2.2.3.8 Leukozytenschädigendes Toxin

Schon Bazeley (1943) vermutete, dass *S. equi* -Kulturen während ihrer Vermehrung ein Exotoxin produzieren, das auf die neutrophile Granulozyten eine toxische Wirkung ausübt. Mukhtar and Timoney (1988) gelang schließlich der Nachweis dafür. Das Toxin schädigt die Membranen der Mitochondrien und macht die Granulozyten somit unfähig zur Phagozytose opsonisierter Bakterien (OIKAWA et al. 1994).

#### 2.2.3.9 Hyaluronidase

Die Hyaluronidase ist neben den von Streptokokken gebildeten DNAsen (sog. Streptodornasen) und der Streptokinase, ein bedeutender gewebsinvasiver Faktor (TIMONEY 2004b). Hyaluronsäure ist ein Heteroglykan aus polymerisierter Glukuronsäure sowie N-Azetylglukosamin und stellt die Kittsubstanz des Bindegewebes dar (KARLSON 1984).



Hyaluronidase führt durch enzymatische Depolymerisierung zur Auflösung dieser interzellulären Kittsubstanz, so dass die Erreger leicht in das Gewebe eindringen können. Die Hyaluronidase wird deshalb auch als ein „spreading factor“ bezeichnet, der die Ausbreitung von *S. equi* im infizierten Gewebe ermöglicht (TIMONEY 2004b).

#### 2.2.3.10 Weitere Oberflächenproteine

*S. equi* trägt an seiner Oberfläche eine große Zahl von Proteinen, die durch ihr CO-Ende, ihr N-Ende oder durch andere chemisch-physikalische Interaktionen an der Zellwand des Bakteriums verankert sind. Die Funktionen der meisten dieser Proteine sind unbekannt. Aufgrund von Sequenzhomologien zu Proteinen anderer Erreger wurden einige als Adhäsine eingestuft, andere haben enzymatische Funktion oder Transportfunktion und manche, wie das SeM, wirken antiphagozytär (TIMONEY 2004b). Die Bindung von Plasmaproteinen des Wirtes an die Oberflächenproteine der Bakterienzelle könnte eine Form der Maskierung des Erregers vor den zellulären Erkennungsmechanismen des Wirtes darstellen und den Zugang von Komplementfaktor C<sup>3</sup> oder spezifischen Antikörpern zu deren Zielregionen auf dem Mikroorganismus blockieren (TIMONEY 2004a).

#### 2.2.4 Tenazität

Bisher gibt es keine vollständigen Erkenntnisse zur Überlebensfähigkeit von *S. equi* in der belebten Umwelt. Die Streptokokken widerstehen der Austrocknung, besonders in Eiter oder im Blut, über mehrere Wochen (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959). Die Tenazität des Erregers im Eiter beträgt nach Richters (1930) im Minimum fünf Monate. Evers (1968) machte die Erfahrung, dass der Erreger auch bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt überlebt. Jorm (1992) ermittelte im Experiment bei gemäßigten Temperaturen eine Überlebensdauer von *S. equi* -Suspensionen auf sterilisierten Unterlagen von bis zu neun Wochen. Timoney (1993) merkt dazu an, dass die experimentell unter optimalen Bedingungen, wie konstanter Luftfeuchtigkeit und Temperatur, ermittelte Überlebensdauer der Erreger wohl kaum der unter realen Verhältnissen in der Umwelt zu erreichenden Überlebensdauer entspreche, da der Erreger in der Realität zusätzlich der Einwirkung von Sonnenlicht und kompetitiven Mikroorganismen (Mikroflora) ausgesetzt sei.

*S. equi* reagiert empfindlich auf Gifte von in der Natur vorkommenden Bakterien und überlebt daher nur sehr schwer außerhalb des Wirts. Auf Weiden und Koppeln ist die Überlebenszeit auf circa einen Monat begrenzt (TIMONEY 1993).

*S. equi* ist gegenüber allen geprüften, üblichen bakteriziden Desinfektionsmitteln sensitiv, sofern eine korrekte und wiederholte Anwendung derselben erfolgt. Der Erreger ist sehr empfindlich gegenüber hohen Temperaturen und stirbt bereits bei 55 °C innerhalb kürzester Zeit ab. Das Überleben von *S. equi* außerhalb des Wirtes ist also in jedem Falle zeitlich

begrenzt. Seine Verbreitung ist an Pferde und andere Equiden gebunden (SONGER and POST 2004).

### 2.2.5 Antibiotikasensitivität

Für die Behandlung von Streptokokkeninfektionen wird allgemein Penicillin als das Mittel der ersten Wahl betrachtet (CARTER and WISE 2004; NATTERMANN 2005). Bisher gibt es bei *S. equi* und *S. zooepidemicus* keine Hinweise auf Penicillinresistenzen, so dass die Erstellung eines Antibiogramms von manchen Klinikern als überflüssig erachtet wird (SWEENEY et al. 2005). Alternative Wirkstoffe wie Cephalosporine, Rifampicin, Chloramphenicol, Doxycyclin, Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Ampicillin, Lincomycin, Clindamycin, Vancomycin, Sulfonamide und potenzierte Sulfonamide, Florfenicol, Amikain, Gentamicin, Nitrofurantoin, Tetrazyclin, Oxacillin und Enrofloxazin werden abhängig von der Applikationsart, der Lokalisation der Infektion und der Behandlungskosten eingesetzt (FOREMAN 1987; CARTER and WISE 2004). Resistenzen gegenüber häufig eingesetzten Antibiotika wurden auch bei Streptokokkenspezies beobachtet, besonders gegenüber den Tetrazyclinen und Makroliden (TROLLDENIER und KEMPF 2000; SAUER et al. 2003; AMYES 2007). Die Inzidenz von Resistenzen gegenüber den meisten anderen Wirkstoffen ist gering (AMYES 2007).

In-vitro-Untersuchungen zur Empfindlichkeit von aus den Atemwegen isolierten Streptokokken für potenzierte Sulfonamide zeigten, dass die Mehrzahl der *S. equi* -Isolate empfindlich gegenüber diesen Wirkstoffen ist (FEY und SCHMID 1995). Ob sich diese Ergebnisse auf die Verhältnisse in vivo übertragen lassen, ist jedoch umstritten. Grund dafür sind die Resultate einer Studie über die Wirksamkeit von Trimethoprim-Sulfadiazin bei *S. zooepidemicus* -Infektionen bei Ponies, in welcher der Wirkstoff bei diesem mit *S. equi* eng verwandten Erreger eine unbefriedigende Effektivität zeigte (ENSINK et al. 2003).

Trolldenier und Kempf berichteten im Jahre 2000 über die Resistenzlage der equinen Streptokokken in Deutschland folgendermaßen: Die equinen Streptokokken zeigten eine hohe Sensibilität gegenüber Penicillin G, Ampicillin und Cephalosporinen der dritten Generation. Resistenzen bestanden in bis zu 45 % der Fälle gegen potenzierte Sulfonamide und Tetrazykline und eine noch ungünstigere Resistenzlage besteht gegenüber den Aminoglykosiden (TROLLDENIER und KEMPF 2000).

Jacks et al. (2003) führten Studien über die in-vitro-Empfindlichkeit von  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken mit folgenden Ergebnissen durch:

a) Antibakterielle Wirkstoffe mit einer geringen minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK): Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Ampicillin, Clindamycin, Trimethoprim-Sulfadiazin, Penicillin G, Ceftiofur, Florfenicol.

b) Antibakterielle Wirkstoffe mit einer hohen minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK): Amikain, Gentamicin, Nitrofurantoin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Doxycyclin, Oxacillin, Enrofloxazin.

### 2.2.6 Erkrankungen durch *S. equi*

*S. equi* kann verschiedene Krankheitsbilder wie Omphalophlebitiden beim Fohlen (SWEENEY et al. 2005), Mastitiden und Genitalinfektionen (in schweren Fällen als "Deckdruse" bezeichnet) bei Stuten (SONGER and POST 2004; NATTERMANN 2005), Aborte (SELBITZ 2002), Meningoenzephalomyelitiden (BLOOD and RADOSITS 1989; SPOORMAKERS et al. 2003; FINNO et al. 2006) und insbesondere bei Eseln und Fohlen Septikämien mit raschem letalen Ausgang (NATTERMANN 2005) hervorrufen.

Die Druse (Synonyma: Coryza contagiosa equorum, Lymphadenitis equorum, equine distemper, strangles, Gourme, Adenite equina) stellt die häufigste und meist gefürchtete Erkrankung infolge einer Infektion mit *S. equi* dar (SWEENEY et al. 2005).

## 2.3 Vorkommen, Epizootiologie und Übertragungsmöglichkeiten

Die Druse ist eine auf allen Kontinenten verbreitete, hoch ansteckende Erkrankung mit hoher wirtschaftlicher Bedeutung (TIMONEY 2004a). Sie ist nach wie vor eine der am weitesten verbreiteten Infektionskrankheiten der Equiden (WALLER and JOLLEY 2006). Nach Einschleppung des Erregers in eine empfängliche Pferdepopulation kann es zu einer rapiden und seuchenartigen Ausbreitung der Erkrankung kommen (SWEENEY et al. 2005).

Die Druse befällt am häufigsten Fohlen und kommt daher häufig in Gestüten und Fohlen-depots (heute: Aufzuchtbetriebe) vor. Mancherorts erkranken an ihr fast sämtliche Fohlen in sehr verschiedenem Grade; hingegen gelangt sie im späteren Alter seltener und fast ausschließlich bei Pferden zur Beobachtung, die im Fohlenalter die Krankheit nicht vollständig überstanden haben (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959).

Über die Verbreitung von *S. equi* in der deutschen Pferdepopulation gibt es nur wenige Erkenntnisse. Wissing (1993) untersuchte das Vorkommen von SeM-spezifischen Serumantikörpern des Typs IgG in der deutschen Vollblutpopulation und konnte bei 99 % der untersuchten Stuten Antikörper gegen *S. equi* nachweisen. Ca. 75 % dieser Stuten wiesen geringe Titer (1:300 bis 1:3999) und die restlichen 25 % erhöhte Titer (1:4000 bis 1:>8193) auf. Weiterhin hatten sich in dieser Untersuchung 50 % der Fohlen bis zum sechsten Lebensmonat und etwa 80 % der Fohlen im ersten Lebensjahr im Rahmen einer Primärinfektion mit dem Erreger auseinandergesetzt. Deutliche Unterschiede zwischen zweijährigen und älteren Pferden wiesen auf Sekundärinfektionen bzw. ständige Boosterungen bei älteren Tieren hin. Die Verbreitung des Erregers variierte je nach Gestüt, mit einer Durchseuchungsrate von bis zu 100 %.

Die Erkrankung kann bei Pferden jeden Alters auftreten (NEES 1994). Sie befällt jedoch am häufigsten junge Pferde nach dem Absetzalter bis zu einem Alter von drei Jahren (YELLE 1987; SWEENEY et al. 1987a). Die Druse wird daher als eine typische Erkrankung junger Pferde bzw. als die klassische Erstinfektion der Jährlinge beschrieben. Ursache hierfür könnte eine größere Empfänglichkeit bei Erstkontakt von immunologisch naiven Tieren mit dem Erreger sein (BRYANS and MOORE 1972). Nach durchstandener Erkrankung weisen sie eine aktiv erworbene Immunität gegen die Infektion auf (MAHAFFEY 1962). Eine rasse-spezifische Anfälligkeit für die Erkrankung scheint nicht gegeben zu sein (REIF 1979; NEES 1994).

Die Morbidität der Erkrankung ist hoch, besonders unter empfänglichen, jungen Pferden erreicht sie bis zu 100 % (FORD and LOKAI 1980; BLOOD and RADOSITS 1989; CLABOUGH 1987). Stresssituationen, virale Infektionen, Parasitosen, schlechte Haltungs- und Fütterungsbedingungen sowie eine große Populationsdichte und frequente Pferdebewegungen führen zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko (EBERT 1969; GERBER 1982; YELLE 1987; TIMONEY 1993). Die Mortalität ist mit max. 3 % als gering anzusehen (TODD, 1910). Unter besonders ungünstigen Umständen wurden aber auch Mortalitätsraten von 10 - 15 % beobachtet (RICHTERS 1929; FORD and LOKAI 1980, WIRTH und DIERNHOFER 1950). Die meisten Todesfälle sind auf komplizierte Verläufe der Erkrankung, mit der Ausbreitung der Infektion in verschiedenste Körperorgane zurückzuführen (BLOOD and RADOSITS 1989).

Die Druse schädigt trotz des meist günstigen Verlaufes durch die zeitweilige Störung der Entwicklung der Fohlen, zum Teil auch durch die ab und zu eintretenden Todesfälle in empfindlicher Weise die Pferdezucht (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959). Die Infektionskette der Druse ist homolog. Die Übertragung von *S. equi* ist auf direktem und indirektem Wege über belebte sowie unbelebte Vektoren möglich. Sie erfolgt in der Regel jedoch direkt durch Kontakt- oder Tröpfcheninfektion, ist aber auch venerisch (Deckdruse), laktogen, intrauterin sowie intrapartal möglich (REIF 1979; GEORGE et al. 1983; TAYLOR 1992; NATTERMANN 2005). Die indirekte Übertragung kann durch die Nutzung von kontaminierten Stallungen und Weiden, Tränkeeinrichtungen, Futter sowie weitere unbelebte Vektoren erfolgen. Dazu zählen in der Pferdehaltung unter anderem auch Nasenbremsen, Zaumzeug, Putzzeug, die Kleidung und Ausrüstung oder Instrumentarium von Hufschmieden, Stallpersonal und Tierärzten (SWEENEY et al. 2005). Der Erreger kommt nicht in der Umwelt vor, überlebt aber nach seiner Ausscheidung in der Umgebung der Pferde bis zu einigen Wochen (SELBITZ 2002).

Eitrige Nasensekrete oder Sekrete aus sich entleerenden Abszessen von Pferden, die sich in der akuten Phase oder in der Erholungsphase der Erkrankung befinden, stellen die häufigste und gleichzeitig am einfachsten festzustellende Infektionsquelle dar. Als weitere

Infektionsquellen gelten Pferde in der Inkubationsphase und klinisch inapparente, persistente Infektionsträger, die den Erreger mit den Nasensekreten ausscheiden. In diesen Fällen ist die Quelle der Infektion nicht einfach zu erkennen, so dass klinische Symptome bei Kontaktpferden meist unerwartet auftreten. Pferde können den Erreger auch nach vollständiger klinischer Genesung noch einige Wochen lang auf ihren Schleimhäuten beherbergen und ausscheiden (SWEENEY et al. 1989). Bei akut erkrankten Tieren hält die Erregerausscheidung im Eiter aus Abszessen bis zu vier Wochen (SONEA 1987) und im Nasenausfluss ca. sechs Wochen an (TIMONEY 1993; AMES 1995). Somit stellen wieder genesene Pferde noch bis mindestens sechs Wochen nach Ende der klinischen Druse-symptomatik eine potentielle Infektionsquelle dar. Längeres, symptomloses Ausscheidertum scheint ein eher seltenes Phänomen zu sein, da vermutlich die Mehrheit drusekranker Pferde durch eine effektive Immunantwort den Erreger aus ihrem Körper eliminiert (TIMONEY 1993). Die nasale Ausscheidung des Erregers beginnt zwei bis drei Tage nach Eintritt der Fieberphase und führt zur Kontamination der Umgebung des Pferdes (SELBITZ 2002). Manche Pferde scheiden postinfektionell niemals Erreger aus. In bis zu 10 % der manifesten Drusefälle kommt es zur Erregerpersistenz in den Luftsäcken und/oder Nasennebenhöhlen infizierter Pferde, die symptomlos über mehrere Monate oder sogar Jahre andauern kann (SWEENEY et al. 2005). Die resultierende intermittierende Ausscheidung kann zur Aufrechterhaltung der Infektionskette führen (MEYER et al. 1992; CHANTER et al. 1998). Erstmals wurden asymptomatischer Träger nach Genesung von George et al. (1983) nachgewiesen. Diese Erkenntnis wird auch durch entsprechende Untersuchungen von Timoney (1988a) und Sweeney et al. (1989) untermauert. Dass der Erreger im Wirtstier auch nach der Genesung noch lange überlebensfähig ist, zeigt beispielhaft der Bericht von einem Pony, bei dem der Erreger noch ein Jahr nach Genesung nachgewiesen wurde (WOOD et al. 1993). Die Infektion der Luftsäcke ist von besonderer Bedeutung, weil diese die häufigste Lokalisation für eine Erregerpersistenz darstellen (NEWTON et al. 1997; VERHEYEN et al. 2000). Eine persistierende Infektion der Schleimhäute des Nasenrachenraumes oder der Nasennebenhöhlen scheint hingegen selten zu sein (TIMONEY 2004b). Laut Timoney (1993) und Newton et al. (2000a) sind klinisch inapparente Infektionsträger (Keimträger mit zumeist intermittierender Ausscheidung der Erreger) als die wichtigste Ursache für die Erregerpersistenz in einem Bestand anzusehen. Zudem kann der Erreger aufgrund einer persistenten Kontamination der Umgebung der Pferde (kontagiöse Vektoren) ein fortwährendes Problem für den Bestand (BRYANS and MOORE 1972; JORM 1992; WOOD et al. 1993) darstellen. Da viele persistente Infektionsträger nur intermittierende Ausscheider von lediglich kleinen Erregermengen sind und zudem Deletionen des SeM-Gens zum Verlust der SeM-Expression mit resultierender Verringerung der Erregervirulenz führen können, ist dadurch eine Unterbrechung der Infektionskette möglich (CHANTER et al. 2000).

## 2.4 Pathogenese

*S. equi* wird über das Maul oder die Nüstern aufgenommen und gelangt so auf die Schleimhäute des Nasenrachenraumes. Dort haftet der Erreger an den Zellen der Schleimhautkrypten der Zungen-, Gaumen- und Rachenmandeln sowie am Lymphfollikel enthaltenden Epithel der Nasen- und Rachenschleimhaut. Über den dafür verantwortlichen Mechanismus und die hierbei beteiligten Liganden gibt es bisher nur wenige Erkenntnisse (TIMONEY 2004a). Es erscheint möglich, dass insbesondere die an der Bakterienoberfläche gebundenen Lipoteichonsäuren als Adhäsionsfaktoren zur Bindung des Erregers an die Schleimhäute des infizierten Wirtes fungieren. Bei *S. pyogenes* wurden einige Proteine charakterisiert, welche Fibronectin binden und so das Andocken an die Zellen des Wirtes und die Gewebeeinvasion im Zusammenspiel mit Integrinen vermitteln. FNZ, ein Fibronectin bindendes Protein, das von *S. zooepidemicus* produziert wird, kommt auch bei *S. equi* vor, jedoch ohne einen C-terminalen Anker, so dass es vermutlich nicht funktionstüchtig ist (LINDMARK et al. 1996). Schon wenige Stunden post infectionem ist *S. equi* auf der Schleimhautoberfläche nicht mehr nachzuweisen, da er die Schleimhautbarriere rasch passiert und somit die Lamina propria mucosae und die subepithelialen Lymphfollikel erreicht. Von hier aus erfolgt ein lymphogener Transport des Erregers zu den regionalen (mandibulären und pharyngealen) Lymphknoten (SWEENEY et al. 2005), wo dieser sich extrazellulär vermehrt (TIMONEY 2004b).

Komplementabhängige chemotaktische Faktoren, die nach der Interaktion des Komplementfaktors C<sub>1</sub> mit dem Erreger gebildet werden, locken große Mengen von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) an (MUKHTAR and TIMONEY 1988). Aufgrund der Unfähigkeit der PMN *S. equi* zu phagozytieren und abzutöten, kommt es zur massenhaften Ansammlung von Streptokokken und degenerierten PMN, was letztlich zur Gewebeeinschmelzung und Abszessbildung führt (TIMONEY 2004a). Die unzureichende Phagozytose durch die Granulozyten scheint auf der Wirkung verschiedener anti-phagozytärer Virulenzfaktoren, wie der Hyaluronsäurekapsel, dem M-Protein sowie dem leukozytenschädigenden Toxin zu beruhen (TIMONEY 2004b). Die akute eitrige Lymphadenitis geht mit Vergrößerung der Lymphknoten einher, die innerlich zunächst kleine Einschmelzungen und Nekrosen aufweisen. Die Bildung von Abszessen in den Lymphknoten wird oft von einer Anstauung von Lymphe in den afferenten Lymphgefäßen begleitet (SWEENEY et al. 2005). Bei der Druse entstehen aus anfänglich miliaren Eiterherden bis zu kindskopfgroße Abszesse mit weißlich-rahmigem Eiter, vorzugsweise in den Kopflymphknoten, seltener auch in anderen Lymphknoten und Organen (WEISS und RUDOLPH 1988).

Die Eliminierung der Erreger aus dem Körper ist dann abhängig von der Auflösung der Abszesskapsel und der Entleerung ihres Inhaltes (SWEENEY et al. 2005). Die Streptokinase und das Streptolysin könnten zur Abszessreife beitragen, indem sie

Zellmembranen schädigen und die proteolytischen Eigenschaften des Plasminogens aktivieren (TIMONEY 2004a).

Die Freisetzung der pyrogenen Mitogene SePE-H und SePE-I führt zum rapiden Anstieg der Rektaltemperatur auf über 39 °C und zur Erhöhung der Serumfibrinogen-Konzentration sowie der Zahl der weißen Blutzellen (TIMONEY 2004b).

Die Luftsäcke werden meist schon während der frühen Stadien der Druse oder erst später beim Durchbruch von Abszessen der Lymphonodi retropharyngeales mediales in die Luftsäcke infiziert. Ein kurzzeitiges Luftsackempyem ist wahrscheinlich die häufigste Folge einer unkomplizierten Drainage von retropharyngealen Lymphknotenabszessen. In manchen Pferden persistiert ein Luftsackempyem mit darin enthaltenen *S. equi* jedoch symptomlos über mehrere Monate oder sogar Jahre (SWEENEY et al. 2005). Sollte das eitriges Material in den Luftsäcken dauerhaft verbleiben, so kann es eingedickt werden und schließlich zu festen Gebilden geformt werden. Diese sogenannten Chondroide (Luftsacksteine, Luftsackkonkrementen) bestehen aus abgeschilferten Epithelzellen, Blut und nekrotischem Gewebe (BREUER 1978; BARBER 1991). Chondroide können einzeln oder in größeren Mengen vorkommen und von ihrer Oberfläche kann *S. equi* durch Kultivierung isoliert werden (NEWTON et al. 1997).

Obwohl die Druse - wie beschrieben - in erster Linie die oberen Atemwege einschließlich der Luftsäcke, der Nasennebenhöhlen und der damit assoziierten lokalen Lymphknoten betrifft, kommt eine Metastasierung in andere Körpergebiete gelegentlich vor (TIMONEY 2004b). Aus einer primär lokalen Entzündungserscheinung kann sich dann eine Bakteriämie mit Erregerstreuung entwickeln. Das Risiko hierfür ist erhöht, wenn die Pferde nicht sofort ruhig gestellt werden (SWEENEY et al. 2005). Evers (1968) beschreibt Fälle einer Bakteriämie bei Pferden, die mit *S. equi* intranasal inokuliert wurden. Aus Blutproben dieser Pferde, welche zwischen dem sechsten und zwölften Tag nach der Inokulation genommen wurden, konnte *S. equi* durch Kultivierung nachgewiesen werden. Diese interessanten Ergebnisse wurden bisher nicht bestätigt, sie zeigen aber das Potential von *S. equi*, andere Gewebe des Körpers als die Lymphknoten von Kopf und Hals zu erreichen und zu kolonisieren und weisen auch auf die Möglichkeit der Bildung von zirkulierenden Immunkomplexen hin.

Im Falle einer Metastasierung erfolgt die Ausbreitung von *S. equi* meist auf hämatogenem oder lymphogenem Wege, was dann häufig zu Abszessen in den Lymphknoten und Organen des Thorax und Abdomens führt (SWEENEY et al. 2005). Zudem kann das Abschlucken bzw. Aspirieren von Eiter zur Absiedelung und Kolonisierung in unterschiedlichen Abschnitten des Magen-Darmtraktes bzw. des unteren Respirationstraktes führen (TIMONEY 2004a).

Verschiedene Autoren brachten milde klinische Verlaufsformen der Druse mit gelegentlich auftretenden atypischen, matte Kolonien bildende Varianten in Zusammenhang (MAHAFFEY 1962; WOOLCOCK 1975b; PRESCOTT et al. 1982). TIMONEY (1988a)

konnte jedoch sowohl schleimige als auch matte Kolonien bei Pferden mit mildem Krankheitsverlauf isolieren und vermutet, dass Wirtsfaktoren bestimmend für den Verlauf der Erkrankung sein könnten.

Im Infektionsexperiment korrelierte die inokulierte Menge von kultivierten *S. equi* zur Inkubationszeit und zur Schwere der aus der Infektion resultierenden Erkrankung. Infektionsdosen von weniger als  $10^6$  koloniebildende Einheiten (KBE) sind nicht konstant in der Lage, die Erkrankung auszulösen, da solch geringe Mengen an Erregern offensichtlich von der mukoziliären Clearance effizient beseitigt werden können (SWEENEY et al. 2005).

## 2.5 Klinik

### 2.5.1 Druse

Druse ist eine primär akut verlaufende, fieberhafte Infektionskrankheit, die durch Entzündung der Schleimhäute des oberen Respirationstraktes und die Vereiterung der regionalen Lymphknoten mit der Neigung zur Abszedierung gekennzeichnet ist (SELBITZ 2002).

Das Problem der Unkenntnis über den genauen Infektionszeitpunkt bei natürlicher Infektion spiegelt sich in der von verschiedenen Autoren unterschiedlich angegebenen Inkubationszeit wider. So werden die Inkubationszeiten nach natürlicher Infektion mit 2-6 (SWEENEY et al. 1987a), 2-10 (WILSON 1988), 3-6 (SONEA 1987), 3-8 (TODD 1910; YELLE 1987), 3-14 (TIMONEY 1993), 4-8 (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959) und 5-7 (KELLER und JAESCHKE 1984) Tagen angegeben. Nach experimenteller Infektion wird eine Inkubationszeit von drei bis sechs Tagen beschrieben (NARA et al. 1983; BEECH and SWEENEY 1991). Die Länge der Inkubationszeit scheint von der Infektionsdosis und der Virulenz der infizierenden *S. equi* -Stämme sowie der individuellen Empfänglichkeit der Pferde für die Infektion abhängig zu sein. So wird die Inkubationszeit im Laufe der Entwicklung eines Druseausbruchs kürzer und die Anzahl ausgeschiedener infektiöser Erreger steigt an (SWEENEY et al. 2005). Erfahrungsgemäß verläuft die Krankheit bei jungen Pferden schwerer als bei älteren (FALLON 1969).

Die Erkrankung beginnt zumeist mit hohem Fieber ( $> 39,5$  °C) und Mattigkeit, gefolgt von einer katarrhalischen Rhinitis mit ein- oder beidseitigem, seromukösem bis eitrigem Nasenausfluss sowie einer schmerzhaften Schwellung der Mandibular-, Retropharyngeal- und/oder Parotislymphknoten (HANCKE 1931; KELLER und JAESCHKE 1984; NEES 1994). Kommt es in diesem Stadium zur spontanen Heilung, spricht man von „leichter Druse“ (NATTERMANN 2005).

Hauptsymptome der „schweren Druse“ sind zum einen eine eitrig, phlegmonöse oder abszedierende Entzündung der Nasen- und Rachenschleimhäute mit eitrigem Nasen-



ausfluss und zum anderen eine von außen deutlich wahrnehmbare, eitrig-abszedierende Lymphadenopathie der oberflächlichen Kopflymphknoten (TIMONEY 2004a).

Eine Rhinitis führt zu einem meist beidseitigen Nasenausfluss, welcher anfänglich serös und im Verlauf der Erkrankung schleimig-eitrig bis eitrig wird. Intermittierender, einseitiger purulenter Nasenausfluss ist hingegen häufig die Folge einer Sinusitis. Das Ausstoßen großer Mengen Eiter aus den Nüstern oder dem Maul mit dem Husten ist gewöhnlich ein Hinweis auf das Vorliegen eines Luftsackempyems, das wiederum häufig durch die Entleerung der retropharyngealen Lymphknotenabszesse in die Luftsäcke verursacht wird (SWEENEY et al. 2005). Die Ansammlung von eitrigem Exsudat kann ein schniefendes oder rasselndes Atemgeräusch in den oberen Atemwegen verursachen.

Eine Laryngitis sowie Abszesse der retropharyngealen Lymphknoten können durch Kompression des Kehlkopfes oder der Luftröhre zu Stridor und Atembeschwerden - bis hin zur akuten, eine Tracheotomie erfordernden Dyspnoe - führen, was der Erkrankung die im anglo-amerikanischen Sprachraum übliche Bezeichnung „strangles“ („strangle“, zu deutsch „ersticken“) verlieh (FORD and LOKAI 1980; TIMONEY 1993). Eine temporäre laryngeale Hemiplegie, resultierend aus einer Beeinträchtigung der recurrenten laryngealen Nerven durch Vergrößerung der retropharyngealen oder der vorderen cervicalen Lymphknoten, kann ebenfalls zur Ausbildung einer Dyspnoe beitragen. Husten ist in keinem Falle ein Leitsymptom der Druse, obwohl einige betroffene Pferde einen leichten, feuchten Husten entwickeln, der produktiver und mit Fortschreiten der Erkrankung zunehmend stärker werden kann (SWEENEY et al. 2005).

Pharyngitis und Vergrößerung der regionalen Lymphknoten der Rachengegend können Schluckbeschwerden und in schweren Fällen eine Dysphagie mit Reflux von Futter und Wasser aus den Nüstern bedingen (NEES 1994). Gelegentlich können sie aber auch eine schmerzbedingte, unphysiologisch gestreckte Kopf-Hals-Haltung hervorrufen (KELLER und JAESCHKE 1984; SWEENEY et al. 2005). Häufig ist während der Druse eine Konjunktivitis, gekennzeichnet durch deutliche Hyperämie und Schwellung der Schleimhäute der Augen und eitrigem Augenausfluss, festzustellen. Als weitere unspezifische Symptome werden regelmäßig auch Depression, Teilnahmslosigkeit und Konditionsverlust beobachtet (SWEENEY et al. 2005).

Die submandibularen und retropharyngealen Lymphknoten sind bei einer *S. equi*- Infektion ungefähr in gleichem Maße involviert und werden etwa eine Woche p.i. deutlich größer und schmerzhaft, wobei die Abszedierung der retropharyngealen Lymphknoten nicht immer mit einer von außen wahrnehmbaren Schwellung verbunden ist. Andere Kopf- und Halslymphknoten (Lnn. parotidei, Lnn. cervicales craniales) sind nicht regelmäßig involviert (TIMONEY 2004b). Das erste Anzeichen einer Lymphadenopathie ist häufig ein warmes und schmerzhaftes diffuses Ödem in der Kehlgangsgegend. Es kann dann, während der Reifung der Lymphknotenabszesse, über einige Tage zur lokalen Ausschüttung von Serum durch

die Haut kommen (BRYANS and MOORE 1972). Die Zeitspanne bis zur natürlichen Rupturierung und Entleerung der Abszesse der Kopflymphknoten beträgt in der Regel zwei bis drei Wochen und die Schwellungen können währenddessen Druck auf Pharynx, Larynx, Trachea und Ösophagus ausüben. Wenn die Abszesse schließlich durch die Haut durchbrechen, entleert sich zäh-cremiger gelber Eiter (SWEENEY et al. 2005). Abszesse von Kopflymphknoten brechen meist nach außen durch, die der retropharyngealen Lymphknoten können sich aber auch in die Luftsäcke oder in die Rachenhöhle entleeren. Die Ausheilung der Abszesshöhlen verläuft dann zumeist komplikationslos (BRYANS and MOORE 1972).

Das Fieber persistiert solange wie sich die Lymphadenopathie entwickelt und die Abszesse reifen. Mit der Entleerung der Abszesse fällt die Körpertemperatur rasch ab und das Befinden der Pferde verbessert sich. Anschließend tritt in den meisten Fällen eine rasche, vollständige Genesung ein. Komplikationen oder Folgekrankheiten durch eine metastatische Ausbreitung des Erregers in andere Organe kommen gelegentlich vor und komplizieren dann den Krankheitsverlauf (TIMONEY 2004a).

Als „kalte Druse“ wird eine milde, katarrhalische Form der Krankheit bezeichnet, die durch geringgradigen mukopurulenten bis purulenten Nasenausfluss, Fieberfreiheit, Vergrößerung der Kopflymphknoten - die hierbei meist nicht abszedieren - und schnelle Rückbildung der Krankheit gekennzeichnet ist (TIMONEY 2004a; NATTERMANN 2005). Diese Verlaufsform wird häufig bei älteren Pferden beobachtet, die aufgrund einer schon bestehenden immunologischen Schutzwirkung (Immunität) infolge eines früheren Erregerkontaktes weniger empfänglich gegenüber der Infektion sind. Derartige, klinisch kaum auffällige Pferde schleppen die Infektion häufig in freie Bestände ein oder dienen als Erregerreservoir mit der Konsequenz der Aufrechterhaltung der Infektionskette in einem Bestand (TIMONEY 2004a; SWEENEY et al. 2005). Diese Form der Druse kann sich aber auch nach einer unzureichenden Antibiose (Dosierung und/oder Anwendungsdauer) entwickeln (NATTERMANN 2005). In Großbritannien, Kanada und Australien wurde dieser milde Krankheitsverlauf der Druse außerdem als Folge der Infektion mit atypischen, unbekapselten Isolaten von *S. equi* beschrieben (MAHAFFEY 1962; WOOLCOCK 1975b; PRESCOTT et al. 1982).

Das klinische Bild der Deckdruse - wie eine durch den Deckakt übertragene schwere Genitalinfektion der Stute mit *S. equi* häufig auch bezeichnet wird - ist durch eine katarrhalisch-eitrige Entzündung der Genitalschleimhäute mit eitrigem Scheidenausfluss sowie durch Abszedierung der periproktalen Lymphknoten in der Umgebung der Vulva charakterisiert (NATTERMANN 2005). Als Komplikation hierbei treten Phlegmonen sowie Metastasierungen in andere Lymphknoten und innere Organe auf (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959).

## 2.5.2 Komplikationen im Zusammenhang mit einer Druseerkrankung

Die allgemeine Komplikationsrate bei *S. equi*-Infektionen wird von Wilson (1988) mit 20 % angegeben. Auftretende Komplikationen verschlechtern die Prognose und können die Mortalitätsrate infolge Exitus oder notwendiger Euthanasie deutlich erhöhen (SWEENEY et al. 1987b).

Komplikationen in Folge der Druseerkrankung können eingeteilt werden in:

- Folgekrankheiten und Komplikationen verbunden mit einer metastatischen Infektion anderer Körperregionen
- Immunvermittelte Prozesse, wie immunvermittelte Vasculitis (Purpura haemorrhagica) und Myopathien

### 2.5.2.1 Metastatische Formen der Druse

*S. equi* ist in der Lage, sich im Körper des Pferdes auszubreiten und in praktisch allen Organen eitrige Entzündungen und Abszesse zu verursachen. Die aus der Erregerstreuung resultierenden Formen der Druse werden im anglo-amerikanischen Sprachraum als „bastard *strangles*“ bezeichnet. Die Prävalenz der metastatischen Formen ist gering. Jedoch wird z.B. in einer Studie, in der Druseausbrüche auf zwei amerikanischen Farmen untersucht wurden, über die Entwicklung von Abszessmetastasen bei sieben von 25 (28 %) an Druse erkrankten Pferden berichtet (SPOORMAKERS et al. 2003).

Auch Abszesse der Lymphknoten im Inneren des Thorax können schwere Kompressionen der Trachea, Dyspnoe und eine tödliche Asphyxie verursachen (SWEENEY et al. 2005). Laut Hancke (1931) und Nees (1994) ist Atemnot die häufigste Komplikation im Rahmen der Druse. Die Aspiration von Eiter birgt die Gefahr der eitrig-Aspirationspneumonie (GRATZL 1933). Neben der auf hämatogenem Wege entstandenen eitrig-Aspirationspneumonie ist diese die häufigste Todesursache bei der Druse (FORD and LOKAI 1980; SWEENEY et al. 1987b; NEES 1994; JUDY et al. 1999). Das Abschlucken von Eiter kann eitrige Entzündungen im Magen-Darmtrakt hervorrufen (TIMONEY 2004b).

Retropharyngeale Lymphknotenabszesse können sich in einen oder beide Luftsäcke entleeren (GRATZL 1933; NEES 1994) und ein Luftsackempyem auslösen (KNIGHT et al. 1975). Luftsackkonkremente und Schädigung benachbarter Nerven sind Folgeerscheinungen. Die Nervenschädigungen können zu einer Fazialisnervlähmung (v. SARNOWSKI 1927; NEES 1994), einem Horner Syndrom oder einer Dysphagie (SWEENEY et al. 1987b; AMES, 1995) führen. Kehlkopfpeifen ist eine mögliche Folge einer Druckatrophie des Nervus laryngeus recurrens, die durch die Abszedierung der medialen retropharyngealen Lymphknoten (NEES 1994), der cranialen Halslymphknoten (BRYANS and MOORE 1972; TIMONEY 1993) oder der cranialen Mediastinallymphknoten ausgelöst werden kann (BRYANS and MOORE 1972). In der Regel hat die Abszedierung der Lymphknoten an der vorderen Gekrösewurzel und am Mesenterium jedoch Verdauungsstörungen, Kolikerschein-

ungen und Abmagerung zur Folge (NEES 1994; NATTERMANN 2005). Das Aufbrechen von Lymphknotenabszessen im Thorax oder Abdomen kann eitrige Pleuritiden und Serositiden (NATTERMANN 2005; WEISS 2007) nach sich ziehen. Eine Verschleppung des Erregers in das Liquorsystem führt zu eitrigem Meningoencephalomyelitis (HAHN 1980). Metastasierende Abszesse können auch im Gehirn (RAPHEL 1982; NEES 1994; SPOORMAKERS et al. 2003), in der Lunge, der Leber, der Milz und in den Nieren vorkommen (COHRS 1941; FORD and LOKAI 1980; SWEENEY et al. 1987b; WEISS 2007). Andere beschriebene Komplikationen sind Anämie, Septikämie, Endokarditis, periorbitale Abszesse (SWEENEY et al. 1987b), ulzerative Keratitis, Panophthalmitis, paravertebrale Abszesse (ROONEY 1979), eitrige Arthritis und Tendovaginitis, Kieferhöhlenempyeme und Fisteln (NEES 1994). Eine weitere mögliche Komplikation der Drüse ist eine Myokarditis (FORD and LOKAI 1980; SWEENEY et al. 1987b), die den plötzlichen Tod durch Herzversagen nach sich ziehen kann. Über das Vorkommen einer Agalaktie wurde bei Zuchtstuten mit klinisch manifester Drüse berichtet (SWEENEY et al. 1987a). Obwohl eine Infektion der Milchdrüse möglich ist, sind die Euter gewöhnlich unauffällig und die Agalaktie wird als Folge des Fiebers und der Anorexie, welche mit der Krankheit einhergehen, angesehen. Eine solche Komplikation kann die Mutterstuten daran hindern, ausreichend Kolostrum und/oder Milch für ihre Fohlen zu produzieren (SWEENEY et al. 2005).

## 2.5.2.2 Immunvermittelte Komplikationen einer *S. equi* -Infektion

### 2.5.2.2.1 Immunvermittelte Vaskulitis - Purpura haemorrhagica

Als eine schwerwiegende Komplikation der Drüse ist die Purpura haemorrhagica (Synonyma: Morbus maculosus, Blutfleckenkrankheit, Petechialfieber) einzustufen (SWEENEY et al. 1987b; NEES 1994). Sie bricht in Form einer aseptisch-nekrotisierenden Vaskulitis überwiegend bei adulten Pferden aus (TIMONEY 1993). Die Erkrankung scheint durch die Ablagerung von Immunkomplexen an den Blutgefäßwänden verursacht zu werden, was zur Aktivierung der Komplementkaskade und lysosomaler Enzyme sowie zur Freisetzung vasoaktiver Amine führt, deren Folgen eine Entzündung der Gefäßwände und eine haemorrhagische Diathese sind (GALÁN and TIMONEY 1985a, TIMONEY 1993; BORCHERS et al. 2006). Obwohl sie häufig mit *S. equi* -Infektionen assoziiert wird, kann die Purpura auch als Immunreaktion auf eine Vielzahl anderer Antigene vorkommen (THEIN 1996a, 2007; PUSTERLA et al. 2003; BORCHERS et al. 2006). Ein hoher Antikörpertiter gegen Antigene von *S. equi* kann Pferde für die Entwicklung einer Purpura prädisponieren (HEATH et al. 1991).

Die verschiedenen klinischen Ausprägungen einer Purpura haemorrhagica reichen von einer milden, vorübergehenden Reaktion bis zu einer schweren, tödlich verlaufenden Erkrankung (PUSTERLA et al. 2003). Die typischen klinischen Symptome, die als Folge der Vaskulitis

beschrieben werden, beinhalten Petechien und Eckchymosen der Schleimhäute sowie subkutane Ödeme, die meist am Kopf, an den Gliedmaßen und/oder am Rumpf auftreten. Außerdem werden Fieber, Lethargie, Anorexie und Gewichtsverlust festgestellt (PUSTERLA et al. 2003). Schwere Ödeme können zu serösen Ausschwitzungen durch die Haut führen und eine Verschorfung der Haut hervorrufen. Die Vaskulitis kann auch den Verdauungstrakt, die Lunge und die Muskulatur betreffen und Symptome wie Kolik, Atembeschwerden und Muskelschmerzen verursachen. Zudem wird die Möglichkeit einer Glomerulonephritis durch die Ablagerung von Immunkomplexen in den Nieren beschrieben (SONGER and POST 2004).

#### 2.5.2.2.2 Myopathien

Zwei Typen von Myopathien, die sogenannten „*muscle infarctions*“ (Muskelfarkte) und die Rhabdomyolyse mit progressiver Muskelatrophie, wurden bei Pferden infolge einer *S. equi* - Infektion dokumentiert. Hinter beiden Syndromen werden ebenfalls immunvermittelte Prozesse vermutet (VALBERG et al. 1996).

##### Muskelfarkte

Bei diesem Syndrom zeigen die Pferde Infarkte in der Skelettmuskulatur mit den klinischen Symptomen von Muskelsteifheit, Lahmheit sowie eine Erhöhung der Muskelenzyme und der SeM-spezifischen Antikörper im Serum. Zusätzlich werden weitere Symptome wie abdominale Schmerzen und subkutane Ödeme beobachtet (VALBERG et al. 1996). Da viele Pferde mit Purpura haemorrhagica Erhöhungen der Kreatinkinase-Aktivität und der Aspartat-Aminotransferase-Aktivität im Serum aufweisen - was auf eine Vaskulitis mit Nekrosen in der Muskulatur zurückgeführt werden kann - scheint dieses Syndrom eine seltene und fatale Verlaufsform der Purpura haemorrhagica darzustellen (VALBERG et al. 2005).

##### Rhabdomyolyse

Eine Rhabdomyolyse wurde bei mehreren Quarter Horses im Anschluß an eine Infektion mit *S. equi* diagnostiziert (VALBERG et al. 1996). Einige dieser Pferde wiesen zusätzlich eine Polysaccharid-Speicher-Myopathie auf und entwickelten die Rhabdomyolyse während der *S. equi* -Infektion. Andere entwickelten die Erkrankung ohne Vorliegen einer präexistierenden Myopathie und zeigten ein gestörtes Allgemeinbefinden sowie eine rasch fortschreitende Atrophie der großen Skelettmuskelgruppen. Die Pferde wiesen erhöhte Serumkonzentrationen der Muskelenzyme auf und die Biopsie von Muskelgewebe ergab eine akute Rhabdomyolyse mit Atrophie der „fast-twitch Fasern“ sowie eine lymphozytäre Vaskulitis. Valberg et al. (1996) vermuteten das Vorliegen einer immunvermittelten Pathogenese aufgrund des Nachweises großer Mengen von IgG zwischen den Muskelfasern sowie bekannter Homologien zwischen dem M-Protein von *S. equi* und Varianten von equinem Myosin.

## 2.6 Immunologie

### 2.6.1 Humorale Immunität

Postinfektionell entwickelt die Mehrzahl der Pferde eine belastbare Immunität gegen *S. equi* (TODD 1910; HAMLLEN et al. 1994; ARTIUSHIN et al. 2002). Zur Dauer der systemischen und lokalen Immunität im Anschluß an eine natürliche oder experimentell erzeugte *S. equi*-Infektion finden sich in der Literatur zahlreiche unterschiedliche Angaben. Obwohl die Serumantikörperkonzentration gegen *S. equi* schon nach wenigen Monaten abfällt, scheint die Immunität wesentlich länger zu bestehen (PICHÉ 1984). Taylor (1992) und Hamlen et al. (1994) geben eine sechsmonatige, Sonea (1987) und Nees (1994) eine sechs- bis zwölfmonatige, Srivastava and Barnum (1985) eine mindestens einjährige sowie Fallon (1969), Engelbrecht (1969) und Piché (1984) eine mehrjährige Immunität an. Der von manchen Autoren beschriebenen zyklischen Häufung von Druseerkrankungen im Abstand von etwa fünf Jahren könnte eine Regression des Immunschutzes in der Pferdepopulation zugrunde liegen (KOGER 1967; NEES 1994).

Galán and Timoney (1985b) bestätigten bei rekonvaleszenten Pferden auf den nasopharyngealen Schleimhäuten eine lokale Immunantwort aus *S. equi*-spezifischem sekretorischem IgA (s-IgA) und IgG. Unabhängig vom Vorkommen von Serumantikörpern waren genesene Pferde gegenüber einer experimentellen intranasalen Infektion mit *S. equi* widerstandsfähig. Die Autoren schlossen daraus, dass die lokale Immunantwort im Nasopharynx, deren Antikörper schon zu einem früheren Zeitpunkt nachweisbar sind als die der systemischen Immunantwort, eine entscheidende Rolle beim Schutz vor Reinfektion zukommt (GALÁN and TIMONEY 1985b).

Als eine stark immunogene Komponente, die die Bildung spezifischer lokaler Schleimhautantikörper und systemischer Antikörper bewirkt, wird analog zu *Streptococcus pyogenes* beim Menschen das M-Protein der Zellwand von *S. equi* betrachtet (ERICKSON and NORCROSS 1975; TIMONEY and EGGERS 1985; HAMLLEN et al. 1994; TIMONEY et al. 2000). Während beim Menschen eine Korrelation zwischen dem Schutz gegen Infektionen mit *S. pyogenes* und spezifischen Antikörpern im Serum besteht, ist diese Beziehung bei *S. equi* nur schwach ausgeprägt (TIMONEY and EGGERS 1985; TIMONEY 1997). Eine erworbene Immunität gegen *S. equi* ist in erster Linie eine humorale, antikörpervermittelte Immunität, die auf *S. equi*-spezifischen s-IgA und IgG auf den nasopharyngealen Schleimhäuten sowie auf Serumantikörpern beruht (HAMLLEN et al. 1994; TIMONEY 2004a). Manifeste Reinfektionen verlaufen in der Regel harmlos (TODD 1910; RICHTERS 1930), führen aber in der Regel zu einem guten Immunschutz (TIMONEY 1993).

Da die lokale Antikörperantwort im Nasenrachenraum und die systemische Serumantikörperantwort unabhängig voneinander entstehen, erfordert die lokale, ortsständige Immunantwort - der für den Immunschutz des Pferdes eine wichtige Funktion zukommt -

eine lokale Stimulation (GALÁN and TIMONEY 1985b; TIMONEY 1997). Anamnestiche Immunantworten auf den Schleimhäuten werden jedoch erst durch wiederholten Erregerkontakt ausgelöst und tragen dann zum Schutz gegen erneute Erkrankungen bei, indem sie die Adhäsion der Erreger an die Zellen der Schleimhäute sowie der Tonsillen und das anschließende Einwandern der Erreger ins Gewebe verhindern (TIMONEY 2004b).

Kolostrum von Stuten, die von einer Druse genesen sind oder mit *S. equi* immunisiert wurden, enthält IgG und IgA mit den gleichen Spezifitäten wie die Antikörper, die auf der nasopharyngealen Schleimhaut von rekonvaleszenten Pferden gefunden wurden (GALÁN et al. 1986). Für kolostrale Antikörper, die in den ersten 24 Lebensstunden von den Fohlen per os aufgenommen wurden, konnte gezeigt werden, dass sie nach der Zirkulation in der Blutbahn auf die nasopharyngeale Schleimhaut gelangen und so einen zusätzlichen passiven Schutz während der ersten Wochen bieten. Folglich profitieren Fohlen, die an immunen Stuten saugen, von den protektiven Effekten der maternalen Antikörper und sind gewöhnlich bis zum Absetzen vor *S. equi*-Infektionen geschützt (GALÁN et al. 1986; SWEENEY et al. 2005). Daher ist die manifeste Druse auch die Folge der klassischen Erstinfektion der Jährlinge bei abgeklungenem, passiv erworbenem lokalem und/oder systemischem Immunschutz.

## 2.6.2 Zelluläre Immunität

Die zelluläre Immunität bei den Streptokokkeninfektionen der Pferde ist noch wenig erforscht. Srivastava and Barnum (1982) führten in-vitro-Stimulationsversuche mit Lymphozyten von Pferden durch. Dabei bewirkte gereinigtes M-Protein von *S. equi* eine dosisabhängige Blastogenese, die bei Lymphozyten adulter Pferde stärker verlief als bei Lymphozyten von Fohlen. Die Autoren führten diesen Unterschied auf vorangegangene Infektionen der älteren Pferde mit *S. equi* zurück, die zur Bildung sensibilisierter Lymphozyten geführt haben könnten.

## 2.7 Diagnostik

### 2.7.1 Klinik

Die klinische Diagnose der Druse basiert auf den beschriebenen, klassischen Symptome der Erkrankung. Dabei sind Fieber (39,0 °C bis > 40,5 °C) und die Vergrößerung der Kopflymphknoten mit anschließender Abszedierung wesentliche Kriterien (SWEENEY et al. 1987a). Nicht bei allen erkrankten Tieren wird das Krankheitsbild von Nasenausfluss begleitet (AMES 1995). Nach Nattermann (2005) erlauben die typischen Symptome, das Auftreten bei Fohlen und bevorzugt bei Jährlingen sowie der meist seuchenhafte Verlauf in Zucht- und Aufzuchtbeständen die klinische Verdachtsdiagnose, die durch eine bakterio-

logische Untersuchung gewonnener Sekrete abzusichern ist. Bevor sich die typischen Lymphknotenabszesse entwickeln, können Rhinopneumonitis, Influenza, equine Virusarteritis, *S. equisimilis* und *S. zooepidemicus* -Infektionen sowie bakterielle Super- und Sekundärinfektionen nach primären Virusinfektionen als Differentialdiagnosen in Betracht gezogen werden (BLOOD and RADOSTITS 1989; LAUS et al. 2007).

Die metastatischen Druseformen sind aufgrund der Vielzahl möglicher Symptome in Abhängigkeit von den betroffenen Organsystemen schwieriger zu diagnostizieren. Hierbei können rektale Untersuchung, Röntgen, Ultraschall, Endoskopie, Abdominoszentese, Elektrokardiogramm, Serologie und die Untersuchung hämatologischer Parameter als diagnostische Hilfsmittel herangezogen werden (PUSTERLA et al. 2007).

### **2.7.2 Bildgebende Diagnostikverfahren**

Der Einsatz bildgebender Diagnostikmethoden wie Röntgen, Ultraschall und Endoskopie spielt in der Diagnostik von Streptokokkeninfektionen, mit Ausnahme von wenigen speziellen Fragestellungen, keine Rolle.

Bei der Untersuchung der retropharyngealen Lymphknoten und der Luftsäcke hat sich der Einsatz eines Endoskops als diagnostisches Hilfsmittel bewährt, da die Abszedierung der medialen retropharyngealen Lymphknoten in die Luftsäcke (NEES 1994) durch alleinige klinische Untersuchung nicht diagnostiziert werden kann (GERBER 1982; KELLER und JAESCHKE 1984; NEES 1994; NEWTON et al. 2000b). Veränderungen der Luftsäcke und der retropharyngealen Lymphknoten können aber auch röntgenologisch dargestellt werden (KELLER und JAESCHKE 1984). Die endoskopische Untersuchung der Luftsäcke ist die einzige verlässliche Methode zur Identifizierung subklinisch infizierter Infektionsträger (SWEENEY et al. 2005), als Verfahren für die Routinediagnostik ist sie jedoch nicht praktikabel.

### **2.7.3 Hämatologie**

Im Differentialblutbild können eine Leukozytose mit Linksverschiebung, eine Neutrophilie sowie eine Monozytose auftreten. Auch eine beschleunigte Blutkörperchensenkungsreaktion kann als genereller Hinweis auf eine bakterielle Infektion und somit auch auf eine Infektion mit *S. equi* angesehen werden (KELLER und JAESCHKE 1984; SWEENEY et al. 1987a). Ein erhöhter Serumfibrinogengehalt (> 0,5 g/dl) ist ein weiterer, sehr häufiger Befund im Zusammenhang mit einer Streptokokkeninfektion (TIMONEY 1993; AMES 1995). Während der Rekonvaleszenzphase kann zudem eine Anämie mit reduzierter Erythrozytenzahl und/oder reduzierter Hämoglobinkonzentration festgestellt werden (TIMONEY 2004b). Diese Befunde können ohne weitere mikrobiologische Untersuchungen lediglich als Hinweise auf eine eventuell vorliegende Infektion mit *S. equi* betrachtet werden.



Bei einer Purpura haemorrhagica sind aus labordiagnostischer Sicht häufig die Serum-Kreatinkinase- und Serum-Aspartat-Aminotransferase -Aktivitäten erhöht und es besteht eine Hypoalbuminämie. Zusätzlich zur Bestimmung von hämatologischen Parametern muss in den Fällen, die mit einer *S. equi* -Infektion assoziiert sind, der Erregernachweis und der Nachweis einer Erhöhung der *S. equi* -spezifischen Serumtiter vorgenommen werden (PUSTERLA et al. 2003).

#### **2.7.4 Kultureller Nachweis, biochemische Differenzierung, Phänotypisierung**

Der direkte Nachweis von *S. equi* aus Eiter, Nasen- und Tracheobronchialsekret erfolgt routinediagnostisch mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchung und der folgenden biochemischen Differenzierung der isolierten Erreger. Zur Identifizierung der isolierten Erreger stehen mikroskopische, serologische und molekularbiologische Untersuchungsmethoden zur Verfügung (NATTERMANN 2005; SWEENEY et al. 2005).

Die Kultivierung von Nasentupfern, Nasenspülproben oder Eiter gilt nach wie vor als Standard in der Diagnostik von *S. equi* -Infektionen. Nasenspülungen sind für den Nachweis geringer Keimzahlen effektiver als Nasentupfer. Ein Nachteil der Kultivierung von Nasenspülproben ist jedoch, dass sie in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Probenentnahme (Inkubationsphase, frühe Krankheitsphase, intermittierende Ausscheidung) falsch negative Resultate ergeben kann (TIMONEY and ARTIUSHIN 1997). Hohe Nährbodenansprüche des Erregers erfordern die Verwendung von Colistin-Nalidixinsäure-Agar (CNA-Agar) mit Blutzusatz (Schaf- oder Pferdeblut). Eine weitere Voraussetzung für das Gelingen einer Erregeranzucht auf der Platte ist eine ausreichende Anzahl vitaler Bakterien im Untersuchungsgut (SWEENEY et al. 2005). In vielen Fällen akuter Druseerkrankungen gelingt der Nachweis von *S. equi* auch in Probenmaterial aus den Luftsäcken (NEES 1994) und von den Schleimhäuten (SWEENEY et al. 1987a). *S. equi* bildet bei der Kultivierung (24 Stunden bei 37 °C) auf Blutagarplatten flache, tropfenförmige (Durchmesser bis zu 4 mm), durchsichtig-klare, honigfarbene, schleimig-glänzende Kolonien, die von einer deutlichen Zone vollständiger Hämolyse ( $\beta$ -Hämolyse) umgeben sind (GRINI 1948; SONGER and POST 2004). Besonders während der logarithmischen Wachstumsphase - zwischen der vierten und achten Stunde der Inkubation - bildet *S. equi* verstärkt Hyaluronsäure, welche die Bakterienzelle in Form einer Kapsel umschließt und den schleimigen Charakter der Kolonien bedingt (WOOLCOCK 1974). Virulente Isolate von *S. equi* aus Drusefällen sind fast immer stark bekapselt und produzieren deshalb sehr schleimige Kolonien (GALÁN and TIMONEY 1985b; ANZAI et al. 1999b; SONGER and POST 2004). Gelegentlich werden jedoch atypische Kolonien ohne schleimiges Wachstum beobachtet, die unbekapselte und weniger virulente Varianten von *S. equi* darstellen. Diese Varianten besitzen eine phagencodierte Hyaluronidase, welche die Kapsel hydrolysiert und für ein mattes Aussehen der Kolonie sorgt (SPANIER and TIMONEY 1977; TIMONEY et al. 1984). Immunologisch

sowie biochemisch unterscheiden sich die atypischen Stämme von den typischen, mucoiden Stämmen nicht (TIMONEY et al. 1984). Das Ausmaß der Bekapselung ist zudem stark abhängig vom Alter der Kulturen. Junge Kulturen (bis ca. sechs Stunden alt) sind stark bekapselt, wohingegen die Bekapselung bei über Nacht kultivierten Kulturen kaum noch festzustellen ist (CHANTER et al. 2002).

Da einerseits offene Druseläsionen von *S. zooepidemicus* und *S. dysgalactiae equisimilis* kontaminiert sein können und andererseits *S. zooepidemicus* vergleichbare klinische Auffälligkeiten hervorrufen kann, muss mit diesen Gruppe-C-Streptokokken im Untersuchungsmaterial stets gerechnet werden (BAZELEY and BATTLE 1940a). Die Anwesenheit dieser  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken, deren Koloniemorphologie ähnlich der von *S. equi* ist, kann die Auswertung der auf den Nährbodenplatten kultivierten Kolonien erschweren. Deshalb basiert die Differenzierung der Isolate auf biochemischen Methoden (TIMONEY 2004a).

In Flüssigmedien (Brain-Heart-Infusion oder Todd-Hewitt-Bouillion) bilden *S. equi*-Kulturen einen trüben Schleier und lassen sich nur durch hohe Zentrifugationskräfte sedimentieren (ERICKSON and NORCROSS 1975). Auch hier ist die Prüfung biochemischer Leistungen der kultivierten Keime für eine verlässliche Differenzierung der Isolate erforderlich (NATTERMANN 2005).

Im Grampräparat findet man blau-violette, runde bis länglich-ovale Kokken mit einem Durchmesser von ca. 1  $\mu\text{m}$ , welche in Ketten oder Paaren zusammenliegen. Die Katalasereaktion und die (Cytochrom-) Oxidasereaktion verlaufen negativ (SONGER and POST 2004).

Der Nachweis des für alle Gruppe-C-Streptokokken gemeinsamen Polysaccharidantigens, das aus N-Acetylglucosamin und Rhamnose besteht, kann leicht im Routinelabor mit entsprechenden Streptokokken-Differenzierungs-Kits durchgeführt werden. Ihr Prinzip beruht auf einer Agglutination von an Latexpartikel gekoppelten Antikörpern mit den Streptokokken. Innerhalb der Lancefield-Gruppe C erfolgt die Speziesdifferenzierung dann anhand von biochemischen Leistungen der Isolate (NATTERMANN 2005).

Die Identifizierung von *S. equi* und Differenzierung von anderen  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken - insbesondere *S. zooepidemicus* und *S. dysgalactiae equisimilis* - mit Hilfe biochemischer Methoden beruht auf dessen Unfähigkeit, Lactose, Mannitol, Sorbitol, Ribose und Trehalose zu fermentieren (BAZELEY and BATTLE 1940a; SONGER and POST 2004). Einige sogenannte atypische *S. equi*-Isolate sind aber in der Lage, Laktose und Trehalose zu metabolisieren und weisen somit nahezu identische Eigenschaften wie Isolate von *S. dysgalactiae equisimilis* auf. Die Miteinbeziehung von Ribose in den Fermentationstest ermöglicht eine eindeutige Unterscheidung atypischer *S. equi*-Stämme von *S. dysgalactiae equisimilis*-Stämmen, die Ribose fermentieren können (GRANT et al. 1993).

### 2.7.5 Molekularbiologischer Nachweis

Die *Polymerase Chain Reaction* (Polymerase-Kettenreaktion, PCR) zum Nachweis von *S. equi*-spezifischer DNA besitzt eine nahezu dreifach höhere Nachweissensitivität als die kulturelle Anzüchtung (TIMONEY and ARTIUSHIN 1997). Newton et al. (2000b) haben gezeigt, dass der kombinierte Einsatz von PCR und Kultivierung die Nachweisrate speziell bei subklinischen Infektionsträgern stark erhöht. Sie wiesen aber auch auf die Möglichkeit von falsch positiven Ergebnissen hin, da die Erreger-DNA auch noch einige Zeit nach dem Absterben der Bakterien nachweisbar sein kann. Zur Absicherung eines positiven Ergebnisses kann die Kultivierung der Erreger erfolgen.

Die PCR ist insbesondere von Bedeutung für die:

- Auffindung asymptomatischer Infektionsträger,
- Untersuchung des Infektionsstatus eines Pferdes, beispielsweise vor dem Verbringen aus einem Bestand oder vor der Integration in einen neuen Bestand,
- Überprüfung der erfolgreichen Eliminierung von *S. equi* aus den Luftsäcken.

### 2.7.6 Serologie

Der Vergleich von Serumtitern aus Reihenuntersuchungen kann Hinweise auf Erregerkontakt und Infektionsstatus von Pferden einer Population geben. Für die Diagnostik einer akuten oder subakuten Infektion ist die Serologie ohne Bedeutung, Ausnahmen stellen jedoch die Diagnostik der Purpura haemorrhagica, metastatischer Abszesse und anderer komplizierter Druseformen dar (TIMONEY 1997). Serumtiter steigen ungefähr bis zu fünf Wochen nach Erregerkontakt und bleiben für mindestens sechs Monate persistent. Seroreaktionen auf Impfungen mit kommerziellen Extraktvakzinen steigen bis zu zwei Wochen p.vacc. an und persistieren ebenfalls über die folgenden sechs Monate (SHEORAN et al. 1997).

#### M-Protein spezifischer ELISA

Mehr als 15 verschiedene oberflächenexponierte oder sezernierte Proteine - insbesondere aber das M-Protein - von *S. equi* induzieren während der klinisch manifesten Infektion und der Rekonvaleszenz Serumantikörperreaktionen. Ein ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) zur Messung SeM-spezifischer Antikörper im Serum ist kommerziell erhältlich und kann u.a. für seroepizootiologische Untersuchungen von Nutzen sein. Ein hoher Titer *S. equi*-spezifischer Antikörper in Verbindung mit einer Vorgeschichte von Konditionsverlust und intermittierendem Fieber sowie Neutrophilie ist in Fällen komplizierter Drusefälle für die Diagnosestellung hilfreich (SHEORAN et al. 1997). SeM-spezifische Antikörperspiegel sind zudem besonders bei Pferden mit Purpura haemorrhagica hoch, was ebenfalls ein diagnostisches Hilfsmittel darstellen kann (SWEENEY et al. 2005).

Nach Sweeney et al. (2005) ist der ELISA vor allem indiziert für:

- den Nachweis einer kürzlich erfolgten *S. equi*-Infektion,
- seroepizootiologische bzw. immunologische Untersuchungen,
- die Identifizierung von Tieren mit hohen SeM-spezifischen Antikörpertitern, die für die Entwicklung einer durch Impfung ausgelösten Purpura haemorrhagica disponiert sein können,
- die unterstützende Diagnostik zur Prüfung des Vorliegens einer *S. equi*-assoziierten Purpura haemorrhagica,
- die unterstützende Diagnostik im Falle von metastatischen Druseformen.

#### Passiver Hämagglutinations-Test

Dieses serologische Verfahren beruht auf der Bindung Antigen-markierter Erythrozyten mit spezifischen, gegen das entsprechende Antigen gerichteten Antikörpern in der zu untersuchenden Serumprobe. Die Stärke der Hämagglutination (Verklumpung) wird mit einem Zahlenwert als Titer (Verdünnungsstufe des getesteten Serums, bei der gerade noch eine Hämagglutination ablesbar ist) angegeben (GROSCHUP 1988).

#### Immunoblot (Westernblot)

Bei dieser Methode zum Nachweis bestimmter Antikörper mittels Antigen-Antikörper-Reaktion erfolgt zunächst eine Trennung der Proteinmoleküle der Untersuchungsprobe mit Hilfe der Gelelektrophorese, anschließend werden diese auf eine Nitrozellulosemembran übertragen und mit einem spezifischem Antigen (M-Protein-Konjugat) inkubiert. Die Auswertung erfolgt dann nach dem Prinzip eines Immunassays (GROSCHUP 1988).

#### Immendiffusions-Test nach Ouchterlony

Diese immunologische Methode zur Untersuchung flüssiger, antikörperhaltiger Proben beruht auf der Ausbildung von sichtbaren Präzipitationslinien, bestehend aus Immunkomplexen. Beim Verfahren nach Ouchterlony sind die antigen- und antikörperhaltigen Lösungen durch ein Gel getrennt, in das beide Partner hineindiffundieren (GROSCHUP 1988).

Beim Immunoblot sowie dem Immendiffusionsverfahren scheinen Ergebnisabweichungen durch kreuzreagierende Antikörper gegen verschiedene Lancefield-Gruppe-C-Streptokokken möglich zu sein (GROSCHUP 1988).

## 2.8 Therapie

Die Prognose der Druse ist bei den heutigen Therapiemöglichkeiten gut, Komplikationen gestalten die Prognose ungünstiger (NATTERMANN 2005). Die therapeutischen Bemühungen hängen vom Krankheitsverlauf ab und bestehen aus einer Kombination von Hygienemaßnahmen in Verbindung mit der Applikation gegebenenfalls notwendig werdender Medikamente.

Die sofortige Boxenruhe in einem sauberen, gut belüfteten Stall sowie die Fütterung von qualitativ guten und leicht aufnehmbaren Futtermitteln sind wichtige und einfach durchzuführende Begleitmaßnahmen, um den Krankheitsverlauf zu mildern und die Genesung zu unterstützen (SWEENEY et al. 2005). Im Falle einer beginnenden Abszedierung der Lymphknoten sollte die Therapie auf die Förderung der Reifung und mögliche Drainage der Abszesse ausgerichtet sein. Maßnahmen wie die lokale Anwendung von Wärme oder hyperämisierenden Salben können dafür geeignet sein, obwohl objektive und kontrollierte Daten hierzu fehlen. Zur Vermeidung von Metastasen ist eine absolute Boxenruhe wichtig. Diese sollte mindestens solange andauern, bis das Pferd nach der Entleerung der Abszesse drei Tage lang ohne Medikation fieberfrei ist (NATTERMANN 2005). Die chirurgische Drainierung bzw. Spaltung von Lymphknotenabszessen ist gelegentlich angezeigt, sofern diese nicht spontan rupturieren. Eröffnete Abszesse sollten täglich mit einer verdünnten antiseptischen Lösung - beispielsweise einer 3-5 %igen Povidon-Jod-Lösung - gespült werden, bis der Ausfluss sistiert. In den schweren Fällen einer fortgeschrittenen Lymphadenopathie - die mit einsetzender Dyspnoe als Folge einer partiellen Obstruktion der Atemwege einhergeht - können zusätzliche intensive Therapien, wie Ernährung mittels Nasenschlundsonde oder Tracheotomie notwendig werden (SWEENEY et al. 2005).

### Antibiose

Meinungsverschiedenheiten bestehen auch heute noch hinsichtlich der Behandlung mit Antibiotika. In der Anfangsphase der Erkrankung (mit Fieber und Depression) ist die sofortige und hochdosierte Anwendung von systemisch verabreichten Antibiotika stets indiziert, hierbei gilt Penicillin als das Mittel der ersten Wahl (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959; TIMONEY 1993). Zu diesem Zeitpunkt haben Antibiotika noch adäquaten Zugang zu den Bakterien und können eine Vereiterung der Lymphknoten verhindern (SWEENEY et al. 2005). Beginnen die Lymphknoten bereits zu abszedieren, lässt sich dieser Vorgang durch Antibiotikabehandlung nicht mehr beeinflussen (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959; ZELLER 1976). Obwohl eine Antibiose vorübergehend eine Besserung der klinischen Symptomatik bewirkt, kann sie die Reifung und Ruptur der Lymphknotenabszesse verzögern und somit den Heilungsverlauf unterbrechen und die Krankheit verlängern (SWERCZEK 1984; LEEMANN 1991; TIMONEY 1993; NEES 1994). Bryans and Moore (1972) vermuten zudem, dass die Anwendung von Penicillin bei Pferden

mit in Reifung befindlichen Abszessen zu einer negativen Beeinflussung der Immunantwort führt und dadurch eine erhöhte Gefahr metastatischer Abszedierung besteht. Die Mehrzahl der Drusefälle benötigt laut Sweeney et al. (2005) keine antibiotische Therapie. Beim metaphylaktischen Einsatz von Antibiotika bei Kontaktpferden - als Strategie zur Kontrolle von Druseausbrüchen - muss bedacht werden, dass auch hier die Synthese von protektiven Antikörpern möglicherweise beeinflusst wird und die Pferde nach Absetzen der Antibiose empfänglich bleiben (PICHÉ 1984; SWEENEY et al. 1987b; VERHEYEN et al. 2000). Einzig beim Verdacht auf den metastatischen Verlauf der Druse sowie in den Fällen einer schon fortgeschrittenen Lymphadenopathie, die mit hohem Fieber, Depression, Anorexie und vor allem einsetzender Dyspnoe als Folge einer partiellen Obstruktion der Atemwege einhergeht, ist die Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie unumstritten. Auf diese Weise kann die Abszessgröße reduziert und eine komplette Obstruktion der Atemwege verhindert werden (SWEENEY et al. 2005).

Antibiotika sollten bei einer Streptokokkeninfektion über mindestens fünf bis sieben Tage in der jeweiligen Höchstdosis verabreicht werden. Wilson (1988) sieht bei unzureichender Dosierung und Behandlungsdauer die Gefahr der metastatischen Druse. Die Behandlung von inneren Abszessen erfordert eine Langzeitantibiose von 30 bis ca. 130 Tagen, eine hierfür geeignete Antibiotikakombination besteht aus Rifampicin und Ceftiofur. Diese Medikation besitzt eine starke Wirksamkeit gegenüber den Streptokokken und eine geringe Inzidenz gastro-intestinaler Nebenwirkungen (PUSTERLA et al. 2007).

Beispiele für die Durchführung einer gezielten Antibiose sind mit den Empfehlungen von Foreman (1987) wie folgt gegeben:

- Penicillin (Procain-Penicillin G): 22.000 - 44.000 I.E./kgKGW, i.m., alle zwölf Stunden.
- Penicillin-Salze (Benzylpenicillin-Natrium / -Kalium): 22.000 I.E./kgKGW, i.m., alle sechs Stunden.
- Ceftiofur: 2,2 mg/kgKGW, i.m., alle 24 Stunden.
- Ampicillin: 6,6 mg/kgKGW, i.m., alle zwölf Stunden.

### Antiphlogistika

Der Einsatz von nichtsteroidalen Antiphlogistika kann das Befinden der Patienten durch Senkung des Fiebers und Reduzierung von Schmerzen sowie Schwellungen verbessern (SWEENEY et al. 2005). Kortikosteroide sind für die Therapie der Purpura haemorrhagica das Mittel der ersten Wahl, aber auch nichtsteroidale Antiphlogistika können von Nutzen sein (PUSTERLA et al. 2003).

### Immunsereen

Die Anwendung von Immunsereen als therapeutische Maßnahme (Serumtherapie), erfolgte hauptsächlich während der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts und führte in einem Teil der Fälle zu einem kürzeren, milderem und komplikationsärmerem Verlauf der Drusefälle. Eine durchgreifende Wirkung war aber nicht gegeben (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959).

### Hygienemaßnahmen

Die hohe Kontagiosität des Druseerregers macht die Verhütung der Ausbreitung im Bestand sehr aufwendig und erfordert kompromisslose Maßnahmen. Dazu gehören auch die Einschränkung des Tierverkehrs in betroffenen Betrieben sowie die Durchführung von strikten und umfassenden Hygiene- und Desinfektionsmaßnahmen (NATTERMANN 2005). Die Separierung drusekranker Pferde, die in den Remontedepots bis Mitte des 20. Jahrhunderts durchgängig angewandt wurde, stellt eine der wichtigsten Maßnahmen zur Reduzierung der Ausbreitung einer manifesten Infektion dar (BONE et al. 1963). Sweeney et al. (1989) weisen auf die Gefahr der Erregerausscheidung über größere Zeiträume durch erkrankte Tiere hin und empfehlen deren Absonderung bis zu sechs Wochen nach Verschwinden der klinischen Symptome. Drei kulturnegative Nasentupferproben in Abständen von jeweils einer Woche sind ihrer Meinung nach erforderlich, um ein Pferd für frei von *S. equi* zu erklären. Zusätzlich ist die tägliche Kontrolle der Rektaltemperatur aller gefährdeten Pferde des Bestandes ein wichtiges Instrument zur frühzeitigen Erkennung neuer Krankheitsfälle (SWEENEY et al. 2005). Besondere Beachtung sollten Hygienemaßnahmen finden, um eine indirekte Übertragung von *S. equi* auf empfängliche Tiere zu vermeiden (CLABOUGH 1987). Während eines Drusegeschehens sind Kleidungswechsel und Händedesinfektion bei Personen, die mit erkrankten Pferden Kontakt haben, stets angezeigt. Bei der Desinfektion von Stallungen und Boxen, die mit infizierten Pferden belegt wurden, sollte vorab eine gründliche mechanische Entfernung (z.B. mit einem Dampfstrahlgerät) aller organischen Materialien erfolgen. Von Bedeutung ist auch die Reinigung und Desinfektion von Futtertrögen, Tränkeeinrichtungen, Holzzäunen, Boxenwänden sowie sämtlichen hölzernen Oberflächen. Mist und Futterreste von infizierten Tieren sollten isoliert kompostiert werden. Für Boxen und Weiden, die von drusekranken Pferden genutzt wurden, empfiehlt sich eine vierwöchige Nutzungspause (SWEENEY et al. 2005). Wegen der wochenlangen Überlebensfähigkeit des Erregers in der Umwelt sollten zudem alle Gegenstände, die kontaminiert sein könnten, wiederholt desinfiziert werden (NATTERMANN 2005).

## 2.9 Prävention

Präventivmaßnahmen sollten die Separierung bzw. Quarantäne und sorgfältige Beobachtung von Neuzugängen über einen Zeitraum von zwei Wochen einschließen, bevor die Tiere in den Bestand integriert werden (WIRTH und DIERNHOFER 1950; McGEE 1970; AMES 1995). Außerdem ist die Diagnose persistierender Infektionen für die Kontrolle der Druse ebenso wichtig wie die Einführung effektiver Impfprogramme (SWEENEY et al. 2005).

### 2.9.1 Immunpräventive

#### 2.9.1.1 Aktive Immunisierung

Die aktive Immunisierung von Pferden gegen Druse wird seit beinahe einem Jahrhundert durchgeführt und seit Jahrzehnten sind verschiedene Impfstoffe kommerziell erhältlich, doch die Ergebnisse waren bisher stets unbefriedigend (WALLER and JOLLEY 2006). Natürliche Ausbrüche haben gezeigt, dass auch geimpfte Populationen erkranken können (TIMONEY and EGGERS 1985b; SWEENEY et al. 1987). Von großer klinischer Bedeutung ist, dass Antikörper gegen *S. zooepidemicus* und *S. equi* trotz der sehr engen Verwandtschaft der Erreger keine Kreuzimmunität vermitteln (BAZELEY 1942b).

Bisher eingesetzte Impfstoffe verursachten häufig lokale und/oder systemische Nebenwirkungen wie Muskelsteifheit, Arthritis, Lahmheit, Fieber, Lethargie, lokale Abszesse, respiratorische Symptome, Kolik, Gliedmaßenödeme, Ataxie, Purpura haemorrhagica und Urtikaria (GALÁN and TIMONEY 1985; YELLE 1987; SMITH 1994). Von allen Autoren wurden lokale Reaktionen weitaus häufiger beobachtet als systemische. Die Symptome könnten auf Hypersensitivitätsreaktionen (gegen in den Impfstoffen enthaltenes Lipopolysaccharid) oder auf die Bildung von Immunkomplexen zurückzuführen sein (GALÁN and TIMONEY 1985a). Zudem konnte keiner der Impfstoffe den Pferden einen wirklich belastbaren Schutz gegen Druse vermitteln (YELLE 1987; SMITH 1994; SWEENEY et al. 2005; WALLER and JOLLEY 2006), selbst schwere Verlaufsformen der Erkrankung konnten bei geimpften Pferden noch beobachtet werden (TIMONEY and EGGERS 1985; SWEENEY et al. 1987a).

Sand und Jensen konnten bereits im Jahre 1888 durch die intravenöse Injektion von Druseerregern bei Pferden einen Immunschutz gegen eine experimentelle, intranasale Infektion induzieren. Diese Immunisierungsmethode war jedoch begleitet von Phlebitiden und anderen schweren Entzündungsreaktionen.

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde dann das sog. „Durchdrusen“ eines Bestandes zu einer häufig praktizierten Methode (RICHTERS 1929). Nach Auftreten des ersten Drusefalles wurde der ganze Bestand mit infektiösem Eiter infiziert. Mit dieser Durchseuchung sollte der Bestand schnell immunisiert werden. Richters (1929) erkannte



jedoch bald, dass mit diesem Verfahren keine länger andauernde Immunität zu erreichen war. Da er im „Durchdrusen“ auch die Ursache schwerer Seuchengänge mit hohen Verlustraten erkannte, lehnte er dieses Verfahren ab. Außerdem führte Richters mit Vakzinen, die mittels Methylenblau und Formalin inaktivierte Druseisolate enthielten, Immunisierungen an Fohlen durch und stellte fest, dass beide Impfstoffe in den Impfungen keinerlei Schutzwirkung induzierten.

Bazeley (1940b) untersuchte die immunisierende Wirkung von durch Hitze inaktivierten, bekapselten *S. equi*-Kulturen an Mäusen. Dabei beobachtete der Autor, dass die Mäuse sowohl nach Impfung als auch nach Verabreichung von Serum immunisierter Kaninchen vor manifester Infektion geschützt waren. Nicht immunisierte Mäuse verendeten dagegen nach experimenteller Infektion unter Anzeichen von Septikämie. Dieses Verfahren der Immunisierung war auch bei Pferden - von anfänglichen Nebenwirkungen abgesehen - im Ansatz erfolgversprechend (BAZELEY 1942a). In weiteren Versuchen zeigte Bazeley (1943), dass Serum erfolgreich immunisierter Pferde Mäusen Schutz vor der Erkrankung verlieh und in vitro zur gesteigerten Phagozytose des Erregers durch neutrophile Granulozyten führte.

Bryans and Moore stellten in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts einen Impfstoff aus physikalisch oder chemisch inaktivierten Kulturen eines *S. equi*-Stammes her, der sich in Feldversuchen als wirksam erwies. Dieser Totimpfstoffe kam trotz gelegentlicher lokaler und systemischer Nebenwirkungen (O'DEA 1969) auf dem amerikanischen Kontinent großflächig zum Einsatz (ENGELBRECHT 1969).

Woolcock (1974) entdeckte bei der Untersuchung von Säureextrakten verschiedener *S. equi*-Kulturen das Vorkommen eines M-Proteins. Da sich das M-Protein schon bei den Streptokokkeninfektionen der Lancefield-Gruppe-A als effektives Immunogen erwiesen hatte (REIF et al. 1981), wurde mit der Entwicklung von Impfstoffen auf Basis des M-Proteins von *S. equi* begonnen. Dabei erfolgten verschiedene Impfversuche mit M-Protein enthaltenden Säure- (REIF et al. 1981; SRIVASTAVA and BARNUM 1983; HOFFMANN et al. 1991) oder Enzymextrakten (BRYANT et al. 1985) von *S. equi*. Die Spaltvakzinen wurden intramuskulär oder subkutan appliziert und waren besser verträglich als die zuvor eingesetzten Vakzinen auf der Basis von inaktivierten Erregern. Untersuchungen über die Wirksamkeit dieser Vakzine ergaben eine postvakzinale Reduktion der Morbiditätsraten und mildere Krankheitsverläufe in der Impfgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (REIF et al. 1981; SRIVASTAVA and BARNUM 1981; BRYANT et al. 1985; HOFFMANN et al. 1991). Nebenwirkungen wie Muskelschmerzen, Abszesse an der Injektionsstelle und vereinzelt Fälle von Purpura haemorrhagica wurden aber auch bei diesem Impfstoff beobachtet. Darauf folgend kommerziell erhältliche Druseimpfstoffe enthielten mit  $\beta$ -Propiolakton inaktivierte *S. equi*-Kulturen (Equibac<sup>®</sup> II, Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, USA), säureextrahiertes M-Protein von *S. equi* (Strepvax<sup>®</sup> II, Cooper Animal Health) oder enzymatisch extrahiertes M-Protein von *S. equi* (Strepguard<sup>®</sup>, Mobay Animal Health, USA). Die Wirksamkeit dieser

Impfstoffe wurde von mehreren Autoren in Frage gestellt (CLABOUGH 1987; TIMONEY 1988b), weil diese allein die Serumopsonisierung stimulierten und keine Bildung von SeM-spezifischen IgG oder IgA auf der Nasenschleimhaut induzierten (TIMONEY and EGGERS 1985; SHEORAN et al. 1997). Da aber sowohl die Serumantikörperantwort als auch die SeM-spezifische lokale Immunantwort auf den Schleimhäuten mit der Widerstandsfähigkeit gegenüber einer Reinfektion verbunden sind, könnte das Fehlen der lokalen Gewebimmunität die geringe Wirksamkeit dieser Impfstoffe erklären (HAMLEN et al. 1994).

Timoney and Eggers (1985) wiesen nach, dass die Impfung mit inaktivierten *S. equi* -Vakzinen (Totimpfstoffe) oder M-Protein-Vakzinen (Spaltvakzinen) zwar die Bildung bakterizider Antikörper bewirkt, diese aber keinen Schutz vor Erkrankung vermitteln. Außerdem waren in einer Untersuchung von Timoney and Galán (1985) selbst rekonvaleszente Pferde mit nur geringen Serumtitern widerstandsfähig gegenüber einer experimentellen Infektion. Aufgrund dieser Erfahrungen zogen Timoney and Eggers (1985) den Schluß, dass den Serumantikörpern nicht die entscheidende Schutzwirkung zukommt. In Anlehnung an ähnliche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Infektionen mit Gruppe-A-Streptokokken (POLLY et al. 1975; D'ALESSANDRY et al. 1978; GUIRGUIS et al. 1982) vermuteten sie, dass die lokale Immunität im Nasenrachenraum ausschlaggebend für den Schutz der Pferde vor Invasion und Kolonisierung durch *S. equi* sein könnte. Basierend auf dieser Hypothese wurden Immunisierungsversuche mit einer attenuierten, unbekapselten Mutante von *S. equi* (*Stamm Pinnacle*) durchgeführt. Diese stimulierte lokale und systemische Antikörperantworten, die denen ähnelten, welche postinfektionell gebildet werden. Ponies, die mit dieser unbekapselten Mutante (*S. equi* -*Stamm Pinnacle*) geimpft wurden, waren unempfindlich gegenüber einer intranasalen Belastungsinfektion mit *S. equi* und bildeten systemische sowie lokale Schleimhaut-assoziierte Antikörper gegen das SeM-Antigen (TIMONEY and GALÁN 1985). Timoney and Galán (1985) spekulierten, das M-Protein von *S. equi* könnte das entscheidende Antigen für die Entwicklung eines lokalen Infektionsschutzes darstellen. Aus dieser Mutante wurde eine intranasal zu verabreichende Drusevakzine PINNACLE® I.N. (Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, USA) entwickelt, welche 1998 in den USA auf den Markt gebracht wurde. Da es sich um eine lebende, unbekapselte Mutante von *S. equi* handelt, könnte diese durch eine erneute Mutation ihre Fähigkeit zur Kapselsynthese zurückerlangen. Ein solcher Vorgang hätte die Steigerung ihrer Virulenz und die Bildung abszedierender Entzündungen zur Folge. Über das postvakzinale Vorkommen von Nasenausfluss, submandibulären oder retropharyngealen Lymphadenopathien, Gliedmaßenödemen sowie Abszessen wurde auch bei diesen Vakzinen berichtet (WALLER and JOLLEY 2006).

Timoney and Trachman (1985) vakzinierten Ponies mit einem aus *S. equi* -Kulturen isolierten Proteingemisch, die darauf mit der Bildung von in vitro bakterizid wirkenden

Serumantikörpern reagierten. Trotzdem erkrankten bei einer anschließenden Belastungsinfektion mit *S. equi* sowohl die Impflinge als auch die Kontrollponies an Druse.

Die im Jahre 2004 in Europa auf den Markt gekommene Drusevakzine Equilis® StrepE enthält den durch die Deletion des *aroA*-Gens attenuierten *S. equi* -Stamm TW928 (KELLY et al. 2006). Die intramuskuläre Impfung von Pferden mit Stamm TW928 verlieh einen sehr hohen Schutz gegenüber Belastungsinfektionen mit *S. equi*. Jedoch machten schwere Lokalreaktionen an der Injektionsstelle diese Applikationsart für weitere Studien unmöglich. Mit der Absicht die Lokalreaktionen an der Injektionsstelle zu minimieren und die Schutzwirkung der Vakzine zu erhalten wurde die submuköse Applikation von  $10^9$  KBE von Stamm TW928 in die Innenseite der Oberlippe gewählt (JACOBS et al. 2000). Eine Studie zeigte, dass diese Methode 50 % der Probanden vor der Entwicklung von Lymphknotenabszessen nach intranasaler Infektion mit *S. equi* schützte und dass weitere 25 % der geimpften Ponies reduzierte klinische Krankheitserscheinungen zeigten. Diese Impfmethode geht mit Schwellungen und trübem Ausfluss an der Injektionsstelle einher. Diese Lokalreaktionen könnten für die Induktion einer effektiven Immunantwort von großer Bedeutung sein, da bei der Reduktion der Impfdosis auf  $10^7$  KBE reduzierte Reaktionen an der Injektionsstelle angeblich mit verringertem Immunschutz korrelierten (JACOBS et al. 2000). Die Boosterung von Pferden während eines Zeitraums von drei bis sechs Monaten nach letzter Vakzination hatte gezeigt, dass diese - im Falle eines Druseausbruchs - den klinischen Verlauf abmildern kann (INTERVET 2005b). Dieser Impfstoff wird vom Hersteller (Intervet International, Boxmeer, Niederlande) für den Gebrauch bei Pferden mit mittlerem bis hohem Druserisiko empfohlen, bei denen die Erlangung einer kurz andauernden Immunität vorteilhaft ist (INTERVET 2005a).

Nach Waller and Jolley (2006) könnten polyvalente Vakzinen, basierend auf mehreren immunogenen Oberflächenproteinen von *S. equi*, eine Alternative zu den bekannten attenuierten Lebendvakzinen, die alle mit Nachteilen belastet sind, darstellen.

### 2.9.1.2 Passive Immunisierung

Bis Mitte des letzten Jahrhunderts wurden infektionsgefährdeten Fohlen und Pferden, aber auch erkrankten Equiden vielfach Immunsereen rekonvaleszenter oder subkutan infizierter Pferde verabreicht. Die Dauer des Infektionsschutzes wurde bei homologen Seren mit maximal sechs und bei heterologen Seren mit circa zwei Wochen angegeben (TODD 1910; BAZELEY et al. 1949; HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959). Aufgrund der kurzen Schutzwirkung, der begrenzten Wirksamkeit und des relativ hohen Preises konnten sich die Immunsereen in der Druseprophylaxe und -therapie aber nicht dauerhaft durchsetzen.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Probanden

#### 3.1.1 Trächtige Stuten

Das Haupt- und Landgestüt Marbach besitzt eine Warmblutstutenherde und eine Araberstutenherde, die getrennt in Laufställen gehalten werden. Für die Durchführung eines saisonal angepassten Herdenmanagements stehen mehrere Laufställe, sowie ein Abfohllastall mit Einzelboxen zur Verfügung. Somit können güste Stuten, trächtige Stuten sowie Stuten mit Fohlen bei Fuß in Gruppen separiert gehalten werden. Die Weideflächen und ein überdachter Bewegungszirkel werden von den verschiedenen Herden abwechselnd genutzt. Das Impfprogramm im Gestüt besteht seit 1973 in der halbjährlichen Durchführung von Influenza- und Herpesimpfungen und in der Impfung gegen Tetanus in zweijährigen Abständen. Alle Pferde des Gestütes werden quartalsmäßig gegen Endoparasiten behandelt, bevor anschließend die Stallungen komplett entmistet werden. Zudem erfolgt regelmäßig eine Reinigung der Wassertränken und Futtertröge.

Im Versuch wurden insgesamt 30 trächtige Stuten, darunter 21 Stuten der Rasse Deutsches Warmblut (WB) und neun Stuten der Rasse Arabisches Vollblut (OX) eingesetzt. Es waren rasseabhängig, ca. 400 bis 650 kg schwere Pferde von guter Gesundheit, mit unbekanntem *S. equi*-spezifischen Serumtitern. Die Altersstruktur der Impflinge reichte von drei bis 17 Jahren, der Altersdurchschnitt betrug 9,5 Jahre. Die geimpften Stuten befanden sich durchschnittlich in ihrer sechsten Trächtigkeit, hierbei reichte die Spanne von der ersten bis zur zwölften Trächtigkeit. Alle Stuten wurden vor Versuchsbeginn und vor jeder weiteren Impfung rektal auf Trächtigkeit untersucht, Zwillingsträchtigkeiten wurden schon vor Versuchsbeginn ausgeschlossen. Zum Zeitpunkt der Erstimpfung befanden sich die Stuten mindestens am 78. Tage (zwölfte Woche) und höchstens am 272. Tage (39. Woche) nach der letzten Belegung.

Zur Durchführung zweier unterschiedlicher Impfgeme (identische Impfindervalle, aber zeitversetzter Versuchsbeginn) wurden die Stuten in zwei Versuchsgruppen eingeteilt, welche nachfolgend als Impfgruppe I und Impfgruppe II benannt werden. In jeder Impfgruppe wurden zu Vergleichszwecken fünf Stuten (Impfgruppe I) bzw. zwei Stuten (Impfgruppe II) als Placebestuten mitgeführt. Beiden Gruppen waren willkürlich Stuten unterschiedlichen Lebensalters, unterschiedlicher Dauer der bisherigen Zuchtnutzung sowie unterschiedlicher Rassen zugeteilt worden.

Alle Stuten verblieben über die Versuchsdauer hinweg in ihren gewohnten Herdenverbänden und hatten somit Kontakt zu allen - auch zu den in den Versuch nicht einbezogenen - Stuten der Stutenherden. Direkte Kontaktmöglichkeiten zu weiteren Pferden

waren, bis auf die Kontakte zu den gestütseigenen Hengsten während der Decksaison 2006, über den gesamten Versuchszeitraum nicht gegeben. Die beiden Impfgruppen setzten sich wie folgt zusammen (Tabb. 1 und 2).

<b>Impfgruppe I</b>	Rasse (WB / OX)	Alter zu Beginn des Impfversuches (Jahre)	individuelle Trächtigkeit	Datum der letzten Belegung	Trächtigkeitswoche z. Zeitpunkt der 1. Impfung (Tage/Trimester)
<b>Verumstuten (n=14)</b>					
Mimosa	WB	5	2	30.04.2005	20 (139/2)
Palaver	WB	5	3	07.05.2005	19 (132/2)
Galega	WB	8	5	11.06.2005	14 (96/1)
Wunderkrone	WB	10	6	04.05.2005	20 (135/2)
Lisett	WB	14	9	08.05.2005	19 (131/2)
Amelia	WB	16	12	21.05.2005	17 (118/2)
Toscana	WB	15	12	30.05.2005	16 (109/1)
Karamia	WB	6	3	30.06.2005	12 (78/1)
Farandole	WB	4	1	19.06.2005	13 (89/1)
Dumjeh ox	OX	13	6	02.05.2005	20 (136/2)
Souha ox	OX	10	4	09.05.2005	19 (130/2)
Mahra ox	OX	11	8	04.06.2005	15 (104/1)
Eiskönigin	WB	3	1	09.05.2005	19 (130/2)
Elfenglück	WB	3	1	14.05.2005	18 (125/2)
<i>Durchschnittswerte</i>		9	5		17 (5x 1. Trimester / 9x 2. Trimester)
<b>Placebostuten (n=5)</b>					
Hybris	WB	10	7	15.03.2005	27 (185/2)
Dewina	WB	6	3	21.03.2005	26 (179/2)
Leidenschaft	WB	8	5	02.04.2005	24 (166/2)
Austria	WB	17	11	07.04.2005	13 (88/1)
Armada	WB	17	9	16.04.2005	13 (88/1)
<i>Durchschnittswerte</i>		12	7		21 (2x 1. Trimester / 3x 2. Trimester)

**Tab. 1: Daten zu den Verumstuten und den Placebostuten der Impfgruppe I**

<b>Impfgruppe II</b>	Rasse (WB / OX)	Alter zu Beginn des Impfversuches (Jahre)	individuelle Trächtigkeit	Datum der letzten Belegung	Trächtigkeitswoche z. Zeitpunkt der 1. Impfung (Tage/Trimester)
<b>Verumstuten (n=9)</b>					
Dukna ox	OX	5	2	19.03.2005	39 (272/3)
Miss Marple	WB	5	2	24.03.2005	39 (268/3)
Latussa	WB	14	10	25.03.2005	39 (267/3)
Maaza ox	OX	5	2	02.04.2005	37 (258/3)
Shaykhah ox	OX	7	3	11.04.2005	36 (250/3)
Naga ox	OX	9	4	15.04.2005	35 (245/3)
Sesal ox	OX	15	10	16.04.2005	35 (245/3)
Athene	WB	14	10	21.04.2005	35 (240/3)
Nari ox	OX	13	9	25.04.2005	34 (236/3)
<i>Durchschnittswerte</i>		10	6		37 (9x 3.Trimester)
<b>Placebostuten (n=2)</b>					
Cavalcade	WB	3	1	25.06.2005	26 (176/2)
Räuberbraut	WB	7	5	16.06.2005	27 (185/3)
<i>Durchschnittswerte</i>		5	3		27 (1x 2.Trimester / 1x 3.Trimester)

Tab. 2: Daten zu den Verumstuten und den Placebostuten der Impfgruppe II

### 3.1.2 Saugfohlen

Die Saugfohlen, welche im Versuch begleitet wurden, waren die von den Verumstuten beider Impfgruppen sowie den Placebostuten der Impfgruppe I geborenen Fohlen. Eine Übersicht über die insgesamt 25 Fohlen ist mit Tab. 3 gegeben. Als „Saugfohlenphase“ definierten wir den Zeitraum vom Tage der Geburt bis zum Tage des Absetzens von der Mutterstute. Die Absetztermine für die Fohlen waren der 08.09.2006 (für die früh im Jahr geborenen Fohlen) und der 05.10.2006 (für die später im Jahr geborenen Fohlen).

In den ersten sieben bis 14 Lebenstagen waren die Fohlen mit ihren Müttern in Boxen im Abfohlstall und danach in rasseeinheitlichen Gruppen in den Laufställen aufgestellt.

Die Entwurmung der Fohlen erfolgte erstmalig am Ende der zweiten Lebenswoche und darauffolgend in der jeweils achten, 14. und 20. Lebenswoche. Alle vier Endoparasitenbehandlungen der Saugfohlenphase wurden mit einem oral zu verabreichenden Benzimidazol-Präparat (Panacur<sup>®</sup>, Intervet, Unterschleißheim) durchgeführt.

Fohlen aus der...	Impfgruppe der Mutterstute	Verumstute (V) / Placebostute (P)	Geschlecht des Fohlens männlich (♂) / weiblich (♀)	Geburtsdatum des Fohlens
Dukna ox	II	V	♂	13.02.2006
Hybris	I	P	♀	15.02.2006
Shaykhah ox	II	V	♀	27.02.2006
Dewina	I	P	♂	27.02.2006
Maaza ox	II	V	♀	28.02.2006
Sesal ox	II	V	♂	08.03.2006
Leidenschaft	I	P	♀	09.03.2006
Austria	I	P	♂	12.03.2006
Miss Marple	II	V	♀	15.03.2006
Armada	I	P	♀	18.03.2006
Naga ox	II	V	♀	19.03.2006
Nari ox	II	V	♂	20.03.2006
Latussa	II	V	♂	20.03.2006
Athene	II	V	♂	31.03.2006
Mimosa	I	V	♂	02.04.2006
Dumjeh ox	I	V	♂	02.04.2006
Palaver	I	V	♀	13.04.2006
Eiskönigin	I	V	♀	19.04.2006
Souha ox	I	V	♀	21.04.2006
Amelia	I	V	♀	22.04.2006
Lisett	I	V	♂	24.04.2006
Elfenglück	I	V	♂	30.04.2006
Galega	I	V	♂	12.05.2006
Karamia	I	V	♀	27.05.2006
Farandole	I	V	♂	30.05.2006

Tab. 3: Daten zu den Saugfohlen aus geimpften und nicht geimpften Mutterstuten

### 3.1.3 Absetzfohlen

Die Aufzucht der im Gestüt geborenen Fohlen, der vom Gestüt erworbenen sowie der in Kosthaltung aufgenommenen (Pensions-) Fohlen, erfolgt nach Geschlechtern getrennt, in zwei eigenständigen Vorwerken des Gestütes. Hierbei ist das Vorwerk Hau auf die Aufzucht

von Hengstfohlen und das Vorwerk Fohlenhof auf die Aufzucht von Stutfohlen ausgerichtet. Beide Betriebe weisen identische Betriebsabläufe sowie vergleichbare Haltungsbedingungen auf.

Die Herden setzten sich aus Fohlen unterschiedlicher Rassen zusammen, den größten Anteil stellten die Warmblutfohlen, gefolgt von den Araberfohlen und den Kaltblutfohlen der Rasse der Schwarzwälder Fuchse. Die Hengstfohlen im Vorwerk Hau sind stets in zwei Herden aufgeteilt, die in verschiedenen Stallgebäuden mit großzügig dimensionierten Laufställen aufgestellt sind. Die Stutfohlen im Vorwerk Fohlenhof sind ebenfalls in zwei Gruppen aufgeteilt, sie werden jedoch in nur einem großen Laufstall, welcher durch eine 1,50 m hohe Abtrennung aus Holzdielen in zwei Bereiche unterteilt ist, aufgestellt. Die Laufställe sind mit Stroh eingestreut, das täglich frisch nachgelegt wird. Die Entmistung der Laufställe und die Reinigung der Futter- und Tränkeeinrichtungen findet quartalsmäßig nach der Entwurmung der Fohlen statt. Die Weideflächen und die überdachten Bewegungszirkel werden von den verschiedenen Herden abwechselnd genutzt. Die im Stall angebotene Ration umfasst ein Krippenfutter sowie Raufutter. Während der Krippenfütterung wird jedes Fohlen am Trog angebunden, um die Aufnahme der zugeteilten Ration sicherzustellen und zu kontrollieren. Diese Maßnahme erleichtert zudem die Einzeltierbeobachtung.

Wir impften jeweils die Herde der Hengst- und Stutfohlen, welche die Fohlen aus der gestütseigenen Nachzucht - die schon als Saugfohlen im Versuch begleitet wurden - beinhalteten. Die jeweils zweite Herde in den beiden Vorwerken diente als Vergleichsgruppe. Alle Fohlen blieben über die Versuchsdauer hinweg in ihren Herdenverbänden und hatten keinen direkten Kontakt zu Fremdperden. Die Daten zu den Fohlen der vier Herden sind in den Tab. 4 und 5 gelistet.

Zusätzlich bestand die Möglichkeit Repräsentanten der ein Jahr älteren Jährlingsherden als Vergleichsgruppe für serologische Untersuchungen zu nutzen.

Daten der geimpften Fohlen	Hengstfohlenherde	Stutfohlenherde
Anzahl gesamt (Warmblüter / Araber / Kaltblüter)	31 (25 / 6 / 0)	24 (19 / 5 / 0)
Anzahl mit Absetztermin 08.09.2006	25	12
Anzahl mit Absetztermin 05.10.2006	6	12
Anzahl von Fohlen aus mit Equilis® StrepE geimpften Stuten	11	9

**Tab. 4: Übersicht zu den geimpften Fohlen des Jahrganges 2006**



Daten der nicht geimpften Fohlen	Hengstfohlenherde	Stutfohlenherde
Anzahl gesamt (Warmblüter / Araber / Kaltblüter)	34 (25 / 2 / 7)	29 (22 / 5 / 2)
Anzahl mit Absetztermin 06.10.2006	14	15
Anzahl mit Absetztermin 08.11.2006	4	5
Anzahl mit Absetztermin 17.11.2006	16	9
Anzahl von Fohlen aus mit Equilis® StrepE geimpften Stuten	0	0

Tab. 5: Übersicht zu den nicht geimpften Fohlen des Jahrganges 2006

## 3.2 Impfungen

### 3.2.1 Impfstoff

Für die Immunisierungen wurde der gegen Druse entwickelte Lebendimpfstoff Equilis® StrepE (Intervet International, Niederlande) eingesetzt. Das Inverkehrbringen dieser Vakzine wurde am 7. Mai 2004 durch die Europäische Kommission unter der EU-Zulassungsnummer EU/2/04/043/001 genehmigt (EMEA 2004). Es ist der erste Impfstoff gegen Druse, der in der Europäischen Union zugelassen wurde.

Im Folgenden wird das Arzneimittel nach Herstellerangaben beschrieben (INTERVET 2005b).

#### Zusammensetzung:

Eine Impfdosis (0,2 ml) soll  $10^{9,0}$  bis  $10^{9,4}$  KBE einer lebenden Deletionsmutante von *Streptococcus equi equi* Stamm TW928 als arzneilich wirksamen Bestandteil enthalten. Das Lösungsmittel besteht aus Wasser für Injektionszwecke. Das Präparat ist frei von Adjuvanzen und Konservierungsmitteln.

#### Anwendungsgebiet:

Zur Immunisierung von Pferden gegen *Streptococcus equi equi*, um klinische Symptome und das Auftreten von Lymphknotenabszessen zu reduzieren. Eintritt der Immunität: Zwei Wochen nach der Grundimmunisierung. Die Immunitätsdauer beträgt bis zu drei Monate. Der Impfstoff ist zur Anwendung bei Pferden vorgesehen, für die ein Risiko einer *Streptococcus equi equi* -Infektion eindeutig besteht - aufgrund der Kontaktmöglichkeit mit

Pferden aus Gebieten, in denen der Erreger vorkommt - z.B. in Stallungen mit Pferden, die zu Veranstaltungen oder Turnieren in endemische Gebiete reisen oder in Stallungen, die Pferde aus endemischen Gebieten einstellen.

### Darreichungsform und Verpackung:

Gefriergetrocknetes Lyophilisat (pulverisiert in einer Durchstechflasche aus Glas) und Lösungsmittel (0,5 ml Aqua ad injectionem in einer Durchstechflasche aus Glas) zur Herstellung einer Injektionssuspension. Beigelegt sind außerdem ein Applikator sowie eine Spritze mit zugehöriger Kanüle.

### Gegenanzeigen:

Nicht bei trächtigen oder laktierenden Stuten anwenden.

### Nebenwirkungen:

Innerhalb von vier Stunden nach der Impfung entwickelt sich an der Injektionsstelle eine diffuse Schwellung, die warm oder schmerzhaft sein kann. Die Reaktion hält maximal für zwei bis drei Tage nach der Impfung an und betrifft eine Fläche von höchstens 3x8 cm. Die Schwellung bildet sich innerhalb von drei Wochen vollständig zurück und hat keinen Einfluss auf das Fressverhalten und das Allgemeinbefinden des Tieres. Der Impfstamm kann eine kleine eitrige Entzündung lokal an der Injektionsstelle auslösen, die zum Aufplatzen der darüber liegenden Lippenschleimhaut mit nachfolgender Ausscheidung von Flüssigkeit und Entzündungszellen führt. An der Injektionsstelle in der Schleimhaut kommt es in der Regel für drei oder vier Tage nach Impfung zu einem leichten trüben Ausfluss. Leichte, zeitweise schmerzhaft Vergrößerungen der mandibulären und retropharyngealen Lymphknoten können einige Tage lang nach der Impfung auftreten. Außerdem kann am Tag der Impfung eine Erhöhung der Rektaltemperatur um bis zu 2 °C auftreten.

### Empfehlung zur Immunisierung mit Equilis® StrepE:

Bei Pferden mit hohem Druserisiko werden Wiederholungsimpfungen im Abstand von drei Monaten empfohlen. Bei Pferden mit mittlerem Infektionsrisiko kann eine Verlängerung des Intervalls zwischen den Impfungen in Betracht gezogen werden. Wiederholungsimpfungen alle sechs Monate halten dann eine Basisimmunität aufrecht. Sofern die letzte Vakzinierung länger als drei Monate zurückliegt, sollte bei einem Druseausbruch eine sofortige Impfung erfolgen. Eine Impfung von Pferden mit niedrigem Druserisiko ist grundsätzlich nicht notwendig. Ist eine Impfung erforderlich, sollten zur Minimierung der Verbreitung von Druse alle Kontaktpferde geimpft werden.

Dosierung, Art und Dauer der Anwendung:

0,2 ml des aufgelösten Lyophilisates werden in die Schleimhaut appliziert.

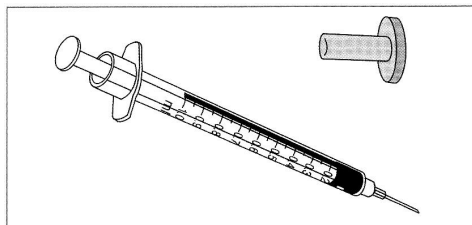
*Grundimmunisierung:* Pferde ab einem Alter von vier Monaten erhalten zwei Impfungen mit einer Dosis im Abstand von vier Wochen.

*Wiederholungsimpfungen:* Zur Aufrechterhaltung der Immunität ist eine Wiederholungsimpfung alle drei Monate erforderlich.

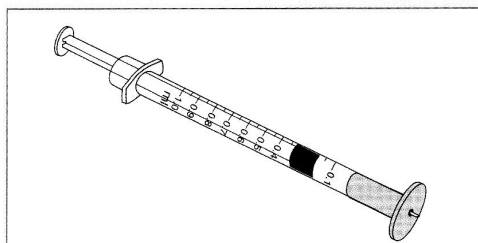
Eine Basisimmunität bleibt bis zu sechs Monate nach der Grundimmunisierung erhalten. Deshalb wird nur eine Impfstoffdosis benötigt, um die Immunität wieder aufzufrischen.

Vorbereitung und Anwendung des Impfstoffes:

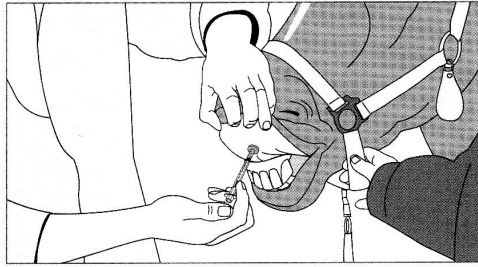
1. Lösungsmittel auf Raumtemperatur (15-25 °C) bringen.
2. Lyophilisat unter aseptischen Bedingungen mit 0,3 ml des mitgelieferten sterilen Lösungsmittels auflösen. Nicht schütteln und nach Zugabe des Lösungsmittels eine Minute warten.
3. 0,2 ml des aufgelösten Impfstoffes in die mitgelieferte Spritze (Abb. 1) aufziehen und den Applikator auf die Kanüle stecken (Abb. 2).
4. Den Kopf des Tieres halten, die Oberlippe anheben und die Kanüle bis zum Anliegen des Applikators in die Innenseite der Oberlippe einstechen.
5. Den gesamten Inhalt der Spritze in die Innenseite der Oberlippe injizieren (Abb. 3).



**Abb. 1\*: Spritze und Applikator**



**Abb. 2\*: Spritze mit aufgestecktem Applikator**



**Abb. 3\*: Injektion**

(\* Quelle: INTERVET 2005b)

Warnhinweise:

Es sollten nur gesunde Pferde geimpft werden.

Nicht mit anderen Tierarzneimitteln außer dem mitgelieferten Lösungsmittel mischen.

Nach der Impfung eine Woche lang keine Antibiotika anwenden.

Der Impfstamm ist resistent gegenüber Aminoglycosiden, Sulfonamiden und Trimethoprim-Sulfonamid-Kombinationen.

Der Impfstamm ist empfindlich gegenüber Penicillinen, Tetracyklinen, Makroliden und Lincomycin.

Aufbewahrungshinweise:

Lyophilisat: Im Kühlschrank lagern (2-8 °C). Vor Licht schützen.

Lösungsmittel: keine besonderen Anforderungen an die Lagerung.

Hinweise und Angaben zur Haltbarkeit des Impfstoffes:

Der aufgelöste Impfstoff ist innerhalb von vier Stunden aufzubrauchen.

Zusätzliche Informationen:

Es liegen nur begrenzte Informationen zur Unschädlichkeit und Wirksamkeit der gleichzeitigen Anwendung dieses Impfstoffes mit einem anderen vor. Deshalb wird empfohlen, gleichzeitig keine anderen Impfstoffe anzuwenden.

Eine Grundimmunisierung während eines Ausbruches der Erkrankung ist unwirksam, da die Immunität vor einer abgeschlossenen Grundimmunisierung nicht vorhanden ist.

Der Impfstamm ist eine Deletionsmutante mit begrenztem Wachstumspotential in Säugertiergewebe. Er kann sich an der Injektionsstelle in der Schleimhaut für kurze Zeit vermehren und verteilt sich während einiger Tage im Nasenrachenraum. Der Impfstamm überlebt jedoch nicht auf der oro-nasalen Schleimhaut und verbreitet sich bei der empfohlenen Dosis nicht systemisch.

Der Impfstamm kann sich bis zu vier Tage nach der Impfung von der Injektionsstelle ausgehend ausbreiten.

Aus der Literatur ist bekannt, dass ein sehr geringer Anteil von Pferden eine Purpura haemorrhagica entwickeln kann, wenn diese kurz nach Infektion geimpft werden. In keiner der Verträglichkeitsstudien, die während der Entwicklung von Equilis® StrepE durchgeführt wurden, konnte eine Purpura haemorrhagica beobachtet werden. Da die Inzidenz für Purpura haemorrhagica sehr gering ist, kann ein Auftreten nicht vollständig ausgeschlossen werden.

### 3.2.2 Impfprotokolle

Die im Versuch verwendeten und nachfolgend angegebenen Produktchargen von Equilis® StrepE wurden von der Firma Intervet International (Boxmeer, Niederlande) zur Verfügung gestellt. Darreichungsform, Verpackung, Vorbereitung und Anwendung entsprachen den Angaben der Produktbeschreibung. Eine Abweichung bestand darin, dass eine Impfdosis (0,2 ml) nach Herstellerangabe nur  $10^{8,8}$  KBE (bzw. mindestens  $10^{8,8}$  KBE), anstatt  $10^{9,0}$  bis  $10^{9,4}$  KBE, enthielt.

Vor jeder Impfung wurden die Impflinge einer klinischen Untersuchung unterzogen, um Erkrankungen möglichst auszuschließen. Diese Untersuchung umfasste eine Adspektion der Nüstern- und Konjunktivalschleimhäute, eine Palpation der Lnn. mandibulares und retropharyngei laterales, einen Versuch der Auslösung des Hustenreflexes sowie eine Beurteilung von Körperhaltung, Verhalten und Ernährungszustand. In allen Fällen wurden die Impflinge vor jeder Impfung thermometriert. Zusätzlich dazu wurden alle im Versuch befindlichen Zuchtstuten jeweils am Tage der Impfung unmittelbar vor deren Durchführung, rektal auf den Zustand ihrer Trächtigkeit untersucht. Alle erhobenen Befunde wurden protokolliert.

#### 3.2.2.1 Trächtige Stuten

Bei den Stuten beider Gruppen erfolgten eine Grundimmunisierung und zwei Auffrischungsimpfungen nach jeweils drei Monaten, entsprechend den Angaben des Herstellers bezüglich der Anwendung der Vakzine (Kap. 3.2.1).

Eingesetzter Impfstoff bei Impfgruppe I und II: Equilis® StrepE (Ch.B. 14144) und Solvens Equilis® StrepE (Ch.B. 50108-01). Die Injektion erfolgte submukös an der Innenseite der Oberlippe (Kap. 3.2.1).

Die Versuchsimpfungen wurden in das im Gestüt übliche Impf- und Entwurmungsprogramm integriert. Die Stuten (Verum- und Placebostuten) wurden daher zu verschiedenen Terminen gegen Tetanus (Equilis® Tetanus Vazine, Intervet, Unterschleißheim), Herpes und Influenza (Resequin® NN plus, Intervet, Unterschleißheim) geimpft sowie entwurmt (Equest® bzw. Equest Pramox®, Forte Dodge, Würselen) (Tab. 6).

Datum	Maßnahme	Impfgruppe I	Impfgruppe II
18.04.2005	Tetanusimpfung	✓	✓
25.07.2005	Herpes- und Influenzaimpfung	✓	✓
08.08.2005	Entwurmung	✓	✓
15.09.2005	Druseimpfung	✓	-
11.10.2005	Druseimpfung	✓	-
16.11.2005	Entwurmung	✓	✓
14.12.2005	Druseimpfung	-	✓
11.01.2006	Druseimpfung	✓	✓
25.01.2006	Herpes- und Influenzaimpfung	✓	✓
06.02.2006	Entwurmung	✓	✓
12.04.2006	Druseimpfung	✓	✓
21.05.2006	Entwurmung	✓	✓
14.07.2006	Druseimpfung	-	✓
02.08.2006	Herpes- und Influenzaimpfung	✓	✓
22.08.2006	Entwurmung	✓	✓
16.11.2006	Entwurmung	✓	✓

**Tab. 6: Übersicht über die durchgeführten Impfungen und Entwurmungen der Zuchtstuten im Versuchszeitraum**

#### Impfgruppe I:

Die 14 geimpften Stuten der Impfgruppe I wurden innerhalb der ersten Trächtigkeitshälfte grundimmunisiert. Dabei erfolgte die erste Impfung im Mittel um die 17. Trächtigkeitswoche, am Übergang vom ersten zum zweiten Trimester. Die zweite Impfung folgte genau vier Wochen später (im zweiten Trimester). Damit war die Grundimmunisierung in der ersten Trächtigkeitshälfte abgeschlossen. Eine dritte Impfung (erste Revakzination) erfolgte im Mittel zur 33. Woche, am Übergang vom zweiten zum dritten Trimester. Schließlich wurde eine zweite Revakzination (vierte Impfung) nach weiteren zwölf Wochen verabfolgt. Diese letzte Impfung erfolgte bei einer Stute nur einen Tag vor der Geburt und bei zwei Probanden wenige Tage nach der Geburt, also in der Laktation. Folglich wurden bei der Mehrzahl der Stuten dieser Gruppe beide Revakzinationen innerhalb der zweiten Trächtigkeitshälfte durchgeführt. Die Terminierung der Versuchsimpfungen ist in Tab. 7 dargestellt.

Impfung Nummer	Datum / Zeitpunkt
1	15.09.2005
2	11.10.2005 / 4 Wochen nach der 1. Impfung
3	11.01.2006 / 12 Wochen nach der 2. Impfung
4	12.04.2006 / 12 Wochen nach der 3. Impfung

**Tab. 7: Übersicht über die Terminierung der Impfungen in Impfgruppe I**

#### Impfgruppe II:

Die Stuten der Impfgruppe II wurden erst im Verlauf der zweiten Trächtigkeitshälfte grundimmunisiert. Die erste Impfung erfolgte im Mittel um die 37. Trächtigungswoche (letztes Trimester) und die zweite Impfung dann vier Wochen später in der Hochträchtigkeit. Die beiden Revakzinationen wurden nach jeweils zwölf weiteren Wochen und damit bei allen neun Stuten während der Laktation verabfolgt. Die Terminierung der Versuchsimpfungen ist in Tab. 8 dargestellt.

Impfung Nummer	Datum / Zeitpunkt
1	14.12.2005
2	11.01.2006 / 4 Wochen nach der 1. Impfung
3	12.04.2006 / 12 Wochen nach der 2. Impfung
4	14.07.2006 / 12 Wochen nach der 3. Impfung

**Tab. 8: Übersicht über die Terminierung der Impfungen in Impfgruppe II**

#### Placebostuten beider Impfgruppen:

Insgesamt sieben Stuten wurde als Placebo 0,2 ml des Lösungsmittels Solvens Equilis® StrepE (Ch.B. 50108-01), bestehend aus Aqua ad injektionem, submukös in die Oberlippe injiziert. Das Vorgehen bei der Applikation des Placebos war identisch mit dem bei der Verumapplikation. Innerhalb einer Versuchsgruppe erfolgten die Applikationen von Placebo und Verum jeweils zum gleichen Zeitpunkt (entsprechend Tab. 7 und 8).

#### 3.2.2.2 Absetzfohlen

Die Fohlen wurden ebenfalls nach den Vorgaben des Herstellers zur Anwendung von Equilis® StrepE vakziniert (Kap. 3.2.1.). Die Probanden wurden nur einer Grundimmunisierung, bestehend aus zwei Impfungen in vierwöchigem Abstand unterzogen. Eine Revakzination (zwölf Wochen nach Grundimmunisierung) erfolgte nicht.

Eingesetzter Impfstoff: Equilis® StrepE (Ch.B. 74374B) und Solvens Equilis® StrepE (Ch.B. 50108-01).

Eine Hengstfohlenherde (n=30) und eine Stutfohlenherde (n=24) wurden nach dem in Tab. 9 beschriebenen Protokoll geimpft.

Impfung Nummer	Datum / Zeitpunkt
1	20.09.2006
2	20.10.2006 / 4 Wochen nach der 1. Impfung

**Tab. 9: Übersicht über die Terminierung der Impfungen der Hengst- und Stutfohlenherde**

Die Altersspanne der Impflinge reichte von vier bis sieben Lebensmonaten. Die Mehrzahl der Fohlen war zum Zeitpunkt der ersten Impfung bereits von der Mutterstute abgesetzt. Auf Placebogruppen wurde in diesem Versuch verzichtet, stattdessen standen eine nicht geimpfte Hengstfohlenherde (n=34) und eine Stutfohlenherde (n=29) zu Vergleichszwecken zur Verfügung.

Sämtliche Aufzuchtfohlen wurden mit (a) Panacur® (Intervet, Unterschleißheim) und (b) Equest® (Fort Dodge, Würselen) gegen Endoparasiten behandelt (Tab. 10) und erst nach Abschluss des Immunisierungsversuches mit Equilis® StrepE (März 2007) gegen Tetanus grundimmunisiert.

Datum	Maßnahme	geimpfte Fohlenherden	nicht geimpfte Fohlenherden
20.09.2006	Druseimpfung	✓	-
07.10.2006	Entwurmung (a)	✓	✓
20.10.2006	Druseimpfung	✓	-
28.11.2006	Entwurmung (b)	✓	✓
22.02.2007	Entwurmung (b)	✓	✓

**Tab. 10: Übersicht über die durchgeführten Impfungen und Entwurmungen der vier Fohlenherden im Versuchszeitraum**



### 3.3 Klinische Kontrollen

#### 3.3.1 Trächtige Stuten

Die Stuten beider Impfgruppen (einschließlich der Placebostuten) wurden während der gesamten Versuchsdauer (15.09.2005 bis 12.04.2007) täglich individuell beobachtet und hinsichtlich des Vorkommens folgender Auffälligkeiten beurteilt: Störung des Allgemeinbefindens, Auffälligkeiten bei der Futter- und Wasseraufnahme, Husten, Nasen- und Augenausfluss, sichtbare Umfangsvermehrungen im Kopfbereich, Genitalausfluss sowie Veränderungen am Gesäuge. Auffälligkeiten wurden gemeldet und im Rahmen einer klinischen Untersuchung umgehend überprüft, gegebenenfalls erfolgte eine Therapie.

Die Verträglichkeit von Equilis® StrepE wurde bei den tragenden Stuten nach folgenden Kriterien überprüft:

1. Lokale Reaktionen an der Impfstelle auf die Applikation der Vakzine (lokale Impfreaktionen).
2. Allgemeine Reaktionen auf die Applikation der Vakzine (systemische Impfreaktionen).
3. Verlauf des Reproduktionsgeschehens nach Applikation der Vakzine (Tragezeit, Aborte, Totgeburten, Geburtsstörungen, Entwicklungs- und Gesundheitszustand der neugeborenen Fohlen, Puerperalstörungen).

Die Verträglichkeit der von Equilis® StrepE wurde bei den laktierenden Stuten nach folgenden Kriterien überprüft:

1. Auffälligkeiten am Gesäuge bzw. Veränderungen des Funktionszustandes des Euters.
2. Auffälligkeiten an den saugenden Fohlen (insbesondere Durchfall oder Störungen des Allgemeinbefindens).

Alle hierbei erhobenen Auffälligkeiten wurden dokumentiert. Bei den Placebostuten der beiden Impfgruppen erfolgten die Untersuchungen und die Dokumentation besonderer Befunde in gleicher Art und Weise.

##### 3.3.1.1 Untersuchung der lokalen und allgemeinen Impfreaktionen

Zur Erfassung lokaler und allgemeiner Impfreaktionen wurden die Stuten (Verum- und Placebostuten) während der ersten zehn Tage p.vacc. (nach Impfung bzw. Placeboapplikation) zusätzlich in zweitägigen Abständen einer klinischen Untersuchung unterzogen. Hierbei erfolgte eine Beurteilung von Körperhaltung, Verhalten und Futteraufnahme, eine Palpation der Lnn. mandibulares und retropharyngei laterales, eine Adspektion der Nüstern-

und Konjunktivalschleimhäute sowie eine Adspektion und Palpation der Injektionsstelle in der Oberlippenschleimhaut. Auffällige Tiere wurden auskultiert und thermometriert. Die Injektionsstelle an der Innenseite der Oberlippe wurde darauffolgend noch zweimal in jeweils einwöchigen Abständen - und somit insgesamt über drei Wochen - untersucht.

### Lokale Impfreaktionen:

Die Kriterien bei der Kontrolle waren:

1. Feststellung von Rötung an der Injektionsstelle: Beurteilung der Färbung der Schleimhaut an der Injektionsstelle und ihrer Umgebung.
2. Feststellung vermehrter Wärme an der Injektionsstelle: Vergleichende Palpation der Injektionsstelle und ihrer Umgebung.
3. Feststellung von Schmerzhaftigkeit an der Injektionsstelle: Vergleichende Palpation der Injektionsstelle und ihrer Umgebung und Berücksichtigung von Verhaltensauffälligkeiten bei der Aufnahme des Krippenfutters.
4. Feststellung von Schwellung an der Injektionsstelle: Adspektion der Injektionsstelle und Beurteilung der Größe erhabener Umfangsvermehrungen sowie Nachmessen ihrer Ausdehnung, wenn sie größer waren als eine 10-Cent-Münze ( $\varnothing = 2$  cm).
5. Feststellung von Schleimhautdefekten und Flüssigkeitsaustritt aus der Injektionsstelle bei der Adspektion der Injektionsstelle.
6. Feststellung von Vergrößerungen, Schmerzhaftigkeit und vermehrter Wärme der Lnn. mandibulares und retropharyngei laterales bei der Palpation dieser paarig angelegten Lymphknotenpakete.

### Systemische Impfreaktionen:

Die Kriterien bei der Kontrolle waren:

1. Beurteilung des Allgemeinbefindens und der Futteraufnahme, in Verdachtsfällen Überprüfung der Körpertemperatur durch transrektale Thermometrie.
2. Beurteilung hinsichtlich klinischer Anzeichen einer Impferkrankung (Symptome einer Druseerkrankung).
3. Beurteilung hinsichtlich klinischer Anzeichen einer allergischen bzw. immunpathologischen Reaktion.
4. Beurteilung jeglicher klinischer Auffälligkeiten bei Impflingen und Placebotieren.

Alle hierbei erhobenen besonderen Befunde wurden dokumentiert.

#### 3.3.1.2 Untersuchung der Trächtigkeiten

Den im Gestüt üblichen Gepflogenheiten folgend, wurden alle Stuten (Verum- und Placebostuten) bezüglich ihrer Trächtigkeiten beobachtet. In Fällen mit Anzeichen einer

Trächtigkeitsstörungen wurden neben der klinischen Allgemeinuntersuchung zusätzliche Maßnahmen (Rektalisierung, Ultraschalluntersuchung) individuell durchgeführt. Über die Trächtigkeiten (Verlauf, Besonderheiten, Dauer) wird im Gestüt traditionell Buch geführt. Die Trächtigkeitsdauer jeder Stute sowie aufgetretene Trächtigkeitsstörungen (Aborte, Totgeburten, sonstige Auffälligkeiten) wurden dokumentiert.

normale Graviditätsdauer	Tragezeit von 320 bis 360 Tagen
verkürzte Graviditätsdauer	Tragezeit unter 320 Tagen
verlängerte Graviditätsdauer	Tragezeit über 360 Tagen
Abort (Fehlgeburt)	Abgang der unreifen Frucht vor Erreichen der physiologischen Mindesttragezeit von 300 Tagen
Totgeburt	Geburt eines toten Feten nach der physiologischen Mindesttragezeit von 300 Tagen

**Tab. 11: Definitionen von Graviditätsdauer (AURICH 2005a) und Fruchtabgängen (EMMERT 2000) beim Pferd**

#### Maßnahmen bei Abort oder Totgeburt:

Alle bei Abort oder Totgeburt anfallenden biologischen Materialien wurden zur mikrobiologischen und pathologisch-anatomischen Diagnostik eingesandt. Bis zur Kenntnis der Untersuchungsergebnisse galten solche Vorkommnisse als infektiös. Um andere Stuten nach Möglichkeit vor eventuellen Infektionen zu schützen, wurde die betroffene Stute vorübergehend isoliert aufgestellt. Zudem erfolgte die Entfernung potentiell infektiöser Substanzen und kontaminierter Materialien sowie ausgedehnte Hygienemaßnahmen in der Umgebung der Stute und bei den betreuenden Personen (Schutzkleidung, Händedesinfektion, Oberflächendesinfektion).

#### 3.3.1.3 Untersuchung des Abfohlgeschehens und des Puerperiums

Die hochträchtigen Stuten wurden 21 Tage vor dem errechneten Abfohltermin bzw. bei klinischen Auffälligkeiten auch schon zu einem früheren Zeitpunkt aus der Herde genommen und im Abfohlstall aufgestellt. Hier verblieben sie in der Regel bis zum zehnten Lebenstag des Fohlens und wechselten dann in einen Laufstall für Stuten mit Fohlen bei Fuß.

Ab dem Zeitpunkt der Aufstallung, d.h. mit Annäherung an den errechneten Abfohltermin standen die Stuten unter sorgfältiger täglicher Beobachtung. Die Überwachung der Geburtsvorbereitungen der Stuten erfolgte durch langjährig erfahrene Gestütsbedienstete. In den Nächten einer zu erwartenden Geburt wurde Stallwache gehalten. Jede Geburt sowie

Auffälligkeiten vor, während oder nach der Geburt wurden von den Gestütsbediensteten unmittelbar gemeldet, so dass die klinische Kontrolle von Stute und Fohlen, die medizinische Versorgung und die Probenentnahmen alsbald erfolgten. Die Maßnahmen der Geburtsüberwachung, der ersten Versorgung von Stute und Neugeborenem, sowie der Nachsorge in der postpartalen Phase werden nachfolgend beschrieben:

- Eingehende Beobachtung der Stute und Kontrolle von Euter und Genitale (Adspektion und Palpation) mindestens zweimal täglich, bis zur Geburt.
- Beobachtung des Geburtsvorganges, um bei Bedarf (Geburtshilfe, Abnabelung) eingreifen zu können.
- Kontrolle des Abgangs der Secundinae und Überprüfung ihrer Beschaffenheit sowie Vollständigkeit.
- Tägliche Kontrolle des Genitales der Stute während des Puerperiums und Kontrolle des Gesäuges (Füllungsgrad, Sekretkontrolle).

Dokumentiert wurden Dystokien, weitere Geburtsstörungen sowie Puerperalstörungen.

### 3.3.1.4 Untersuchung der laktierenden Stuten

Diese Untersuchung führten wir nur bei Stuten durch, die nach dem Abfohlen - also während der Laktation - geimpft worden waren. Hierbei erfolgte bei jeder postvaxinalen Kontrolle auch eine Untersuchung des Gesäuges. Zur Beurteilung des Gesundheits- und Funktionszustandes der Milchdrüse, wurde neben der Adspektion und Palpation der Gesäugehälften auch eine grobsinnliche Sekretkontrolle sowie eine Beurteilung des Allgemeinbefindens des saugenden Fohlens vorgenommen.

Dokumentiert wurden pathologische Zustände und Funktionsstörungen des Gesäuges, sowie gesundheitliche Störungen des Saugfohlens.

### 3.3.2 Saugfohlen

Unmittelbar nach der Geburt beurteilten wir den Reifegrad der geborenen Neonaten, eine Einteilung erfolgte hierbei in Maturität, Prä maturität oder Dysmaturität. Auch die Gewichtsentwicklung der Neonaten in Abhängigkeit von der Graviditätsdauer (Hypotrophie, Eutrophie, Hypertrophie) war Gegenstand der Beurteilung und Dokumentation. Noch während des ersten Lebenstages wurde jedes Fohlen einer weiteren klinischen Untersuchung unterzogen. Hierbei wurden insbesondere der Nabel und die Genitalorgane kontrolliert sowie anatomische und funktionelle Abnormalitäten erfasst und dokumentiert, zudem wurde der Abgang des Mekoniums durch eine digitale Exploration des Rektums überprüft. Fohlen, bei denen nach zehn bis 14 Lebensstunden das Mekonium nicht

vollständig abgegangen war, wurden einer rektalen Einlaufbehandlung (Mikroclist<sup>®</sup>, Pfizer, Karlsruhe) unterzogen.

Folgende weitere Kontrollmaßnahmen wurden bei den Neonaten generell durchgeführt:

- Kontrolle und Desinfektion des Nabelstumpfs mit alkoholischer Jodlösung WDT<sup>®</sup> (WDT, Garbsen) unmittelbar nach der Geburt, sowie nach ca. zwölf und 24 Lebensstunden.
- Beobachtung des Verhaltens des Neugeborenen, insbesondere der ersten Aufsteh- und Saugversuche, bei Bedarf unterstützendes Eingreifen.
- Kontrolle der Aufnahme von Kolostrum in den ersten sechs Lebensstunden durch Beobachtung und Beurteilung des Saugverhaltens. Bei Bedarf erfolgte die Substitution von ermolkenem Kolostrum per Nasenschlundsonde innerhalb der ersten acht Lebensstunden.
- Beobachtung des Mekonium- und des Harnsabsatzes in den ersten zehn Lebensstunden.

Zur Überprüfung des passiven, kolostralen Antikörpertransfers von der Mutterstute auf das Fohlen, wurden vor Ort die IgG-Konzentrationen der Kolostrumseren sowie der postkolostralen Seren der Neonaten bestimmt.

#### Messung des Immunglobulingehaltes in den Kolostrumseren der Mutterstuten

Die Gewinnung der Kolostrumproben erfolgte unmittelbar nach der Geburt der Fohlen. Nach adspektorischer sowie palpatorischer Überprüfung des Euters wurden aus beiden Zitzen wenige Milliliter Kolostrum in einen Vorgemelksbecher ermolken und verworfen. Anschließend wurde, nach feuchter Reinigung der Zitzenkuppen mit warmem Wasser und Papiertüchern, eine Menge von etwa 5 ml aus jeder Euterhälfte in ein steriles Milchprobenröhrchen ermolken. Die Bestimmung der IgG-Konzentration in der Kolostrumprobe erfolgte mit Hilfe des kommerziell erhältlichen Testkits Gamma-Check-C<sup>®</sup> (Euro Vet, Smørum, Dänemark) nach Herstellerangaben.

#### Messung des Immunglobulingehaltes im Blut der Neonaten

Im Zeitraum der 14. bis 24. Lebensstunde bestimmten wir die Serum-IgG-Spiegel der Fohlen mit Hilfe des Gamma-Check-E<sup>®</sup> (Euro Vet, Smørum, Dänemark), ebenfalls nach Herstellerangaben. Dadurch konnten wir die Aufnahme und Persorption maternalen Antikörper überprüfen (THEIN et al. 1989).

Auch in der nachfolgenden Zeit der Saugfohlenphase wurden die Fohlen täglich intensiv beobachtet. Wichtige klinische Kriterien hierbei waren: Störungen des Allgemeinbefindens, Auffälligkeiten bei der Nahrungsaufnahme, Husten, Nasen- und Augenausfluss. Auffäl-

igkeiten wurden umgehend überprüft, gegebenenfalls weitergehende Untersuchungen sowie Therapien vorgenommen.

### **3.3.3 Absetzfohlen**

Das Gestütspersonal beobachtete die Fohlen täglich hinsichtlich Störungen des Allgemeinzustands, Auffälligkeiten bei der Futter- und Wasseraufnahme, sichtbaren Umfangsvermehrungen im Kopfbereich und Verletzungen. Auffälligkeiten wurden gemeldet und umgehend überprüft.

#### **3.3.3.1 Untersuchung der lokalen und allgemeinen Impfreaktionen**

Die Verträglichkeit der Vakzine Equilis® StrepE bei den Absetzfohlen wurde entsprechend den bei den Stuten beschriebenen Kriterien auf lokale und systemische Impfreaktionen geprüft. Hierzu wurden die geimpften Fohlen während der ersten zehn Tage nach Applikation der Vakzine, in jeweils zweitägigen Abständen klinisch untersucht. Alle erhobenen Befunde wurden dokumentiert.

#### **3.3.3.2 Untersuchung der Krankheitsgeschehen geimpfter und nicht geimpfter Absetzfohlenherden**

Zum Vergleich der Problematik respiratorischer Erkrankungen in den geimpften Fohlenherden und den nicht geimpften Vergleichsherden während der frühen Aufzuchtphase, wurden die Fohlen aller Herden im Versuchszeitraum vom 20.09.2006 bis 16.03.2007 zweimal wöchentlich individuell klinisch kontrolliert. Diese Untersuchungen umfassten eine Adspektion der Konjunktival- und Nüsterschleimhäute, eine Palpation der Lnn. mandibulares und retropharyngei laterales sowie eine Beurteilung von Körperhaltung, Verhalten, Futteraufnahme, Ernährungs- und Entwicklungszustand. In Verdachtsfällen wurden die Fohlen auskultiert und thermometriert, gegebenenfalls erfolgte eine Behandlung. Das Vorkommen von Symptomen respiratorischer Erkrankungen wie Husten, Nasenausfluss, Konjunktivitis, Vergrößerung der Lnn. mandibulares und retropharyngei laterales sowie Inappetenz und Fieber wurde ebenfalls dokumentiert.

Die Messung der Körpertemperatur erfolgte transrektal mit einem Digitalthermometer. Als Normaltemperatur von Fohlen bis zu drei Monate und Fohlen über drei Monate wurden Temperaturen von  $\leq 38,5$  °C resp.  $\leq 38,0$  °C definiert.

Die Lnn. mandibulares und Lnn. retropharyngei laterales wurden beidseitig vergleichend palpiert. Kriterien der Beurteilung waren ihre Größe, Konsistenz, Verschieblichkeit sowie Schmerzhaftigkeit bei Palpation. Einen physiologischen Befund stellten weiche, verschiebliche und nicht druckschmerzhaft, bis zu haselnussgroße Knötchen dar. Abweichungen davon wurden als auffällig registriert und weiter beobachtet.

Die klinischen Untersuchungen wurden mit besonderem Augenmerk auf Anzeichen von Druse durchgeführt. Temperaturanstieg mit Vergrößerung der Kopflymphknoten, Stridor, Schluckbeschwerden und Nasenausfluss wurden als Druse verdächtig eingestuft.

### 3.4 Serologische Untersuchungen

Bei trächtigen Stuten (Verumstuten (n=23), Placebostuten (n=7)), Saugfohlen (n=25), geimpften Absetzfohlen (n=54), nicht geimpften Absetzfohlen (n=20) sowie nicht geimpften Jährlingsfohlen (n=17) wurden serologische Untersuchungen zum Nachweis humoraler Antikörper des Typs IgG, mit Spezifität gegen das M-Protein von *S. equi* (SeM) durchgeführt.

#### 3.4.1 Blutentnahmen

##### 3.4.1.1 Trächtige Stuten

###### Impfgruppe I:

Den Stuten der Impfgruppe I wurde am Tag der Erstvakzination das sog. Nullserum entnommen. Darauf folgten Blutentnahmen zu jedem der drei weiteren Impftermine sowie jeweils vier Wochen nach der zweiten, dritten und vierten Wiederholungsimpfung. Außerdem erfolgten drei, sechs sowie zwölf Monate nach der letzten Impfung jeweils eine Blutentnahme.

Den Placebostuten wurden ab dem Zeitpunkt der dritten Impfung Serumproben nach gleichem Zeitplan entnommen (Tab.12).

Blutentnahme	Zeitpunkt
1	Tag der 1. Impfung (Nullserum)
2	Tag der 2. Impfung (4 Wochen nach der Erstimpfung)
3	4 Wochen nach der 2. Impfung (Grundimmunisierung)
4	Tag der 3. Impfung (1. Revakzination)
5	4 Wochen nach der 3. Impfung
6	Tag der 4. Impfung (2. Revakzination)
7	4 Wochen nach der 4. Impfung
8	3 Monate nach der 4. Impfung
9	6 Monate nach der 4. Impfung
10	12 Monate nach der 4. Impfung

Tab. 12: Blutentnahmen zur serologischen Untersuchung, Verumstuten Impfgruppe I

Stuten Impfgruppe II:

Den Stuten der Impfgruppe II (Verum- und Placebostuten) wurden zum Zeitpunkt der dritten und vierten Impfung sowie vier Wochen nach der dritten Impfung und neun Monate nach der vierten Impfung Blutproben entnommen (Tab.13).

Blutentnahme	Zeitpunkt
1	Tag der 3. Impfung (3 Monate nach Grundimmunisierung)
2	4 Wochen nach der 3. Impfung
3	Tag der 4. Impfung
4	9 Monate nach der 4. Impfung

**Tab. 13: Blutentnahmen zur serologischen Untersuchung, Verumstuten Impfgruppe II**

3.4.1.2 Saugfohlen

Den Saugfohlen von 20 geimpften Stuten (Impfgruppe I und II) sowie von fünf Placebostuten (Impfgruppe I), wurde unmittelbar nach Geburt eine präkolostrale Blutprobe (Nullserum) entnommen. Die zweite Blutentnahme zur Prüfung der Aufnahme und Persorption SeM-spezifischer maternaler Antikörper, erfolgte am dritten Lebenstag. Jedem Fohlen wurden bis zum Zeitpunkt des Absetzens von der Mutterstute in jeweils vierwöchigen Intervallen weitere Blutproben entnommen (Tab.14).

Blutentnahme	Zeitpunkt
1	vor der Kolostrumaufnahme (Nullserum)
2	3. Lebenstag
3	Ende 4. Lebenswoche
4	Ende 8. Lebenswoche
5	Ende 12. Lebenswoche
6	Ende 16. Lebenswoche
7	Ende 20. Lebenswoche
8	Ende 24. Lebenswoche

**Tab. 14: Blutentnahmen zur serologischen Untersuchung, Saugfohlen**



### 3.4.1.3 Absetzfohlen

Den Fohlen der beiden geimpften Herden (Hengst- und Stutfohlen) wurde zum Zeitpunkt der ersten Impfung, zum Zeitpunkt der zweiten Impfung sowie zwölf Wochen nach der abgeschlossenen Grundimmunisierung (15.01.2007) jeweils eine Blutprobe entnommen. Somit erfolgten die Blutentnahmen an den Tagen 0, 30 und 120 des Versuches (Tab.15).

Blutentnahme	Zeitpunkt
1	Tag der 1. Impfung (Nullserum)
2	Tag der 2. Impfung (4 Wochen nach der Erstimpfung)
3	12 Wochen nach der 2. Impfung (Grundimmunisierung)

**Tab. 15: Blutentnahmen zur serologischen Untersuchung, geimpfte Absetzfohlen**

Bei den beiden Vergleichsherden wurden jeweils 15 Serumproben entnommen und ebenfalls auf *S. equi* -Antikörper untersucht. Die Entnahmezeitpunkte wurden so gewählt, dass eine Stichprobe zu Beginn der Aufzuchtphase im Oktober 2006 (07.10.2006), in zeitlicher Nähe zu den Blutentnahmen der Impfherden und eine zweite Stichprobe im Januar 2007 (15.01.2007), parallel zu den serologischen Untersuchungen der geimpften Fohlen erfolgte. Zu den Entnahmezeitpunkten beprobten wir jeweils fünf resp. zehn Fohlen beider Herden, dabei war beabsichtigt in jeder Herde von fünf Fohlen Verlaufsproben zu untersuchen (Tab. 16). Die Auswahl der beprobten Fohlen erfolgte willkürlich.

Blutentnahme	Zeitpunkt
1	07.10.2006 (Tag des Auftriebes)
2	15.01.2007

**Tab. 16: Blutentnahmen zur serologischen Untersuchung, nicht geimpfte Absetzfohlen**

Zusätzlich bestand die Möglichkeit des serologischen Vergleiches mit den ein Jahr älteren Fohlen des Jahrgangs 2005, um die Ergebnisse stichprobenartig auf Plausibilität zu prüfen. Dazu untersuchten wir im Frühjahr 2006 eine Stichprobe von 17 Jährlingsfohlen auf deren SeM-spezifische Seruntiter. Die Jährlinge dienten als Vergleichsgruppe, die unter den gleichen Haltungsbedingungen wie die geimpften Absetzfohlen aufgezogen wurde.

### 3.4.2 Serumgewinnung und Bearbeitung

Zur Serumgewinnung wurde nach vorheriger alkoholischer Hautdesinfektion (Cutasept<sup>®</sup>, Bode Chemie, Hamburg), die Vena jugularis externa mit einer sterilen Kanüle (0,9x4,0 mm;

Sterican<sup>®</sup>, Braun, Melsungen) punktiert und ein steriles Serumröhrchen (Polystyrolröhrchen mit Präparierungsträger und Gerinnungsaktivator, Sarstedt, Nürnberg) bis zur Füllgrenze (10 ml) mit Blut befüllt. Mit Herkunftsdaten sowie Entnahmezeitpunkt versehen, wurden die verschlossenen Probengefäße bei Raumtemperatur ungefähr eine Stunde im Reagenzglasständer stehend verwahrt. Nach Eintritt der vollständigen Gerinnung wurden die Gefäße geöffnet und das Blutgallert an der Innenseite des Röhrchens mit dem hölzernen Ende eines sterilen Tupferstäbchens vorsichtig gelöst. Die Zentrifugation der Proben erfolgte bei 3000 U/min für sechs Minuten in einer Tischzentrifuge (Laborzentrifuge *EBA 20*, Hettich, Tuttlingen). Der Serumanteil wurde dann durch eine vorsichtige Schüttbewegung in ein zweites steriles Röhrchen aus Polystyrol (Sarstedt, Nürnberg) überführt. Nach augensinnlicher Überprüfung der Reinheit der Seren und Etikettierung der Probengefäße, wurden die Seren bei -21 °C tiefgefroren und so bis zum Versand in das Untersuchungslabor gelagert. Die während der Versuchsdauer asservierten Serumproben wurden unabhängig vom Entnahmedatum gleichzeitig im Labor untersucht.

### 3.4.3 Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

Das M-Protein von *S. equi* (SeM-Protein) ist eines der potentesten Immunogene und am besten erforschten Proteine von *S. equi* (SWEENEY et al. 2005), daher stellen Antikörper gegen dieses Protein eine wichtige Säule der Serodiagnostik von *S. equi* dar. Die Untersuchungen zum Vorkommen SeM-spezifischer humoraler Antikörper (IgG) erfolgten mit einem indirekten *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). Mit der Analyse der gewonnenen Serumproben wurde die Abteilung für Tiergesundheit des Laboratoire Departemental Frank Duncombe (LDFD) in Caen (Frankreich) beauftragt, welche europaweit als einzige Institution diese spezifische serologische Testmethode als Routine-dienstleistung angeboten hatte. Der Versand der tiefgefrorenen Seren in das Labor erfolgte als gekühlte Expresssendung. Die Untersuchung der Proben erfolgte dort unabhängig vom Entnahmedatum. Jede Serumprobe war mit einer fortlaufenden drei- oder vierstelligen Kennnummer etikettiert, um die Identifizierung, die Bearbeitung sowie die Aufbewahrung der Proben im Labor zu vereinfachen und zu garantieren.

Dieser ELISA ist das europaweit einzige serologische Nachweisverfahren für *S. equi* -spezifische Antikörper im Blutserum von Pferden. Der Test detektiert humorale Antikörper gegen das exklusiv bei *S. equi* vorkommende SeM-Protein, unterscheidet aber nicht zwischen Antikörpern gegen den Impfstamm (*S. equi* -Stamm TW928) und Antikörpern gegen einen Feldstamm.

#### Funktionsprinzip

Die an eine Trägersubstanz in den Kavitäten einer Mikrotiterplatte gebundenen Antigene (rekombinantes SeM-Protein) des Testsystems binden passende SeM-spezifische Anti-

körper, sofern diese in der zugegebenen Serumprobe enthalten sind, und bilden somit spezifische Immunkomplexe. Nach mehreren Waschungen werden enzymmarkierte (Peroxidase) anti-Antikörper in die Kavitäten hinzugegeben; diese lagern sich an die zuvor gebildeten Immunkomplexe an. Nach weiteren Waschungen wird durch Zugabe einer farblosen Substratlösung (Chromogen) eine Farbreaktion ausgelöst. Die Intensität dieser Reaktion wird nach Abbruch der Reaktion mittels eines Stoppreagens ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) photometrisch gemessen.

### Durchführung

Aus jeder Serumprobe wurde zunächst eine aufsteigende Verdünnungsreihe mit vier Verdünnungen (1:200, 1:800, 1:3200 sowie 1:12800) erstellt. Die Serumproben wurden dazu in PBS in Vierschritten verdünnt, die Anfangsverdünnung betrug dabei 1:200. Die mit rekombinantem SeM-Protein beschichteten Vertiefungen der ELISA-Mikrotiterplatten wurden mit einer positiven Kontrolllösung, einer negativen Kontrolllösung sowie den vier aufsteigenden Verdünnungen der zu untersuchenden Serumprobe gleichzeitig beschickt und für eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach der anschließenden dreimaligen Waschung der Testplatte mit einer Waschlösung folgte die Zugabe Peroxidase- markierter Anti-Antikörper. Nach erneuter Inkubation (eine Stunde bei 37 °C) und dreimaliger Waschung der Platte wurde die Enzym-Substrat-Reaktion durch Substitution von Chromogen eingeleitet. Bei der Inkubation (10 min bei 21 °C) wurde die Anwesenheit von SeM-Protein-spezifischen Immunglobulinen mittels Farbumschlag der Enzym-Substrat-Reaktion von farblos nach blau sichtbar gemacht. Nach zehn Minuten erfolgte der Abbruch der Enzym-Substrat-Reaktion durch Zugabe der Stopplösung ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), unter gleichzeitiger Intensivierung der Farbreaktion und Änderung der Farbgebung von blau nach gelb. Anschließend wurde die Extinktion (optische Dichte) der Farblösung in jeder Vertiefung bei einer Wellenlänge von 450 nm im ELISA-Plattenphotometer gemessen. Sodann erfolgte Abgleichung der Extinktionen der einzelnen Serumverdünnungen mit derjenigen des 1:200 verdünnten positiven Kontrollserums.

### Auswertung

Der Titer ist ein Maß für den Gehalt an Antikörpern in einer Volumeneinheit des Serums. Bestimmt wurde dieser durch Ermittlung der Verdünnungsstufe der Serumprobe, bei der gerade noch eine als positiv definierte, bestimmte Reaktion angezeigt wurde. Die höchste Serumverdünnung, die eine größere Extinktion als das 1:200 verdünnte Kontrollserum aufweist, wurde als Titer definiert.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen wurden nach folgenden Gesichtspunkten ausgewertet:

1. Antikörpervorkommen und -titer bei den geimpften Probanden vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach den Impfungen.
2. Antikörpervorkommen und -titer bei den nicht geimpften Probanden zu verschiedenen Zeitpunkten des Impfversuches.

Titer	Bezeichnung des Titers*	Beschreibung des Titers*
< 1:200	N	negativ
1:200 (-1:799)	+	schwach positiv
1:800 (-1:3199)	++	mäßig positiv
1:3200 (-12799)	+++	stark positiv
(≥) 1:12800	++++	sehr stark positiv

Tab. 17: Titer (\*Laboratoire Departemental Frank Duncombe)

Die Ergebnisse des SeM-spezifischen ELISAs (Tab. 17) werden von John F. Timoney (SWEENEY et al. 2005) folgendermaßen interpretiert und bewertet:

Ein negatives ELISA-Resultat kann bei einem Pferd ohne bisherigen Erregerkontakt bzw. ohne *S. equi*-Impfung auftreten oder ein Erregerkontakt erfolgte erst vor kurzer Zeit (< 7 Tage).

Schwach positive Titer (1:200) können eine kürzlich erfolgte Infektion mit beginnender Serokonversion oder residuale Antikörper einer *S. equi*-Infektion bzw. einer Druseimpfung darstellen.

Mäßig positive Titer (1:800) können bei Pferden zwei bis drei Wochen p.i. vorkommen oder wenn eine Infektion sechs Monate bis zwei Jahre zurückliegt.

Stark positive Titer (1:3200) werden zwischen der vierten und zwölften Woche p.i. oder zwischen der ersten und vierten Woche p.vacc. nachgewiesen. Die Impfung ist bei Pferden mit hohen Antikörper-spiegeln (>1:3200) kontraindiziert.

Sehr stark positive Titer (>1:12800) werden häufig bei Pferden mit metastatischen Abszessen oder Purpura haemorrhagica (immunvermittelte Vaskulitis) nach Infektion oder Impfung mit *S. equi* diagnostiziert.

### 3.5 Bakteriologische Untersuchungen

Die Proben zur bakteriologischen Untersuchung wurden zur Abklärung möglicher Impferkrankungen, Impfdurchbrüche, interkurrenter Infektionen oder Druseverdachtsfällen entnommen. Die Probenentnahme erfolgte stets vor Beginn einer antibiotischen Therapie.

Die bakteriologischen Untersuchungen der entnommenen Nasen- und Konjunktivaltupferproben wurden von der Abteilung für Bakteriologie des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes (STUA) Aulendorf, der Abteilung für Bakteriologie des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes (CVUA) Stuttgart sowie von der Abteilung für Bakteriologie des Institutes für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

#### 3.5.1 Entnahme von Tupferproben zum Erregernachweis

Alle Probenentnahmen erfolgten unter Verwendung eines kommerziell erhältlichen sterilen Abstrichbestecks mit Amies/Kohle -Transportmedium (Abstrichbesteck „Amies+Charc“, Herenz Medizinalbedarf, Hamburg) und wurden stets vor Beginn einer antibiotischen Therapie durchgeführt.

Beprobt wurden die ventralen Nasengänge sowie die ventralen Konjunktivalsäcke. Nasentupfer wurden bei starkem, eitrigem Nasenausfluss entnommen, Konjunktivaltupfer bei starker Rötung und Schwellung der Konjunktiven mit schleimig-eitrigem Augenausfluss.

Vor Entnahme der Nasentupfer wurde das äußere Nasenloch mit einem trockenen Papiertuch von Sekretresten und Schmutz gesäubert, um eine Kontamination mit unerwünschten Umgebungskeimen zu reduzieren. Danach wurde mit dem Tupfer in den unteren Nasengang eingegangen und ca. 15 cm vom äußeren Nasenloch entfernt durch Aufsetzen und Drehen des Tupfers an der medialen Wand des Nasenganges ein Abstrich der Nasenschleimhaut genommen. Das Abstrichbesteck mit dem anhaftenden Probenmaterial wurde sofort in das zugehörige Röhrchen mit dem Transportmedium eingeführt und verschlossen.

Zur Entnahme der Konjunktivaltupfer wurde mit dem Zeigefinger Druck auf das obere Augenlid und den Augapfel ausgeübt und mit dem Daumen derselben Hand gleichzeitig das untere Augenlid nach außen gestülpt. Dann wurde der Tupfer flach in den unteren Bindehautsack eingeführt, auf der Schleimhaut gedreht und wieder herausgenommen. Das Abstrichbesteck mit dem anhaftenden Probenmaterial wurde sofort in das zugehörige Röhrchen mit dem Transportmedium eingeführt und verschlossen. Die Proben wurden sofort mit Herkunftsdaten sowie Entnahmedatum versehen und in einem Kühlschrank bei 6-8 °C aufbewahrt. Innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme wurde das Untersuchungsgut gekühlt ins Labor transportiert.

### **3.5.2 Kultivierung von Probenmaterial**

Alle Proben wurden auf die Anwesenheit  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken untersucht. Die Konjunktival- und Nasentupferproben wurden zum Nachweis von grampositiven Mikroorganismen wie Streptokokken, Staphylokokken oder Corynebakterien auf einem Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut (BD Columbia-CNA-Agar, BD Diagnostic Systems, Heidelberg) sowie zum Nachweis einer gramnegativen Begleitflora auf einem MacConkey-II-Agar (BBL MacConkey-II-Agar, BD Diagnostic Systems, Heidelberg) ausgestrichen. Anschließend wurde jeder Tupfer in ein flüssiges THB-Medium (BBL Todd-Hewitt-Broth, BD Diagnostic Systems, Heidelberg) zur Anreicherung von Streptokokken gegeben.

Die CNA-Blutagar- und MacConkey-Agar-Platten wurden für 48 Stunden bei 37 °C bebrütet. Nach einer Bebrütungsdauer von 24 Stunden wurde das Koloniewachstum auf den Platten ein erstes Mal beurteilt. Die zweite und abschließende Beurteilung der Platten erfolgte nach 48 Stunden Bebrütungsdauer.

Die THB-Medien wurden für 24 Stunden bei 37 °C bebrütet, danach erfolgte ein Ausstrich auf CNA-Blutagarplatten, welche ebenfalls für 24 Stunden bei 37 °C inkubiert wurden. Nach dem Ablesen dieser Blutplatten wurden verdächtige  $\beta$ -hämolisierende Kolonien erneut auf dem gleichen Nährbodentyp ausgestrichen, und über weitere 24 Stunden bei 37 °C subkultiviert. Alle Kulturen und Subkulturen wurden zusätzlich zur makroskopischen Beurteilung der Koloniemorphologie, auch einer Auswertung ihrer biochemischen bzw. phänotypischen Eigenschaften mittels Zuckerfermentationstests unterzogen. Bei der Beurteilung der auf den Platten gewachsenen Kolonien wurde die Form, die Größe, die Oberflächenbeschaffenheit, der Schimmer (matt, glänzend) sowie die Hämolyseform der Kolonien bewertet.

### **3.5.3 Bestimmung der biochemischen Eigenschaften von kultivierten $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken**

Die biochemische bzw. phänotypische Differenzierung wurde mit einer kommerziell erhältlichen bunten Reihe (Strep rapid<sup>®</sup>, API BIO-Merieux, Nürtingen) mit den Zuckern Laktose, Mannitol, Ribose, Sorbitol sowie Trehalose durchgeführt. Dazu wurden jeweils 150  $\mu$ l sterilisierte, 10 %ige Lactose-, Mannitol-, Ribose-, Sorbitol- und Trehaloselösung in Vertiefungen einer sterilen Mikrotiterplatte pipettiert und mit je einer KBE der Reinkultur beimpft. Nach Inkubation der Mikrotiterplatte für 20 Stunden bei 37 °C wurde das Ergebnis des Fermentationstestes der einzelnen Zucker in Form eines fehlenden (negativ) oder vorhandenen (positiv) Farbumschlages von violett nach gelb abgelesen.

### 3.5.4 Kapseldiagnostik von kultivierten $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken

Zur Überprüfung einer Kapselbildung wurde ein Dekapsulationstest mit einem *Staphylococcus aureus* -Stamm als Hyaluronidasequelle durchgeführt. Bei diesem Test wurden die zu untersuchenden Streptokokken-Isolate in parallelen Strichen quer über eine Blutagarplatte aufgeimpft und senkrecht dazu, mit breitem Impfstrich, ein Hyaluronidase bildender *Staphylococcus aureus* -Stamm. Nach 24-stündiger aerober Bebrütung bei 37 °C wurde geprüft, ob der *Staphylococcus aureus* -Stamm durch seine Hyaluronidaseproduktion das schleimige Wachstum der Streptokokken-Isolate an den Kreuzungspunkten unterbinden konnte (Dekapsulation). Die Positivkontrolle wurde mit einem schleimig wachsenden *S. equi* -Stamm durchgeführt.

### 3.5.5 Differenzierung von *S. equi* und *S. zooepidemicus*

Alle verdächtigen Streptokokken-Isolate wurden bis zur Durchführung weiterer Untersuchungen bei -72 °C gelagert.

*S. equi* wurde anhand der typischen, mucoiden Kolonieform, einem positiven Dekapsulationstest sowie dem Unvermögen die Zucker Laktose, Mannitol, Ribose, Sorbitol und Trehalose zu fermentieren identifiziert und dadurch von *S. zooepidemicus* und *S. dysgalactiae equisimilis* unterschieden.

*S. zooepidemicus* wurde anhand der typischen, nicht mucoiden Kolonieform, einem negativen Dekapsulationstest, der Fähigkeit Laktose und Sorbitol zu fermentieren sowie dem Unvermögen Trehalose zu fermentieren identifiziert.

### 3.5.6 Antibiogramm

Zur Ermittlung der Antibiotika-Empfindlichkeit wurden Antibiotika-Testringe (Mast Diagnostika, Reinfeld) verwendet. Die zu untersuchenden Isolate wurden auf Columbia-CNA-Agarplatten (mit 5 % Schafblutzusatz), welche mit Antibiotika-Testringen beschickt waren, über 16-20 Stunden bei 37 °C kultiviert (Agardiffusionstest). Die Messung des Hemmhofdurchmessers erfolgte direkt nach der Entnahme aus dem Brutschrank von der Rückseite der Platten mit einer Schieblehre in mm, wobei als Grenze der Rand galt, an dem die Kolonien deutlich vermindertes oder kein Wachstum zeigten. Die Hemmhofgrößen wurden in „resistent“, „intermediär“ und „sensitiv“ eingeteilt. Folgende Chemotherapeutika wurden mittels Agardiffusion getestet: Ampicillin, Cefquinom, Enrofloxacin, Gentamicin, Penicillin G und Sulfonamid-Trimethoprim-Kombinationen.

### **3.6 Untersuchung präpartaler Fohlenverluste**

Die anatomisch-pathologischen, histologisch-pathologischen sowie mikrobiologischen Untersuchungen des während der Versuchsdauer aufgetretenen Abortes und der Totgeburt wurden von der Abteilung für Pathologie des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes (STUA) Aulendorf durchgeführt. Nach Sicherstellung des Untersuchungsgutes erfolgte umgehend dessen Transport zum untersuchenden Institut. Neben der Erhebung anatomisch-pathologischer und histologisch-pathologischer Befunde sollte die Ätiopathogenese dieser Geschehen zusätzlich durch mikrobiologische Untersuchungen abgeklärt werden. Neben einer bakteriologischen Untersuchung (Kultivierung) von Probenmaterial erfolgte auch eine mykologische Untersuchung (Kultivierung) sowie eine virologische Untersuchung auf equine Herpesviren (Antigennachweis).



## 4 Ergebnisse

### 4.1 Impfung von trächtigen Stuten

#### 4.1.1 Klinische Kontrollen der Zuchtstuten

Über den Versuchszeitraum von 19 Monaten (September 2005 bis April 2007) standen die Verumstuten und die Placebostuten unter regelmäßiger klinischer Beobachtung. Der Stutenbestand war während dieser Zeit im Großen und Ganzen frei von Husten, Nasenausfluss und anderen Anzeichen von Erkrankungen der oberen und/oder unteren Atemwege. Symptome von purulenten Atemwegsinfektionen oder fieberhaften Allgemeininfektionen, welche mit einer *S. equi*-Infektion in Zusammenhang gebracht werden könnten sowie Hinweise auf andere mögliche ansteckende Infektionskrankheiten waren während des genannten Versuchszeitraumes und in den zwölf Monaten danach weder im Versuchskollektiv noch bei den restlichen Mitgliedern der Gestütsstutenherde festzustellen.

#### 4.1.2 Verträglichkeit der Vakzine bei trächtigen Stuten

##### 4.1.2.1 Lokale Verträglichkeit der Vakzine

Die Injektionsstelle war als punktförmige Rötung während der ersten Woche p.vacc. leicht zu identifizieren. An der Injektionsstelle entwickelte sich eine glasige Rötung sowie eine undeutliche Schwellung von bis zu 2 cm Durchmesser, welche bei der Palpation weder druckdolent noch vermehrt warm war. Außerdem konnte ein geringgradiger, honigfarbener Ausfluss aus der Injektionsstelle während der ersten vier Tage nach Applikation der Vakzine festgestellt werden. Diese Erscheinungen waren nach jeder Impfung zu beobachten. Spätestens nach acht Tagen p.vacc. waren die Schwellungen vollständig abgeklungen.

Als lokale Impfreaktionen im eigentlichen Sinne wurden die im Folgenden beschriebenen, von der Norm abweichenden Befunde an der Injektionsstelle und/oder den lokalen Lymphknoten (Lnn. mandibulares) bewertet und dokumentiert (Tab.18).

lokale Impfreaktion	Häufigkeit bei 91 Impfungen	
	absolut	prozentual
lokale Schwellung ( $\emptyset > 2$ cm) an der Injektionsstelle mit Rötung, vermehrter Wärme und Druckdolenz	7	7,7 %
lokale Schwellung ( $\emptyset > 2$ cm) an der Injektionsstelle mit Rötung, vermehrter Wärme und Druckdolenz sowie Vergrößerung der Lnn. mandibulares	4	4,4 %
Vergrößerung der Lnn. mandibulares <u>ohne</u> Entzündungsreaktion an der Injektionsstelle	2	2,2 %
Entzündung an der Injektionsstelle mit eitrigem Ausfluss, derber Schwellung, Rötung, Schleimhautdefekt sowie Vergrößerung der Lnn. mandibulares	1	1 %
Gesamt	14	15,4 %

**Tab. 18: Übersicht über Art und Häufigkeit lokaler Impfreaktionen bei 91 Impfungen an 23 Stuten**

In sieben Fällen zeigten Impflinge an zwei bis sechs Tagen p.vacc. eine entzündliche Reaktion an der Injektionsstelle. Kennzeichen dieser Entzündung waren eine deutlich erhabene Schwellung (Durchmesser  $> 2$  cm), eine Rötung, eine erkennbare Druckdolenz sowie vermehrte Wärme. Eine damit verbundene Beeinträchtigung der Nahrungsaufnahme wurde bei den Stuten nicht beobachtet. Die Schwellungen hatten ein maximales Ausmaß von 4x6 cm und bildeten sich innerhalb von zwei bis drei Wochen vollständig zurück.

In vier weiteren Fällen wiesen Stuten ebenfalls eine solche Reaktion auf, die aber zusätzlich von einer zwei bis acht Tage andauernden, geringgradig druckdolenten Vergrößerung der Lnn. mandibulares begleitet war.

Eitrige Entzündungsreaktionen an der Injektionsstelle mit Aufplatzen der über der Impfstelle liegenden Lippenschleimhaut (deutlicher Schleimhautdefekt), Ausscheidung von eitrigem Sekret sowie derber tiefer Schwellung wurden in zwei Fällen verzeichnet. Vergrößerungen der Lnn. mandibulares waren hierbei ebenfalls festzustellen. Die circa walnussgroßen Schwellungen verursachten bei einer der beiden Stuten eine zweitägige Beeinträchtigung der Futtermittelaufnahme und bildeten sich innerhalb von drei Wochen vollständig zurück.

Geringgradige, kaum schmerzhaft Vergrößerungen der mandibulären Lymphknoten, ohne deutliche Entzündungsreaktion an der Injektionsstelle, traten in vier Fällen über einen Zeitraum von zwei bis acht Tagen p.vacc. auf.

Bei den 23 Stuten führten wir insgesamt 91 Impfungen durch. Bei 17 von 91 Impfungen (18,7 %) konnten lokale über das übliche Maß hinausgehende Reaktionen festgestellt werden. Ein therapeutisches Eingreifen war in keinem der Fälle erforderlich. Die beschriebenen Erscheinungen kamen bei allen vier Impfungen (Grundimmunisierung und zwei Revakzinationen) vor, am häufigsten aber bei der Erstimpfung (Tab. 19). Zwischen Impfgruppe I und II waren erwartungsgemäß keine qualitativen oder quantitativen Unterschiede bei den lokalen Impfreaktionen festzustellen.

	Häufigkeit von lokalen Impfreaktionen			
	1. Impfung	2. Impfung	3. Impfung	4. Impfung
Impfgruppe I (n=14)	35,7 %	7,1 %	14,3 %	7,7 %
Impfgruppe II (n=9)	22,2 %	0 %	22,2 %	11,1 %
Gesamt (n=23)	30,4 %	4,3 %	17,4 %	8,7 %

**Tab. 19: Übersicht über die Häufigkeit lokaler Impfreaktionen bei den vier Impfterminen der Stuten**

#### 4.1.2.2 Allgemeine Verträglichkeit der Vakzine

Bei den 91 Impfungen war ein Fall einer kurzzeitigen Allgemeinstörung zu verzeichnen. Diese äußerte sich beim Probanden durch einen deutlich verringerten Appetit (Inappetenz), eine Mattigkeit sowie eine Erhöhung der Körpertemperatur auf bis zu 39,7 °C am ersten und zweiten Tag p.vacc.. Der Impfling wies gleichzeitig dazu eine eitrige Entzündungsreaktion an der Injektionsstelle sowie eine Vergrößerung der Lnn. mandibulares auf. Ein therapeutisches Eingreifen war nicht erforderlich und die beschriebenen systemischen Impfreaktionen klangen im Verlaufe von drei Tagen vollständig ab.

Sonstige Auffälligkeiten im Sinne systemischer Impfreaktionen wurden bei den geimpften Stuten nicht beobachtet (Tab.20).

Art der systemischen Reaktion	absolute Häufigkeit bei 91 Impfungen
gestörtes Allgemeinbefinden mit Inappetenz und Fieber (> 38,0 °C)	1
Überempfindlichkeitsreaktion	0
Purpura haemorrhagica oder sonstige immunvermittelte Komplikationen	0
Impferkrankung (Druse oder Druse-ähnliche Erkrankungen)	0

**Tab. 20: Übersicht über Art und Häufigkeit allgemeiner Impfreaktionen bei 91 Impfungen an 23 Stuten**

#### 4.1.2.3 Spezielle Verträglichkeit der Vakzine bezüglich des Reproduktionsgeschehens

##### 4.1.2.3.1 Trächtigkeiten

Bei den 30 im Versuch befindlichen trächtigen Stuten (23 Verum- und sieben Placebostuten), waren ein Abortfall im zweiten Trimester (217. Tag der Gravidität) sowie eine Totgeburt (321. Tag der Gravidität) zu verzeichnen. Die beiden betroffenen Stuten waren mit Equilis® StrepE geimpft worden. Die Abortrate sowie die Totgeburtenrate betragen bei den Verumstuten und den Placebostuten somit jeweils 4,3 % resp. 0 % (Tab. 21).

	Anzahl Aborte (Tragezeit < 300 Tage)	Anzahl Totgeburten (Tragezeit > 300 Tage)
<i>Impfgruppe I</i>		
Verumstuten (n=14)	1	1
Placebostuten (n=5)	0	0
<i>Impfgruppe II</i>		
Verumstuten (n=9)	0	0
Placebostuten (n=2)	0	0
<i>Gesamt</i>		
Verumstuten (n=23)	1	1
Placebostuten (n=7)	0	0

**Tab. 21: Übersicht über die Verfohlungen bei den Versuchsstuten**

Abort:*Signalement:*

Stute *Wunderkrone*, Deutsches Warmblut, zehn Jahre alt, sechste Trächtigkeit, Impfgruppe I.

*Vorbericht:*

Die letzte Impfung mit Equilis® StrepE erfolgte am 11.10.2005 (zweite Impfung). Die Stute war im Laufstall aufgestellt und abortierte am 04.12.2005 nach einer Tragezeit von 217 Tagen einen unreifen, nicht lebensfähigen Fetus (Abortus immaturus). Der Proband war stets unauffällig und wies keine Anzeichen für einen bevorstehenden Abort auf.

*Klinische Befunde:*

Bei der allgemeinen und gynäkologischen Untersuchung im Anschluss an das akut verlaufende Abortgeschehen waren keine besonderen Befunde festzustellen. Der Fetus und die zugehörige Nachgeburt wiesen keine makroskopisch sichtbaren Veränderungen auf.

*Anatomisch-pathologische und mikrobiologische Befunde:*

Fetus, Nachgeburt, Uterusschleim und Nabel wiesen keine anatomisch-pathologischen Auffälligkeiten auf, der Fetus war dem Trächtigkeitsstadium entsprechend entwickelt. Bakteriologisch konnten hämolysierende *Escherichia coli* sowie *Streptococcus equinus*, ein obligater Darmbewohner der Lancefield Gruppe D, in den untersuchten Geweben nachgewiesen werden. Die Untersuchung auf EHV1 -Antigen verlief negativ. Weitere mikrobielle Befunde konnten nicht erhoben werden.

Der Abort muss somit ätiopathogenetisch der Infektion mit hämolysierende *Escherichia coli* angelastet werden. Obwohl keine anatomisch-pathologischen Anzeichen einer Plazentitis vorgelegen haben.

*Serologische Befunde:*

Die Stute wies in den serologischen Untersuchungen am 11.10.2005 und am 09.11.2005 jeweils einen SeM-spezifischen Titer von ++ sowie bei der serologischen Untersuchung am 11.01.2006 einen Titer von + auf.

Totgeburt:*Signalement:*

Stute *Mahra ox*, Arabisches Vollblut, elf Jahre alt, achte Trächtigkeit, Impfgruppe I.

*Vorbericht:*

Die letzte Impfung mit Equilis® StrepE erfolgte am 12.04.2006 (vierte Impfung). Die Stute zeigte in der Woche nach der vierte Impfung keinerlei klinische Auffälligkeiten und war auch in der übrigen Zeit stets bei ungestörtem Allgemeinbefinden. Sie wurde am 319. Trächtigkeitstag im Abfohlstall aufgestellt und zeigte am Abend des 18.04.2006 durch Unruhe und reduzierten Appetit erste unspezifische Anzeichen einer möglichen

Geburtsvorbereitung. Sie gebar in den frühen Morgenstunden des 19.04.2006, nach einer Trächtigkeitsdauer von 321 Tagen und kurzer Geburt selbstständig ein totes, voll entwickeltes Fohlen ohne erkennbare makroskopische Veränderungen.

### *Klinische Befunde:*

Bei der allgemeinen und gynäkologischen Untersuchung der Stute im Anschluss an die Geburt waren keine besonderen Befunde feststellbar. Das Fohlen wurde innerhalb der Eihäute liegend ausgetrieben. Das Fruchtwasser und die Eihäute zeigten keine Auffälligkeiten. Das Fohlen war vollständig entwickelt und zeigte außer einer deutlichen Umfangsvermehrung im Kehlkopfbereich keine besonderen Auffälligkeiten.

### *Anatomisch-pathologische und mikrobiologische Befunde:*

Das Fohlen wies ein massives Struma und einen positiven Antigennachweis des Equinen Herpesvirus Typ 1 (EHV1) auf. Alle untersuchten Organe waren histologisch unauffällig. Die Nachgeburt zeigte keine besonderen anatomisch-pathologischen Befunde. Virologisch gelang aus diesem Untersuchungsmaterial ebenfalls der Antigennachweis von Equinem Herpesvirus Typ 1.

Ein zusätzlicher, vom Untersuchungsinstitut auch nach Nachfrage nicht näher klassifizierter bakteriologischer Befund war der Nachweis eines *S. equi* -Stammes auf der Oberfläche der eingesandten Nachgeburtprobe - offensichtlich handelte es sich hierbei um eine Umweltkontaminante. Die Totgeburt muss somit ätiopathogenetisch der Infektion mit EHV1 angelastet werden.

### *Serologische Befunde:*

Die Stute wies in der serologischen Untersuchung vom 12.04.2006 einen SeM-spezifischen Titer von ++ auf, bei den vorherigen Untersuchungen lagen die Titer zwischen ++ und +++.

Die übrigen 28 Graviditäten der 21 Verum- und sieben Placebostuten verliefen unauffällig und komplikationslos. Keine der Stuten zeigte im Verlauf der Trächtigkeit vaginalen Ausfluss, welcher einen Hinweis auf eine bakterielle Genitalinfektion (insbesondere mit  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken) hätte geben können.

	Anzahl Stuten mit einer Trächtigkeitsdauer von		
	< 320 Tage	320 bis 360 Tage	> 360 Tage
<i>Impfgruppe I</i>			
Verumstuten (n=12)	0	12	0
Placebostuten (n=5)	0	5	0
<i>Impfgruppe II</i>			
Verumstuten (n=9)	0	8	1
Placebostuten (n=2)	0	2	0
<i>Gesamt</i>			
Verumstuten (n=21)	0	20	1
Placebostuten (n=7)	0	7	0

Tab. 22: Übersicht (I) über die Tragezeiten der 28 Stuten mit lebend geborenen Fohlen

	Trächtigkeitsdauer (Tage)		
	kürzeste	längste	Mittelwert
<i>Impfgruppe I</i>			
Serumstuten (n=12)	333	352	342
Placebostuten (n=5)	337	344	340
<i>Impfgruppe II</i>			
Verumstuten (n=9)	324	361	339
Placebostuten (n=2)	337	339	338
<i>Gesamt</i>			
Verumstuten (n=21)	324	361	341
Placebostuten (n=7)	337	344	339

Tab. 23: Übersicht (II) über die Tragezeiten der 28 Stuten mit lebend geborenen Fohlen

Von den 23 geimpften Stuten (Impfgruppe I und II) hatten nach einer gemittelten Tragezeit von 341 Tagen (Spanne von 324 bis 361 Tagen) 21 Stuten (86 %) ein lebendes Fohlen geboren (12 Hengstfohlen und neun Stutfohlen). Nur eine der Stuten hatte mit einer Tragezeit von 361 Tagen die physiologische Trächtigkeitsdauer von 320 bis 360 Tagen überschritten (Tabb. 22, 23).

Von den sieben Placebostuten (Impfgruppe I und II) hatten nach einer gemittelten Tragezeit von 339 Tagen (Spanne von 337 bis 344 Tagen) alle Stuten ein lebendes Fohlen geboren (vier Hengstfohlen und drei Stutfohlen). Keine dieser Stuten hatte die physiologische Trächtigkeitsdauer von 320 bis 360 Tagen (AURICH 2005a) verfehlt.

#### 4.1.2.3.2 Abfolgeschehen und Puerperium

Die 28 Fohlen (21 aus Verum- und sieben aus Placebostuten) wurden zwischen dem 13.02.2006 und dem 30.05.2006 geboren. Alle Geburten verliefen komplikationslos, ein geburtshilfliches Eingreifen war nie indiziert (Tab. 24).

Nachgeburtshaltungen oder andere Puerperalstörungen traten weder bei den Verumstuten noch bei den Placebostuten auf.

	Aborte	Dystokien	physiologisch verlaufene Geburten	tot geborene Fohlen	lebend geborene Fohlen
<i>Impfgruppe I</i>					
Verumstuten (n=14)	1	0	14	1	12
Placebostuten (n=5)	0	0	5	0	5
<i>Impfgruppe II</i>					
Verumstuten (n=9)	0	0	9	0	9
Placebostuten (n=2)	0	0	2	0	2
<i>Gesamt</i>					
Verumstuten (n=23)	1	0	23	1	21
Placebostuten (n=7)	0	0	7	0	7

Tab. 24: Ergebnisse bezüglich des Geburtsverlaufes

### 4.1.3 Saugfohlen

#### 4.1.3.1 Reifegrad der Neonaten

Keines der Fohlen zeigte Anzeichen einer Prämaturität oder Dysmaturität, alle 28 Fohlen wurden als matur (ausgereift) bewertet (Tab. 25).



	prämature Neonaten	dysmature Neonaten	mature Neonaten
<i>Impfgruppe I</i>			
Fohlen aus Verumstuten (n=12)	0	0	12
Fohlen aus Placebostuten (n=5)	0	0	5
<i>Impfgruppe II</i>			
Fohlen aus Verumstuten (n=9)	0	0	9
Fohlen aus Placebostuten (n=2)	0	0	2
<i>Gesamt</i>			
Fohlen aus Verumstuten (n=21)	0	0	21
Fohlen aus Placebostuten (n=7)	0	0	7

Tab. 25: Reifegrad der Neonaten

#### 4.1.3.2 Gewichtsentwicklung der Neonaten in Abhängigkeit von der Graviditätsdauer

Die Gewichtsentwicklung der Fohlen während der fetalen Entwicklungsphase war in allen 28 Fällen als eutroph einzustufen (Tab. 26).

	hypotrophe Neonaten	eutrophe Neonaten	hypertrophe Neonaten
<i>Impfgruppe I</i>			
Fohlen aus Verumstuten (n=12)	0	12	0
Fohlen aus Placebostuten (n=5)	0	5	0
<i>Impfgruppe II</i>			
Fohlen aus Verumstuten (n=9)	0	9	0
Fohlen aus Placebostuten (n=2)	0	2	0
<i>Gesamt</i>			
Fohlen aus Verumstuten (n=21)	0	21	0
Fohlen aus Placebostuten (n=7)	0	7	0

Tab. 26: Gewichtsentwicklung der Neonaten in Abhängigkeit von der Graviditätsdauer

#### 4.1.3.3 Anatomische und funktionelle Abnormalitäten bei Neonaten

Bei keinem der 28 lebend geborenen Neonaten konnten anatomische oder funktionelle Abnormalitäten festgestellt werden. Nabel und Genitalorgane waren durchweg ohne besondere Befunde.

#### 4.1.3.4 Kolostraler Antikörpertransfer

Alle Fohlen waren in der Lage, selbstständig ausreichend Kolostrum aufzunehmen. Nur bei zwei Fohlen wurden aufgrund einer beobachteten schlechten Saugleistung nach sechs Lebensstunden jeweils 500 ml Kolostrum der Mutterstute per Nasenschlundsonde substituiert.

Zur Überprüfung des passiven, kolostralen Antikörpertransfers von der Mutterstute auf das Fohlen, wurden vor Ort die IgG-Konzentrationen der Kolostrum der Mutterstuten sowie der postkolostralen Seren der Neonaten ermittelt.

#### Immunglobulingehalt im Kolostrum der Mutterstuten

Die semiquantitative Bestimmung des kolostralen Globulingehaltes erfolgte unmittelbar p.n. mit Hilfe des kommerziellen Testkits Gamma-Check-C<sup>®</sup>. Auf diese Art und Weise überprüften wir die IgG-Konzentration der Kolostrum der sieben Placebostuten und der 21 geimpften Stuten, die lebende Fohlen geboren hatten. Bei allen 28 Proben war innerhalb von zehn Minuten eine Gelbildung zu verzeichnen (Tab. 27), somit lag jeweils eine IgG-Konzentration  $\geq 3,8$  g/dl vor. Da wir einen Globulingehalt von 3,2 g/dl (THEIN et al. 1989) als Maßstab für einen ausreichenden Immunglobulintransfer in die Saugfohlen zu Grunde legten, wiesen die Kolostrum aller Stuten somit genügende Immunglobulinmengen (IgG) auf. Ein positives Testergebnis wurde bei Araberstuten bzw. Warmblutstuten nach durchschnittlich 6 resp. 4 min ermittelt.

Bei keiner Stute begann die Milch bereits ante partum in größerer Menge abzutropfen, so dass in keinem Falle ein präpartaler Verlust von Kolostrum zu verzeichnen war.

Stute	Impfgruppe	Verum/Placebo	Dauer bis zur Gelbildung der Kolostrumprobe (in Minuten)
Dukna ox	II	V	9
Hybris	I	P	3
Shaykhah ox	II	V	4
Dewina	I	P	4
Maaza ox	II	V	3
Sesal ox	II	V	3
Leidenschaft	I	P	2
Austria	I	P	8
Miss Marple	II	V	7
Armada	I	P	10
Naga ox	II	V	9
Nari ox	II	V	6
Latussa	II	V	2
Athene	II	V	5
Mimosa	I	V	3
Dumjeh ox	I	V	10
Palaver	I	V	4
Eiskönigin	I	V	2
Souha ox	I	V	6
Amelia	I	V	2
Lisett	I	V	4
Toscana	I	V	4
Elfenglück	I	V	3
Galega	I	V	6
Karamia	I	V	2
Farandole	I	V	3
Räuberbraut	II	P	4
Cavalcade	II	P	3

**Tab. 27: Ergebnisse des Gamma-Check-C® bei den Mutterstuten**

#### Immunglobulingehalt im Blut der Neonaten

Zwischen der 14. und 24. Lebensstunde überprüften wir mit Hilfe des kommerziellen Testkits Gamma-Check-E® die Serum-IgG-Konzentrationen der lebend geborenen Fohlen aus den 21 geimpften Stuten und den sieben Placebostuten. Bezüglich der als unteren Grenzwert angesehenen 400 mg/dl Serum (THEIN et al. 1989) konnten wir mit dem eingesetzten Test feststellen, ob eine Hypogammaglobulinämie oder eine ausreichende IgG-Konzentration vorlag. Über die qualitative Leistung der gemessenen IgG-Spiegel entscheidet einzig und allein deren Erregerspezifität (THEIN et al. 1989, 2005; THEIN 2003, 2007). Alle 28 Proben

wiesen innerhalb von zehn Minuten eine Gelbildung auf (Tab. 28), somit hatten alle Fohlen eine Gesamt-IgG-Konzentration von 800 mg/dl Serum oder höher. Diese Feststellung deckt sich mit den Ergebnissen der Messung der Kolostralglobulingehalte der Stuten.

Fohlen aus der...	Impfgruppe (Mutterstute)	Verum (V) / Placebo (P) (Mutterstute)	Dauer bis zur Gelbildung der Serumprobe (in Minuten)
Dukna ox	II	V	1
Hybris	I	P	1
Shaykhah ox	II	V	3
Dewina	I	P	1
Maaza ox	II	V	1
Sesal ox	II	V	1
Leidenschaft	I	P	2
Austria	I	P	2
Miss Marple	II	V	4
Armada	I	P	3
Naga ox	II	V	2
Nari ox	II	V	3
Latussa	II	V	3
Athene	II	V	2
Mimosa	I	V	1
Dumjeh ox	I	V	5
Palaver	I	V	1
Eiskönigin	I	V	1
Souha ox	I	V	1
Amelia	I	V	1
Lisett	I	V	2
Toscana	I	V	8
Elfenglück	I	V	5
Galega	I	V	2
Karamia	I	V	1
Farandole	I	V	1
Räuberbraut	II	P	3
Cavalcade	II	P	5

**Tab. 28: Ergebnisse des Gamma-Check-E® bei den Saugfohlen**

Der Transfer von Immunglobulinen von den Mutterstuten zu ihren Fohlen sowie deren Persorption im Fohlendarm hat demnach in allen untersuchten Fällen stattgefunden. Somit war auch die Grundlage des SeM-spezifischen Antikörpertransfers geschaffen.

#### 4.1.3.5 Klinische Kontrollen der Saugfohlen

Acht Fohlen hatten bei der digitalen Kontrolle auf vollständigen Mekoniumabsatz, die zwischen der zehnten und 16. Lebensstunde erfolgte, noch keinen Milchkot im Rektum. Daraufhin wurde ihnen das noch verbliebene Mekonium mit Hilfe eines Klistiers (Microklist<sup>®</sup>, Pfizer, Karlsruhe) entfernt. Während der Saugfohlenphase wurden keine manifesten Erkrankungen der Atemwege oder fieberhafte Allgemeininfektionen festgestellt. Notwendig gewordene Behandlungen von Fohlen beschränkten sich auf Fälle von unkomplizierten Nabelentzündungen, Hautwunden und Traumata des Bewegungsapparates.

#### Postpartaler Fohlenverlust

Das Fohlen aus der Stute Toscana (Verumstute aus Impfgruppe I) erlitt durch das Muttertier am ersten Lebenstag ein tödliches Thoraxtrauma mit multiplen Rippenfrakturen. Aufgrund der eindeutigen Sachlage wurde keine pathologisch-anatomische Untersuchung veranlasst.

#### 4.1.4 Serologische Untersuchungen der Zuchtstuten

Impfgruppe I	Antikörpertiter gegen S. equi									
	1. Impfung	2. Impfung	4 Wochen nach 2. Impfung	3. Impfung	4 Wochen nach 3. Impfung	4. Impfung	4 Wochen nach 4. Impfung	3 Monate nach 4. Impfung	6 Monate nach 4. Impfung	12 Monate nach 4. Impfung
	15.09.2005	11.10.2005	09.11.2005	11.01.2006	08.02.2006	12.04.2006	12.05.2006	14.07.2006	12.10.2006	12.04.2007
<b>Verumstuten</b>										
Mimosa	+	+	+	+	N	+	+	+	+	+
Galega	+	++	++	++	+++	++	+++	++	++	++
Eiskönigin	+	++	++	++	+++	++	++	++	++	+
Lisett	+	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	++
Amelia	+	++	++	++	++	+	++	+	++	+
Palaver	N	+	++	+	+++	++	++	++	+	+
Karamia	+	++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	++
Farandole	+	++	++	++	++	++	+++	++	++	++
Dumjeh ox	+	+++	+++	++	+++	++	+++	++	++	++
Souha ox	+	+++	+++	++	+++	++	++	++	+	+
Elfenglück	N	++	+	+	++	+	++	+	+	n. u.
Toscana	+	++	++	++	++	+	++	n. u.	n. u.	n. u.
Mahra ox	++	++	++	++	+++	++	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
Wunderkrone	+	++	++	+	++	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
<b>Placebostuten</b>	(Placebo)	(Placebo)		(Placebo)		(Placebo)				
Hybris	n. u.	n. u.	n. u.	+	N	+	+	+	++	N
Austria	n. u.	n. u.	n. u.	N	+	+	+	+	N	N
Armada	n. u.	n. u.	n. u.	+	+	+	+	+	++	N
Dewina	n. u.	n. u.	n. u.	++	++	+	+	+	++	+
Leidenschaft	n. u.	n. u.	n. u.	+	+	+	+	+	++	n. u.
ox = Arabisches Vollblut n. u. = nicht untersucht N = negatives ELISA-Resultat + = Titer von 1:200 ++ = Titer von 1:800 +++ = Titer von 1:3200										

Tab. 29: SeM-spezifische Serumtitern der Verum- und Placebostuten der Impfgruppe I zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Versuchszeitraum

Impfgruppe II	Antikörpertiter gegen S. equi			
	3. Impfung	4 Wochen nach 3. Impfung	4. Impfung	9 Monate nach 4. Impfung
	12.04.2006	12.05.2006	14.07.2006	12.04.2007
<b>Verumstuten</b>				
Athene	++	+++	++	++
Dukna ox	+	+++	++	++
Latussa	++	+++	++	++
Maaza ox	+	++	+	+
Shaykhah ox	+	++	++	+
Naga ox	+	++	+	+
Sesal ox	++	+++	++	++
Miss Marple	++	++	++	
Nari ox	+	++	+	
<b>Placebostuten II</b>	(Placebo)		(Placebo)	
Räuberbraut	+	+	+	+
Cavalcade	+	+	N	

ox = Arabisches Vollblut  
 n.u. = nicht untersucht  
 N = negatives ELISA-Resultat  
 + = Titer von 1:200  
 ++ = Titer von 1:800  
 +++ = Titer von 1:3200

Tab. 30: SeM-spezifische Serumtiter der Verum- und Placebostuten der Impfgruppe II zu verschiedenen Zeitpunkten im Versuchszeitraum

#### 4.1.4.1 Verumstuten

##### 4.1.4.1.1 Impfgruppe I

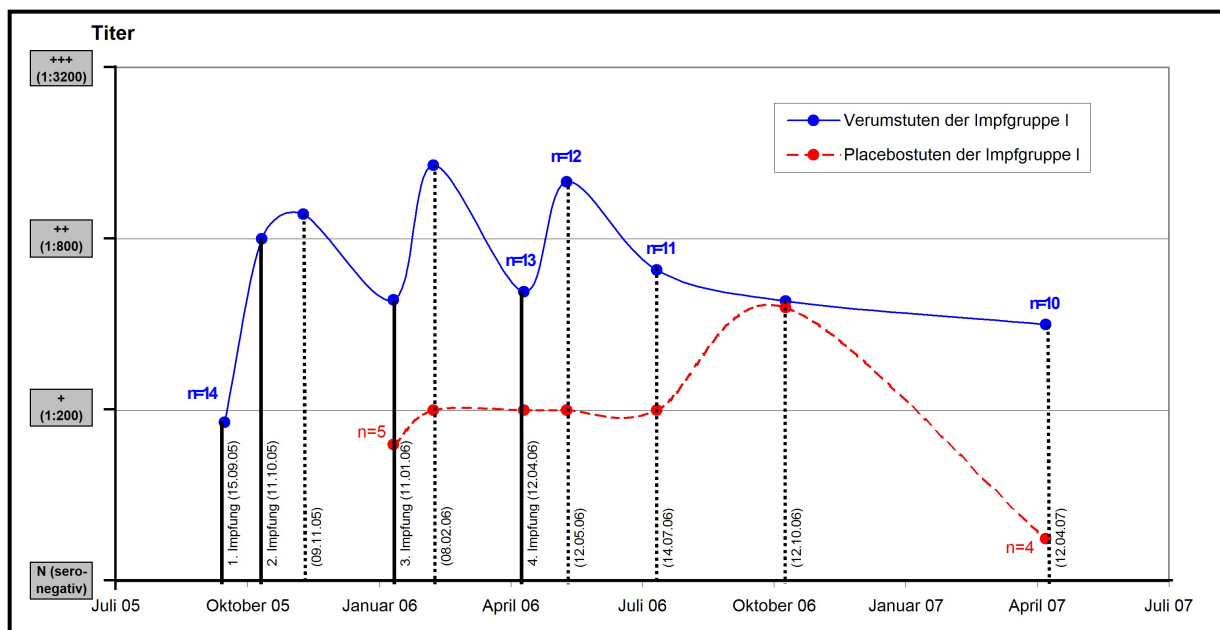


Abb. 4: Gemittelte Titerverläufe, Impfgruppe I (Verumstuten vs. Placebostuten)

1. Impfung:

Von den 14 Stuten dieser Impfgruppe wiesen zu Versuchsbeginn (Nullprobe) nur zwei Stuten keine SeM-spezifischen Antikörpertiter (N) auf. Die vorhandenen prävakzinalen Antikörpertiter waren überwiegend schwach (+), mit einer Ausnahme mäßig (++), positiv.

Einzelergebnisse des ELISA von 14 Nullseren					
Titer	N*	+	++	+++	++++
Anzahl	2	11	1	0	0

\*N=seronegativ

2. Impfung:

Zum Zeitpunkt der Zweitimpfung reagierten alle Impflinge seropositiv. Zwölf Stuten serokonvertierten in dem vierwöchigen Zeitraum seit der Erstimpfung um eine (neun Stuten) oder zwei Titerstufen (drei Stuten), zwei Stuten zeigten keine messbare Titerveränderung. Bei zwei Probanden konnten stark positive (+++) Titer nachgewiesen werden.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt der 2. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	2	10	2	0

4 Wochen nach der 2. Impfung:

Vier Wochen nach abgeschlossener Grundimmunisierung wiesen nur drei Stuten einen weiteren Titeranstieg auf, zehn Stuten behielten ihre Titer bei und bei einer Stute war ein Titerabfall zu verzeichnen.

Die Anzahl der stark positiven Reagenten (+++) hatte sich von zwei auf vier verdoppelt. Die beiden prävakzinal stark positiv getesteten Probanden (+++) zeigten postvakzinal keine Titerveränderung.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt 4 Wochen nach der 2. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	2	8	4	0

3. Impfung:

Am Tage der ersten Revakzination, zwölf Wochen nach der Grundimmunisierung, waren die Titer der Impflinge, die nach der Zweitimpfung stark positiv (+++) reagiert hatten, auf die nächst geringere Titerstufe gefallen.

Verglichen mit den ELISA-Werten zum Zeitpunkt der zweiten Impfung, wiesen neun Stuten einen identischen und fünf Stuten einen um jeweils eine Stufe gefallenen SeM-Titer auf.

## Ergebnisse

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt der 3. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	5	9	0	0

### 4 Wochen nach der 3. Impfung:

Nach der dritten Impfung war bei elf Stuten eine Serokonversion zu verzeichnen, bei zehn von ihnen um eine Titerstufe sowie bei einer um zwei Titerstufen. Zwei Stuten zeigten keine Titerveränderung und eine Stute (*Mimosa*) reagierte seronegativ.

In acht der 14 Probandenseren konnten stark positive (+++) Titer nachgewiesen werden.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt 4 Wochen nach 3. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	1	0	5	8	0

### 4. Impfung:

Der Probandenpool der Impfgruppe I reduzierte sich zu diesem Zeitpunkt auf 13 Stuten.

Verglichen mit den Titern zum Zeitpunkt der vorherigen Revakzination, wiesen zehn Impflinge - nach zwischenzeitlicher Serokonversion - gleich hohe (neun Stuten) oder erhöhte (eine Stute) Titer auf. In jeweils einem Fall war ein Titerabfall, keine Titerveränderung sowie ein gering positiver (+) Titer - nach vorangegangener seronegativer Reaktion - (Stute *Mimosa*) zu verzeichnen.

Die bei acht Pferden nach der dritte Impfung festgestellten, stark positiven (+++) Serumtiter waren zu diesem Untersuchungszeitpunkt wieder abgebaut.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt der 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	4	9	0	0

### 4 Wochen nach der 4. Impfung:

Vier Wochen post vaccinationem wiesen acht von zwölf untersuchten Impflingen eine erneute, einstufige Titererhöhung auf, so dass in fünf Serumproben stark positive SeM-Titer messbar waren. Vier Stuten zeigten keine Veränderung ihrer Serumtiter.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt 4 Wochen nach 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	1	6	5	0



3 Monate nach der 4. Impfung:

Diese serologische Untersuchung von elf Stuten ergab - verglichen mit den Werten am Tag der vierten Impfung - bei zehn Stuten Titer gleicher Höhe sowie bei einer Stute einen erhöhten (stark positiven) SeM-spezifischen Antikörpertiter.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt 3 Monate nach der 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	3	7	1	0

6 Monate nach der 4. Impfung:

Bei acht von elf Stuten konnten Titer derselben Höhe, wie sie schon zum Zeitpunkt der letzten Revakzination (sechs Monate zuvor) nachzuweisen waren, ermittelt werden. Die übrigen drei Stuten wiesen geringere Titer auf.

Die Mehrzahl der Probanden zeigte mäßig positive (++) Titer, seronegativ reagierte keine der Stuten.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt 6 Monate nach der 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	4	7	0	0

12 Monate nach der 4. Impfung:

Ein Jahr nach der letzten Impfung konnten noch zehn Stuten serologisch nachuntersucht werden. Nur bei drei Stuten war ein Titerabfall unter das Niveau der Werte zum Zeitpunkt der letzten Impfung zu verzeichnen. Die übrigen sieben Stuten wiesen dieselben Titer wie schon zwölf Monate zuvor auf. Schwach positive und mäßig positive SeM-spezifische Titer wurden bei den Pferden zu gleichen Teilen festgestellt.

Einzelergebnisse des ELISA zum Zeitpunkt 12 Monate nach der 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	5	5	0	0

4.1.4.1.2 Impfgruppe II

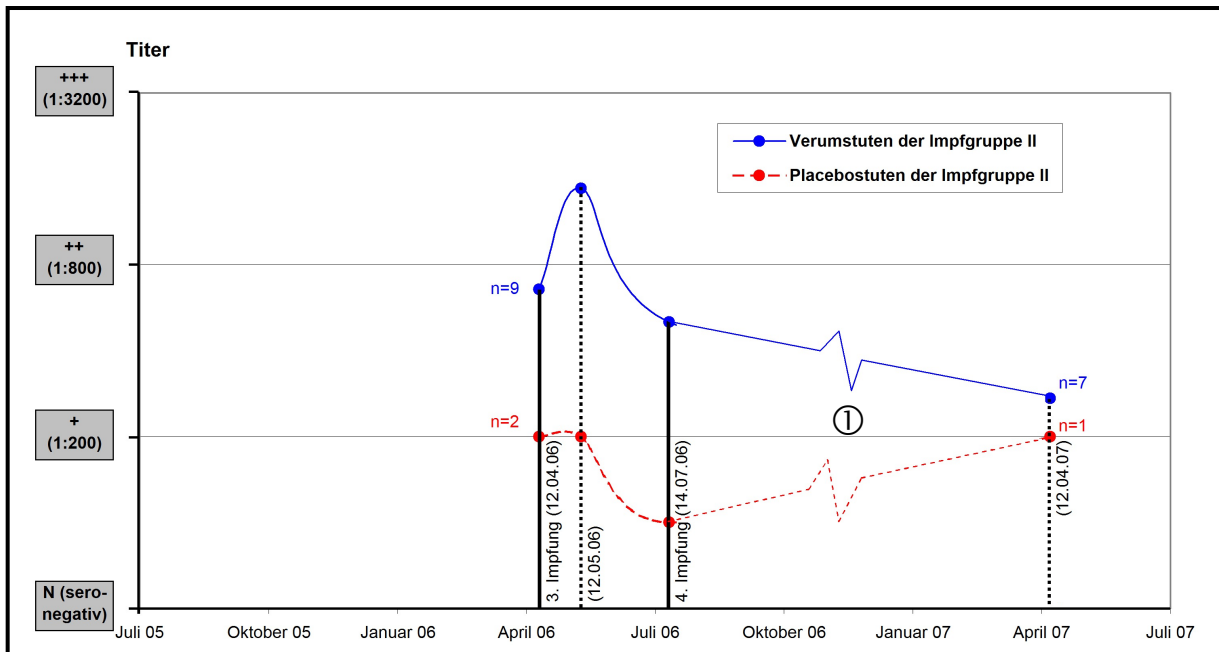


Abb. 5: Gemittelte Titerverläufe, Impfgruppe II (Verumstuten vs. Placebostuten)

① Wegen des großen zeitlichen Abstandes der serologischen Untersuchungen sind in diesem Abschnitt keine klaren Verlaufskurven darstellbar.

3. Impfung:

Zum Zeitpunkt der dritten Impfung wurden bei fünf Stuten schwach positive (+) und bei vier Stuten mäßig positive (++) Antikörpertiter ermittelt.

Einzelergbnisse des ELISA zum Zeitpunkt der 3. Impfung					
Titer	N*	+	++	+++	++++
Anzahl	0	5	4	0	0

\*N=seronegativ

4 Wochen nach der 3. Impfung:

Vier Wochen nach der dritten Impfung wiesen acht Stuten eine Serokonversion um eine (sieben Stuten) oder um zwei (eine Stute) Titerstufen auf. Ein Impfling zeigte keine messbare Titerveränderung. In vier der neun Seren konnten stark positive Titer (+++) gemessen werden.

Einzelergbnisse des ELISA zum Zeitpunkt 4 Wochen nach der 3. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	0	5	4	0

4. Impfung:

Zwei Stuten reagierten in dem zwölfwöchigen Zeitraum seit der dritten Impfung mit einer Titererhöhung von + auf ++, sieben Stuten zeigten identische Titer wie zum Zeitpunkt der dritten Impfung.

Mäßig positive (++) Titer waren in der Mehrzahl der Serumproben festzustellen.

Einzelresultate des ELISA zum Zeitpunkt der 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	3	6	0	0

9 Monate nach der 4. Impfung:

Eine letzte serologische Untersuchung erfolgte bei sieben Stuten schließlich neun Monate nach letzter Impfung. Verglichen mit den Titern zum Zeitpunkt der vierten Impfung wiesen sechs Stuten dabei keine Titerveränderung und eine Stute einen Titerabfall (um eine Titerstufe) auf. Alle Probanden reagierten seropositiv.

Einzelresultate des ELISA zum Zeitpunkt 9 Monate nach der 4. Impfung					
Titer	N	+	++	+++	++++
Anzahl	0	3	4	0	0

## 4.1.4.2 Placebostuten

Von den sieben Placebostuten wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten insgesamt 41 Serumproben untersucht. Bei allen Stuten konnten wir SeM-spezifische Antikörper nachweisen, bei vier von ihnen Titeranstiege bis auf ++. Vier der sieben Probanden reagierten zu einzelnen Untersuchungszeitpunkten innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 16 Monaten seronegativ. Vier Placebostuten wiesen im Zeitraum zwischen den beiden Blutentnahmen vom 14.07.2006 und 12.10.2006 eine Serokonversion auf, während bei den Verumstuten in dem entsprechenden Zeitraum kein Titeranstieg zu verzeichnen war.

Einzelresultate der 41 Serumproben von Placebostuten					
Titer	N*	+	++	+++	++++
Anzahl	7	28	6	0	0

\*N=seronegativ

## 4.1.4.3 Zusammenfassung der serologischen Befunde der Zuchtstuten

Die postvakzinale Antikörperbildung der einzelnen Impflinge (tragende und laktierende Stuten), erwies sich in qualitativer Hinsicht (Titerabfall, keine Titeränderung, Titererhöhung)

und in quantitativer Hinsicht (Veränderung des Titers um eine Stufe oder zwei Stufen) als heterogen. Die SeM-spezifischen Serum-IgG stiegen in 43 von 63 ausgewerteten Fällen innerhalb von vier Wochen p.vacc. messbar an und erreichten innerhalb dieser Zeit auch ihr Maximum (Spanne von N bis +++). Danach sanken die Titer allmählich wieder ab und erreichten ein Plateau in Höhe von + oder ++. In weiteren 18 Fällen war keine messbare Titeränderung und in zwei Fällen ein Titerabfall zu verzeichnen.

Nach 63 ausgewerteten Impfungen (Impfung 1 bis 4 bei Impfgruppe I sowie Impfung 3 bei Impfgruppe II) erreichten die Impflinge in 21 Fällen (33 %) stark positive (+++) Titer, in 36 Fällen (57 %) mäßig positive (++) Titer und in fünf Fällen (8 %) schwach positive (+) Titer. In einem Fall (2 %) konnte kein Titer (N) nachgewiesen werden.

Postvakzinal bestand ein deutlicher Unterschied der Titerhöhen und -bewegungen zwischen den Verum- und den Placebostuten. Die Verumstuten wiesen konstant höhere oder zumindest vergleichbare Antikörpertiter auf wie die zu gleichen Zeitpunkten untersuchten Placebostuten, bei denen keine höheren Titer als ++ ermittelt werden konnten (Tab. 30 und 31).

Zum Vergleich der Dynamik der ermittelten Serumtiter der verschiedenen Probandengruppen wurden deren Mittelwerte herangezogen (Abb. 4 und 5). Diese lagen bei den Verumstuten der Impfgruppe I zu den Zeitpunkten sechs Monate und zwölf Monate nach der letzten (vierten) Impfung noch deutlich über dem Ausgangswert zum Beginn des Impfversuches (Abb. 4). Postvakzinal war stets ein Anstieg der Titer zu verzeichnen, zwölf Wochen p.vacc. wurde ein Plateau erreicht, das auch nach sechs und zwölf Monaten noch gehalten wurde. Der Mittelwert der Verumstuten lag stets deutlich über dem der Placebostuten. Eine Annäherung der Werte beider Gruppen erfolgte zum Zeitpunkt 12.10.2006. Zu diesem Zeitpunkt waren die Titer der Verumstuten rückläufig während die der Placebostuten einen Anstieg aufwiesen.

Die Stute *Mimosa* reagierte als einzige der 23 geimpften Mutterstuten auf keine der vier Impfungen mit einem Anstieg ihrer Serumtiter. Sie wies in den serologischen Untersuchungen nur schwach positive (+) Titer auf, vorübergehend reagierte sie auch seronegativ.

### Auswertung der serologischen Ergebnisse in Bezug auf einen möglichen Einfluss des Lebensalters der Impflinge auf die postvakzinale Antikörperbildung:

Der Vergleich der über den Versuchszeitraum ermittelten Serumtiter der elf drei- bis achtjährigen Stuten mit denen der zwölf neun- bis sechzehnjährigen Stuten ergab erwartungsgemäß keine Hinweise für einen Einfluss des Lebensalters der Stuten (> 3 Jahre) auf die postvakzinale Antikörperbildung.

Auswertung der serologischen Ergebnisse in Bezug auf einen möglichen Einfluss der Rasse der Impflinge auf die postvaksinale Antikörperbildung:

Der Vergleich der über den Versuchszeitraum ermittelten Titer der neun Vollblutaraberstuten mit denen der 14 Warmblutstuten ergab erwartungsgemäß keine Hinweise für einen Einfluss der Rassenzugehörigkeit (Deutsches Warmblut vs. Arabisches Vollblut) auf die postvaksinale Antikörperbildung.

#### 4.1.5 Serologische Untersuchungen der Saugfohlen

Aufgrund des Verlustes eines Fohlen (a.d. *Toscana*) an dessen ersten Lebenstag reduzierte sich die Probandenzahl der Saugfohlen für die serologischen Untersuchungen auf 25.

Fohlen aus der...	Impfgruppe der Mutterstute	Verumstute (V) / Placebostute (P)	prä-kolostrale Serumprobe	3.Tag p.n.	Ende 1.L.M.	Ende 2.L.M.	Ende 3.L.M.	Ende 4.L.M.	Ende 5.L.M.	Ende 6.L.M.	Ende 7.L.M.
Hybris	I	P	N	++	+						
Dewina	I	P	N	++	++	+		+	+	+	+
Leidenschaft	I	P	N	++	+						
Austria	I	P	N	++	+						
Armada	I	P	N	+							
Mimosa	I	V	N	++	+						
Palaver	I	V	N	+++	++	+					
Eiskönigin	I	V	N	+++	++	+					
Amelia	I	V	N	++	++	+					
Lisett	I	V	N	++	+	+					
Elfenglück	I	V	N	+	+	+					
Galega	I	V	N	+++	++	+	+				
Karamia	I	V	N	+++	++	+	+	+			
Farandole	I	V	N	+++	++	++	+	+			
Dumjeh ox	I	V	N	++	+	+					
Souha ox	I	V	N	++	+	+					
Latussa	II	V	N	+++	++	++	+	+			
Athene	II	V	N	++	++	+	+				
Miss Marple	II	V	N	++	++	+					
Maaza ox	II	V	N	++	++	+	+				
Sesal ox	II	V	N	+++	++	+					
Shaykhah ox	II	V	N	++	++	+					
Dukna ox	II	V	N	++	++	+	+				
Naga ox	II	V	N	+							
Nari ox	II	V	N	++	+	+	+				

L.M. = Lebensmonat  
p.n. = post natum  
ox = Arabisches Vollblut

N = negatives ELISA-Resultat  
+ = Titer von 1:200  
++ = Titer von 1:800  
+++ = Titer von 1:3200

Tab. 31: Übersicht über die nachgewiesenen maternalen Titer der Saugfohlen und deren Persistenz

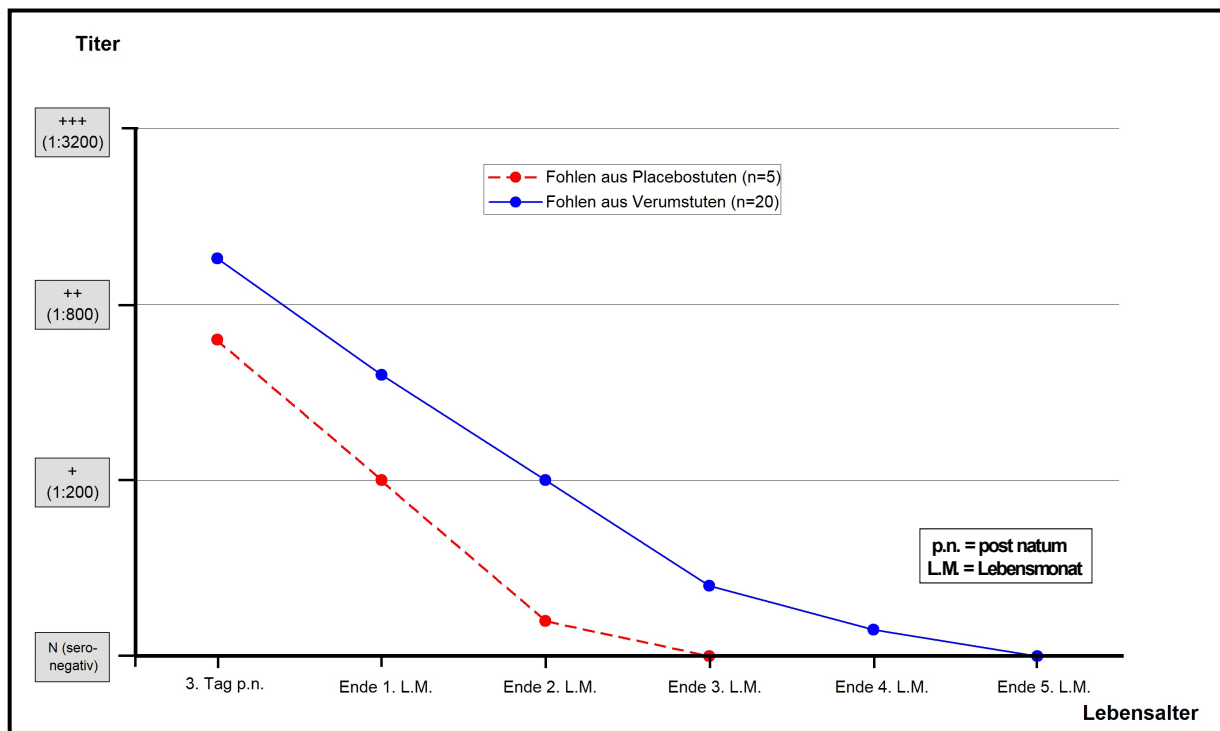
#### 4.1.5.1 Vorkommen und Persistenz SeM-spezifischer Antikörper bei den Fohlen aus den Verumstuten vs. den Fohlen aus Placebostuten

Präkolostral verfügte keines der untersuchten Fohlen über nachweisbare Titer SeM-spezifischer Serumantikörper. Das bedeutet, dass weder ein passiver diaplazentärer Antikörpertransfer noch eine präpartale Immunantwort des Fetus auf eine *S. equi*-Infektion durch einen Feldstamm oder den Impfstamm stattgefunden hatte. Am dritten Lebenstag, nach ausreichender Aufnahme von Kolostrum, reagierten alle Probanden seropositiv, mit Titern zwischen + und +++ . Bei lediglich drei Fohlen aller im Versuch befindlichen Stuten wurden am dritten Tag p.n. Titer von + verzeichnet, die Titer der übrigen Fohlen waren deutlich höher (++ bzw. +++). Bei Fohlen aus Placebostuten konnten keine stark positiven, postkolostralen Titer von +++ verzeichnet werden (Tab. 32).

Es erfolgte bei allen untersuchten Fohlen ein kontinuierlicher Abbau der passiv aufgenommenen Antikörper, so dass bereits zum Ende des zweiten Lebensmonats nur noch zwei Fohlen aus geimpften Stuten über Titer von ++ verfügten. Im Bereich des dritten und vierten Lebensmonats erfolgte ein endgültiger Abbau der maternalen Antikörpertiter (Tab. 31, Abb. 6). Hierbei war eine annähernd lineare Beziehung der Dauer der Persistenz dieser passiv erworbenen Antikörper zu ihren initialen Titern zu verzeichnen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Fohlen von den durch die Impfung induzierten höheren Antikörpertitern der Mutterstuten profitierten und eine hochwertigere und länger andauernde passive Kolostralimmunität aufwiesen (Tab. 32, Abb. 6).

Das Fohlen a.d. *Dewina* reagierte ab dem vierten Lebensmonat seropositiv und behielt diesen schwach positiven Titer von + über den gesamten Untersuchungszeitraum konstant bei.



**Abb. 6: Gemittelte Persistenz der maternalen Antikörper in den Saugfohlen**

#### 4.1.5.2 Beziehung der peripartalen Titer der Mutterstuten zu den postkolostralen Titern der Saugfohlen

Zum Zeitpunkt der ersten postkolostralen Serumuntersuchung der Fohlen (dritter Lebens- tag), die aus durchgehend seropositiven Mutterstuten stammen, ergab sich eine tendenziell höhere Antikörperquantität in den Seren der Saugfohlen als in denen ihrer Mütter (Tab. 32). Daraus lässt sich ableiten, dass die Mutterstuten um den Geburtszeitpunkt ihre humoralen Antikörper konzentriert in das Kolostrum abgegeben hatten und bei den untersuchten Fohlen keine Persorptionsstörungen vorlagen (THEIN et al. 2005).

Name der Stute	Mutterstute			zugehöriges Fohlen	
	Impfgruppe	Verumstute (V) / Placebostute (P)	Titer um den Geburtszeitpunkt	präkolostroler Titer	Titer am 3. Lebenstag
Dukna ox	II	V	+	N	++
Shaykhah ox	II	V	+	N	++
Maaza ox	II	V	+	N	++
Sesal ox	II	V	++	N	+++
Miss Marple	II	V	++	N	++
Naga ox	II	V	+	N	+
Nari ox	II	V	+	N	++
Latussia	II	V	++	N	+++
Athene	II	V	++	N	++
Mimosa	I	V	N	N	++
Dumjeh ox	I	V	+++	N	++
Palaver	I	V	+++	N	+++
Eiskönigin	I	V	++	N	+++
Souha ox	I	V	++	N	++
Amelia	I	V	+	N	++
Lisett	I	V	++	N	++
Elfenglück	I	V	+	N	+
Galega	I	V	++	N	+++
Karamia	I	V	+++	N	+++
Farandole	I	V	+++	N	+++
Hybris	I	P	+	N	++
Dewina	I	P	++	N	++
Leidenschaft	I	P	+	N	++
Austria	I	P	+	N	++
Armada	I	P	+	N	+

ox = Arabisches Vollblut  
 N = negatives ELISA-Resultat

+ = Titer von 1:200  
 ++ = Titer von 1:800  
 +++ = Titer von 1:3200

Tab. 32: Titervergleich Mutterstuten vs. Saugfohlen

## 4.2 Impfung von Absetzfohlen

### 4.2.1 Verträglichkeit der Vakzine bei Absetzfohlen

#### 4.2.1.1 Lokale Verträglichkeit der Vakzine

Eine lokale Hyperämie um die punktförmig gerötete Injektionsstelle sowie eine undeutliche Schwellung (Durchmesser bis zu 2 cm) ohne weitere feststellbare Entzündungsmerkmale betrachteten wir, analog zum Impfversuch bei den tragenden Stuten, als eine zu erwartende Folge der submukösen Injektion. Auch bei den Fohlen konnte ein geringgradiger, honigfarbener Ausfluss aus der Injektionsstelle während der ersten vier Tage nach Applikation der Vakzine beobachtet werden. Spätestens zehn Tage nach der Vakzination waren die Schwellungen vollständig verschwunden.



lokale Impfreaktion	Häufigkeit bei 91 Impfungen	
	absolut	prozentual
lokale Schwellung ( $\varnothing > 2$ cm) an der Injektionsstelle mit Rötung, vermehrter Wärme und Druckdolenz	4	3,7 %
lokale Schwellung ( $\varnothing > 2$ cm) an der Injektionsstelle mit Rötung, vermehrter Wärme und Druckdolenz sowie Vergrößerung der Lnn. mandibulares	3	2,8 %
Vergrößerung der Lnn. mandibulares <u>ohne</u> Entzündungsreaktion an der Injektionsstelle	7	6,5 %
Entzündung an der Injektionsstelle mit eitrigem Ausfluss, derber Schwellung, Rötung, Schleimhautdefekt sowie Vergrößerung der Lnn. mandibulares	1	0,9 %
Gesamt	15	13,9 %

**Tab. 33: Übersicht über Art und Häufigkeit lokaler Impfreaktionen bei 108 Impfungen an 54 Fohlen**

In fünf Fällen (4,6 %) zeigten Impflinge an zwei bis sieben Tagen p.vacc. eine entzündliche Reaktion an der Injektionsstelle. Kennzeichen dieser Entzündung waren eine deutlich erhabene Schwellung ( $\varnothing > 2$  cm), eine Rötung, eine erkennbare Druckdolenz sowie vermehrte Wärme. Eine damit verbundene Beeinträchtigung der Nahrungsaufnahme wurde in vier Fällen beobachtet. Die Schwellungen hatten ein maximales Ausmaß von 4x6 cm und bildeten sich innerhalb von zwei Wochen vollständig zurück.

In drei weiteren Fällen wiesen Fohlen ebenfalls eine solche Reaktion auf, die aber zusätzlich von einer vier bis acht Tage andauernden, geringgradig druckdolenten Vergrößerung der Lnn. mandibulares begleitet war.

Eine lokale eitrig-Entzündungsreaktion mit Schleimhautdefekt, Ausscheidung von eitrigem Sekret sowie derber, tiefer Schwellung wurde bei einem Stutfohlen verzeichnet. Eine Vergrößerung der Lnn. mandibulares war ebenfalls festzustellen. Die etwa walnussgroße Schwellung verursachte während zwei Tagen eine Störung der Futteraufnahme und bildete sich innerhalb von zwei Wochen vollständig zurück.

Geringgradige, mäßig schmerzhaft Vergrößerungen der mandibulären Lymphknoten, ohne Entzündungsreaktion an der Injektionsstelle, traten nach sechs Impfungen an zwei bis acht Tagen p.vacc. auf.

Bei den insgesamt 108 durchgeführten Impfungen waren in 15 Fällen (13,9 %) lokale Reaktionen zu verzeichnen. Ein therapeutisches Eingreifen war in keinem der Fälle indiziert. Zwischen Hengst- und Stutfohlenherde waren erwartungsgemäß keine Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit lokaler Impfreaktionen festzustellen (Tab.34).

	Häufigkeit lokaler Impfreaktionen	
	1. Impfung	2. Impfung
Impfgruppe der Hengstfohlen (n=30)	13,3 %	13,3 %
Impfgruppe der Stutfohlen (n=24)	20,8 %	8,3 %
Gesamt (n=54)	16,6 %	11,1 %

Tab. 34: Übersicht über die Häufigkeit lokaler Impfreaktionen bei den Impfungen der Fohlen

#### 4.2.1.2 Allgemeine Verträglichkeit der Vakzine

Bei den 108 Impfungen der Absetzfohlen registrierten wir postvakzinal keine Anzeichen von Allgemeinstörungen, Impferkrankungen oder immunpathologischen Reaktionen, wie z.B. einer Purpura haemorrhagica oder Überempfindlichkeitsreaktionen im Sinne einer allergischen Reaktion vom Typ 1 oder Typ 4.

### 4.2.2 Serologische Untersuchungen der Absetzfohlen

#### 4.2.2.1 Untersuchungen zum Vorkommen prävakzinaler Antikörper

##### Impfgruppe der Hengstfohlen

25 der 31 Hengstfohlen wurden zum ersten Absetztermin am 08.09.2006 von ihren Müttern abgesetzt und im Fohlenlaufstall aufgestellt, sie waren somit schon zwölf Tage im Herdenverband als die erste Impfung erfolgte. Die übrigen sechs Fohlen waren zum Zeitpunkt der Erstimpfung noch an der Mutterstute und wurden erst zum zweiten Absetztermin am 05.10.2006 aufgestellt. Zum Zeitpunkt der Erstimpfung zeigte eines der Fohlen (Fohlen a.d. *Athene*) Anzeichen einer Lymphadenopathie woraufhin es vom Impfversuch ausgeschlossen wurde. Dadurch reduzierte sich die Anzahl der geimpften Hengstfohlen auf 30 (Tab. 35). Bei der serologischen Untersuchung auf prävakzinal vorhandene SeM-spezifische Serumantikörper reagierten 28 von 30 Hengstfohlen seronegativ. Nur das Fohlen a.d. *Dewina* und das Fohlen a.d. *Farandole* wiesen schwach positive (+) Titer auf. Bei dem Fohlen a.d.

*Dewina*, das zu diesem Zeitpunkt sieben Monate alt war, wurden seit dem vierten Lebensmonat konstant Titer von + ermittelt (Tab. 32). Das Fohlen a.d. *Farandole* war mit einem Alter von 113 Tagen der jüngste Impfling, es wies noch einen geringen Titer (+) maternalen *S. equi* -Antikörper auf.

#### Impfgruppe der Stutfohlen

Die Hälfte der 24 Stutfohlen wurde zum ersten Absetztermin am 08.09.2006 aufgestellt, sie waren also ebenfalls schon zwölf Tage in der Aufzuchttherde als sie zum ersten Mal geimpft wurden. Bei den übrigen zwölf Impflingen erfolgte die Erstimpfung noch an der Mutterstute, sie wurden entsprechend zum zweiten Auftriebstermin am 05.10.2006 abgesetzt. Zum Zeitpunkt der Erstimpfung am 20.09.2006 reagierten 23 der 24 Stutfohlen seronegativ. Nur das erst 116 Tage alte Fohlen a.d. *Karamia* wies einen geringen Titer maternalen Antikörper auf (Tab. 36).

#### Zusammenfassung

Bei insgesamt 51 der 54 geimpften Absetzfohlen waren zum Zeitpunkt der Erstimpfung keine humoralen SeM- spezifischen IgG nachweisbar. Bei zwei der drei seropositiven Fohlen kann aufgrund ihres Alters und der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen während der Saugfohlenphase (Tab. 31) davon ausgegangen werden, dass es sich um persistierende maternale Antikörper mit geringen Titern (+) handelte.

## 4.2.2.2 Untersuchungen zur Quantität der postvakzinalen Antikörper

Fohlen (Name/ Abstammung)	Rasse	Geburtsdatum	Erstimpfung am 20.09.06	Antikörpertiter zum Zeitpunkt der Erstimpfung	Zweitimpfung am 20.10.06	Antikörpertiter zum Zeitpunkt der Zweitimpfung	Antikörpertiter am 15.01.07
a.d. Dukna	OX	13.02.2006	✓	N	✓	N	N
Epikur/Pikfein	WB	15.02.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Sarina	OX	20.02.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Dewina	WB	27.02.2006	✓	+	✓	+	+
a.d. Sesal	OX	08.03.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Austria	WB	12.03.2006	✓	N	✓	N	N
Candillo/Zeus	WB	14.03.2006	✓	N	✓	N	N
Cyrano/Silvio	WB	15.03.2006	✓	N	✓	N	++
QuickStep/Royal	WB	17.03.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Latussa	WB	20.03.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Nari	OX	20.03.2006	✓	N	✓	N	N
SirOldenburg/Rubinstein	WB	23.03.2006	✓	N	✓	N	N
Laure/QuickStep	WB	30.03.2006	✓	N	✓	N	+
Cyrano/Ganymed	WB	30.03.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Mimosa	WB	02.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Dumjeh	OX	02.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Gazella	WB	04.04.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Fliederblatt	WB	05.04.2006	✓	N	✓	N	+
DaCaprio/Maritim	WB	09.04.2006	✓	N	✓	N	N
Insterburg/Pageno	WB	12.04.2006	✓	N	✓	N	N
RoyBlack/Parcelli	WB	14.04.2006	✓	N	✓	N	+
Cavallieri/Ganymed	WB	16.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Sabu	OX	17.04.2006	✓	N	✓	N	N
DaCaprio/Adriano	WB	19.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Gabella	WB	20.04.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Lisett	WB	24.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Elfenglück	WB	30.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Galega	WB	12.05.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Räuberbraut	WB	19.05.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Farandole	WB	30.05.2006	✓	+	✓	N	N
a.d. Athene	WB	31.03.2006	nicht geimpft	N	nicht geimpft	N	++
OX = Arabisches Vollblut WB = Deutsches Warmblut				N = negatives ELISA-Resultat + = Titer von 1:200 ++ = Titer von 1:800			

Tab. 35: Übersicht über die serologischen Ergebnisse der geimpften Hengstfohlen

Fohlen (Name/ Abstammung)	Rasse	Geburtsdatum	Erstimpfung am 20.09.06	Antikörpertiter zum Zeitpunkt der Erstimpfung	Zweitimpfung am 20.10.06	Antikörpertiter zum Zeitpunkt der Zweitimpfung	Antikörpertiter am 15.01.07
a.d. Hybris	WB	15.02.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Shaykha	OX	27.02.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Maaza	OX	28.02.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Leidenschaft	WB	09.03.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Miss Marple	WB	15.03.2006	✓	N	✓	N	+
Clara P	WB	17.03.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Armada	WB	18.03.2006	✓	N	✓	+	++
a.d. Naga	OX	19.03.2006	✓	N	✓	N	++
Fürstenfee P	WB	20.03.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Sabirah	OX	31.03.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Ballerina	WB	08.04.2006	✓	N	✓	+	++
a.d. Ekstase	WB	10.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Palaver	WB	13.04.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Mettnau	WB	17.04.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Lancade	WB	18.04.2006	✓	N	✓	+	+
a.d. Eiskönigin	WB	19.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Souha	OX	21.04.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Amelia	WB	22.04.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Courage	WB	02.05.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Ex Lady	WB	09.05.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Adrett	WB	17.05.2006	✓	N	✓	N	+
a.d. Genoveva	WB	18.05.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Cavalcade	WB	21.05.2006	✓	N	✓	N	N
a.d. Karamia	WB	27.05.2006	✓	+	✓	N	+

OX = Arabisches Vollblut  
WB = Deutsches Warmblut

N = negatives ELISA-Resultat  
+ = Titer von 1:200  
++ = Titer von 1:800

**Tab. 36: Übersicht über die serologischen Ergebnisse der geimpften Stutfohlen**

#### Serologische Ergebnisse 4 Wochen nach der Erstimpfung

Zum Zeitpunkt der zweiten Impfung am 20.10.2006 reagierten nur zehn der 54 Fohlen (18,5 %) (vier Hengstfohlen, sechs Stutfohlen) seropositiv (Tab. 38). Bei allen Reagenten wurden lediglich schwach positive (+) Titer nachgewiesen (Tabb. 36 und 37).

Das Fohlen a.d. *Dewina*, das schon prävakzinal einen Titer von + aufwies, behielt diesen unverändert bei. Die beiden Fohlen a.d. *Farandole* und a.d. *Karamia* hingegen reagierten seronegativ und hatten somit ihre maternalen Antikörper nach vier Lebensmonaten abgebaut.

Folglich serokonvertierten in dem vierwöchigen Zeitraum seit der Erstimpfung neun Fohlen von seronegativ (N) auf schwach positiv (+).

#### Serologische Ergebnisse 12 Wochen nach der Zweitimpfung

Zwölf Wochen nach der Zweitimpfung konnten bei 24 der 54 Fohlen (44,4 %) (zehn Hengstfohlen, 14 Stutfohlen) SeM-spezifische Serumtiter ermittelt werden (Tab. 37). Dabei wurden in 20 Seren Titer von + sowie in vier Seren Titer von ++ diagnostiziert (Tabb. 35 und 36).

Von den zehn Probanden, die zum Zeitpunkt der Zweitimpfung einen schwach positiven (+) Titer aufwiesen, serokonvertierten in dem zwölfwöchigen Zeitraum seit der letzten Impfung

nur zwei Fohlen auf mäßig positive (++) Titer. Die übrigen acht Fohlen zeigten keine messbare Veränderung ihrer schwach positiven (+) Titer.

Bei 14 Impfungen, die bei den vorherigen Untersuchungen noch seronegativ reagiert hatten, konnten wir zu diesem Zeitpunkt SeM-spezifische Antikörper nachweisen. Zwölf dieser Fohlen hatten schwach positive (+) Titer und zwei mäßig positive (++) Titer.

	Titer 4 Wochen nach der Erstimpfung				Titer 12 Wochen nach der Zweitimpfung			
	N	+	++	≥ +++	N	+	++	≥ +++
Hengstfohlen (n=30)	26	4	0	0	20	9	1	0
Stutfohlen (n=24)	18	6	0	0	10	11	3	0
Gesamt (n=54)	44	10	0	0	30	20	4	0

Tab. 37: Postvakzinal ermittelte Antikörpertiter bei den Hengst- und Stutfohlen

#### 4.2.2.3 Antikörpervorkommen bei nicht geimpften Fohlen der Vergleichsherden

Stutfohlen (Name)	Titer		Hengstfohlen (Abstammung)	Titer	
	07.10.06	15.01.07		07.10.06	15.01.07
Aurora	N	N	Daramis/ Lenys Lemon	N	+
Meta	N	N	Grafenstolz/ Partout	N	N
Vanja	N	+	Risandro/ Windmesser	N	+
Daylight I	N	N	Cyrano/ Cento	N	+
Limette	N	N	Dimaggio/ Ehrentusch	N	N
Florina	n.u.	N	Risandro/ Contender	n.u.	+
Malou	n.u.	+	Aquilino/ Calando	n.u.	+
Nora	n.u.	N	Don Primero/ Carolus	n.u.	+
Marlie	n.u.	+	Gardez/ Worldman	n.u.	++
Abra	n.u.	+	French Kiss/ Affidò	n.u.	N

n.u. = nicht untersucht  
N = negatives ELISA-Resultat  
+ = Titer von 1:200  
++ = Titer von 1:800

Tab. 38: Antikörpertiter bei ungeimpften Hengst- und Stutfohlen im Oktober 2006 und Januar 2007

Zu Beginn der Aufzuchtphase im Herbst 2006 konnten wir bei den jeweils fünf untersuchten Fohlen beider Vergleichsherden keine *S. equi* -Serumtiter nachweisen. Im Januar 2007 reagierten dann elf von 20 nicht geimpften Vergleichsfohlen (sieben Hengst- und vier Stutfohlen) seropositiv. Zehn dieser Fohlen wiesen schwach positive (+) Titer und ein Fohlen einen mäßig positiven (++) Titer auf (Tab. 38). Die Auswertung der jeweils fünf Fohlen beider Herden, von denen Verlaufsuntersuchungen angestellt worden waren, ergab, dass innerhalb der drei Monate nur bei einem der fünf Stutfohlen, aber bei drei von fünf Hengstfohlen eine Serokonversion stattgefunden hatte (Tab. 38).

Im Frühjahr 2006 untersuchten wir eine Stichprobe der Jährlingsherden (Stuten und Hengste) des Gestütes. Das Ziel hierbei war, Erkenntnisse über das Vorkommen und die Höhe von Antikörpertitern des ein Jahr älteren Fohlenjahrganges zu erhalten, der unter den gleichen Haltungsbedingungen aufgewachsen war. In dieser Untersuchung reagierten nur zwei von 17 (12 %) Jährlingen seropositiv und wiesen hierbei ausschließlich schwach positive (+) Titer auf (Tab. 39).

Jährling (Name)	Rasse (WB / OX)	Geschlecht	Antikörpertiter im April 2006
Sezgin ox	OX	♂	+
Nusarya ox	OX	♂	N
Wellington	WB	♂	N
Eternity	WB	♂	N
Enrico	WB	♂	N
Epilog	WB	♂	N
Satari	WB	♂	N
Weltball	WB	♂	N
Esprit	WB	♂	N
Musab ox	OX	♂	N
Shabuam ox	OX	♂	N
Melody	WB	♀	N
Dilara	WB	♀	N
World Lady	WB	♀	N
Emerita	WB	♀	+
Emanuelle	WB	♀	N
Vanessa	WB	♀	N
OX = Arabisches Vollblut		+ = Titer von 1:200	
WB = Deutsches Warmblut		N = negatives ELISA-Resultat	

Tab. 39: Serologische Ergebnisse von Jährlingsfohlen im Frühjahr 2006

#### 4.2.2.4 Zusammenfassung der serologischen Befunde der Absetzfohlen

Die nicht geimpften Absetzfohlen der Vergleichsherden wiesen sowohl zu Beginn der Aufzuchtphase im Herbst 2006 als auch Mitte Januar 2007 einen ähnlich hohen Anteil seropositiv reagierender Fohlen mit vergleichbaren Titern wie die geimpften Absetzfohlen auf (Tab. 35, 36 und 38). Serologische Unterschiede zwischen den geimpften und nicht geimpften Fohlen waren somit nicht zu festzustellen.

#### 4.2.3 Klinik der Absetzfohlen

Die Absetzfohlen wurden zweimal wöchentlich klinisch kontrolliert, in Einzelfällen auch therapiert. In den beobachteten Fohlen wurden erwartungsgemäß alle Symptome von Infektionen der oberen Atemwege sowie assoziierter Organsysteme mit trockenem und/oder produktivem Husten, mukösem bis purulentem Nasenausfluss, Rötung und Schwellung der Konjunktiven, mukopurulentem bis purulentem Augenausfluss, Vergrößerung der Kopf-lymphknoten, Stridor, Erhöhung der Körpertemperatur ( $> 38,0$  °C), Inappetenz und Apathie beobachtet. Es waren akut (3-14 Tage), subakut (2-4 Wochen) und auch chronisch ( $\geq 4$  Wochen) verlaufende Krankheitsgeschehen in den Fohlenherden zu verzeichnen, wobei die akuten Fälle überwogen (Tabb. 46-53, im Anhang). Als verdächtig bezüglich der Druse galten Fohlen mit eitrigem Nasenausfluss, Lymphknotenschwellung und Fieber.

Bei der Behandlung der Krankheitsfälle kamen Penicillin G, Penicillin-Streptomycin, Cefquinom, Flunixin-Meglumin, Dembrexin sowie Benzathin-Cloxacillin haltige Augensalben - bei allen Patienten nach Symptomatik differenziert - zur Anwendung. Nur hoch fieberhafte und besonders schwer erkrankte Fohlen wurden therapiert.

##### 4.2.3.1 Geimpfte Fohlen

###### Hengstfohlenherde

Diese Herde bestand aus 19 im Gestüt geborenen Hengstfohlen sowie zwölf Hengstfohlen aus anderen Zuchtbetrieben. Von Mitte September bis Anfang November 2006 waren in dieser Herde nur wenige klinische Auffälligkeiten zu registrieren. Anfang November, zwei Wochen nach der zweiten Impfung, begann eine Phase gehäuft vorkommender respiratorischer Krankheitserscheinungen mit Husten, Vergrößerung der Lnn. mandibulares, Nasenausfluss und Konjunktivitis. In dieser Phase waren drei Fohlen aufgrund schwerer respiratorischer Erkrankungen behandlungsbedürftig. Bakteriologische Untersuchungen wurden zu diesem Zeitpunkt nicht durchgeführt. In der darauffolgenden Zeit von Mitte Dezember 2006 bis Anfang Februar 2007 wurden 16 Fälle mit Nasenausfluss und Husten erfasst. Die meisten Atemwegsprobleme waren von Anfang Februar bis Anfang März zu verzeichnen, als 23 Fohlen Krankheitserscheinungen aufwiesen. In dieser Zeit massiv auftretender Konjunktividen, Rhinitiden und Lymphadenopathien wurden von 13 Fohlen



insgesamt 25 Tupferproben (13 Nasen- und zwölf Konjunktivaltupferproben) zur bakteriologischen Untersuchung entnommen. Keines dieser Fohlen war therapiert worden. Eine Übersicht zu den klinischen Auffälligkeiten bietet die Tab. 40.

klinische Symptome bzw. Symptomkombinationen	Anzahl registrierter Fälle	%-Anteil am Gesamtaufkommen klinischer Auffälligkeiten der geimpften Hengstfohlenherde
Husten	13	18 %
Husten und Vergrößerung der Kopflymphknoten	4	5 %
Husten und Nasenausfluss, Vergrößerung der Kopflymphknoten	1	1 %
Husten und Konjunktivitis	0	0 %
Nasenausfluss	18	25 %
Nasenausfluss und Vergrößerung der Kopflymphknoten	6	8 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten	12	14 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten, Nasenausfluss und Konjunktivitis	14	16 %
Konjunktivitis	2	3 %
Fieber, Konjunktivitis, Vergrößerung der Kopflymphknoten und Nasenausfluss	0	0 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Vergrößerung der Kopflymphknoten und Nasenausfluss	0	0 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Vergrößerung der Kopflymphknoten, Inappetenz	2	3 %
<b>Gesamt</b>	<b>73</b>	<b>100 %</b>

**Tab. 40: Klinische Auffälligkeiten der geimpften Hengstfohlen im Zeitraum September 2006 bis März 2007**

#### Stutfohlenherde

Die Stutfohlenherde wurde zu zwei Terminen aufgestellt und setzte sich aus 22 gestüts-eigenen Fohlen und zwei Pensionsfohlen zusammen. In dieser Herde gab es im September und Oktober kaum respiratorische Symptome. Erst in der Zeit von Mitte November bis Mitte Dezember war eine Erhöhung der Anzahl von Fohlen mit Husten, Konjunktividen und v.a. Rhinitis zu verzeichnen. Bis Mitte Februar 2007 wiesen die Fohlen nur vereinzelt klinische Symptome auf, die sich hauptsächlich auf Nasenausfluss unterschiedlicher Qualität

beschränkten. Eine Zunahme klinischer Auffälligkeiten wurde von Mitte Februar bis Mitte März 2007 mit 16 Erkrankungen beobachtet, bei denen starker, mukopurulenter Nasenausfluss mit Vergrößerung der Kopflymphknoten dominierte. Zu diesem Zeitpunkt entnahmen wir sechs Tupferproben (ein Konjunktival- und fünf Nasentupfer) von fünf erkrankten Fohlen. Zwei der Fohlen mussten aufgrund fieberhaft verlaufender Infektionen behandelt werden. Eine Übersicht zu den klinischen Auffälligkeiten bietet die Tab. 41.

klinische Symptome bzw. Symptomkombinationen	Anzahl registrierter Fälle	%-Anteil am Gesamtaufkommen klinischer Auffälligkeiten der geimpften Stutfohlenherde
Husten	5	12 %
Husten und Vergrößerung der Kopflymphknoten	1	2 %
Husten und Konjunktivitis	0	0 %
Nasenausfluss	17	40 %
Nasenausfluss und Vergrößerung der Kopflymphknoten	9	21 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten	5	12 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten, Nasenausfluss und Konjunktivitis	2	5 %
Konjunktivitis	2	5 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Konjunktivitis, Vergrößerung der Kopflymphknoten und Nasenausfluss	1	2 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Vergrößerung der Kopflymphknoten und Nasenausfluss	1	2 %
Gesamt	43	100 %

Tab. 41: Klinische Auffälligkeiten der geimpften Stutfohlen im Zeitraum September 2006 bis März 2007

#### 4.2.3.2 Nicht geimpfte Fohlen

##### Nicht geimpfte Hengstfohlenherde

Diese Herde bestand aus 34 Pensionsfohlen, die zu mehreren Terminen im Oktober und November 2006 angeliefert wurden. Die Tiere entstammten vielen einzelnen Herkunftsbeständen. Erst Mitte November war die Gruppe vollzählig. Während der ersten vier bis sechs Wochen nach ihrer Aufstallung zeigte ein Großteil der Fohlen (24 von 34 Fohlen) respiratorische Symptome. In der Zeit von Anfang Dezember 2006 bis Anfang Januar 2007 wurden dann nur vereinzelt Fälle von Husten und Rhinitis registriert. Ab Mitte Januar häufte

sich insbesondere die Zahl von Fohlen mit Symptomen wie Konjunktivitis, Vergrößerung der Lnn. mandibulares und hochgradigem Nasenausfluss - zumeist in Kombination - bis über den Februar hinaus. Im Februar wurden 14 kranke Fohlen dokumentiert. In dieser Phase wurden 15 Tupferproben (zehn Nasen- und fünf Konjunktivaltupferproben) von elf erkrankten Fohlen entnommen. Zu Beginn des Monats März entspannte sich das Krankheitsgeschehen dieser Herde wieder. Vier der 34 Fohlen mussten aufgrund schwerer Symptomatik oder Fieberzuständen einer Behandlung unterzogen werden. Eine Übersicht zu den klinischen Auffälligkeiten bietet die Tab. 42.

klinische Symptome bzw. Symptomkombinationen	Anzahl registrierter Fälle	%-Anteil am Gesamtaufkommen klinischer Auffälligkeiten der nicht geimpften Hengstfohlenherde
Husten	13	21 %
Husten und Vergrößerung der Kopflymphknoten	3	5 %
Husten und Konjunktivitis	1	2 %
Nasenausfluss	23	37 %
Nasenausfluss und Vergrößerung der Kopflymphknoten	5	8 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten	5	8 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten, Nasenausfluss und Konjunktivitis	8	13 %
Konjunktivitis	3	5 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Inappetenz und Vergrößerung der Kopflymphknoten	2	3 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Inappetenz und Nasenausfluss	0	0 %
<b>Gesamt</b>	<b>63</b>	<b>100 %</b>

**Tab. 42: Klinische Auffälligkeiten der nicht geimpften Hengstfohlen im Zeitraum September 2006 bis März 2007**

#### Nicht geimpfte Stutfohlenherde

Die 29 Fohlen dieser Herde wurden auf drei Auftriebstermine verteilt aufgestellt. Die Herde setzte sich ebenfalls ausschließlich aus Pensionsfohlen zusammen. Im Zeitraum Oktober bis Mitte November 2006 war eine erste Häufung respiratorischer Symptome zu vermerken. Während des Monats November waren zehn Fohlen auffällig. Danach folgte eine Periode bis Ende Februar 2007, in welcher nur einzelne Fohlen vorübergehenden Husten und/oder mukösen bis mukopurulenten Nasenausfluss verschiedener Intensität zeigten. Im Monat

März wurden elf der 29 Fohlen mit teilweise hochgradigem mukopurulentem bis purulentem Nasenausfluss, Lymphknotenvergrößerungen (Lnn. mandibulares und z.T. auch Lnn. retropharyngei laterales), Husten und Konjunktividen registriert. Wir entnahmen sieben Tupferproben (fünf Nasen- und zwei Konjunktivaltupferproben) zur bakteriologischen Untersuchung. Ein Fohlen musste aufgrund eines hoch fieberhaften Krankheitsverlaufes ( $\geq 39,5$  °C) behandelt werden. Eine Übersicht zu den klinischen Auffälligkeiten bietet die Tab. 43.

klinische Symptome bzw. Symptomkombinationen	Anzahl registrierter Fälle	%-Anteil am Gesamtaufkommen klinischer Auffälligkeiten der nicht geimpften Stutfohlenherde
Husten	11	23 %
Husten und Vergrößerung der Kopflymphknoten	0	0 %
Husten und Konjunktivitis	0	0 %
Nasenausfluss	20	43 %
Nasenausfluss und Vergrößerung der Kopflymphknoten	5	11 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten	6	13 %
Vergrößerung der Kopflymphknoten, Nasenausfluss und Konjunktivitis	3	6 %
Konjunktivitis	1	2 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Inappetenz, Vergrößerung der Kopflymphknoten und Husten	1	2 %
Fieber ( $\geq 38,5$ °C), Inappetenz und Nasenausfluss	0	0 %
<b>Gesamt</b>	<b>47</b>	<b>100 %</b>

**Tab. 43: Klinische Auffälligkeiten der nicht geimpften Stutfohlen im Zeitraum September 2006 bis März 2007**

#### 4.2.4 Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen

Insgesamt wurden 54 Tupferproben von 35 mit respiratorischen Symptomen erkrankten Fohlen (eines dieser Fohlen wurde zweimal beprobt) entnommen, darunter befanden sich 20 Konjunktivaltupferproben und 34 Nasentupferproben. Im Einzelnen handelte es sich um die in Tab. 44 zusammengefassten Fälle.

Herde	Krankheitsfälle gesamt	bakteriologisch untersuchte Krankheitsfälle
geimpfte Hengstfohlen (n=31)	73	14 (19 %)
davon nicht geimpfte Hengstfohlen (n=1)	1	1 (100 %)
nicht geimpfte Hengstfohlen (n=34)	63	11 (17 %)
geimpfte Stutfohlen (n=24)	43	5 (12 %)
nicht geimpfte Stutfohlen (n=29)	47	5 (11 %)

**Tab. 44: Übersicht über die bakteriologischen Untersuchungen der Krankheitsgeschehen in den Fohlenherden**

Der Anteil der Krankheitsfälle, bei welchen eine bakteriologisch Untersuchung von Tupferproben durchgeführt wurde, betrug in den vier Herden zwischen 11 % und 19 %. Insgesamt wurden 15 % aller Krankheitsfälle zur bakteriologischen Untersuchung beprobt.

kultivierte Keime	Anzahl von Nachweisen	Häufigkeit bei 54 untersuchten Tupferproben	Häufigkeit bei 31 untersuchten Nasentupfern	Häufigkeit bei 23 untersuchten Konjunktivaltupfern
<i>S. zooepidemicus</i>	47	87 %	94 %	78 %
β-hämolysierende Streptokokken	6	11 %	13 %	9 %
α-hämolysierende Streptokokken	2	4 %	6 %	0 %
unspezifische Staphylokokken	14	26 %	26 %	26 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	9 %	13 %	4 %
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	2 %	3 %	0 %
unspezifische anaerobe Keime	3	6 %	3 %	9 %

**Tab. 45: Übersicht über die in 54 Tupferproben nachgewiesenen Keime und deren Häufigkeit**

Es wurden 54 Tupferproben auf Präsenz von  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken (*S. equi equi* bzw. *S. equi zooepidemicus*) untersucht. *S. zooepidemicus* konnte aus 29 der 31 Nasentupferproben (94 %) und aus 18 der 23 Konjunktivaltupferproben (78 %) isoliert werden. Während des Versuches gelang bei keinem der klinisch auffälligen Fohlen der Nachweis von *S. equi* mittels Kultivierung von Konjunktival- oder Nasentupferproben. Insgesamt konnte *S. zooepidemicus* in 47 der 54 Tupferproben (87 %) diagnostiziert werden. Damit war er der am häufigsten kultivierte bzw. differenzierte Erreger (Tab. 45).

Bei drei der 47 mit *S. zooepidemicus*-Kolonien bewachsenen Blutplatten (6 %) wurden Antibiogramme von Kulturen erstellt. Diese ergaben eine ungünstige Resistenzlage der untersuchten Isolate gegenüber Trimethoprim-Sulfonamid-Kombinationen, Gentamicin und Enrofloxazin. Die Wirkstoffe Ampicillin, Penicillin G und Cefquinom wurden hingegen als wirksam bestätigt.

Insgesamt 15 der 47 in den bakteriologischen Untersuchungen als *S. zooepidemicus* identifizierte Isolate wurden zur Absicherung der Speziesdifferenzierung einer wiederholten Untersuchung unterzogen. Zusätzlich zur Subkultivierung und Beurteilung der Kulturmorphologie wurden die Isolate hierbei mittels Dekapsulationstest auf Kapselbildung überprüft. Alle 15 *S. zooepidemicus*-Isolate zeigten bei wiederholter Kultivierung auf Blutagarplatten glänzende, nicht wässrig erscheinende Kolonien mit einheitlichen  $\beta$ -Hämolysezonen. Der Dekapsulationstest - mit *Staphylococcus aureus* als Hyaluronidase-Quelle - verlief bei allen Isolaten negativ, d.h. eine für *S. equi*-Stämme typische Bekapselung konnte nicht ermittelt werden.

#### **4.2.5 Vergleich der Krankheitsgeschehen geimpfter und nicht geimpfter Absetzfohlenherden**

Über einen Zeitraum von sieben Monaten (September 2006 bis März 2007) standen die Impflinge und die Fohlen der Vergleichsherden unter klinischer Beobachtung. Nach Beginn der Vakzinierung im September 2006 konnte bei den beiden geimpften Fohlenherden, im Vergleich zu den nicht geimpften Fohlenherden, keine Reduzierung der respiratorischen Symptome beobachtet werden.

Insgesamt zeigten 113 der 118 Fohlen (96 %) während der Aufzuchtphase - bis Mitte März 2007 - klinische Symptome respiratorischer Infektionen.

Bei den beiden Hengstfohlenherden waren die klinischen Auffälligkeiten qualitativ und quantitativ ähnlich. Auch die Häufung von Krankheitsfällen im Zeitraum November bis Dezember 2006 sowie Februar bis März 2007 wiesen Parallelen auf.

Die beiden Stutfohlenherden wiesen ebenfalls vergleichbare klinische Auffälligkeiten auf. Im Unterschied zur Situation bei den Hengstfohlen hatten beide Stutfohlenherden, durch die gemeinsame Nutzung eines Stallraumes, ständig die Möglichkeit zu engem Kontakt. Sie waren somit nicht nur denselben Haltungs- und Umweltbedingungen ausgesetzt, sondern

auch demselben Keimspektrum und Infektionsdruck. Die geimpfte Gruppe wies auch hier kein geringeres Vorkommen klinischer Probleme auf.

Da *S. equi* in den zur Untersuchung gelangten Nasen- und Konjunktivaltupferproben nicht nachgewiesen wurde, konnte die klinische Verdachtsdiagnose Druse bei keinem der Fohlen abgesichert werden.

## 5 Besprechung der Ergebnisse

Entsprechend der komplexen Fragestellung sind die Diskussionspunkte einzelnen Unterthemen zugeordnet.

### 5.1 Serologische Untersuchungen

Da der Vergleich von Titern aus Reihenuntersuchungen Hinweise auf Erregerkontakt und Infektionsstatus von Pferden einer Population ergibt (TIMONEY 1997), konnte im Versuchszeitraum das Vorkommen von *S. equi*-Feldstämmen in den Versuchspopulationen durch die seropositiven Ergebnisse nicht geimpfter Stuten, Fohlen und Jährlinge indirekt belegt werden.

Die mit dem SeM-ELISA ermittelten Titer geimpfter sowie nicht geimpfter Pferde lagen tendenziell auf einem geringeren Niveau als es nach diesbezüglichen Angaben von John F. Timoney (SWEENEY et al. 2005) zu erwarten gewesen wäre. Dies könnte zum einen darauf zurückzuführen sein, dass der Impfstoff eine geringere Immunogenität besitzt als die Feldstämme bzw. Impfantigene auf die sich die genannten Bewertungen von ELISA-Resultaten beziehen. Andererseits könnten die geringeren Titer im Versuch gegenüber den von Timoney (SWEENEY et al. 2005) beschriebenen auch durch eine technische Abweichung des ELISAs bedingt sein. Da die ELISA-Resultate nicht geimpfter Zuchtstuten, Fohlen und Jährlinge, die auf nach Feldexposition erworbene Antikörper zurückgeführt werden müssen, nicht höher als die der geimpften Probanden waren, ist aus den vorliegenden Ergebnissen kein Hinweis auf eine geringere Immunogenität des Impfstammes gegeben.

Die Varianz der postvazinalen Antikörpertiter bestätigt die Feststellung von Galán and Timoney (1985b), dass zwischen einzelnen Individuen große Unterschiede hinsichtlich der lokalen und systemischen Antikörperantwort gegenüber Streptokokkenantigenen bestehen können. Nach Thein (2007) verläuft die Antwort auf eine Erstinfektion langsam und quantitativ gering, die vorliegenden serologischen Ergebnisse nicht geimpfter Fohlen und Jährlinge scheinen hiermit übereinzustimmen.

### 5.2 Bakteriologische Untersuchungen

Die durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen sollten Aufschluss über die ätiopathogenetische Beteiligung von *S. equi equi* im Krankheitsgeschehen der Aufzuchtherden geben. Die kultivierten Nasen- und Konjunktivaltupferproben entstammten von erkrankten Fohlen, die bei den klinischen Untersuchungen besonders ausgeprägte Symptome eitriger Infektionen der oberen Atemwege und der Konjunktiven zeigten. Die den Untersuchungsmaterialien zugehörigen Probanden waren somit nach klinischen Kriterien selektiert.



Die klinische Verdachtsdiagnose „Druse“ wurde beim Vorkommen klassischer Symptome dieser Erkrankung wie Fieber ( $> 39,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), Depression, purulentem Nasenausfluss und Entzündungserscheinungen der Kopflymphknoten gestellt (SWEENEY et al. 1987a, NATTERMANN 2005).

Nasentupfer wurden bei hochgradigem eitrigem Nasenausfluss entnommen, Konjunktivatupfer entsprechend bei starker Rötung und Schwellung der Konjunktiven mit schleimig-eitrigem Augenausfluss.

Nach Sweeney et al. (2005) gilt die Kultivierung von Tupferproben als Standard für den Nachweis von *S. equi*. Für die Isolierung  $\beta$ -hämolyzierender Streptokokken aus dem Probenmaterial wurden die mikrobiologischen Kulturverfahren angewandt, wie sie von Sweeney et al. (2005) vorgeschlagen wurden, ergänzt durch ein zusätzliches Streptokokken-Anreicherungsverfahren zur Optimierung der Nachweisrate. Ein zweiter Nährboden wurde eingesetzt, um gramnegative Pathogene bzw. eine Begleitflora zu diagnostizieren. Die Differenzierung von gewonnenen Reinkulturen  $\beta$ -hämolyzierender Streptokokken erfolgte anhand der von Grant et al. (1993) sowie Songer and Post (2004) beschriebenen biochemischen Testverfahren.

Bei der Resistenzprüfung isolierter *S. zooepidemicus* -Kulturen wurden ausschließlich „sensible“ Stämme gegenüber den im Gestüt eingesetzten antibakteriellen Wirkstoffen Ampicillin, Penicillin G und Cefquinom festgestellt. Eine ungünstige Resistenzlage der untersuchten Isolate war gegenüber Enrofloxacin, Trimethoprim-Sulfonamid-Kombinationen und Gentamicin zu verzeichnen. Die Wirksamkeit der von Foreman (1987) und Ensink et al. (2003) bezüglich Streptokokkeninfektionen empfohlenen Anwendung von Penicillin konnte somit bestätigt werden. Die Effektivität von Trimethoprim-Sulfonamid-Kombinationen muss dagegen in Frage gestellt werden, was den Feststellungen von Sauer et al. (2003) sowie Ensink et al. (2003) entspricht.

### 5.3 Anwendung der Vakzine

Die verlässliche und vollständige submuköse Applikation der Impfdosis erfordert eine exakte Applikationstechnik. Hierbei ist eine gute Fixation des Impflings von Nöten, da mit Abwehrreaktionen - insbesondere bei Fohlen - stets gerechnet werden muss. Insgesamt ist die Handhabung des Produktes umständlich und zeitaufwendig. Sofern die Anwender nicht die nötige Geduld und Sorgfalt bei der Vorbereitung der Impfdosis und der Applikation der Vakzine aufbringen, könnte daraus ein hoher Prozentsatz nicht korrekt geimpfter Pferde resultieren.

Da der Impfstamm eine Sensitivität gegenüber verschiedenen in der Praxis eingesetzten Antibiotika besitzt, warnt der Hersteller (INTERVET 2005a) vor einer Antibiotikabehandlung geimpfter Pferde innerhalb der ersten Woche post vaccinationem. Vermutlich soll so der

Impferfolg durch eine antibiotische Beeinflussung des lebenden Impfkkeimes nicht gefährdet werden.

Aufgrund der teilweise sehr langen Halbwertszeit von antimikrobiellen Therapeutika bedeutet dies, dass zur Abklärung der Impffähigkeit des Pferdes vor jeder Impfung eine detaillierte Anamnese zum vorangegangenen Antibiotikaeinsatz erhoben werden muss. Zu beachten ist jedoch, dass Fragen dieser Art vor Ort häufig nicht verlässlich beantwortet werden können. Bei entsprechender Antibiotika-Anamnese müssen mögliche Rückstandszeiten abgewartet werden, bevor eine Impfung erfolgen kann. Nach der Impfung muss der Tierhalter bezüglich einer möglichen Gefährdung der Impfwirkung durch postvakzinal eingesetzte antimikrobiell wirkende Arzneimittel aufgeklärt werden.

Für die Impfpraxis ist festzuhalten, dass aufgrund der Antibiotika-Sensitivität des Impfkkeimes die Wirkung einer durchgeführten Druseimpfung nicht in jedem Fall verlässlich ist.

## **5.4 Lokale und allgemeine Verträglichkeit**

Die Unschädlichkeit von Lebendimpfstoffen ist abhängig von der Virulenz und genetischen Stabilität des Impfkkeimes sowie vom Alter, von der Gesundheit und einer Trächtigkeit des zu impfenden Tieres (MAYR 1993).

Die Prüfung der lokalen und allgemeinen Verträglichkeit der Vakzine erfolgte zum einen durch die mehrwöchige Kontrolle des Allgemeinbefindens der Impflinge p.vacc. und zum anderen über wiederholte Untersuchungen der Impfstellen.

### Lokale Verträglichkeit

Die Anwendung von Equilis® StrepE ging stets mit einer glasig geröteten Schwellung (Durchmesser bis 2 cm) an der Injektionsstelle sowie einem bis zu vier Tage andauernden, geringgradigen Ausfluss aus der Injektionsstelle einher. Diese Schwellungen wiesen zumeist keine weiteren Entzündungsmerkmale wie vermehrte Wärme oder Schmerzhaftigkeit auf und bildeten sich innerhalb von zehn Tagen vollständig zurück. Der Hersteller beschreibt diese Erscheinungen als eine normale Impfreaktion (INTERVET 2005a) und Jacobs et al. (2000) werten sie als einen Indikator für die Wirksamkeit der Vakzine. Die lokale Hyperämie an der Injektionsstelle sowie eine geringgradige und undeutliche Umfangsvermehrung erachteten wir daher als eine zu erwartende und unbedeutende Folge der submukösen Injektion. Bei Schwellungen, die eine Ausdehnung von 2 cm überschritten hatten sowie alle Kardinalsymptome einer Entzündungsreaktion aufwiesen, sahen wir alle Kriterien einer unerwünschten Impfreaktion als erfüllt. Zudem war in einzelnen Fällen gleichzeitig eine Beeinträchtigung des Fressverhaltens festzustellen. Die Vergrößerung regionärer Kopf-lymphknoten wurde ebenfalls als eine unerwünschte postvakzinale Reaktion erfasst.

Die Häufigkeit von Lokalreaktionen der genannten Art bei Stuten und Fohlen lag mit 15,4 % resp. 13,9 % bei nahezu identischen Prozentsätzen. Dabei zeigten sich bei Stuten die Injektionsstelle und bei Fohlen die Mandibularlymphknoten am häufigsten auffällig. Das Auftreten von postvakzinalen, bis zu acht Tage andauernden Vergrößerungen der Lnn. mandibulares bei Stuten und Absetzfohlen nach 7,7 % resp. 10,2 % aller Impfungen könnte darauf zurückzuführen sein, dass sich der Impfstamm in den Lymphknoten über längere Zeit hält.

#### Allgemeine Verträglichkeit

Bei einer Stute war zusätzlich zur eitrigen Entzündung der Injektionsstelle eine zweitägige febrile Reaktion (39,7 °C) mit geringgradiger Störung des Allgemeinbefindens sowie eine siebentägige druckdolente Vergrößerung der Lnn. mandibulares zu verzeichnen, was als allgemeine Impfreaktion gewertet wurde. Dieser Fall legt nahe, dass sich der Impfstamm nicht nur an der Injektionsstelle lokal vermehrt, sondern über Einbruch in Blut- und Lymphbahn auch zur Bakteriämie führen kann.

Die beschriebenen Impfreaktionen traten sowohl bei der Grundimmunisierung als auch bei den Revakzinationen auf. Ein erhöhtes Vorkommen verzeichneten wir, wie auch vom Hersteller (INTERVET 2005a) angegeben, bei der Erstimpfung. Die qualitative Ausprägung (Art, Ausdehnung, Intensität und Dauer) der festgestellten lokalen und allgemeinen Impfreaktionen entsprach sowohl bei den tragenden Stuten als auch bei den Absetzfohlen weitestgehend den Herstellerangaben bezüglich postvakzinal möglicher Erscheinungen sowie den von Jacobs et al. (2000) beschriebenen lokalen Impfreaktionen. In der Produktinformation (INTERVET 2005a) werden insbesondere Entzündungsreaktionen an der Injektionsstelle und leichte, zeitweise schmerzhaft Vergrößerungen der Kopflymphknoten als mögliche Nebenwirkungen genannt. Nur der Fall einer eitrigen Lokalreaktion mit fieberhafter Allgemeinstörung sowie sechs Fälle lokaler, teilweise purulenter Entzündungsreaktionen mit Beeinträchtigung des Fressverhaltens wurden als darüber hinausgehende Auffälligkeiten ermittelt. Insgesamt war die Applikation der Vakzine mit dem gesamten Repertoire reversibler, allgemeiner und lokaler Impfreaktionen (ALBER 2000) verbunden. Dazu gehören der Anstieg der Körpertemperatur, Mattigkeit, zeitweiliges Nachlassen der Futteraufnahme, Schwellung der regionären Lymphknoten sowie entzündliche Reaktionen an der Injektionsstelle mit Schwellung, Rötung, vermehrter Wärme und Schmerzhaftigkeit. Die einzelnen Reaktionen klangen nach wenigen Tagen bis Wochen wieder ab, ohne Residuen zu hinterlassen. Unseres Erachtens sind die nach etwa 15 % der Impfungen aufgetretenen lokalen, z.T. massiven Entzündungsreaktionen zu hoch und entsprechen nicht den Anforderungen an eine praxisreife Vakzine.

Da bei Placebostuten keinerlei lokale oder allgemeine Reaktionen festgestellt werden konnten und in der verabfolgten Vakzine keine Adjuvanzien oder Konservierungsstoffe enthalten waren (INTERVET 2005a), sind die beschriebenen postvakzinal aufgetretenen Erscheinungen auf die Impfmutante bzw. deren Vermehrung zurückzuführen.

Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass bei einem Teil der p.vacc. festgestellten Impfreaktionen, insbesondere den Vergrößerungen der Lnn. mandibulares, die nicht in allen Fällen mit auffälligen Entzündungsreaktionen an der Injektionsstelle verbunden waren vom Impfkern unabhängige antigene Reize vorgelegen haben. Beispielsweise besteht die Gefahr des Einbringens von Keimen der Schleimhautoberfläche durch den Impfvorgang in tiefere Gewebe (THEIN 2007).

### Impfschäden und Impferkrankungen

Die Purpura haemorrhagica als Folge einer immunvermittelten aseptisch-nekrotisierenden Vaskulitis (TIMONEY 1993) wurde mehrfach als Impfschaden bei der Anwendung von Druseimpfstoffen beschrieben (SWEENEY et al. 2005). Das Risiko der Entwicklung einer Purpura haemorrhagica infolge einer *S. equi*-Impfung ist nach Sweeney et al. (2005) nicht quantifizierbar. Nach John F. Timoney (SWEENEY et al. 2005) sollten jedoch Pferde mit SeM-spezifischen Antikörpertitern über 1:3200 (+++) von der Impfung ausgeschlossen werden, da ein hoher *S. equi*-spezifischer Serumtiter den Impfling für die Entwicklung einer Purpura prädisponieren kann (HEATH et al. 1991, SWEENEY et al. 2005). Bei 59 Wiederholungsimpfungen (Zweitimpfungen und Revakzinationen) von Stuten wurden prävakzinal serologische Untersuchungen durchgeführt, hierbei wurden in zwei Fällen zum Zeitpunkt der Zweitimpfung stark positive (+++) Serumtiter ermittelt, wie sie nach John F. Timoney (SWEENEY et al. 2005) eine Kontraindikation zur Impfung darstellen. Beide Probanden zeigten postvakzinal keine messbare Titerveränderung und keinerlei klinische Auffälligkeit. In einem dritten Fall konnte die Persistenz stark positiver (+++) Titer über ein Revakzinationsintervall von zwölf Wochen nachgewiesen werden. Dieser Proband wurde aber aufgrund des Versuchsendes keiner weiteren Impfung unterzogen.

Thein (2007) beschreibt eine Überimpfung, d.h. die zu häufige Anwendung eines Impfstoffes am einzelnen Pferd als Möglichkeit für eine Überstimulierung der humoralen Immunreaktion, was ebenfalls zu einer immunvermittelten Gefäßschädigung (Vaskulitis) unterschiedlicher Lokalisation führen kann. Bei einer Vakzine, welche in zwölfwöchigen Intervallen angewandt werden soll, muss das Risiko einer solchen Überstimulierung immunologischer Mechanismen prinzipiell in Betracht gezogen werden.

Eine weitere Möglichkeit einer postvakzinalen immunpathologischen Reaktion kann Timoney (2007) zufolge auch die Arthusreaktion darstellen, für welche Pferde disponiert sind, die erhöhte Antikörperspiegel gegen Proteine aufweisen, welche auch bei *S. zooepidemicus* vorkommen. Zu diesem Sachverhalt kann mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit

beigetragen werden, dass insbesondere bei Absetzfohlen und Jährlingen aufgrund der hohen Infektionsgefahr (Erstinfektion) mit *S. zooepidemicus*, hohe Antikörperspiegel gegenüber diesem Erreger zu erwarten sind. Eine Unverträglichkeitsreaktion dieser von Timoney (2007) beschriebenen Art könnte somit ermöglicht werden. Da maternale Antikörper gegen diesen Erreger nicht über die Saugfohlenphase hinaus persistieren (DIXON et al. 1995) und die Impfungen einige Wochen vor dem klinisch manifesten Infektionsgeschehen, an dem *S. zooepidemicus* maßgeblich beteiligt war, durchgeführt wurden, ist es wahrscheinlich, dass die Fohlen zum Zeitpunkt der Druseimpfungen keine hohen Antikörperspiegel gegen *S. zooepidemicus* aufgewiesen haben.

Für die Impfpraxis ist von Bedeutung, dass es im Rahmen der klinischen Untersuchung zur Beurteilung der Impffähigkeit nicht möglich ist, eine Risikobewertung bezüglich der aufgeführten Impfschäden zu treffen. Zur Abklärung der Prädispositionen für diese Impfschäden müsste im Einzelfall vor jeder Impfung eine serologische Untersuchung erfolgen, was in der Praxis selbstverständlich nicht möglich und ökonomisch nicht vertretbar ist.

Postvakzinale Druseerkrankungen mit nachgewiesener Isolierung von *S. equi*-Feldstämmen wurden wiederholt beschrieben (NEWTON et al. 2005, WALLER and JOLLEY 2006, KELLY et al. 2006). Die Autoren (NEWTON et al. 2005, KELLY et al. 2006) vermuten, dass die Feldinfektionen in diesen Fällen schon zum Zeitpunkt der Impfung in einer klinisch inapparenten Form bestanden haben (subklinisch bzw. im Inkubationsstadium). Diese Berichte legen nahe, dass die Impfung mit Equilis® StrepE in Fällen einer interkurrenten Feldinfektion die Verbreitung und Manifestation des Feldstammes im Impfling begünstigen und damit einer Erkrankung Vorschub leisten könnte. Nach Newton et al. (2005) besteht insbesondere bei Pferden mit hohem Infektionsrisiko für Druse eine erhöhte Wahrscheinlichkeit dafür, dass die Impflinge den Erreger in sich tragen. Diesen Umstand sollte man bei der Bewertung jeglicher klinischen Entwicklung in der postvakzinalen Periode berücksichtigen.

Nach Kemp-Symonds et al. (2007) ist bei diesem durch Mutation attenuierten Impfstamm die Gefahr einer Rückmutation sowie Mutantenbildung durch genetische Rekombination mit Feldstämmen von *S. equi* oder *S. zooepidemicus* prinzipiell gegeben. Eine Folge könnte dann die Wiedererlangung und/oder die Steigerung virulenter Eigenschaften sein (KEMP-SYMONDS et al. 2007). Auch Thein (2007) weist auf die Möglichkeit einer Rückmutation und Revitalisierung bei Impfmutanten hin. Kemp-Symonds et al. (2007) konnten in zwei Fällen postvakzinaler Impferkrankungen den Impfstamm TW928 nachweisen und bestätigten bei diesen untersuchten Isolaten die Stabilität der Deletion des *aroA*-Gens. Eine genetische Rückwandlung der Deletionsmutante oder eine genetische Rekombination mit Feldstämmen von *S. equi* oder *S. zooepidemicus* wurde bislang nicht dokumentiert. Jedoch vermuten Kemp-Symonds et al. (2007), dass diese einzelne Gendeletion für manche Pferde nicht zur

vollständigen Attenuierung des Impfstammes ausreichen könnte. Der Impfkern ist aufgrund der von diesen Autoren nachgewiesenen Impferkrankungen als potentiell pathogen einzustufen.

Bei den insgesamt 199 Impfungen an Stuten und Absetzfohlen wurden keine Impfschäden, Impfkomplicationen oder Impferkrankungen festgestellt. Die von anderen Autoren beschriebenen Sicherheitsbedenken (KEMP-SYMONDS et al. 2007) und möglichen Impfschäden (SWEENEY et al. 2005; TIMONEY 2007) müssen bei der Anwendung dieser Vakzine jedoch bedacht werden. Aufbauend auf den in unseren Untersuchungen ermittelten serologischen Ergebnissen ist insbesondere ein Risiko für eine impfinduzierte Purpura haemorrhagica (SWEENEY et al. 2005) nicht auszuschließen. Speziell die Impfeempfehlungen des Herstellers mit den häufigen Revakzinationen in kurzen Impfintervallen von zwölf Wochen könnten dazu beitragen.

## **5.5 Verträglichkeit bezüglich des Reproduktionsgeschehens**

Aufgrund bisher nicht vorhandener Erkenntnisse sollte die spezielle Verträglichkeit von Equilis® StrepE bezüglich der Trächtigkeit und ungeborenen Frucht im vorliegenden Impfversuch eine besondere Beachtung finden. Die Erstimpfung der 14 Warmblutstuten und neun Vollblutaraberstuten, die sich in der ersten bis zwölften individuellen Trächtigkeit befanden, erfolgte zwischen der jeweils zwölften und 39. Trächtigungswoche. Somit wurden alle Impfungen in der fetalen Phase der Trächtigkeit (BOLLWEIN 2005) durchgeführt. Die Stuten wurden erst ab der zwölften Trächtigungswoche immunisiert, da gewährleistet sein sollte, dass keine Zwillingsträchtigkeiten vorlagen und Fruchtresorptionen, die bis zum 80. Trächtigkeitstag vorkommen können (BUSCH 2005), ausgeschlossen waren.

Die Verträglichkeitsprüfung beinhaltete die Untersuchung des Trächtigungs- und Geburtsverlaufes sowie die Beurteilung des postnatalen Entwicklungs- und Gesundheitszustandes der Neonaten. Zusätzlich erfolgte eine Beobachtung des Puerperiums der Stuten und der Entwicklung der Fohlen bis zum jeweiligen Absetztermin. Pathologische Erscheinungen wurden bezüglich ihrer möglichen Ursache eingehend untersucht.

Die klinischen Kontrollen der Neonaten und die peripartalen Untersuchungen und Maßnahmen an den Stuten und Fohlen erfolgten im Rahmen der im Gestüt üblichen peripartalen Präventivmaßnahmen. Diese begründen sich auf die Erkenntnisse von Thein et al. (1983), dass durch ausreichende geburts-, neugeborenen- und allgemeinhygienische Maßnahmen sowie durch die frühzeitige Erkennung und Ausschaltung vermeidbarer endogener und exogener Stressoren eine erhöhte Infektionsanfälligkeit der Saugfohlen abgewendet und neonatale Fohlenverluste reduziert werden können (THEIN et al. 1983). Zu diesen Stres-

soren gehören u.a. die verzögerte oder unzureichende Kolostrumaufnahme, die Mekoniumverhaltung oder das Uroperitoneum (THEIN 1996b).

Da Störungen der Trächtigkeit die Stute und/oder den Fetus betreffen und sowohl zu einer Verkürzung als auch zu einer Verlängerung der Gravidität führen können (AURICH 2005a), wurde die Dauer der Trächtigkeit als Untersuchungsparameter berücksichtigt. Die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer der Verumstuten von 341 Tagen unterschied sich nur unwesentlich von jener der Placebostuten mit 339 Tagen. Beide ermittelten Werte entsprechen den diesbezüglichen Angaben von Rossdale and Ricketts (1980) sowie von Hintz et al. (1979) mit 340 bis 342 Tagen resp. 338 bis 340 Tagen. Die individuelle Trächtigkeitsdauer der einzelnen Verumstuten von 324 bis 361 Tagen resp. 337 bis 344 Tagen bei den Placebostuten entsprechen den Angaben von Hintz et al. (1979), die die Trächtigkeitsdauer von Stuten mit einer Spanne von 310 bis 374 Tagen beschreiben. Die von Aurich (2005a) deutlich enger definierte physiologische Trächtigkeitsdauer von 320 bis 360 Tagen wurde von einer der Verumstuten um einen Tag überschritten. Hinweise auf eine Störung der Trächtigkeit konnten in diesem Falle aber nicht festgestellt werden.

Die Trächtigkeiten geimpfter Stuten verliefen, mit Ausnahme von zwei Verfohlungen (Abort und Totgeburt), unauffällig. Die präpartalen Fohlenverluste bei den 23 Impfungen betragen insgesamt 8,7 %, entsprechend einer Abortrate sowie Totgeburtenrate von jeweils 4,3 %. Bei den Placebostuten waren keine Verfohlungen oder sonstige Reproduktionsstörungen zu verzeichnen. Hinweise auf eine ursächliche Beteiligung der Impfung an den beiden Verfohlungen konnten durch klinische, anatomisch-pathologische und mikrobiologische Untersuchungen nicht verzeichnet werden.

Thein und Essich (1993) haben in früheren Untersuchungen der gleichen Stutenherde jährliche präpartale Fohlenverluste zwischen 0 % und 10,9 % dokumentiert. Verglichen mit diesen Daten und der von Aurich (2005a) beschriebenen Abortrate bei Stuten von durchschnittlich 5-15 % stellen die im vorliegenden Versuch verzeichneten präpartalen Fohlenverluste bei den geimpften, tragenden Stuten keine Abweichung von den als üblich anzusehenden Verhältnissen dar. Sowohl die in der ersten Trächtigkeitshälfte geimpften Stuten (Impfgruppe I, n=14) als auch die in der zweiten Trächtigkeitshälfte geimpften Stuten (Impfgruppe II, n=9) zeigten bezüglich der Gravidität, der Geburt und der Puerperalphase gleiche Ergebnisse. Damit besteht, wie erwartet, kein Hinweis auf einen negativen Einfluss des Impfstoffes und des Impfzeitpunktes auf Trächtigkeitsdauer, Trächtigkeitsverlauf, Geburtsverlauf und Puerperium.

Alle Fohlen aus geimpften Stuten waren eutroph, matur und wiesen keine anatomischen oder funktionellen Abnormalitäten auf. Zudem konnten keine Auffälligkeiten in der postnatalen Entwicklung beobachtet werden. Damit bestehen keine Hinweise auf eine fruchtschädigende Wirkung des Impfstoffes. Aufgrund dessen, dass es sich um einen Impfstoff auf

bakterieller Grundlage (ohne chemische Zusätze) handelt und die Impfungen erst nach Abschluss der embryonalen Phase (40. Tag der Gravidität) erfolgten, war eine teratogene Wirkung ohnehin nicht zu erwarten. Über die Auswirkung der Impfung auf die Embryonalentwicklung kann aufgrund dessen, dass alle Stuten erst nach Ende der embryonalen Phase (40. Tag) der Gravidität geimpft wurden, keine Aussage getroffen werden. Die Prüfung auf Verträglichkeit bezüglich einer Frühträchtigkeit wäre Gegenstand einer weiteren Untersuchung. Eine Beeinträchtigung der Frühträchtigkeit oder die Auslösung von Embryopathien sollten durch einen solchen Impfstoff aber ebenfalls nicht zu erwarten sein.

Insgesamt scheinen Impfungen mit Equilis® StrepE in jedem Stadium (erstes, zweites, drittes Trimester) der Trächtigkeit für Stute und ungeborene Frucht verträglich zu sein, so dass die Anwendung dieses Produktes kein Risiko bezüglich Reproduktionsstörungen darstellt.

## **5.6 Verträglichkeit bezüglich der Laktation**

Nach Produktinformation (INTERVET 2005a) stellt nicht nur die Gravidität, sondern auch die Laktation eine Gegenanzeige für die Anwendung der Vakzine dar. Dies begründet sich vermutlich ebenfalls auf fehlende, diesbezügliche Untersuchungen. Im Rahmen der Verträglichkeitsprüfung für laktierende Stuten wurden bei drei Probanden der Impfgruppe I und bei neun Probanden der Impfgruppe II insgesamt 21 Impfungen während der Laktation durchgeführt.

Obwohl Aurich (2005b) für die Mastitis einen galaktogenen Infektionsweg vermutet, besteht prinzipiell - eine Bakteriämie vorausgesetzt - das Risiko einer hämatogenen Besiedelung des Euters mit Auslösung einer Mastitis sowie einer laktogenen Ausscheidung des lebenden Impfstammes durch die Mutterstute. Folglich wäre ein Gefährdung von Fohlen sowie unter bestimmten Umständen auch des Menschen möglich (BREIMAN and SILVERBLATT 1986). Unseren Beobachtungen zu Folge bestehen keine Hinweise dafür, dass die Anwendung der Vakzine bei laktierenden Stuten, deren Milch nicht als Lebensmittel verwendet wird, eine Störung der Eutergesundheit bzw. -funktion oder der Gesundheit des saugenden Fohlens bedingt.

## **5.7 Impfindikation und Impfschema**

Equilis® StrepE wird vom Hersteller (Intervet International, Boxmeer, Niederlande) für den Gebrauch bei Pferden mit hohem oder mittlerem Druserisiko empfohlen, bei denen die Erlangung einer kurz andauernden Immunität vorteilhaft ist (INTERVET 2005a). So sollten Pferde mit einem hohen Druserisiko im Abstand von jeweils drei Monaten revakziniert werden, bei solchen mit mittlerem Infektionsrisiko könne jedoch eine Verlängerung des



Impfintervalls auf sechs Monate in Betracht gezogen werden, womit eine Basisimmunität aufrecht erhalten werde (INTERVET 2005b).

### Impfindikation

Eine eindeutige Infektionsgefahr mit *S. equi* und somit ein mindestens mittleres Druserisiko sieht der Hersteller in endemischen Drusegebieten und in Beständen, in denen in Vergangenheit Drusefälle diagnostiziert wurden. Die gleiche Gefährdung bestehe für Pferde, die zu Veranstaltungen in endemische Gebiete reisen oder für Pferde, die in Beständen gehalten werden, die Artgenossen unbekannter Herkunft ohne Quarantänemaßnahmen einstellen (INTERVET 2005a,b). Diesen Maßgaben zufolge bestünde für einen großen Teil der Pferdepopulation eine eindeutige Impfindikation.

Aufgrund der Erkenntnisse bezüglich der Biologie, Übertragung und Tenazität des Erregers, der Epizootiologie der Druse und des intensiven Pferdeverkehrs muss davon ausgegangen werden, dass *S. equi* in der gesamten Pferdepopulation von Bedeutung ist. Dies wird durch die Ergebnisse einer seroepizootiologischen Untersuchung von Wissing (1993), bei der 99 % der Vollblutstuten verschiedener deutscher Gestüte seropositiv reagierten, bestätigt. Damit besteht ein epizootiologischer Widerspruch zu der vom Hersteller gegebenen Empfehlung, eine Impfung von Pferden mit niedrigem Druserisiko sei grundsätzlich nicht erforderlich. Durch die Herstellerangaben bezüglich der Indikation dieser Vakzine, gerät das Produkt in die Nähe eines Notfalltherapeutikums.

Der Hersteller empfiehlt die aktive Immunisierung mit Equilis® StrepE neben der prophylaktischen Impfung auch als Notimpfung bei Druseausbruch in einem geimpften Bestand (INTERVET 2005a). Hierbei sollten zur Minimierung der Ausbreitung der Druse alle Kontaktpferde geimpft werden, sofern die letzte Impfung länger als drei Monate zurückliegt. Diese Empfehlung wird damit begründet, dass in einer Wirksamkeitsstudie die Revakzination einer Fohlengruppe innerhalb eines Zeitraums von drei bis sechs Monaten nach letzter Vakzination gezeigt habe, dass sie eine signifikante Reduktion der klinischen Symptome nach Belastungsinfektion bewirkt (INTERVET 2005a,b; RAGNI-ALUNNI et al. 2005). Bei einer Inkubationszeit von drei bis 14 Tagen (TIMONEY 1993) besteht jedoch eine hohe Wahrscheinlichkeit Pferde zu impfen, die sich bereits in der Inkubationsphase befinden. Dies widerspricht dem Warnhinweis, dass nur gesunde Pferde geimpft werden sollten (INTERVET 2005a). Eine solche Inkubationsimpfung kann einen drastischen Eingriff in die pathogenetischen und immunologischen Vorgänge darstellen und es besteht Gefahr, durch eine zusätzliche Zufuhr von Antigenen ein nachteilige Impfwirkung zu erzielen (MAYR 1993; THEIN 2007). Da der Serumantikörperspiegel schon innerhalb von zwei Wochen p.i. deutlich erhöht sein kann (SHEORAN et al. 1997), besteht zudem ein Risiko, Pferde mit stark positiven Serumtitern zu impfen, welche für immunvermittelte Impfschäden prädisponiert sein

können (SWEENEY et al. 2005). Damit ist eine Notimpfung nicht nur von fraglicher Wirkung, sondern auch mit einer erhöhten Gefahr von Impferkrankungen (KEMP-SYMONDS et al. 2007), Impfdurchbrüchen (NEWTON et al. 2005; THEIN 2007) und immunpathologischen Impfreaktionen (SWEENEY et al. 2005; THEIN 2007; TIMONEY 2007) verbunden.

### Impfschema

Angesichts der Literaturangaben zur Immunitätsdauer von sechs Monaten (TAYLOR 1992; HAMLEN et al. 1994) bis mindestens zwölf Monaten (FALLON 1969; ENGELBRECHT 1969; BRYANS and MOORE 1972; SRIVASTAVA and BARNUM 1985) sowie der von uns bestätigten Persistenz von mäßig hohen Impftitern über mindestens sechs Monate, müssen die vom Hersteller empfohlenen Revakzinationen in dreimonatigen Intervallen (INTERVET 2005a) als eine Überimpfung (THEIN 2007) erachtet werden, die auch mit den angeführten Wirksamkeitsstudien (JACOBS et al. 2000; RAGNI-ALUNNI et al. 2005) nicht gerechtfertigt werden kann. Aufgrund der von uns ermittelten Kontinuität erhöhter SeM-spezifischer Serumtiter im Zeitraum vom dritten bis sechsten Monat p.vacc. ist zu vermuten, dass eine Impfung in sechsmonatigen Intervallen keine geringere Schutzwirkung als die vierteljährliche Impfung induziert. Die Bestimmung der Titer zu den Zeitpunkten sechs Monate und zwölf Monate nach der letzten (vierten) Impfung ergab, dass die Titer zu diesen Zeitpunkten, arithmetisch gemittelt, über denen zu Beginn des Impfversuchs lagen. Somit konnte gezeigt werden, dass die durch Impfung induzierten mäßig positiven Serumtiter (++) über mindestens sechs Monate auf einem gleichbleibend hohen Niveau persistieren. Dies entspricht auch den Ergebnissen von Sheoran et al. (1997) zur Persistenz von Impfantikörpern gegen *S. equi*. Revakzinationen in dreimonatigen Intervallen besitzen zwar eine Boosterwirkung, doch konnten wir zeigen, dass stark positive Impftiter dieses Zwischenimpfintervall überdauern können. Pferde mit Titern dieser Höhe sollten nach Empfehlung von John F. Timoney (SWEENEY et al. 2005) niemals geimpft werden. Somit sprechen die serologischen Ergebnisse dafür, dass entgegen der vom Hersteller empfohlenen Revakzination in zwölfwöchigen Abständen, Wiederholungsimpfungen in sechsmonatigen Intervallen vorzuziehen sind. Zum einen reduziert man dadurch das Risiko immunvermittelter Impfschäden, zum anderen persistieren die durch Impfung erreichbaren SeM-spezifischen Serumtiter über sechs Monate auf einem gleichbleibend hohen Niveau.

Nach Thein (2007) sollten die von Impfstoffherstellern angegebenen Intervalle zwischen der Erst- und der Zweitimpfung von vier Wochen als zu kurz angesehen werden, da diesbezügliche Untersuchungen gezeigt haben, dass bei einer Verlängerung des Zwischenimpfintervalls auf sechs bis über zehn Wochen eine deutlich bessere Immunantwort zu erwarten ist. Ob ein solchermaßen modifiziertes Impfschema auch bei Equilis® StrepE eine Verbesserung der Immunantwort mit sich bringt, kann mit der vorliegenden Untersuchung

nicht beantwortet werden. An den von uns postvakzinal ermittelten, im Durchschnitt nur mäßig hohen Antikörpertitern gemessen, sollte dies zur möglichen Verbesserung der postvakzinalen Immunantwort noch untersucht werden.

## 5.8 Wirksamkeit der Impfung bei trächtigen Stuten

Die bisher vorliegenden Erkenntnisse über die Wirksamkeit des *S. equi* -Stammes TW928 beruhen in erster Linie auf den von Jacobs et al. (2000) publizierten Versuchen zur Wirksamkeit verschiedener submukös applizierter Keimdosen von Stamm TW928. Hierbei wurde bei einer Gruppe Shetlandponies die Wirksamkeit der Applikation von  $10^9$  KBE des *S. equi* -Stammes TW928 bei einer anschließenden intranasalen Belastungsinfektion untersucht und aufgrund der postvakzinalen Anstiege SeM-spezifischer Serumantikörper sowie des Ausbleibens von klinischen Drusesymptomen als wirksam erachtet (JACOBS et al. 2000). Hingegen zeigte eine andere Gruppe Shetlandponies, die im selben Versuch nur  $10^7$  KBE von Stamm TW928 verabfolgt bekam, geringere postvakzinale Titer sowie klinische Symptome von Druse nach Belastungsinfektion (JACOBS et al. 2000). Die Untersuchungen von Jacobs et al. (2000) bieten jedoch keine serologischen Daten in einer zu unseren Ergebnissen vergleichbaren Form.

Die den betreffenden *S. equi* -Stamm TW928 enthaltende Vakzine Equilis® StrepE wurde in Immunisierungsversuchen des Herstellers an Fohlen und Ponies getestet und auf Grundlage der dabei erhaltenen Ergebnisse als wirksam hinsichtlich der Reduktion klinischer Symptome der Druse erachtet (INTERVET 2005b, RAGNI-ALUNNI et al. 2005). Den hierzu veröffentlichten Informationen zufolge fokussierten sich diese Studien vor allem auf die Darstellung klinischer und pathologischer Befunde der Probanden nach postvakzinalen Infektionsversuchen und nicht auf die detaillierte Untersuchung der lokalen und systemischen Immunantwort. Da uns über serologische Untersuchungen des Impfstoffherstellers bei bisherigen Impfversuchen mit Equilis® StrepE (INTERVET 2005b; RAGNI-ALUNNI et al. 2005) keine Informationen vorliegen, bieten sich keine Vergleichsmöglichkeiten für die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

Die postvakzinale Antikörperbildung der einzelnen Impflinge (tragende und laktierende Stuten) erwies sich in qualitativer Hinsicht (Titerabfall, keine Titeränderung, Titererhöhung) und in quantitativer Hinsicht (Veränderung des Titers um eine Stufe oder zwei Stufen) als heterogen. Trotz individueller Differenzen bezüglich der Quantität der Immunantwort der einzelnen Probanden geben die im vorliegenden Impfversuch gemessenen Impftiter zumindest Auskunft über Tendenzen in den Probandengruppen.

Die Vakzinierung der 23 Stuten hatte nur in wenigen Fällen die Bildung stark positiver (+++) Serumtiter induziert, wie man sie entsprechend der Titerbewertung von John F. Timoney

(SWEENEY et al. 2005) post vaccinationem erwartet hätte. Trotzdem ergab der Vergleich der Serumtitern der Versuchsgruppen deutliche Unterschiede der Titerhöhen und Titerbewegungen zwischen den Verum- und den Placebostuten. Ab dem Zeitpunkt der Erstimpfung wiesen die Verumstuten mit Titern von ++ ( $\leq 1:800$ ) und +++ ( $\leq 1:3200$ ) konstant höhere oder zumindest vergleichbare ELISA-Resultate auf wie die zu gleichen Zeitpunkten untersuchten Placebostuten, bei denen keine Serumtitern über ++ ( $\leq 1:800$ ) ermittelt werden konnten.

Insgesamt konnte bei 22 der 23 mit Equilis<sup>®</sup> StrepE immunisierten Stuten ein postvakzinaler Anstieg SeM-spezifischer Serumtitern nachgewiesen werden. Rasse- und altersabhängige Unterschiede wurden erwartungsgemäß nicht festgestellt. Die SeM-spezifische Serum-IgG-Konzentration stieg innerhalb von vier Wochen p.vacc. messbar an und erreichte innerhalb dieser Zeitspanne mit Titern bis +++ auch ihr Maximum. Schon während der ersten acht Wochen nach Vakzination sanken die Titer allmählich wieder ab und erreichten spätestens zwölf Wochen p.vacc. ein Plateau in Höhe von + oder zumeist ++. Die Grundimmunisierung hatte eindeutig einen Anstieg der Serumantikörperkonzentration induziert. Ebenfalls stimulierten die nach jeweils zwölf Wochen vorgenommenen Revakzinationen eine messbare Antikörperbildung, womit ein Boostereffekt bestätigt ist. Die Antikörper generierende Wirkung ist dadurch zu erklären, dass die Stuten - wie durch uns nachgewiesen - prävakzinal Erregerkontakt durch Feldinfektionen hatten und daraufhin die Impfantwort als anamnestic Immunreaktion abgelaufen ist.

Unter den 23 geimpften Stuten war ein Impfversager zu verzeichnen. Diese Stute (*Mimosa*) wies bereits zum Zeitpunkt der Erstimpfung einen ELISA-Titer von + (1:200-1:799) auf. Trotz der folgenden Impfungen zeigte sie als einzige dieser Probanden keine messbare Serokonversion bis zum Ende der Beobachtungsperiode.

### Schutzwirkung

Da in der Literatur keine Angaben zu protektiven SeM-spezifischen Serumtitern existieren und in der vorliegenden Untersuchung keine Infektionsversuche durchgeführt wurden, kann keine Aussage zur Schutzwirkung der während des Versuches ermittelten postvakzinalen Titer getroffen werden. Die Bestimmung der Serumantikörper zusammen mit der Bewertung des klinischen Geschehens in den Stutenherden gab uns lediglich einen Anhaltspunkt für die Immunitätslage der Probanden.

Drusefälle oder Hinweise auf *S. equi*-Infektionen waren bei den Stuten über die gesamte Versuchsdauer nicht zu verzeichnen. Lediglich die Serokonversionen von vier der sieben Placebostuten zwischen dem 14.07.2006 und 12.10.2006 könnten einen Hinweis auf stumme Infektionen nach Feldexposition darstellen. Im gleichen Zeitraum wurden bei Verumstuten keine Titeranstiege ermittelt. Da Newton et al. (2005) das Vorkommen des Impfstammes auf den oro-nasalen Schleimhäuten des Nasenrachenraumes bei Pferden sieben Tage p.vacc. bestätigt haben, kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass die Sero-

konversionen dieser Placebostuten in ursächlichem Zusammenhang mit der Ausscheidung des Impfstammes durch vakzinierter Stuten stehen könnte.

Es muss beachtet werden, dass nur eine geringe Korrelation zwischen Serumantikörpern und dem Schutz gegen Infektionen mit *S. equi* besteht und eine erworbene Immunität gegen *S. equi* in erster Linie auf lokalen s-IgA und IgG beruht, ohne dass Serumantikörper vorhanden sein müssen (GALÁN and TIMONEY, 1985b; HAMLEN et al. 1994). Somit kommt der systemischen Komponente der Immunität bezüglich einer Schutzwirkung geringere Bedeutung zu (SHEORAN et al. 1997). Ob die submuköse Applikation von Equilis® StrepE in die Oberlippe neben einer systemischen Immunantwort auch eine lokale Immunantwort im Nasenrachenraum von gleicher Qualität induziert, ist in der Literatur nicht beschrieben. Bei bisherigen, konventionellen Druseimpfstoffen wurde eine mangelnde Effizienz auf die ungenügende Stimulation der lokalen Immunantwort zurückgeführt (TIMONEY and EGGERS 1985). Über die Funktion des lokalen, Schleimhaut-assoziierten Immunsystems des Nasenrachenraumes unserer Probanden sowie über die Ausbildung und Stärke einer lokalen Immunantwort nach Applikation von Equilis® StrepE kann mit den von uns durchgeführten Untersuchungen keine Aussage getroffen werden.

Impfdurchbrüche, welche dadurch zustande kommen, dass sich im Anschluss an die Impfung keine belastbare oder dauerhafte Immunität entwickelt und der Impfling zu einer Zeit erkrankt, in der er durch die Impfung geschützt sein sollte (ALBER 2000; THEIN 2007), wurden nicht beobachtet. Nach Definition des Impfdurchbruches ist dieser bei der Anwendung von Equilis® StrepE ein Ereignis mit hoher Häufigkeit, da das Produkt nach Herstellerangabe (INTERVET 2005b) nur 50 % der geimpften Pferde vor manifester Infektion zu schützen vermag. Es stellt sich die Frage, ob aus den Ergebnissen der bisherigen Wirksamkeitsstudien zu Equilis® StrepE mit dieser hohen Morbidität tatsächlich ein Impfschutz abgeleitet werden kann. Bei der Beurteilung der Ergebnisse dieser Wirksamkeitsstudien muss beispielsweise auch eine von der Impfwirkung unabhängige Widerstandsfähigkeit bzw. Paramunität bei einzelnen, nicht manifest infizierten Probanden berücksichtigt werden. Darüber hinaus werden in der Literatur verschiedene Einflüsse beschrieben, welche eine Erhöhung des Erkrankungsrisikos für Fohlen und junge Pferde bedingen können. Hierzu gehören Transportstress, Klimastress, sozialer Stress, virale Infektionen, Parasitosen, schlechte Haltungs- und Fütterungsbedingungen, eine große Populationsdichte sowie frequente Pferdebewegungen (EBERT 1969; GERBER 1982; YELLE 1987; TIMONEY 1993). Bei der Einwirkung derartiger endogener wie exogener Stressoren könnte die in diesen Versuchen (JACOBS et al. 2000; INTERVET 2005b; RAGNI-ALUNNI et al. 2005) beschriebene, etwa 50 %ige Schutzwirkung noch geringer ausfallen. Zudem muss beachtet werden, dass die genannten Studien (JACOBS et al. 2000; INTERVET 2005b; RAGNI-

ALUNNI et al. 2005) aufgrund geringer Probandenzahlen biostatistisch nicht abgesichert sind.

## 5.9 Passiver Antikörpertransfer

Ein passiver SeM-spezifischer Schutz der neugeborenen Fohlen muss hinsichtlich der Gefahr einer neonatalen Septikämie, bei der auch *S. equi* eine ätiopathogenetische Rolle spielt (THEIN 1997), als sinnvoll erachtet werden.

In früheren Untersuchungen der gleichen Herde (THEIN et al. 1983, 1989, 2005) wurde festgestellt, dass Araberstuten, statistisch gemittelt, quantitativ weniger Immunglobuline per Kolostrum an ihre Fohlen weitergeben als die Warmblutstuten und dass Vollblutaraberfohlen anfälliger gegenüber Infektionskrankheiten sind als Warmblutfohlen. Die Fohlen des arabischen Vollblutes neigen zudem vermehrt zu Immundefizienzen auf hereditärer Grundlage (CRAWFORD and PERRYMAN 1980). Um Verfälschungen der Untersuchungsergebnisse aufgrund dieses beschriebenen Problemkreises auszuschließen, wurde die Beurteilung des passiven Antikörpertransfers bzw. des Immunstatus der Neonaten durch die Bestimmung der Immunglobulingehalte der Kolostren und der postkolostralen Seren der Fohlen in die Untersuchung mit einbezogen.

### Transfer und Absorption von Globulinen

In der vorliegenden Untersuchung wurden alle Stuten unmittelbar p.p. bezüglich ihres Kolostrumglobulingehaltes und ihre Fohlen nach satter Kolostrumaufnahme (14. und 24. Lebensstunde) bezüglich ihres Serumglobulingehaltes getestet. Die Kolostren der Verum- und Placebostuten wiesen allesamt IgG-Konzentrationen über 3,8 g/dl auf und übertrafen damit den Globulingehalt von 3,2 g/dl, welcher von Thein et al. (1989) als Voraussetzung für einen ausreichenden Immunglobulintransfer in die Saugfohlen erachtet wird. Die Messung der postkolostralen Serum-IgG-Konzentrationen der Neonaten aus den geimpften Stuten und den Placebostuten erbrachte bei allen Fohlen Werte von mindestens 800 mg/dl Serum. Bezüglich des als untersten Schutzwert angesehenen Serumglobulingehaltes von 400 mg/dl Serum (THEIN et al. 1989) konnten wir mit dem eingesetzten Test feststellen, dass bei allen Fohlen eine als ausreichend zu wertende Serum-IgG-Konzentration vorlag. Damit ist auch eine genügende Kolostrumversorgung sowie eine erfolgreiche Immunglobulinpersorption (THEIN 1983) in den Neonaten bestätigt. Über die qualitative Leistung der gemessenen IgG-Spiegel entscheidet jedoch allein deren Erregerspezifität (THEIN et al. 1989; THEIN 2003). Unterschiede zwischen den beiden Rassen hinsichtlich des Gesamtglobulingehaltes der Kolostren sowie der Persorption maternaler Immunglobuline in den Fohlen konnten in der vorliegenden Untersuchung nicht festgestellt werden.

### Transfer und Absorption spezifischer Antikörper

Nach Thein (1983) kann die Immunisierung der Stute im letzten Trimester der Gravidität - neben dem Effekt der Antikörperkonzentration im Kolostrum - auch zum Training des Immunsystems ihres Fetus beitragen. Grundlage dafür ist zum einen die Plazentarfunktion der Stute, die einen Austausch von Antigenen und/oder Antikörpern zwischen Mutter und Frucht im letzten Abschnitt der Gravidität prinzipiell gestattet (SAMUEL et al. 1976). Zum anderen ist der Fetus ab dieser Trächtigkeitsphase in der Lage, einen in utero gesetzten Antigenreiz mit der Bildung quantitativ geringer Mengen spezifischer Immunglobuline des Typs IgG zu beantworten (PERRYMAN et al. 1980). Da präkolostral keines der neugeborenen Fohlen, die aus durchgehend seropositiven Mutterstuten stammten, über nachweisbare SeM-spezifische Antikörpertiter verfügte, kann sowohl ein diaplazentarer Antikörpertransfer als auch eine präpartale Seroreaktion bei den Feten ausgeschlossen werden.

Bei der postkolostralen Serumuntersuchung (dritter Tag p.n.) der Fohlen diagnostizierten wir eine tendenziell höhere Antikörperquantität in den Seren der Saugfohlen als in denen ihrer Mütter, unabhängig von der präpartalen Behandlung der Stute mit Verum oder Placebo. Dabei wiesen Fohlen aus den im letzten Trimester geimpften Mutterstuten deutlich höhere maternale Antikörpertiter auf als Fohlen aus Placebostuten. Dies bestätigt die von Thein (1983) beschriebene, präpartal stattfindende Konzentration von Impfantikörpern aus dem Serum in das Kolostrum der Stuten, welche auch für Herpes- und Reoviren (THEIN 1978, 1983) sowie für Influenzaviren (BURTON et al. 1980) nachgewiesen ist. Da alle Fohlen unter Aufsicht des Gestütspersonals quantitativ ausreichend und gleichmäßig mit Kolostrum versorgt wurden, dürften Titerdifferenzen aufgrund unterschiedlicher Mengen aufgenommenen Kolostrums (THEIN 1983) kaum eine Rolle gespielt haben. Auch die individuelle Kapazität der Fohlen Immunglobuline zu persorbieren (THEIN 1983), die ebenfalls zu quantitativ unterschiedlichen Blutspiegeln führen kann, sollte nach den Ergebnissen der Prüfung des unspezifischen, kolostralen Immunglobulintransfers keine Auswirkung auf die SeM-Titer der Neonaten gehabt haben.

## **5.10 Persistenz maternaler Antikörper in den Saugfohlen**

Die Persistenz passiv aufgenommener Antikörper wird bestimmt von der Quantität im Kolostrum abgegebener und vom Fohlen persorbierter Immunglobuline sowie deren biologischer Halbwertszeit (THEIN 2003). Die maternalen Immunglobuline werden langsam über das zunehmende Plasmavolumen des wachsenden Fohlens ausverdünnt und unterliegen gleichzeitig einem biologischen Abbau (THEIN 2007). Das im ELISA gemessene IgGb wird als das wichtigste Immunglobulin im Fohlenserum erachtet und besitzt eine Halbwertszeit von 32 Tagen (SHEORAN et al. 2000).

Der im vorliegenden Versuch nachgewiesene kontinuierliche Abbau der Titer passiv aufgenommener SeM-Serumantikörper geht konform mit der von Sheoran et al. (2000) angegebenen Halbwertszeit der IgG. Abhängig von der initialen Höhe der Titer erfolgte spätestens im Bereich des dritten und vierten Lebensmonats ein endgültiger Abbau der maternalen Antikörpertiter. Die Fohlen aus mit Equilis® StrepE immunisierten Stuten wiesen eindeutig höhere und länger persistierende maternale Titer auf als die Fohlen aus den nicht geimpften Stuten.

Das Fohlen a.d. *Dewina* reagierte ab dem vierten Lebensmonat wieder seropositiv (+). Nach Abbau der maternalen Antikörper innerhalb der ersten zwei Monate können die serologischen Befunde ab dem vierten Monat nur auf eine stumme Infektion mit einem Feldstamm zurückgeführt werden. Das Ausbleiben einer klinisch manifesten Infektion und die nur schwache Serumantikörperantwort könnte durch die Wirkung lokaler, maternaler Immunglobuline (SWEENEY et al. 2005) im Nasenrachenraum erklärt werden. Die beschriebenen Befunde bestätigen die Beschreibung von Galán et al. (1986), dass Fohlen, die an immunen Stuten saugen, bis zum Zeitpunkt des Absetzens vor manifesten Infektionen geschützt sind.

Die vorliegende Untersuchung der Persistenz der maternalen Antikörper aus mit Equilis® StrepE geimpften Stuten bestätigt die Empfehlung von Thein (2007), dass Fohlen nicht vor dem abgeschlossenen vierten Lebensmonat geimpft werden sollten und dass die zweite Impfung der Grundimmunisierung erst im Bereich des sechsten Lebensmonats vorgenommen werden sollte.

## 5.11 Wirksamkeit der Impfung bei Absetzfohlen

Im vorliegenden Versuch wurden 54 Fohlen im Alter von vier bis sieben Lebensmonaten einer Erstimpfung unterzogen, die Zweitimpfung erfolgte in einem zeitlichen Abstand von vier Wochen.

Prävakzinal wiesen nur drei der 54 (5,6 %) Fohlen SeM-spezifische Serumtiter auf. Zum Zeitpunkt der zweiten Impfung konnten dann bei 18,5 % der Fohlen schwach positive (+) Titer diagnostiziert werden. Zwölf Wochen nach der zweiten Impfung wiesen schließlich 44,4 % der Probanden zumeist schwach positive (+) oder in wenigen Fällen mäßig positive (++) Titer auf. Der Vergleich dieser Werte mit den parallel erfassten serologischen Daten nicht geimpfter Fohlen der Vergleichsherden zeigt keine Unterschiede. Damit konnte eine Impfwirkung serologisch nicht nachgewiesen werden.

Das Ausbleiben einer systemischen Immunantwort auf die Impfung mit Equilis® StrepE ist nach den Ergebnissen aus dem vorausgegangenen Impfversuch mit den Zuchtstuten verschiedenartig erklärbar. Die Ursache liegt entweder in einer mangelnden Sensibilität der Probandengruppen für das Impfantigen oder in einer Veränderung des Impfantigens bzw.



der Impfdosis. Der Impferfolg wird vom Impfalter, der Art und Anwendung des Impfstoffes sowie von einer Vielzahl endogener sowie exogener Faktoren beeinflusst (THEIN 1996b). Diese Faktoren sollen nachfolgend besprochen werden.

### Impfalter

Bei den beiden Impfgruppen handelte es sich um sehr junge Probanden (vier bis sieben Monate), die keine Vorgeschichte von Druseerkrankungen hatten. Die Impfung muss damit für die überwiegende Zahl der Fohlen als Erstkontakt mit *S. equi* erachtet werden und ein prävakzinales Vorhandensein SeM-spezifisch sensibilisierter Lymphozyten ist auszuschließen. Die primäre Immunantwort bei der ersten Begegnung mit dem Antigen beinhaltet neben der Antikörperbildung die selektive Proliferation von Lymphozyten zu Klonen von Effektorzellen. Hierzu gehören auch langlebige Gedächtniszellen für die sekundäre Immunantwort (anamnestische Reaktion) (TIZARD 1981). Dieses sog. *priming*, das bei allen weiteren Konfrontationen mit dem homologen Antigen für den Aufbau einer schnellen, quantitativ ausreichenden Immunreaktion verantwortlich ist, stellt nach Thein (2007) das Ziel der Erstimpfung von Fohlen dar. Generell verläuft diese Reaktion als Primärreaktion langsam und quantitativ schwach, sie ist aber Grundlage für den Erfolg aller weiteren Impfungen. Aus den Serumantikörperantworten der Fohlen ist kein Hinweis auf ein erfolgreiches *priming* abzuleiten.

Auch das Fohlen a.d. *Dewina*, welches zum Zeitpunkt der Erstimpfung bzw. schon Monate zuvor seropositiv reagierte, zeigte nach keiner der beiden Impfungen eine messbare Titeränderung.

Nach Thein (2007) können sich die über das Kolostrum auf dem Wege der natürlichen, passiven Immunisierung erhaltenen Antikörper dann störend auswirken, wenn dem Fohlen zu einem zu frühen Zeitpunkt nach der Geburt eine aktive Schutzimpfung mit dem homologen Antigen verabfolgt wird. In diesem Falle können die maternalen Antikörper das Impfantigen graduell neutralisieren und damit unwirksam machen, so dass die eigene Antikörperbildung des Impflings blockiert wird. Eine solche Abschwächung der Impfwirkung durch zirkulierende maternale Antikörper ist aufgrund der negativen serologischen Befunde vor der Erstimpfung ausgeschlossen. Nicht ausgeschlossen werden kann hingegen das Vorliegen von lokalen maternalen Immunglobulinen, welche das Impfantigen an der Injektionsstelle abgeblockt haben könnten. Eine lokale Persistenz von maternalen SeM-spezifischen Immunglobulinen über den vierten Lebensmonat hinaus erscheint aufgrund des von uns nachgewiesenen Abbaus der Serumantikörper innerhalb von zwei bis vier Lebensmonaten jedoch als unwahrscheinlich.

Denkbar wäre auch, dass an der Injektionsstelle eine starke Aktivität unspezifischer Abwehrmechanismen vorgelegen hatte. Ein solches Phänomen kann zur Folge haben, dass der größte Teil der Impfdosis sehr schnell und gründlich phagozytiert wird, so dass zu wenig

antigenes Material für die Antigenerkennung aufbereitet werden kann. In einem solchen Fall ist der antigene Stimulus auf die Lymphozyten dementsprechend sehr gering und oder fehlt ganz. Diese Möglichkeit ist von einer Reihe von Bakterien bekannt (MAYR 1993).

Es stellt sich im Weiteren auch die Frage, ob die gewählte Applikationsart der Vakzine für die Generierung einer ausreichenden immunologischen Erstantwort bei Fohlen geeignet ist.

Zu beachten ist, dass der Aufbau der Immunabwehr frühestens in der Zeit des sechsten bis achten Lebensmonats, bei manchen Pferden auch erst Ende des ersten Lebensjahres soweit abgeschlossen ist, dass er quantitativ und qualitativ mit dem eines erwachsenen Pferdes vergleichbar ist (THEIN 1979, 2007).

### Vakzine

Der Versuchsaufbau entsprach den Vorgaben des Herstellers mit einem Zwischenimpfintervall von vier Wochen. Die Vorbereitung und Applikation des Impfstoffes erfolgte auf identische Art und Weise wie zuvor bei den Zuchtstuten. Hierbei zeigte sich auch das praktische Problem einer submukösen Applikation in die Oberlippe bei Pferden dieses Alters. Nach Herstellerangabe betrug die Impfdosis bei der verabfolgten Produktcharge Equilis® StrepE (Ch.B. 74374B), analog zu der Impfstoffcharge bei den Stuten,  $10^{8,8}$  KBE anstatt  $10^{9,0}$  bis  $10^{9,4}$  KBE von Stamm TW928. Da es sich um einen vermehrungsfähigen Impfkeim handelte, der in Impfversuchen von Jacobs et al. (2000) bei Fohlen mit einer noch geringeren Impfdosis von  $10^{8,0}$  KBE eine Seroreaktion induzierte, hätte die in dieser Produktcharge enthaltene Impfdosis eine Bildung von Serumantikörpern bewirken müssen. Über mögliche immunogene Variationen der einzelnen Impfstoffchargen liegen keine Daten vor.

### Endogene Faktoren

Die geimpften Fohlen waren aufgrund unterschiedlicher Rassen und Zuchtlinien genetisch sehr heterogen. Damit ist eine genetisch-determinierte verringerte Empfänglichkeit der Probanden gegenüber dem Impfantigen (MAYR 1993) als Erklärung für das Versuchsergebnis ausgeschlossen.

### Exogene Faktoren

Da die Impflinge mindestens 14 Tage vor den Impfungen entwurmt wurden, ist ein Endoparasitenbefall (THEIN 2003; EDMONDS et al. 2001) als Ursache für eine verringerte Immunreaktion auszuschließen. Eine quantitative Schwächung der Immunantwort durch Endo- bzw. Ektoparasitosen, Infektionen oder ernährungsbedingte Mangelzustände (THEIN 2003) konnte durch die unauffälligen Befunde bei den klinischen Untersuchungen vor den Impfungen ausgeschlossen werden. Feststellbar kranke Fohlen (Fohlen a.d. *Athene*) wurden ohnehin von der Impfung ausgeschlossen.

Die 54 geimpften Fohlen entstammten, mit Ausnahme von 14 Pensionsfohlen, der gestüts-eigenen Stutenherde. Somit wies der größte Teil des Kollektivs der geimpften Fohlen schon vor der Erstimpfung ähnliche Haltungs- und Umweltbedingungen und eine vorgefestigte Rangordnung auf. Zudem wurden alle Impflinge in einer klimatisch günstigen Herbstphase abgesetzt und in den Aufzuchtstationen aufgestellt. Mit den schon beschriebenen Haltungsbedingungen und der prävakzinalen, zwölf-tägigen Aklimatisierungsphase in den neu zusammengesetzten Herden wurden Bemühungen unternommen, die Entstehung von Stressoren (THEIN 1996b, 2003) möglichst gering zu halten. Eine negative Auswirkung von Stressoren auf die Immunantworten der Fohlen ist somit weitgehend ausgeschlossen.

Da der Impfstamm eine Sensitivität gegenüber verschiedenen Antibiotika besitzt, muss auch ein solcher Einfluss auf die Impfwirkung diskutiert werden. Jedoch konnte in unserem Kollektiv sichergestellt werden, dass keiner der Impflinge in den letzten vier Wochen vor der Impfung Antibiotika verabreicht bekommen hatte. Solche Behandlungen wurden auch innerhalb der ersten Woche p.vacc. nicht durchgeführt.

Wird mehrere Wochen oder Monate nach ausreichender Erstimmunisierung das gleiche Antigen zum zweiten Male verabfolgt, so ist die nachfolgende anamnestiche Immunreaktion im Vergleich zur Primärreaktion quantitativ verstärkt und die Dauer der Immunität wird verlängert (Boosterreaktion) (TIZARD 1981). Die Intensität der sekundären Immunantwort hängt von verschiedenen Einflüssen ab (MAYR 1993, THEIN 2007). Als solche gelten auch die Qualität der primären Immunreaktion zum Zeitpunkt des sekundären Stimulus und, damit im engen Zusammenhang stehend, der Abstand zwischen primärem und sekundärem antigenen Stimulus. Wenn dieser Zeitraum zu lang oder zu kurz ist, kommt es zu keiner typischen sekundären Immunantwort. Voraussetzung ist die ausreichende Zahl von Gedächtniszellen. Eine eindeutige Sekundärreaktion bzw. anamnestiche Immunantwort konnte durch die serologische Untersuchung zwölf Wochen nach der Zweitimpfung nicht bestätigt werden.

Ob die Verlängerung des Impfintervalls zwischen Erst- und Zweitimpfung auf acht bis über zehn Wochen (THEIN 2007) eine bessere Stimulation der systemischen Immunantwort der Fohlen bewirkt hätte, kann nur angenommen werden.

Dass trotzdem ein lokaler Impfschutz bestanden hat, kann nicht ausgeschlossen werden.

## 5.12 Klinischer Vergleich geimpfter und nicht geimpfter Fohlen

In mehreren Studien wurden Fohlen verschiedener Rassen nach Impfung mit Equilis® StrepE einem Infektionsbelastungsversuch mit *S. equi* unterzogen (JACOBS et al. 2000; INTERVET 2005b; RAGNI-ALUNNI et al. 2005). Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich hingegen um einen Vergleich der klinischen Auffälligkeiten geimpfter (Grundimmunisierung) und nicht geimpfter Fohlen unter den Feldbedingungen zweier vergleichbarer Aufzucht-

betriebe. Im Gegensatz zu einer experimentell induzierten *S. equi*-Infektion war hierbei die Belastung jedes Fohlens mit dem Erreger unbekannt. Durch die tägliche Beobachtung sowie die regelmäßige klinische Kontrolle war die Voraussetzung für eine Erfassung kranker Fohlen jedoch gegeben. Zumal nach Bryans and Moore (1972) die manifeste Infektion mit *S. equi* bei Fohlen nach Abklingen des passiven Immunschutzes meist mit der typischen, respiratorischen Symptomatik verläuft. Bei den klinischen Untersuchungen erfolgte stets eine Palpation der Mandibularlymphknoten, die nach Wilson (1988) und Sweeney et al. (1987a) bei der Druse am häufigsten betroffen sind.

Da alle Probanden unter ähnlichen Haltungs- und Umweltbedingungen gehalten wurden, ist eine Vergleichbarkeit des klinischen Geschehens der Herden gegeben. Für die beiden Stutfohlenherden können zudem das Keimspektrum, der Infektionsdruck und das Infektionsrisiko mit *S. equi* aufgrund der ständigen direkten Kontaktmöglichkeit als identisch betrachtet werden.

Insgesamt zeigten die Fohlen geimpfter und nicht geimpfter Herden ein qualitativ wie quantitativ ähnliches Vorkommen von Infektionen der oberen Atemwege, mit zum Teil Druse-ähnlicher Charakteristik. Während der bis Mitte März 2007 untersuchten Aufzuchtphase waren bei 113 der 118 Fohlen (96 %) klinische Auffälligkeiten festzustellen, wobei die Fohlen in der Zeit zwischen Anfang Januar und Mitte März 2007 die häufigsten und am stärksten ausgeprägten Krankheitssymptome aufwiesen. Selbst bei den Hengstfohlenherden, die in benachbarten Stallgebäuden aufgestellt waren, verliefen die Zeitfenster einer erhöhten Inzidenz von Krankheitsfällen annähernd parallel, was auch für die infektiöse Grundlage der registrierten klinischen Symptome spricht. Die zum Teil massive Häufung klinischer Erscheinungen in den Herden junger, hoch empfänglicher Pferde ist nicht erstaunlich, da Haltungsbedingungen mit intensivem Kontakt zwischen den Fohlen die Ausbreitung von Pathogenen erleichtern (FORD and LOKAI 1980). Da im vorliegenden Versuch keinerlei Maßnahmen zur Verhütung der Infektionsausbreitung ergriffen wurden, waren die Tiere einem anhaltend hohen Infektionsdruck ausgesetzt.

Nach Thein und Essich (1993) leiden die Aufzuchtherden des Gestütes traditionell ab dem ersten Absetztermin im September jeden Jahres unter unterschiedlich schwer verlaufenden Infektionen der Atemwege, von denen in der Regel alle Fohlen betroffen sind und die sich teilweise über sechs bis acht Monate erstrecken. Die hieran beteiligten bakteriellen und viralen Erreger bekommen durch stressbedingte Abwehrschwächung die Chance des Haftens und Vermehrens und damit die Möglichkeit, Erkrankungen auszulösen (THEIN 1996b). Die Absetzfohlen unterliegen zum Zeitpunkt der Integration in die Aufzuchtherde, aber auch noch Wochen später, zwangsläufig mehreren endogenen und exogenen Stressoren (THEIN 1997). Diese Stressoren mit Einfluss auf die Konstitution der Jungtiere sind die physische und psychische Belastung durch die Trennung von der Mutterstute, den Transport, die Bildung neuer Herdenverbände (Rangordnungskämpfe) und die Nahrungs-

umstellung. Begünstigt werden die Atemwegserkrankungen auch dadurch, dass die Absetzfohlen in der Regel nicht mehr über einen Immunschutz aus der Versorgung mit mütterlichem Kolostrum verfügen und selbst noch keine ausreichende, spezifische Abwehr aufgebaut haben (THEIN 1996b).

In allen Herden wurden die vielfach beschriebenen (KELLER und JAESCHKE 1984; CLABOUGH 1987; BEECH and SWEENEY 1991; AMES 1995) Symptome der Druse oder Druse-ähnlicher, bakterieller Infektionen der oberen Atemwege in Form von mukopurulentem bis purulentem Nasenausfluss, sowie Lymphknotenschwellung beobachtet. Fieber, Depression oder Lymphknotenabszedierung wurden hingegen nur in wenigen Fällen festgestellt. Die einzelnen Symptome traten in allen Qualitäten (geringgradig, mittelgradig, hochgradig) auf.

Nur ein nicht geimpftes Fohlen (a.d. *Athene*) zeigte neben einem mukopurulenten Katarrh der Nasenschleimhäute eine chronische, der Druse ähnliche, abszedierende Entzündung der Lnn. mandibulares, ohne Fieber und ohne deutliche Störung des Allgemeinbefindens. Bei diesem Probanden konnte im Januar 2007 ein mäßig positiver, SeM-spezifischer Titer (++) nachgewiesen werden, nachdem er am 20.10.2006 noch seronegativ reagierte. Das Fohlen wies in der Zeit nach dieser Lymphadenopathie keine weiteren Auffälligkeiten auf. In diesem Falle muss, aufgrund des späteren seropositiven Befundes, trotz des Ausbleibens des direkten Nachweises von *S. equi* im mukopurulenten Nasenausfluss, von einem milde verlaufenen Drusefall ausgegangen werden. Bei der bakteriologischen Untersuchung eines Nasentupfers am 20.10.2006, nachdem sich der kleine Abszess schon entleert hatte, reagierte dieses Fohlen noch seronegativ. Nach Sheoran et al. (1997) und Sweeney et al. (2005) hätte bei einer *S. equi* -Infektion innerhalb von vier Wochen eine messbare Seroreaktion erfolgen müssen.

Um die Beteiligung von *S. equi* am Infektionsgeschehen zu prüfen, wurden alle Fohlen der geimpften Herden (n=55) sowie Stichproben der Vergleichsherden (n=10) zu Beginn der Aufzuchtphase (September bzw. November 2006) serologisch untersucht. Dabei reagierten die Probanden mit drei Ausnahmen (Fohlen mit maternalen Antikörpern bzw. post-infektionellen Antikörpern) seronegativ. Zusätzlich zur Untersuchung der Krankheitssituation in den Herden wurde im Januar 2007 erneut der Serumantikörpergehalt derselben Probanden und einer vergrößerten Stichprobe (n=20) nicht geimpfter Fohlen bestimmt. Diese serologische Untersuchung ergab ähnliche Anteile positiver Seroreagenten in allen vier Herden. Überwiegend konnten nur schwach positive Titer ermittelt werden.

Unsere Ergebnisse implizieren, dass im Untersuchungszeitraum *S. equi* -Infektionen per vias naturales ohne eindeutige klinische Manifestation in den Aufzuchtherden vorgekommen sein müssen. Zu beachten ist, dass die serologische Untersuchung am 15.01.2007 lediglich über die Beteiligung von *S. equi* am Krankheitsgeschehen bis Ende Dezember 2006 eine

Beurteilung erlaubt, woraufhin in der darauffolgenden Zeit verstärkt Tupferproben bakteriologisch untersucht wurden.

Über diese zur Absicherung entsprechender klinischer Befunde durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen von Nasen- und/oder Konjunktivaltupferproben verdächtiger Fohlen konnte kein direkter Nachweis von *S. equi* erbracht werden. Stattdessen konnte *S. zooepidemicus* in 47 der 54 Tupferproben (87 %) diagnostiziert werden. Die hohe Prävalenz von *S. zooepidemicus* in den Tupferproben weist diesen Mikroorganismus als das dominierende bakterielle Pathogen in den Aufzuchtherden aus. Als weitere bakteriologische Befunde konnten vereinzelt *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluoreszens* sowie einige unspezifische Begleitkeime diagnostiziert werden. Diese Ergebnisse gehen konform mit denen von Laus et al. (2007), die in Nasentupferproben und Luftsackspülproben von 26 Pferden mit Druse-ähnlichen Symptomen nur *S. dysgalactiae equisimilis* und *S. zooepidemicus*, aber nicht *S. equi* isolieren konnten.

Die Ergebnisse der klinischen Kontrollen und der bakteriologischen sowie serologischen Untersuchungen schließen *S. equi* als Ursache für die zahlreichen und vielfältigen klinischen Auffälligkeiten aus. Das Ausbleiben von manifesten bzw. typischen Druseerkrankungen muss auf eine ausreichende Widerstandsfähigkeit gegen *S. equi* aufgrund von individuellen Faktoren, zum Beispiel in Form einer gesteigerten Individualresistenz oder Paramunität zurückgeführt werden, so dass die indirekt über die Serologie nachgewiesenen Infektionen lediglich stumm oder abortiv verliefen.

### **5.13 Gegenüberstellung des kulturellen Nachweises von *S. zooepidemicus* in Nasen- und Konjunktivaltupfern mit den klinischen Befunden**

Hoffmann et al. (1993) sowie Dixon et al. (1995) beschreiben *S. zooepidemicus* als den am häufigsten nachzuweisenden pathogenen Mikroorganismus bei Fohlen und Jungpferden mit unspezifischen Erkrankungen der Atemwege. Auch Bazeley and Battle (1940a) beschrieben, dass *S. zooepidemicus* Entzündungen der oberen Atemwege verursachen kann, die der milden Form der Druse ähneln. Der fakultativ pathogene bzw. opportunistische Erreger, der auch Teil der Schleimhautflora des oberen Digestions- sowie Respirationstraktes gesunder Pferde ist, ist ubiquitär in Pferdepopulationen vorhanden (WOOLCOCK 1975a). Die Infektion wird von mehreren Autoren mit dem Abbau maternaler Antikörper und dem unreifen Immunsystem der Fohlen in Verbindung gebracht (TIMONEY 1991; HOFFMANN et al. 1993; DIXON et al. 1995). *S. zooepidemicus* scheint zudem insbesondere nach Stresssituationen eine pathogene Wirkung zu entwickeln (BEECH and SWEENEY 1991; TIMONEY 1991).

Als Ursache für die Atemwegserkrankungen in den Aufzuchtherden wurden in vorhergehenden Untersuchungen (THEIN 1978; THEIN und ESSICH 1993) virale und bakterielle Mischinfektionen festgestellt, wobei insbesondere equine Herpesviren, Influenzaviren, Reoviren und Streptokokkenspezies nachgewiesen werden konnten. Diese Erkenntnisse werden durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigt.

## 5.14 Epizootiologische Situation der Versuchsherden

### Absetzfohlen

Zum Zeitpunkt des Auftriebes (September bis November 2006) reagierten nur drei Fohlen seropositiv. Drei Monate später (Januar 2007) wiesen 44 % der geimpften sowie 55 % der untersuchten, nicht geimpften Fohlen Serumtiter gegen *S. equi* auf. Diese serologische Untersuchung der Fohlen zeigt, dass Feldinfektionen mit *S. equi* in den Aufzuchtherden vorkommen und dass etwa die Hälfte der Fohlen im Jährlingsalter danach seropositiv reagieren. Die Untersuchung von nicht geimpften Jährlingsfohlen (n=17) des vorangegangenen Jahrganges ergab ebenfalls, dass die Ausbildung einer aktiven Seroreaktion im Rahmen einer Primärinfektion erst allmählich im Verlauf der Aufzuchtphase erfolgt, was mit den Ergebnissen von Wissing (1993) übereinstimmt. Der Anteil seropositiver Reagenten steigt demnach mit dem Lebensalter.

Aufgrund der klinischen Daten kann davon ausgegangen werden, dass die klinisch inapparente Infektion die häufigste Form der *S. equi* -Infektion in den Aufzuchtherden darstellt und zur Ausbildung einer aktiven Immunität führt. Infolgedessen lässt das Gestüt die Herden passiv durchseuchen.

### Zuchtstuten

Bei den tragenden Stuten wurde vor Versuchsbeginn eine hohe Seroprävalenz (86 %) von *S. equi* nachgewiesen. Da zudem alle Placebostuten während des Versuchszeitraumes wiederholt seropositiv reagierten, ist dadurch der Hinweis auf eine enzootische Verbreitung von *S. equi* in den gestütseigenen Stutenherden gegeben. In 79 % der prävakzinal entnommenen Serumproben von Impflingen konnten ebenso wie in 68 % der Vergleichsseren von Placebostuten schwach positive Titer (1:200 bis 1:799) ermittelt werden. Eine hohe Seroprävalenz bei Zuchtstuten wurde auch von Wissing (1993) bei der Untersuchung der Pferdebestände verschiedener deutscher Vollblutgestüte beschrieben.

### Notwendigkeit zur Impfung im untersuchten Pferdebestand

Während des Versuchszeitraumes konnten keine manifesten *S. equi* -Infektionen oder Verdachtsfälle von Druse bei den Zuchtstuten verzeichnet werden. Da nicht geimpfte Stuten serokonvertierten, kann davon ausgegangen werden, dass stumme und/oder abortive

Infektionen mit Feldstämmen im Bestand vorkommen und dass die Gegenwart des Erregers in den Stutenherden über Reinfektionen zur kontinuierlichen Boosterung und damit zur Bewahrung des Immunschutzes führt. Diese Einschätzung wird durch die Angabe der Gestütstierärzte, dass manifeste *S. equi*-Infektionen in den Stutenherden über Jahre hinweg nicht diagnostiziert worden waren, bestätigt. Die Ergebnisse sind nicht überraschend, da sich die meisten Pferde im Jungtieralter mit *S. equi* infizieren und danach eine aktiv erworbene Immunität gegen die Infektion aufweisen (MAHAFFEY 1962). Zwar tritt die Erkrankung bei Pferden jeder Altersgruppe auf (NEES 1994), doch gelangt sie im späteren Alter seltener und fast ausschließlich bei Pferden zur Beobachtung, die im jungen Alter die Krankheit noch nicht überstanden haben (HUTYRA, MAREK, MANNINGER und MÓCSY 1959). Somit besteht in den Stutenherden eine Bestandsimmunität als Summe der individuellen Immunitäten der in den letzten Jahren durchseuchten Individuen. Bestandsimmunitäten führen bei Seuchenausbruch bzw. -einschleppung zur Herabsetzung der Morbidität, zur Beschleunigung der Abwehrvorgänge bei Infizierten mit Restimmunität und zur Milderung des Krankheitsverlaufes (MAYR 1993).

Allgemein anerkannt ist, dass die Mehrzahl der Pferde postinfektionell eine belastbare Immunität gegen *S. equi* entwickelt (TODD 1910; HAMLEN et al. 1994; ARTIUSHIN et al. 2002). Das immunologische Gedächtnis kann antigenabhängig über Jahre persistieren und bei erneutem Antigenkontakt eine schnellere und effektivere Immunantwort generieren (LÖSCH et al. 2000; THEIN 2003).

Den Kriterien des Herstellers zufolge (INTERVET 2005a) sind die Stuten der Gestütsherde einem mittleren Druserisiko und die Absetzfohlen einer hohen Risikosituation zuzuordnen.

Eine Druseimpfung in den Stutenbeständen des Gestütes erachten wir aufgrund der hohen Durchseuchungsrate und der geringen klinischen Bedeutung von *S. equi* in diesen Herden als nicht notwendig.

Die Pferde im Gestüt infizieren sich mit *S. equi* in der Regel erstmals im Jungtieralter und weisen danach aktiv erworbene Antikörper auf. Dies bestätigen die in der vorliegenden Arbeit erfassten serologischen Ergebnisse ungeimpfter Pferde verschiedener Altersgruppen. Nach Angabe von Hamlen et al. (1994) entwickeln 75 % der Pferde post infectionem eine belastbare Immunität. Dieser Wert übertrifft die Angabe des Herstellers bezüglich der zu erwartenden Schutzwirkung nach Vakzination mit Equilis® StrepE. Da manifeste Reinfektionen in der Regel milde verlaufen (SWEENEY et al. 2005) und zumeist einen guten Immunschutz hinterlassen (TIMONEY 1993), stellt das in diesem Bestand bisher praktizierte Abwarten der passiven Durchseuchung eine, der Anwendung dieser Vakzine überlegene, Alternative dar. Eine zwingende Indikation zum Einsatz eines Druseimpfstoffes besteht im Gestüt aus epizootiologischer und klinischer Sicht somit nicht. Zudem kann in dem untersuchten Pferdebestand den *S. equi*-Infektionen kein hohes Schadensaufkommen zugeordnet werden. Trotzdem muss den in diesem Betrieb üblichen allgemeinhygienischen



und prophylaktischen Maßnahmen zur Vermeidung und Erkennung von Infektionskrankung, insbesondere bei Fohlen, stets eine große Beachtung zukommen.

Der vom Hersteller angegebene Impfschutz von 50 % sowie die nur dreimonatige Dauer der belastbaren Immunität müssen anhand der in der Impfpraxis an eine Vazine gestellten Anforderungen als zu gering erachtet werden. Aufgrund des hohen Impfaufwandes, der geringen Schutzwirkung, des Risikos postvakzinaler Impferkrankungen und Impfschäden sowie den häufigen Impfreaktionen kann Equilis® StrepE in der geprüften Form nicht für eine breite, präventive Anwendung in der Pferdepraxis empfohlen werden.

## 6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Verträglichkeit und Wirksamkeit der Druse-Lebendvakzine Equilis® StrepE (Intervet International, Boxmeer, Niederlande) an trächtigen und laktierenden Stuten sowie an Absetzfohlen unter den Feldbedingungen eines Gestütsbetriebes untersucht.

Die Prüfung der Vakzine an tragenden und laktierenden Stuten erfolgte als Placebo-kontrollierte Untersuchung an insgesamt 30 Stuten der Rassen Deutsches Warmblut und Arabisches Vollblut (drei bis 17 Jahre alt), von denen 21 die Vakzine und neun ein Placebo appliziert erhielten. Die Stuten befanden sich zum Zeitpunkt der Erstimpfung im dritten bis zehnten Trächtigkeitsmonat.

Ziel des Versuches war die Untersuchung der Wirksamkeit der Impfung, der allgemeinen und lokalen Verträglichkeit der Vakzine sowie deren mögliche Auswirkungen bezüglich des Reproduktionsgeschehens und der Laktation. Weiter wurde die passive Übertragung maternaler Impfantikörper sowie deren Persistenz bei den Fohlen untersucht.

Die Prüfung der Wirksamkeit erfolgte durch die Untersuchung der M-Protein-spezifischen Serumantikörperantwort. Zur Untersuchung des passiven Antikörpertransfers sowie der Persistenz maternaler SeM-spezifischer Antikörper wurden die Seren der Saugfohlen der im Versuch befindlichen Stuten prä- und postkolostral mit derselben Technik untersucht.

Die Verträglichkeitsprüfung erfolgte durch die Beurteilung der Injektionsstelle und durch regelmäßige klinische Kontrollen der Probanden. Besonders kontrolliert wurden Gravidität, Geburtsverlauf und Zustand der Neonaten. Während der Laktation wurden die Stuten, ihre Gesäuge und die Saugfohlen sorgfältig klinisch überwacht.

Die Untersuchung der Wirksamkeit und der allgemeinen und lokalen Verträglichkeit der Vakzine bei Absetzfohlen erfolgte an 54 Fohlen der Rassen Deutsches Warmblut und Arabisches Vollblut im Alter von vier bis sieben Monaten. Zusätzlich wurde die Auswirkung der Immunisierung der Absetzfohlen bezüglich des Auftretens von respiratorischen Erkrankungen in der frühen Aufzuchtphase mit nicht geimpften Herden von Absetzfohlen verglichen. Dies diente auch den damit verbundenen Untersuchungen zur Epizootiologie der Streptokokkeninfektionen im Gestüt.

Die in der vorliegenden Untersuchung erarbeiteten Ergebnisse lassen folgende Schlüsse zu:

- Die lokale und allgemeine Verträglichkeit bei Stuten und Fohlen entsprach im Großen und Ganzen den Herstellerangaben. Unseres Erachtens sind die nach etwa 15 % der Impfungen aufgetretenen lokalen, z.T. schweren Entzündungsreaktionen zu hoch und entsprechen nicht den Anforderungen an eine praxisreife Vakzine.
- Die von anderen Autoren beschriebenen Sicherheitsbedenken (KEMP-SYMONDS et al. 2007) und möglichen Impfschäden (SWEENEY et al. 2005; TIMONEY 2007) müssen bei der Anwendung dieser Vakzine bedacht werden. Aufbauend auf den in

unseren Untersuchungen ermittelten serologischen Ergebnissen ist insbesondere ein Risiko für eine impfinduzierte Purpura haemorrhagica (SWEENEY et al. 2005) nicht auszuschließen. Speziell die Impfpfehlungen des Herstellers mit den häufigen Revakzinationen in kurzen Impfintervallen von zwölf Wochen könnten dazu beitragen.

- Die serologischen Ergebnisse sprechen dafür, dass entgegen der vom Hersteller empfohlenen Revakzination in zwölfwöchigen Abständen, Wiederholungsimpfungen in sechsmonatigen Intervallen vorzuziehen sind. Zum einen reduziert man dadurch das Risiko immunvermittelter Impfschäden, zum anderen persistieren die durch Impfung erreichbaren SeM-spezifischen Serumtiter über sechs Monate auf einem gleichbleibend hohen Niveau.
- Die Verträglichkeit der Vakzine bezüglich des Reproduktionsgeschehens und der Laktation ist nach den vorliegenden Versuchsergebnissen als gut zu bezeichnen.
- Die Anwendung der Vakzine bei tragenden und laktierenden Stuten hatte eine Stimulation der Bildung von Serumantikörpern zur Folge, die sich auch in den passiv erworbenen SeM- Titern der Saugfohlen niederschlägt.
- Saugfohlen profitieren von der Immunisierung der hochträchtigen Stute mit Equilis® StrepE. Eine Persistenz maternaler SeM-spezifischer Serumantikörper in den Fohlen aus geimpften Mutterstuten konnte mindestens bis zum Ende des vierten Lebensmonates nachgewiesen werden.
- Die Impfung von Absetzfohlen mit Equilis® StrepE induzierte keine messbaren humoralen Antikörper und erbrachte in den untersuchten Fohlenherden keine feststellbare Verbesserung der Krankheitssituation infolge bakterieller Atemwegsinfektionen. Damit konnte eine Wirksamkeit der eingesetzten Impfstoffcharge bei Absetzfohlen nicht bestätigt werden.

Aufgrund des hohen Impfaufwandes, der laut Hersteller zeitlich begrenzten Immunität von drei Monaten, der Risiken hinsichtlich möglicher postvakzinaler Impferkrankungen und Impfschäden, der häufigen Impfreaktionen und der geringen Schutzwirkung kann Equilis® StrepE in der geprüften Form nicht für eine breite, präventive Anwendung in der Pferdepraxis empfohlen werden.

Weitergehende Untersuchungen zur Charakterisierung der im Rahmen einer *S. equi* - Infektion induzierten, komplexen immunologischen Vorgänge sowie die Erforschung neuer Methoden, diese effektiv zu stimulieren, sind für die Entwicklung eines brauchbaren Druseimpfstoffes unerlässlich. Zur sicheren und wirkungsvollen Präventive der Druse werden Impfstoffe mit besserer und länger vorhaltender Schutzwirkung sowie einem höheren Sicherheitsprofil benötigt.

## 7 Summary

### **Investigations towards the efficacy and compatibility of a live strangles vaccine - Equilis® StrepE (Intervet International, Boxmeer, the Netherlands) - on pregnant and lactating mares as well as weaned foals**

This study investigates the compatibility and efficacy of the live strangles vaccine Equilis® StrepE (Intervet International, Boxmeer, the Netherlands) on pregnant mares, lactating mares and weaned foals under field conditions on a stud farm.

The vaccine was tested on thirty pregnant and lactating mares (German warm-blooded and Arabian thoroughbred) between three and seventeen years of age, in a placebo controlled study. Twenty-one of these were treated with the product under test and nine were given a placebo. These mares were pregnant between three and ten months at the time of the first vaccination.

The study investigates in particular the efficacy, the systemic and local compatibility as well as possible effects of vaccination on both reproduction and lactation. The passive transfer of maternal vaccine antibodies and their persistence in the foals has also been investigated.

The efficacy was tested by investigating the M-protein specific serum antibody response. In order to examine the passive transfer of antibodies the SeM-specific serum antibodies of the suckling foals of the mares tested were controlled using identical procedures.

The compatibility was tested by examining the site of the injection and by regular clinical controls of the probands. Pregnancy, parturition and the health condition of the newborn were subject to special supervision. Gravidity, the process of parturition and the condition of the new-born foals were subject to special supervision. During lactation, the mares, their udders and the suckling foals were clinically controlled.

Fifty-four foals, both German warm-blood and Arabian thoroughbred, at an age between four and seven months, were examined to test the efficacy and the systemic and local compatibility of the vaccine. In addition, the efficacy of the immunisation of weaned foals against respiratory diseases in the early rearing time was compared with herds of unvaccinated foals.

Results:

- Local and systemic compatibility with mares and foals agreed with the details given by the manufacturer. In our opinion the observed local inflammatory reactions, some of these quite severe, in about 15 % of vaccinations are not ideal and clearly show that the vaccine at the tested form has to be improved.
- When this vaccine is used the problems described by Kemp-Symonds et al. (2007), Sweeney et al. (2005) as well as Timoney (2007) should be taken into consideration. On the basis of the investigations carried out in the context of this study concerning

serological issues the risk of purpura haemorrhagica (SWEENEY et al. 2005) resulting from vaccination can not be excluded. In our view this risk could be attributed to the recommendations of the manufacturer for revaccination after twelve weeks.

- Our data suggest that contrary to the recommendation by the manufacturer of vaccination intervals of twelve weeks, revaccination intervals of six months are preferable. Thereby the risk of immune-mediated vaccination complications can be avoided on the one hand; on the other hand, SeM-specific serum titres achieved by vaccination persist on a high level for this time.
- The vaccine didn't show any negative effects with pregnant and lactating mares as to reproduction and lactation. Thus Equilis<sup>®</sup> StrepE seems to be compatible.
- The application of the vaccine with pregnant and lactating mares stimulated a serum antibody response. Foals of vaccinated mares had higher titres of SeM-specific IgG.
- The persistence of maternal SeM-specific serum antibodies in foals of mares vaccinated shortly before parturition will hold until at least the end of the fourth month of life.
- Vaccination of weaned foals with Equilis<sup>®</sup> StrepE failed to produce a measurable systemic, solid immunity and didn't lead to a notable improvement of the disease processes of respiratory bacterial infections with the herd of foals tested in this study. Therefore the efficacy of the vaccine batch used could not be confirmed.

Because of high efforts involved in vaccination, the only three-months duration of immunity, the safety issues, the frequent local vaccination reactions and the poor efficacy, a general use of Equilis<sup>®</sup> StrepE as tested form can not be recommended as a preventive measure.

In order to develop an effective strangles vaccine, further studies into the complex immunological processes concerning *S. equi* infections as well as the exploration of new methods to stimulate them in an effective way, are necessary. Safe vaccines offering a better and longer protection as well as a greater safety-profile are needed to prevent strangles.

## 8 Literaturverzeichnis

- Alber, G. (2000): Immunologie. In: Ribbeck, R. und Wiesner, E. (Hrsg.): Lexikon der Veterinärmedizin. Enke Verlag Stuttgart 2000.
- Ames, T.R. (1995): Infectious conditions of the respiratory system: strangles. In: Kobluk (Eds.): The Horse, Diseases and Clinical Management, Verlag Saunders, Philadelphia, London. 220-222.
- Amyes, S.G. (2007): Enterococci and Streptococci; *Int. J. Antimicrob. Agents May 2007*, 43-52.
- Anzai, T., Sheoran, A.S., Kuwamoto, Y., Kondo, T., Wada, R., Inoue, T. and Timoney, J.F. (1999a): *Streptococcus equi* but not *Streptococcus zooepidemicus* produces potent mitogenic responses from equine peripheral blood mononuclear cells. *Vet. Immun. Immunopath.* 67, 235-246.
- Anzai, T., Timoney, J.F., Kuwamoto, T., Fujita, Y., Wada, R. and Inoue, T. (1999b): In vivo pathogenicity, resistance to phagocytosis of *Streptococcus equi* strains with different levels of capsule expression. *Vet. Microbiol.* 67, 277-286.
- Artiushin, S.C., Timoney, J.F., Sheoran, A.S. and Muthupalani, S.K. (2002): Characterization immunogenicity of pyrogenic mitogens SePE-H, SePE-I of *Streptococcus equi*. *Microbiol. Pathog.* 32, 71-85.
- Aurich, J.E. (2005a): Geburtshilfe. In: Aurich, C. (Hrsg.): Reproduktionsmedizin beim Pferd. Parey Verlag, Stuttgart 2005, 175.
- Aurich, J.E. (2005b): Erkrankungen der Milchdrüse. In: Aurich, C. (Hrsg.): Reproduktionsmedizin beim Pferd. Parey Verlag, Stuttgart 2005, 225.
- Barber, S.M. (1991): Diseases of the guttural pouches. In: Colahan, P.T., Mayhew, I.G., Meritt, A.M. and Moore, J.N. (Eds.): Equine Medicine and Surgery. 4. Ed., Vol I. Americ. Vet. Public., Goleta, 402-410.
- Bazeley, P.L. (1940a): Studies with equine streptococci. 1. A survey of beta-hemolytic streptococci in equine infections. *Australian Vet. J.* 16, 140-146.
- Bazeley, P.L. (1940b): Studies with equine streptococci. 2. Experimental immunity to *S. equi*; *Australian Vet. J.* 16, 243-259.
- Bazeley, P.L. (1942a): Studies with equine streptococci: 3. Vaccination against strangles. *Australian Vet. J.* 18, 141-155.
- Bazeley, P.L. (1942b): Studies with equine streptococci. 4. Cross-immunity to *S. equi*. *Australian Vet. J.* 18, 189-194.
- Bazeley, P.L. (1943): Studies with equine streptococci. 5. Some relations between virulence of *S. equi* and the immune response in the host. *Australian Vet. J.* 19, 62-85.
- Bazeley, P.L., Baldwin, S., Dickson, H. and Thayer, J.R. (1949): The keeping qualities of strangles vaccine. *Australian Vet. J.* 25, 130-133.

- Beech, J. and Sweeney, C.R. (1991): Streptococcal infections. In: Beech, J. (Ed.): equine respiratory disorders, 181-187, Verlag Lea Febiger, Philadelphia.
- Blood, D.C. and Radosits, O.M. (1989): Strangles. In: Blood, D.C., Radosits, O.M. and Henderson, J.A. (Eds.): Veterinary Medicine, 7<sup>th</sup> edition, 562-565. Verlag Bailliere Tindall, London.
- Bollwein, H. (2005): Störungen der Trächtigkeit. In: Aurich, C. (Hrsg.): Reproduktionsmedizin beim Pferd. Parey Verlag, Stuttgart 2005, 155-172.
- Bone, J.F., Catcott, E.J., Gabel, A.A., Johnson, L.E. and Riley, W.F. (1963): Strangles (equine distemper). In: Equine Medicine and Surgery, 1. Ed., Am. Vet. Publications, Wheaton, Illinois, 173.
- Borchers, K., Thein, P. and Sterner-Kock, A. (2006): Pathogenesis of equine herpesvirus-associated neurological disease: a revised explanation. *Equi. Vet. J.* 38 (3), 283-287.
- Boschwitz, J.S. and Timoney, J.F. (1994a): Characterization of the antiphagocytic activity of equine fibrinogen for *Streptococcus equi* spp. *equi*. *Microbiol. Pathogenesis* 17, 121-129.
- Boschwitz, J.S. and Timoney, J.F. (1994b): Inhibition of C<sup>3</sup> deposition on *Streptococcus equi* ssp. *equi* by M protein: a mechanism for survival in equine blood. *Infect. Immun.* 62, 3515-3520.
- Bostedt, H. und Thein, P. (1990): Fohlenkrankheiten. In: Walser, K. und Bostedt, H. (Hrsg.): Neugeborenen- und Säuglingskunde der Tiere. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1990), 156- 158.
- Breiman, R.F. and Silverblatt, F.J. (1986): Systemic *Streptococcus equi* infection in a horse handler - A case of human strangles. *West J. Med.* 145, 385-386.
- Breuer, D. (1978): Diagnose und Therapie der Luftsackerkrankungen des Pferdes. *Prakt. Tierarzt* 4, 295-300.
- Bryans, J.T. and Moore, B.O. (1972): Group C streptococcal infections of the horse. In: Wannamaker, L.W. and Matsen, J.M. (Eds.): Streptococcus and Streptococcal Diseases. Verlag Academic Press, New York, London. 327-338.
- Bryant, S., Brown, K.K., Lewis, S., Stewart, R.C. and Parizek, R. (1985): Protection against strangles with an enzymatic *Streptococcus equi* extract. *Vet. Medicine* 80, 58-70.
- Burton, S.C., Hintz, H.F., Kemen, M.J. and Holmes, D.F. (1980): Lyophilized hyperimmune equine serum as a source of antibodies for neonatal foals. *Am. J. Res.* 42, 308-310.
- Busch, W. (2005): Fortpflanzungsstörungen bei der Stute. In: Dietz, O. und Huskamp, B. (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis. Enke Verlag Stuttgart, 3. Auflage. 590-598.

- Carr, A., Sledjiski, D.D., Podbielski, A., Boyle, M.D.P. and Kreikemeyer, B. (2001): Similarities between complement-mediated and streptolysin-mediated hemolysis. *J. Biol. Chem.* 276, 41790-41796.
- Carter, G.R. and Wise, J.W. (2004): Genus *Streptococcus*. In: Carter, G.R. and Wise, J.W (Eds.): *Essentials of vet. bacteriology and mycology*. 6. ed.; Iowa State Press, Iowa, USA, 183-188.
- Chanter, N., Collin, N. and Holmes, N. (1997): Characterization of the Lancefield group C streptococcus 16S-23S RNA gene intergenic spacer and its potential for identification and sub-specific typing. *Epidemiol. Infect.* 118, 125-135.
- Chanter, N., Harrington, D.J. and Sutclif, I.C., (2002): The molecular basis of *Streptococcus equi* infection and disease. *Microbes. Infect.* 4, 501-10.
- Chanter, N., Newton, J.R., Wood, J.L.N., Verhezen, K. and Hannant, D. (1998): Detection of strangles carriers. *Vet. Rec.* 142, 496.
- Chanter, N., Talbot, N.C., Newton, J.R., Hewson, D. and Verhozen, K. (2000): *Streptococcus equi* with truncated M-proteins isolated from outwardly healthy horses. *Microbiology* 146, 1361-1369.
- Clabough, D. (1987): *Streptococcus equi* infection in the horse: A review of clinical and immunological considerations. *Equine Veterinary Science* 7, 279-283.
- Cohrs, P. (1941): Die Druse des Pferdes im Lichte der neueren Forschung. *Berlin. München. Tierärztl. Wochenschrift* 5, 49-52.
- Crawford, T.B. and Perryman, L.E. (1980). Diagnosis and treatment of failure of passive transfer in the foal. *Equi. Pract.* 2, 17-23.
- D'Alessandry, B., Plotkin, G., Kluge, B.M., Wittner, M.K., Fox, E.N., Dorfman, A. and Waldman, B.A. (1978): Protective studies with group A streptococcal M protein vaccine. *J. Infect. Dis.* 138, 712-718.
- Dixon, P.M., Railton, D.I., MCGorum, B.C. and Tothill, S. (1995): Equine pulmonary disease: A case control study of 300 referred cases. Part 4: Treatments and re-examination findings. *Equi. Vet. J.* 27, 436-439.
- Dorssen, van C.A. (1939): Over de aetiologie van den goedaardigen Droes. *Tijdschr. Diergeneesk.* 66, 716-730.
- Ebert, E.F. (1969): Some observations on equine strangles. *Vet. Med. / Small Anim. Clin.* 64, 71-73.
- Edmonds, J.D., Horohov, D.W., Chapman, M.R. and Pourciau, M.R. (2001): Altered immune response to a heterologues protein in ponies with heavy gastrointestinal parasite burdens. *Equi. Vet. J.* 33, 658-63.
- EMA - European Medicines Agency (Veterinary Medicines and Inspections) (2004); Equilis StrepE. EMA/CVMP/533/04. 1-17. ([www.emea.eu.int](http://www.emea.eu.int)) (letzte Aktualisierung: Januar 2005; Abrufdatum: 16.3.07).



- Emmert, M. (2000): Sterilität und Zuchthygiene, Geburtskunde, Neonatologie. In: Ribbeck, R. und Wiesner, E. (Hrsg.): Lexikon der Veterinärmedizin, Enke Verlag Stuttgart 2000.
- Engelbrecht, H. (1969): Vaccination against strangles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 425-427.
- Ensink, J.M., Smit, J.A. and van Duijkeren, E. (2003): Clinical efficacy of trimethoprim/sulfadiazine and procaine penicillin G in a *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* infection model in ponies. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26, 247-252.
- Erickson, E.D. and Norcross, N.L. (1975): The cell surface antigens of *Streptococcus equi*. *Can. J. comp. Med.* 39, 110-115.
- Euzéby, J.P. (2004): *Streptococcus equi*; Dictionnaire Bacteriologie Veterinaire; <http://www.bacterio.cict.fr> (letzte Aktualisierung: 22. November 2004; Abrufdatum: 14.10.07).
- Evers, W.D. (1968): Effect of furaltadone on strangles in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 152, 1394-1398.
- Fallon, E.H. (1969): The clinical aspects of streptococcic infections of horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 413-415.
- Fenger, C.K. and Kohn, C.W. (1992): Tracheal obstruction from tracheal collapse associated with pneumonia in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200, 1698-1700.
- Fernandez, E., Blume, V., Garrido, P., Collins, M.D., Mateos, A., Dominguez, L., and Fernandez-Garayzabal, J.F. (2004): *Streptococcus equi* spp. ruminantium isolated from mastitis in small ruminants. *Int. J. System. Evol. Microbiol.* 54, 2291-2296.
- Fey, K. und Schmid, P. (1995): Susceptibility of bacterial isolates from the equine respiratory tract to trimethoprim, sulfadoxine, sulfadimethoxine and combinations of these compounds. *Tierärztliche Praxis* (23) 2. 148-54.
- Fey, K. und Verter, W. (2005): Rhinitis. In: Dietz, O. und Huskamp, B. (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis. Enke Verlag Stuttgart, 3. Auflage. 309.
- Finno, C., Pusterla, N., Aleman, M., Mohr, F.C., Price, T., George, J. and Holmberg, T. (2006): *Streptococcus equi* meningoencephalomyelitis in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 721-724.
- Flanagan, J., Collin, N., Timoney, J., Mitchell, T., Mumford, J.A. and Chanter, N. (1998): Characterization of the haemolytic activity of *Streptococcus equi*. *Microb. Pathog.* 24, 211-221.
- Ford, J. and Lokai, M.D. (1980): Complications of *Streptococcus equi* infection. *Equine Practice* 2: 41-44.

- Foreman, J.H. (1987): Equine respiratory pharmacology. In: *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 3, 665-669.
- Galán, J.E. and Timoney, J.F. (1985a): Immune complexes in purpura hemorrhagica of the horse contain IgA and M antigen of *Streptococcus equi*. *J. Immunol.* 135, 3134-3137.
- Galán, J.E. and Timoney, J.F. (1985b): Mucosal nasopharyngeal immune response of the horse to protein antigens of *Streptococcus equi*. *Infect. Immun.* 47, 623-628.
- Galán, J.E. and Timoney, J.F. (1987): Molecular analysis of the M protein of *Streptococcus equi* and cloning and expression of the M protein gene in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 55, 3181-3187.
- Galán, J.E. and Timoney J.F. (1988): Immunologic and genetic comparison of *Streptococcus equi* isolates from the United States and Europe. *J. Clin. Microbiol.* 26, 1142-1146.
- Galán, J.E., Timoney, J.F. and Lengemann, F.W. (1986): Passive transfer of mucosal antibody to *Streptococcus equi* in the foal. *Infect. and Immun.* 54, 202-206.
- George, J.L., Reif, J.S., Shideler, R.K., Small, C.J., Ellis, R.P., Snyder, S.P. and McChesney, A.E. (1983): Identification of carriers of *Streptococcus equi* in a naturally infected herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183, 80-84.
- Gerber, H. (1982): Streptokokken-Infektionen. In: Wintzer, H.J. (Hrsg.): Krankheiten des Pferdes. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 51-56.
- Grant, S.T., Efstratiou, A. and Chanter, N. (1993): Laboratory diagnosis of strangles and the isolation of atypical *Streptococcus equi*. *Vet. Rec.* 133, 215-216.
- Gratzl, E. (1933): Das endoskopische Bild des kranken Luftsackes mit besonderer Berücksichtigung der retropharyngealen (Luftsacklymphknoten-) Abszesse und ihre Behandlung. *Arch. wiss. prakt. Tierhk.* 66, 445-484.
- Griini, O. (1948): Studies on hemolytic streptococci, with special regard to their occurrence in pyogenic processes in domestic animals. Mortensen, Veterinærmedicinsk Bogoghandel, København.
- Groschup, M. (1988): Untersuchungen zur Charakterisierung von Säureextrakt-Antigenen von *Streptococcus equi* - Ein Beitrag zur serologischen Diagnostik von *Streptococcus equi* -Infektionen. Justus-Liebig-Universität Gießen, Vet. Med. Dissertation.
- Guirguis, N., Fraser, D.W., Facklam, R.R., El Kholly, A. and Wannamaker, L.W. (1982): Type-specific immunity and pharyngeal acquisition of group A streptococcus. *Am. J. Epidem.* 116, 933-939.
- Hahn, G. (1980): Streptococcus. In: Blobel, H. und Schliesser, T. (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

- Hamlen, H.J., Timoney, J.F. and Bell, R.J. (1994): Epidemiologic and immunologic characteristics of *Streptococcus equi* infection in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204, 768-775.
- Hancke, S. (1931): Die Druse im Remonteamt Weeskenhof vom Jahre 1892 bis 1930, ihre Bekämpfung und Behandlung. *Zeitschrift für Veterinärkunde* 43, 113-124.
- Hardie, J.M. and Whiley, R.A. (1995): The genus streptococcus. In: Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. (Eds.): *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie A&P, Glasgow, UK, 55-124.
- Heath, S.E., Geor, R.J. and Tabel, H. (1991): Unusual patterns of serum antibodies to *Streptococcus equi* in two horses with purpura hemorrhagica. *J. Vet. Intern. Med.* 5, 263-267.
- Hintz, H.F., Hintz, R.L. and Lein, D.H. (1979): Length of gestation periods in thoroughbred mares. *J. Equi. Med. Surg.* 3, 289-292.
- Hoffmann, A.M., Viel, L., Prescott, J. F., Rosendal, S. and Thorsen, J. (1993): Association of microbiologic flora with clinical endoscopic and pulmonary cytologic findings in foals with distal respiratory tract infection. *Am. J. Vet. Res.* 54, 1515-1622.
- Hoffmann, A.M., Staempfli, H.R., Prescott, J.F. and Viel, L. (1991): Field evaluation of a commercial M protein vaccine against *Streptococcus equi* infection in foals. *Am. J. Vet. Res.* 52, 589-595.
- Hutyra, Marek, Manninger, R. und Mócsy, J. (1959): Druse des Pferdes. In: Hutyra, Marek, Manninger, R. und Mócsy, J. (Hrsg.): *Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere*. 1. Band, 11. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Jena (1959). 545-561.
- Intervet; Fachinformation (2005a); Pferdeimpfstoffe - Equilis® StrepE. Produktkatalog (2005) der Firma Intervet, Unterschleißheim (Januar 2005).
- Intervet; Fachinformation (2005b): Druse droht! Vorsorge mit Equilis® StrepE. Produktinformation der Firma Intervet, Unterschleißheim. (711285-D. März 2005 (002) 103) (2005) 2-8.
- Jacks, S., Giguere, S. and Nguyen, A. (2003): In vitro susceptibilities of *Rhodococcus equi* and other common equine pathogens to Azithromycin, Clarithromycin, and 20 other antimicrobials; *Antimicrob. Agents and Chemotherap.* vol 47, no 5, 1742-1745.
- Jacobs, A.A., Goovaerts, D., Nuijten, P.J., Theelen, R.P., Hartford, O.M. and Foster, T.J. (2000): Investigations towards an efficacious and safe strangles vaccine: sub-mucosal vaccination with a live attenuated *S. equi*. *Vet. Rec.* 147 (20), 563-7.

- Jorm, L.R. (1992): Laboratory studies on the survival of *Streptococcus equi subspecies equi* on surfaces. In: Plowright, W., Rossdale, P.D. and Wade, J.F., (Eds.): Proceedings of Equine Infections Diseases VI. Newmarket, UK: R & W Publications Ltd; 39-43.
- Jorm, L.R., Love, D.N., Bailey, C.D., McKay, G.M. and Briscoe, D.A. (1994): Genetic structure of populations of beta-haemolytic Lancefield group C streptococci from horses and their association with disease. *Res. Vet. Sci.* 57, 292-299.
- Judy, C.E., Chaffin, M.K. and Cohen, N.D. (1999): Empyema of the guttural pouch (auditory tube diverticulum) in horses: 91 cases (1977-1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215, 1666-1670.
- Karlson, P. (1984): Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 12. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, 86.
- Keller, H. und Jaeschke, G. (1984): Klinische und Labordiagnostik bakterieller Infektionen der Atmungsorgane des Pferdes. *Prakt. Tierarzt* 65, 565-568.
- Kelly, C., Bugg, M., Robinson, C., Mitchell, Z., Davis-Poynter, N., Newton, J.R., Jolley, K.A., Maiden and M.C. Waller, A.S. (2006): Sequence variation of the SeM gene of *S. equi* allows discrimination of the source of strangles outbreaks. *J. of clinical Microbiology* 44, 480-486.
- Kemp-Symonds, J., Kemble, T. and Waller, A. (2007): Modified live *Streptococcus equi* ("strangles") vaccination followed by clinically adverse reactions associated with bacterial replication. *Equ. Vet. J.* 39 (3), 284-286.
- Knight, A.P., Voss, J.L., McChesney, A.E. and Bigbee, H.G. (1975): Experimentally-induced *Streptococcus equi* infection in horses with resultant guttural pouch empyema. *Vet. Med./ Small Anim. Clin.* 70, 1194-119.
- Köbe, K. (1939): Die Druse des Pferdes. In: Gildemeister, E. (Hrsg.): Handbuch der Viruskrankheiten. Verlag Gustav Fischer, Jena, Band 2, 741-742.
- Koger, L.M. (1967): The equine respiratory disease syndrome in the Pacific Northwest. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 151, 1611-1614.
- Lancefield, R.C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.* 57, 571-595.
- Laus, F., Preziuso, S., Spaterna, A., Beribe, F., Tesei, B. and Cuteri, V. (2007): Clinical and epidemiological investigations of chronic upper respiratory diseases caused by beta-hemolytic streptococci in horses. *Comp. Immunol. Microbiol. Inf. Dis.* (30) 4, 247-60.
- Leemann, W. (1991): Druse des Pferdes. In: Wiesner, E. (Hrsg.): Handlexikon der tierärztlichen Praxis 2, Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, New York.
- Lindmark, H., Jacobson, K., Frykberg, L. and Guss, B. (1996): Fibronectin-binding protein of *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. *Infect. Immun.* 64, 3993-3999.

- Lösch, U., Cihak, J., Erhard, M.H. und Kaspers, B. (2000): Blut und Abwehr. In: Engelhardt, W. und Breves, G. (Hrsg.): Physiologie der Haustiere. Enke Verlag Stuttgart, 208-212.
- Mahaffey, L.W. (1962): Respiratory conditions in horses. *Vet. Rec.* 74, 1295-1304.
- Mair, T.S., Batten, E.H., Stokes, C.R. and Bourne, F.J. (1987): The histological features of the immune system of the equine respiratory. *Comp. Path.* 97, 575-586.
- Mayr, A. (1991): Tiergesundheit. *Tierärztl. Umschau* 46, 3-12.
- Mayr, A. (1993): Körper eigene Abwehr, Bekämpfung von Infektionskrankheiten der Tiere In: Rolle, M. und Mayr, A. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre; Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 6. Auflage, 70-71, 110-117.
- McCoy, H.E., Broder, C.C. and Lottenberg, R. (1991): Streptokinases produced by pathogenic Group C streptococci demonstrate species-specific plasminogen activation. *J. Infect. Dis.* 164, 515-521.
- McDermott, M.R., Befus, A.D. and Bienenstock, J. (1982): The structural basis for immunity in the respiratory tract. *Int. Rev. of Exp. Path.* 23, 47-112.
- McGee, W.R. (1970): The clinical aspect of streptococcal infections of the horse. Proceedings, 2<sup>nd</sup>. Int. Conf. Equine Inf. Dis., Karger Verlag, New York. 227-230.
- Meehan, M., Nowlan, P. and Owen, P. (1998): Characterization of a fibrinogen-binding protein complex which protects mice against lethal challenge with *Streptococcus equi subsp. equi*. *Microbiology* 144, 993-1003.
- Meehan, M., Kelly, S.M., Price, N.C. and Owen, P. (2002): The C-terminal portion of the fibrinogen-binding protein of *Streptococcus equi subsp. equi* contains extensive  $\alpha$ -helical coiled coil structure and contributes to thermal stability. *FEMS Microbiol. Lett.* 206, 81-86.
- Meyer, J.C., Koterba, A., Lester, G. and Purich, B.L. (1992): Bacteremia and pneumonia in a neonatal foal caused by *Streptococcus pneumoniae* type 3. *Equine Vet. J.* 24, 407-410.
- Mukhtar, M.M. and Timoney, J.F. (1988): Chemotactic response of equine polymorphonuclear leucocytes to *Streptococcus equi*. *Res. Vet. Sci.* 45, 225-229.
- Nara, P.L., Krakowka, S., Powers, T.E. and Garg, R.C. (1983): Experimental *Streptococcus equi* infection in the horse: Correlation with in vivo and in vitro immune responses. *Am. J. Vet. Res.* 44, 529-534.
- Nattermann, H. (2005): Druse. In: Dietz, O. und Huskamp, B. (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis. Enke Verlag Stuttgart, 3. Auflage. 709-710.
- Nees, A. (1994): Die Druseerkrankung des Pferdes. Freie Universität Berlin, Vet. Med. Dissertation.

- Newton, J.R., Chanter, N., Talbot, N.C., Verheyen, K. and de Brauwere, M.N. (2000a): Elimination of the guttural pouch infection and inflammation in asymptomatic carriers of *Streptococcus equi*. *Equi. Vet. J.* 32, 527-532.
- Newton, J.R., Chanter, N., Talbot, N.C., Verheyen, Timoney, J.F., Wood, J.L.N. and Lakhani, K.H. (2000b): Control of strangles outbreaks by isolation of guttural pouch carriers identified using PCR and culture of *Streptococcus equi*. *Equine Veterinary Journal* 32, 515-526.
- Newton, J.R., Waller, A. and King, A. (2005): Investigation of suspected adverse reactions following strangles vaccination in horses. *Vet. Rec.* 26, 291-292.
- Newton, J.R., Wood, J.L.N., Dunn, K.A., De Brauwere, M.N. and Chanter, N. (1997): Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. *Vet. Rec.* 140, 84-90.
- Nowicki, S.T., Minning-Wenz, D., Johnston, K.H. and Lottenberg, R. (1994): Characterization of a novel streptokinase produced by *Streptococcus equisimilis* of non-human origin. *Thrombosis and Haemostasis* 72, 595-603.
- O'Dea, J.C. (1969): Comments on vaccination against strangles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 427-431.
- Oikawa, M., Kamada, M., Yoshikawa, Y. and Yoshikawa, T. (1994): Pathology of equine pneumonia associated with transport and isolation of *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. *J. Comp. Pathol.* 111, 205-212.
- Perryman, L.E., McGuire, T.C. and Torbeck, R.L. (1980): Ontogeny of lymphocyte function in the equine foetus. *Am. J. Vet. Res.* 41, 1197-1200.
- Piché, C.A. (1984): Clinical observations on an outbreak of strangles. *Can. Vet. J.* 25, 7-11.
- Polly, S., Waldman, B.H., High, P., Wittner, M.K., Dorfman, A. and Fox, E.N. (1975): Protective studies with a group A streptococcal M protein vaccine. *J. Infect. Dis.* 131, 217-224.
- Prescott, F., Srivastava, S.K., deGannes, R. and Barnum D.A. (1982): A mild form of strangles caused by an atypical *Streptococcus equi*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180, 293-294.
- Pusterla, N., Watson, J.L. and Affolter, V.K. (2003): Purpura haemorrhagica in 53 horses. *Vet. Rec.* 153, 118-121.
- Pusterla, N., Whitcomb, M.B. and Wilson, W.D. (2007): Internal abdominal abscesses caused by *S. equi* in 10 horses. *Vet. Rec.* 160, 589-592.
- Ragni-Alunni, R., Jacobs, A.A. and Theelen, R.P. (2005): Efficacia del ceppo vaccinale *Streptococcus equi TW928* a fronte di un focolaio di adenite equina. Società Italiana Veterinari per Equini (SIVE), 11. Congresso Nazionale Multisala, Pisa 2005, ([www.sive.it](http://www.sive.it)) (Abrufdatum: 10.08.07).

- Raphel, C.F. (1982): Brain abscess in three horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180, 874-877.
- Reif, J.S. (1979): Epidemiology of equine infectious respiratory disease. *Vet. Clin. of North Am., Large Anim. Pract.* 1, 3-15.
- Reif, J.S., George, J.L. and Shideler, R.K. (1981): Recent developments in strangles research: Observations on the carrier state and evaluation of a new vaccine. Proceedings of the 27<sup>th</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, New Orleans, LA, Verlag AAEP, Lexington, KY.
- Richters, C.E. (1929): Beiträge zur Erforschung und Bekämpfung der Druse der Pferde. *Zeitschrift für Veterinärkunde* 41, 137-169.
- Richters, C.E. (1930): Neue Ergebnisse auf dem Gebiet der Erforschung und Bekämpfung der Druse der Pferde. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 42, 793-796.
- Richters, C.E. (1935): Das Vorkommen echter Diphtheriebazillen bei der Druse der Pferde. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 47, 401-406.
- Rooney, J.R. (1979): Sequela to strangles. *Mod. Vet. Practice* 60, 463-464.
- Rossdale, P.D. and Ricketts, S.W. (1980): Equine stud farm medicine. 2<sup>nd</sup> Ed., Bailliere Tindil, London (1980), 195-213.
- Samuel, C.A., Allen, W.R. and Steven, D.H. (1976): Studies on the equine placental barrier. *J. Repr. Fert.* 48, 257- 264.
- Sand, G. und Jensen, C.O. (1888): Die Aetiologie der Druse. *Deutsche Zeitschrift f. Tiermedizin u. vergl. Pathologie. Bd. XIII*; 437-465.
- Sarnowski, von, K. (1927): Atypische Drusefälle. *Dt. tierärztl. Wochenschrift* 35, 863-866.
- Sauer, P., Andrew, S.E. Gelatt, K.N. and Deni, H.M. (2003): Changes in antibiotic resistance in equine bact. ulcerative keratitis (1991-2000) in 65 horses. *Vet. Ophthalmic* 6 (4), 309-13.
- Schuberth, H.J. und Leibold, W. (1996): Die postnatale Entwicklung immunologischer Kompetenz und Reaktionen von Pferden. *Pferdeheilkunde* 12 (3), 205-208.
- Schütz, J. W. (1888): Der Streptococcus der Druse der Pferde. *Archiv für Wissenschaftl. und Praktische Thierheilkunde. Bd. 14*; 172-218.
- Selbitz, H.J. (2002): *Streptococcus equi equi*. In: Mayr, A. und Rolle, M. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 7. Auflage. 512-517.
- Sheoran, A.S., Sponseller, B.T., Holmes, M.A. and Timoney, J.F. (1997): Serum and mucosal antibody isotype responses to M-like protein (SeM) of *Streptococcus equi* in convalescent and vaccinated horses, *Vet. Immunol. Immunopathol.* 59, 239-251.
- Sheoran, A.S., Timoney, J.F., Holmes, M.A., Karzenski, S.S. and Crisman, M.V. (2000): Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses. *A. J. V. R., Vol. 61 (9)*, 1099-1105.

- Sherman, J.M. (1937): The streptococci. *Bacteriol. Rev.* 1, 1-97.
- Smith, F. (1919): The early history of veterinary literature and its british development, I, Verlag Bailliere, Tindall and Cox, London.
- Smith, F. (1924): The early history of veterinary literature and its british development, II, Verlag Bailliere, Tindall and Cox, London.
- Smith, H. (1994): Reactions to strangles vaccination. *Australian Vet. J.* 71, 257-258.
- Sonea, I.M. (1987): Strangles. In: Robinson, N.E. (Ed.): Current Therapy in Equine Medicine 2, Verlag Saunders, Philadelphia, London, Toronto, 590-592.
- Songer, J.G. and Post, K.W. (2004): Streptococci. In: Songer, J.G. and Post K.W. (Eds.): Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Diseases. Elsevier Saunderse Verlag, 2004, 46-49.
- Spanier, J. and Timoney, J.F. (1977): Bacteriophages of *Streptococcus equi*. *J. Gen. Virol.* 35, 369-375.
- Spoormakers, T.J., Ensink, J.M. and Goehring, L.S. (2003): Brain abscesses as a metastatic manifestation of strangles: Symptomatology and the use of magnetic resonance imaging as a diagnostic aid. *Equi. Vet. J.* 35, 146-151.
- Srivastava, S.K. and Barnum, D.A. (1981): The serological response of foals to vaccination against strangles. *Can. J. Comp. Med.* 45, 20-25.
- Srivastava, S.K. and Barnum, D.A. (1982): Lymphocyte stimulation response in horses against Phytohaemagglutinin and M protein of *Streptococcus equi*. *Can. J. Comp. Med.* 46, 51-56.
- Srivastava, S.K. and Barnum, D.A. (1983): Vaccination of pony foals with M-like protein of *Streptococcus equi*. *Am. J. Vet. Res.* 44, 41-45.
- Srivastava, S.K. and Barnum, D.A. (1985): Studies on the immunogenicity of *Streptococcus equi* vaccines in foals. *Can. J. Comp. Med.* 49, 351-356.
- Srivastava, S.K., Barnum, D.A. and Prescott, J.F. (1985): Production and biologic properties of M protein of *Streptococcus equi*. *Res. Vet. Sci.* 38, 184-188.
- Sweeney, C.R., Benson, C.E., Whitlock, R.H., Meirs, D., Barningham, S. and Whitehead, S. (1987a): *Streptococcus equi* infection in horses. Continuing Education Article 5/6 *Compend. cont. education practice veter.* 9, 689-695/845-851.
- Sweeney, C.R., Benson, C.E., Whitlock, R.H., Meirs, D., Barningham, S., Whitehead, S. and Cohen, D. (1989): Description of an epizootic and persistence of *Streptococcus equi* infections in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 194, 1281-1283.
- Sweeney, C.R., Timoney, J.F., Newton, J.R. and Hines, M.T. (2005): *Streptococcus equi* infections in horses: guidelines for treatment, control, and prevention of strangles. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 123-134.



- Sweeney, C.R., Withlock, R.H. and Meirs, D.A. (1987b): Complications associated with *Streptococcus equi* infection on a horse farm. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191, 1446-1448.
- Takai, S., Anzai, T., Yashiro, H., Jshii, C., Tsubaki, S., Waba, R. and Timoney, J.F. (2000): Detection of DNA restriction fragment polymorphism in *Streptococcus equi*. *Vet. Rec.* 146, 159-161.
- Taylor, F.G.R. (1992): Strangles. In: Robinson, N.E.P. (Ed.): Current therapy in equine medicine 3, 324-326. Verlag Saunders London.
- Thein, P. (1978): Virusinfektionen der Atemwege des Pferdes und Möglichkeiten ihrer Bekämpfung. *Prakt. Tierarzt* (59), 733-40.
- Thein, P. (1979): Experimentelle Untersuchungen über Reoviren beim Pferd. Vorkommen, Verbreitung, Klinik, Pathogenese, Infektketten, Schutzimpfung. Vet. Med. Habilitationsschrift, LMU München.
- Thein, P. (1983): Zur Muttertierschutzimpfung beim Pferd. *Tierärztl. Umschau* 38, 783-90.
- Thein, P. (1996a): Herpesvirusinfektionen des Pferdes. In: Wiesner, E. (Hrsg.): Handlexikon der Tierärztlichen Praxis. Enke Verlag, Stuttgart.
- Thein, P. (1996b): Stress und klinische Folgen beim Pferd. *Vet. Info, Der Informationsdienst für den Tierarzt* 2/1996.
- Thein, P. (1997): Gesundheitsförderung bei Pferden - Schwerpunkte. *Pferdeheilkunde* 13 (2), 135-144.
- Thein, P. (2003): Wie impft man Fohlen richtig? *Tierärztl. Praxis* 31, 231-236.
- Thein, P. (2007): Schutzimpfungen beim Pferd. *Der Praktische Tierarzt* 88 (Suppl. 3), 4-23.
- Thein, P. und Essich, G. (1993): Untersuchungen von Fohlenerkrankungen und Fohlenverlusten. *Tierärztl. Praxis* 21, 233-38.
- Thein, P., Essich, G., Grunmach, J. und Abar, B. (1989); Grundlagen und Kontrolle des Immunstatus beim Saugfohlen. *Prakt. Tierarzt* 70, 15-28.
- Thein, P., Essich, G. und Röhm, A. (2005): Fohlenerkrankungen und Fohlenverluste. *Tierärztl. Umschau* 60, 115-27.
- Thein, P., Essich, G. und Schulze-Hockenbeck, W. (1983): Zur Ätiologie von Fohlenerkrankungen. *Tierärztl. Umschau* 38, 239-50.
- Timoney, J.F. (1986): Characteristics of an R antigen common to *Streptococcus equi equi* and *zooepidemicus*. *Cornell Vet.* 76, 49-60.
- Timoney, J.F. (1988a): Shedding and maintenance of *Streptococcus equi* in typical and atypical strangles. In: Powell, D.G. (Ed.): Proceedings of the 5th International Conference on Equine Infectious Diseases, Lexington, KY, Verlag University of Kentucky Press, Lexington, 28-33.
- Timoney, J.F. (1988b): Protecting against strangles: a contemporary view. *Equine Vet. J.* 20, 392-396.

- Timoney, J.F. (1991): The role of *S. equi* spp. *zooepidemicus* in lower respiratory tract infection in foals. *Equi. Infect. Dis.* 4, 79.
- Timoney, J.F. (1993): Strangles. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 9, 365-374.
- Timoney, J.F. (1997): Serology of streptococcus infection: uses and limitations. *Equine Disease Quarterly* 5, 2-3.
- Timoney, J.F. (2004a): The pathogenic equine *streptococci*. *Vet. Rec.* 35, 397-409.
- Timoney, J.F. (2004b): Streptococci. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals. Gyles, C.I., Prescott, J.F., Songer, J.G. and Thoen, C.O. (Eds.): 3. Ed. Blackwell Verlag Ames, Iowa (USA), 27-31.
- Timoney, J.F. (2007): Strangles vaccines in trouble again. *Equi. Vet. J.* 39 (3), 196.
- Timoney, J.F. and Artiushin, S.C. (1997): Detection of *Streptococcus equi* in equine nasal swabs and washes by DNA amplification. *Vet. Rec.* 141, 446-447.
- Timoney, J.F. and Eggers, D.E. (1985): Serum bactericidal responses to *Streptococcus equi* of horses following infection or vaccination. *Equi. Vet. J.* 17, 306-310.
- Timoney, J.F. and Galán, J.E. (1985): The immune response of the horse to an avirulent strain of *Streptococcus equi*. In: Kimura, Y., Kotami, S. and Shiokawa, Y. (Eds.): Streptococcal Diseases, Verlag Reedbooks, Bracknell, UK, 294-295.
- Timoney, J.F. and Mukhtar, M.M. (1993): The protective M proteins of the equine group C streptococci. *Vet. Microbiol.* 37, 389-395.
- Timoney, J.F., Pesante, L. and Ernst, C. (1982): Hyaluronidase associated with a temperate bacteriophage of *Streptococcus equi*. In: Schlessinger, D. (Ed.): Microbiology, 145-146, American Society for Microbiology, Washington.
- Timoney, J.F., Timoney, P.J. and Strickland, K.L. (1984): Lysogeny and the immunologically reactive proteins of *Streptococcus equi*. *Vet. Rec.* 115, 148-149.
- Timoney, J.F. and Trachman, J.E. (1985): Immunologically reactive proteins of *Streptococcus equi*. *Infection and Immunity* 48, 29-34.
- Timoney, J.F., Wang, J., Artiushin, S., Sheoran, A., Nally, J. and Kumar, P. (2000): Virulence and immunogenicity of clone of *Streptococcus equi* in which expression of SeM is blocked by Tn916 mutagenesis. In: Martin, D.R. and Tagg, J.R., (Eds.): Streptococci, Streptococcal Diseases XIV. New Zealand: Lancefield International Symposium on Streptococci, Streptococcal Diseases, 699-702.
- Tizard, I.R. (1981): in Tizard, I.R. (Ed.): Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg (1981).
- Todd, T.G. (1910): Strangles. *J. Comp. Path. Therap.* 23, 212-229.
- Trolldenier, H. und Kempf. G. (2000): Zur Resistenz bakterieller Erreger vom Pferd aus bundesweit erfassten Daten und Schlussfolgerungen für die Therapie. *Prakt. Tierarzt* 81 (3), 216-231.

- Valberg, S.J., Bullock, P. and Hogetvedt, W. (1996): Myopathies associated with *Streptococcus equi* infections in horses: *Pro. Am. Asso. Equine Prac.* 42, 292-293.
- Valberg, S.J., Kease, H.J., Hayden, D.W., Wilson, J.H., Charlton, P., Ames, T.R. and Al-Ghamdi, G.M. (2005): Infarctive purpura hemorrhagica in five horses. *J. A. V. M. A., Vol 226 (11)*, 1893-98.
- Verheyen, K., Newton, J.R. and Talbot, N.C. (2000): Elimination of guttural pouch infection and inflammation in asymptomatic carriers of *Streptococcus equi*. *Equi. Vet. J.* 32, 527-532.
- Walker, J.A. and Timoney, J.F. (2002): Construction of a stable non-mucoid deletion mutant of the *Streptococcus equi* Pinnacle vaccine strain. *Vet. Microbiol.* 89, 311-321.
- Waller, A.S. and Jolley, K.A. (2006): Getting a grip on strangles: recent progress towards improved diagnostics and vaccines. *Vet. J. (3)* 173; 492-501.
- Weiss, E. (2007): Blutbildende Organe; Harnorgane In: Dahme, E. und Weiss, E (Hrsg.): Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 6. Auflage 2007, Enke Verlag Stuttgart, 41;190.
- Weiss, E. und Rudolph, R. (1988): Atmungsorgane. In: Dahme, E. und Weiss, E (Hrsg.): Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 4. Auflage, Enke Verlag Stuttgart, 87.
- Wilson, W.D. (1988): *Streptococcus equi* infections (strangles) in horses. *Equine Practice* 10, 12-25.
- Wirth, D. und Diernhofer, K. (1950): Druse des Pferdes. In: Wirth, D. und Diernhofer, K.: (Hrsg.): Lehrbuch der inneren Krankheiten der Haustiere einschließlich der Hautkrankheiten sowie der klinischen Seuchenlehre, Verlag Enke, Stuttgart, 2. Auflage, 992-1000.
- Wissing, E. (1993): Vorkommen von Antikörpern gegen Equine Herpesviren, Influenzaviren, Reoviren, Equines Rhinovirus, Equines Arteritisvirus und *Streptococcus equi spp. equi* in der deutschen Vollblutpopulation; Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn, Landw. Fakultät., Vet. Med. Dissertation.
- Wood, J.C., Burell, M.H., Roberts, C.A., Chanter, N. and Shawn, Y. (1993): Streptococci and Pasteurella subsp. with disease of the equine lower respiratory tract. *Equi. Vet. J.* 25, 314-318.
- Wood, J.L.N., Dunn, K. and Chanter, N. (1993): Persistent infection with *Streptococcus equi* and the epidemiology of strangles. *Vet. Rec.* 133, 375.
- Woolcock, J.B. (1974): Purification and antigenicity of an M-like protein of *Streptococcus equi*. *Infection and Immunity* 10, 116-122.
- Woolcock, J.B. (1975a): Epidemiology of equine streptococci. *Res. Vet. Sci.* 18, 113-114.
- Woolcock, J.B. (1975b): Studies in atypical *Streptococcus equi*. *Res. Vet. Sci.* 19, 115-119.

Woolcock, J.B. (1975c): Immunity to *Streptococcus equi*. *Australian Vet. J.* 51, 554-559.

Yelle, M.T. (1987): Clinical aspects of *Streptococcus equi* infection. *Equi. Vet. J.* 19, 158-162.

Zeller, R. (1976): Altes und Neues über die Drüse des Pferdes. *Prakt. Tierarzt* 58, 44-45.

## 9 Anhang

### 9.1 Tabellen

Legende zu den Tabb. 46-53 bezüglich der klinischen Auffälligkeiten der Absetzfohlen:

Symbol	Bedeutung
A	Abszess
B	Behandlung
E	eitrige Entzündung
Fi	Fieber
Fr	auffälliges Fressverhalten
H	Husten
I	Inappetenz
K	Konjunktivitis
L	Lymphknotenvergrößerung
N	Nasenausfluss
S	Schwellung der Injektionsstelle (Durchmesser über 2 cm)
T	Tupferprobe entnommen

Anhang

Fohlen (Name bzw. Abstammung)		a.d. Karamia	a.d. Amelia	a.d. Eiskönigin	a.d. Palaver	a.d. Souha	a.d. Hybris	a.d. Armada	a.d. Leidenschaft	a.d. Miss Marple	a.d. Maaza	a.d. Naga	a.d. Shaykha
20. Sept.	1. Impfung												
22. Sept.						L							
24. Sept.						L							
26. Sept.						L							
28. Sept.													
2. Okt.											Z		
7. Okt.				N							Z		
11. Okt.				N									
16. Okt.				N									
20. Okt.	2. Impfung												
22. Okt.					Fr LS			L					
24. Okt.					LS			L					
26. Okt.					L								
28. Okt.					L								
2. Nov.													
8. Nov.													
14. Nov.										N			
18. Nov.										N			
20. Nov.										N			
24. Nov.													
27. Nov.		N											
2. Dez.		N											
5. Dez.		N			H								
9. Dez.		N			H								
12. Dez.													
16. Dez.							L		L				
18. Dez.							L						
22. Dez.													
26. Dez.													
30. Dez.				K									
3. Jan.				K									
6. Jan.													H
9. Jan.													H
13. Jan.													
16. Jan.		H					N						
20. Jan.		H										N	
23. Jan.		LH										N	
27. Jan.													
30. Jan.													
3. Feb.													
6. Feb.										N			
9. Feb.													
12. Feb.													
17. Feb.								L					
20. Feb.								L					
24. Feb.								L					
27. Feb.		N			KLNT								
3. Mrz.		N											
6. Mrz.						LN					LN		
10. Mrz.			LN			LN					LN		
13. Mrz.			LN			LN T				N	LN T	LN	
16. Mrz.			LN			LN				N		LN	

Tab. 46: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der geimpften Stutfohlen (Blatt 1)

Fohlen (Name bzw. Abstammung)		a.d. Sabirah	a.d. Ballerina	Clara P	Fürstentee P	a.d. Lancade	a.d. Ex Lady	a.d. Genoveva	a.d. Courage	a.d. Adrett	a.d. Cavalcade	a.d. Ekstase	a.d. Mettnau
20. Sept.	1. Impfung												
22. Sept.		S			S						S		
24. Sept.		S			LS	L					Fr S		
26. Sept.					L						S		
28. Sept.													
2. Okt.					LN								
7. Okt.				N	LN								
11. Okt.				N									
16. Okt.													
20. Okt.	2. Impfung												
22. Okt.													
24. Okt.													
26. Okt.													
28. Okt.													
2. Nov.													
8. Nov.													
14. Nov.					N								
18. Nov.					N		N						KLN
20. Nov.							N						KLN
24. Nov.													N
27. Nov.		K				H							
2. Dez.		K	Fi KLN B			H							
5. Dez.			KLN B					N					
9. Dez.			KLN B					N					
12. Dez.					N								
16. Dez.					N								
18. Dez.													
22. Dez.						H							
26. Dez.						H							
30. Dez.													
3. Jan.													
6. Jan.													
9. Jan.													
13. Jan.						N							
16. Jan.						N							
20. Jan.													
23. Jan.													
27. Jan.											LN		
30. Jan.											LN		
3. Feb.											LN		
6. Feb.													
9. Feb.			N										
12. Feb.			N										
17. Feb.					N				H				
20. Feb.					N				H				
24. Feb.													
27. Feb.		Fi LN B											
3. Mrz.		LN B											L
6. Mrz.		LN											L
10. Mrz.							LN			LN			
13. Mrz.			LN T				LN T			LN			
16. Mrz.			LN										

Tab. 47: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der geimpften Stutfohlen (Blatt 2)

Fohlen (Name bzw. Abstammung)	Florina	Nora	Limette	Daylight I	Malou	Abra	Meta	Marie	Aurora	Vanja	Shakira	Fajr	Amurath Mohena	Rabea
7. Okt.	L							Z						
11. Okt.														
16. Okt.														
20. Okt.									Z					
24. Okt.														
28. Okt.				N										
2. Nov.				N				H			K			
8. Nov.				N				H						
14. Nov.														
18. Nov.		L												
20. Nov.		L									N			
24. Nov.											N			
27. Nov.														
2. Dez.							N							
5. Dez.							N							
9. Dez.														
12. Dez.												N		
16. Dez.	N													
18. Dez.	N													
22. Dez.	N													
26. Dez.								H						
30. Dez.								H						
3. Jan.													L	
6. Jan.										N			L	
9. Jan.										N				
13. Jan.										N				
16. Jan.														
20. Jan.								N						
23. Jan.										H				
27. Jan.										H				
30. Jan.														
3. Feb.														
6. Feb.													H	
9. Feb.													H	
12. Feb.							H							
17. Feb.														
20. Feb.														
24. Feb.				LN										
27. Feb.				KLN T										
3. Mrz.				KLN										
6. Mrz.				KLN										
10. Mrz.					L				LN		LN			LN
13. Mrz.							LN T		LN T		KLN T			LN
16. Mrz.							LN		LN					LN

Tab. 48: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der ungeimpften Stutfohlen (Blatt 1)



Fohlen (Name bzw. Abstammung)	Acordbunny	Carlotta	Darani	Cohiba	Arsimia	Zaubernacht	Dolce Vita	Gabriella	Daylight II	Rafinia	Ciara	Risandta	Iphigenie	Flamme	Abanos Princess
7. Okt.															
11. Okt.															
16. Okt.								Z							
20. Okt.								Z							
24. Okt.															
28. Okt.															
2. Nov.															
8. Nov.	LN														
14. Nov.	LN			N	N										
18. Nov.				N						L					N
20. Nov.															N
24. Nov.															
27. Nov.						N			N						
2. Dez.				N	N										
5. Dez.												L			
9. Dez.												L			
12. Dez.															
16. Dez.															
18. Dez.															
22. Dez.															
26. Dez.			H												
30. Dez.			H												
3. Jan.								N							
6. Jan.															
9. Jan.															
13. Jan.															
16. Jan.															
20. Jan.					N										
23. Jan.					N										
27. Jan.					N										
30. Jan.	H														
3. Feb.															
6. Feb.														H	
9. Feb.														H	
12. Feb.					H										
17. Feb.															
20. Feb.															
24. Feb.		Fi H I L					KLN								
27. Feb.		HL B					KLN								
3. Mrz.		HL B				LN									
6. Mrz.						LN								LN	
10. Mrz.														LN	H
13. Mrz.							H							LN T	H
16. Mrz.															

Tab. 49: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der ungeimpften Stutfohlen (Blatt 2)

Fohlen (Name bzw. Abstammung)		a.d. Galega	a.d. Eifenglück	a.d. Farandole	a.d. Lisett	a.d. Mimosa	a.d. Dumjeh	a.d. Austria	a.d. Dewina	a.d. Sesal	a.d. Dukna	a.d. Nari	a.d. Latussa	a.d. Athene	a.d. Räuberbraut	a.d. Gabella
20. Sept.	1. Impfung													L		
22. Sept.						Fr LS								L		Fr LES
24. Sept.						L					L			L		Fr LES
26. Sept.														LN		LS
28. Sept.														LN		
2. Okt.														LA		
7. Okt.														LA		
11. Okt.										H				LAN		
14. Okt.										H				LN		
20. Okt.	2. Impfung													LN T		
22. Okt.								L						L		
24. Okt.														L		
26. Okt.														L		
28. Okt.																
31. Okt.											LN					
4. Nov.											LN					
6. Nov.											LN					L
10. Nov.					K											L
14. Nov.					K							L	N			L
18. Nov.				L	K	L						L	N			L
20. Nov.		H				L						Fi I L B	LN			
24. Nov.												FL B	LN		L	
27. Nov.		HL							N						KLN	
2. Dez.		HL					KLN		N						KLN	
5. Dez.		H		L			KLN								KN	
9. Dez.				L			KLN								N	
12. Dez.									N							
16. Dez.									N							
18. Dez.									N							
22. Dez.									N							
26. Dez.													H			
30. Dez.																
3. Jan.		H														
6. Jan.		HL						H								
9. Jan.		HL										H				
13. Jan.		HL										H				
16. Jan.							L					H				
20. Jan.							L					H	N			
23. Jan.													N			
27. Jan.																
30. Jan.																
3. Feb.													N			
6. Feb.		KLN									N		N			
9. Feb.		KLN T			N		KLN T				N		KLN T			
12. Feb.		KLN			N		KLN						K			
17. Feb.							N									
20. Feb.			LN													
24. Feb.		N	KLN													N
27. Feb.		N	KLN T						LN			LN T				KLN T
3. Mrz.		N	N	N					LN			LN				N
6. Mrz.		N	N	N					L							
10. Mrz.				HLN					N							
13. Mrz.				HLN					N					N		
16. Mrz.														N		

Tab. 50: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der geimpften Hengstfohlen (Blatt 1)

Fohlen (Name bzw. Abstammung)	a.d. Fliederblatt	a.d. Sarina	a.d. Gazella	a.d. Sabu	Candillo / Zeus	Cyrano / Ganymed	Da Caprio / Maritim	Instenburg / Pageno	Quick Step / Royal	Sir Oldenburg / Rubinstein	Da Caprio / Adriano	Roy Black / Parcelli	Cyrano / Silvio	Laurel / QuickStep	Epikur / Pikfein	Cavallieri / Ganymed
20. Sept.	1. Impfung															
22. Sept.											S					
24. Sept.											S					
26. Sept.																
28. Sept.																
2. Okt.					L											
7. Okt.					L											
11. Okt.					L											
14. Okt.																
20. Okt.	2. Impfung															
22. Okt.			Fr S											L		
24. Okt.	L		S											L		
26. Okt.	L															
28. Okt.	L															
31. Okt.												N				
4. Nov.						H	L					N		L		
6. Nov.						H	L					N				
10. Nov.						H										
14. Nov.					L									L		
18. Nov.								HL						L	LN	
20. Nov.			LN					HL		HL B				L	LN	
24. Nov.			LN					H		HL B					LN	
27. Nov.			LN												LN	
2. Dez.			LN				L			L						
5. Dez.							L			L		Fi I L B				
9. Dez.												FIL B				
12. Dez.												LB				
16. Dez.												LB				
18. Dez.												L				
22. Dez.																
26. Dez.				N												
30. Dez.							N									
3. Jan.	N						N							H		
6. Jan.	N				H				H					H		
9. Jan.					H				H							
13. Jan.					H											
16. Jan.																
20. Jan.																N
23. Jan.										H						N
27. Jan.					N					H						
30. Jan.				N	N						L					
3. Feb.		KLN		N	N						KLN					
6. Feb.		KLN		N							KLN			K		
9. Feb.		KLN T					KLN T				KLN T			K		
12. Feb.							KLN									
17. Feb.							KLN		H							
20. Feb.	N				N				H						KLN	
24. Feb.	KLN		N		N				H				N		KLN	KN
27. Feb.	KLN T		N		N							N	KLN T		KLN T	KLN T
3. Mrz.	KLN				N							N	N			KLN
6. Mrz.	N											N				N
10. Mrz.																
13. Mrz.							H									
16. Mrz.							H	H		N						

Tab. 51: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der geimpften Hengstfohlen (Blatt 2)

Fohlen (Name bzw. Abstammung)	Daramis / Lenys Lemon	Grafenstolz / Partout	French Kiss / Affido	Risandro / Windmesser	Cyrano / Cento	DonPrimero / Carolus	Risandro / Contender	Karondo / Lysander	Rascin / Sandro	Fürst Heinrich / Epikur	Köpenick / Wettstreit	Zareks / Fagot	Fagot / Eckstern	Alazim / Kaidal	Khalif / Shaikeel	Raveisberg / Donnergröll	Wilderer / Retter
7. Okt.																	
11. Okt.		N					L										
14. Okt.		N			H												
20. Okt.		N			HL		N										
26. Okt.					HL		N										
28. Okt.																	
4. Nov.	N		N														
6. Nov.			N														
10. Nov.																	
14. Nov.																	
18. Nov.													N		LN	LN	N
20. Nov.											Fi I L B		N		LN		N
24. Nov.					HL						L B		LN				
27. Nov.					HL B						L B						
2. Dez.					HL B						L						
5. Dez.					HL												
9. Dez.																	
12. Dez.															N	N	
16. Dez.															N	N	
18. Dez.																	
22. Dez.								H									
26. Dez.								H									
30. Dez.																	
3. Jan.									N								
6. Jan.									N								
9. Jan.									N								
13. Jan.						LN							N				
16. Jan.						KLN				H			N				
20. Jan.						KLN				H							
23. Jan.						N				H							
27. Jan.			N														
30. Jan.			N														
3. Feb.			N														
6. Feb.						KLN									KLN		
9. Feb.	L					KLN					KLN T				LN T		LN T
12. Feb.	L					LN					KLN						LN
17. Feb.	L										KLN						LN
20. Feb.		H	K														
24. Feb.		H	K									KLN					
27. Feb.		H										KLN					
3. Mrz.																	
6. Mrz.												L					
10. Mrz.			H									L					
13. Mrz.			H														
16. Mrz.				H					H								

Tab. 52: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der ungeimpften Hengstfohlen (Blatt 1)

Fohlen (Name bzw. Abstammung)	Riegel / Wilderer	Dachsberg / Moritz	Coup de Coeur / Capitot	Cyrano / Gabriel	Chapo / Landfrieden	Cavallieri / Anselm	Cleveland / Second Set	Cyrano / Portefee	Con Ciro	Centovalli	Gardez / Worldmann	Aquilino / Calando	Dimaggio / Ehrentusch	Lakato / Consul	Vogtsberg / Retter	Feldsee / Retter	Ravelsberg / Meran
7. Okt.															N		
11. Okt.															N		
14. Okt.												Γ					
20. Okt.												Γ					
26. Okt.													N				
28. Okt.													N				
4. Nov.														N			
6. Nov.														N	K		
10. Nov.														N	K		
14. Nov.														N			
18. Nov.										H				LN			
20. Nov.										H				LN			
24. Nov.												LN					
27. Nov.												LN					
2. Dez.						H											
5. Dez.						H											
9. Dez.													N				
12. Dez.													N				
16. Dez.														N			
18. Dez.													N				
22. Dez.			KLN														
26. Dez.	HK		KLN														
30. Dez.	HK		KLN														
3. Jan.																	
6. Jan.																	H
9. Jan.								H									H
13. Jan.												H					
16. Jan.			N									H					
20. Jan.		N	N	N		K											
23. Jan.		N	N	N		K											
27. Jan.		N															
30. Jan.																	
3. Feb.														N			
6. Feb.										N				LN			KN
9. Feb.							KLN T			N				LN T			KLN T
12. Feb.							KLN			N				LN			LN
17. Feb.		N					KLN										
20. Feb.		N								L							
24. Feb.		N	H							Fi I L B							
27. Feb.		N						N		Fi I L B							
3. Mrz.	N	N		H				N		L	H						
6. Mrz.	N		N	H							HL						
10. Mrz.	N		N								HL						
13. Mrz.																	
16. Mrz.														L			

Tab. 53: Dokumentation der klinischen Auffälligkeiten der ungeimpften Hengstfohlen (Blatt 2)

## 9.2 Abkürzungen

<b>a.d.</b>	aus der (Stute)	<b>s.c.</b>	subkutan
<b>Abb.</b>	Abbildung	<b>SeM</b>	<i>S. equi</i> M-Protein
<b>bzw.</b>	beziehungsweise	<b>s-IgA</b>	sekretorisches Immunglobulin A
<b>ca.</b>	circa	<b>sog.</b>	sogenannt(e)
<b>Ch.B.</b>	Chargenbezeichnung	<b>spp.</b>	Subspezies
<b>CNA</b>	colistin-nalidixin acid	<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>d.h.</b>	das heißt	<b>Tabb.</b>	Tabellen
<b>DNA</b>	deoxyribonucleic acid	<b>THB</b>	Todd-Hewitt-Bouillion
<b>EHV 1</b>	Equines Herpesvirus Serotyp 1	<b>u.a.</b>	unter anderem; und andere
<b>EHV 4</b>	Equines Herpesvirus Serotyp 4	<b>USA</b>	United States of America
<b>ELISA</b>	enzyme-linked immunosorbent assay	<b>v.a.</b>	vor allem
<b>et al.</b>	et alii	<b>vs.</b>	versus
<b>i.d.R.</b>	in der Regel	<b>WB</b>	Deutsches Warmblut
<b>I.E.</b>	internationale Einheit	<b>z.B.</b>	zum Beispiel
<b>i.m.</b>	intramuskulär	<b>z.T.</b>	zum Teil
<b>i.v.</b>	intravenös		
<b>IgA</b>	Immunglobulin Typ A	<b>Maßeinheiten:</b>	
<b>IgG</b>	Immunglobulin Typ G	<b>cm</b>	Zentimeter
<b>IgM</b>	Immunglobulin Typ M	<b>G</b>	Gauge
<b>KBE</b>	koloniebildende Einheiten	<b>g/dl</b>	Gramm pro Deziliter
<b>kgKGW</b>	Kilogramm Körpergewicht	<b>kDA</b>	Kilodalton
<b>L.M.</b>	Lebensmonat	<b>m</b>	Meter
<b>Lnn.</b>	Lymphonodi	<b>mg</b>	Milligramm
<b>n.u.</b>	nicht untersucht	<b>mg/dl</b>	Milligramm pro Deziliter
<b>ox</b>	Arabisches Vollblut	<b>min</b>	Minute(n)
<b>p.i.</b>	post injectionem	<b>ml</b>	Milliliter
<b>p.n.</b>	post natum	<b>mm</b>	Millimeter
<b>p.p.</b>	post partum	<b>n</b>	Anzahl
<b>p.vacc.</b>	post vaccinationem	<b>µl</b>	10 <sup>-6</sup> Liter
<b>PBS</b>	phosphate buffered saline	<b>nm</b>	10 <sup>-9</sup> Meter
<b>PCR</b>	polymerase chain reaction	<b>µm</b>	10 <sup>-6</sup> Meter
<b>PMN</b>	polymorphonuclear leukocyte	<b>%</b>	Prozent
<b>resp.</b>	respektive	<b>°C</b>	Grad Celcius
<b>RNA</b>	ribonucleic acid	<b>Ø</b>	Durchschnitt
<b>rRNA</b>	ribosomal ribonucleic acid		

## Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere:

Herrn Prof. Dr. Dr. habil. Peter Thein für die Überlassung des Themas sowie seine tatkräftige und geduldige Unterstützung in allen Phasen der Arbeit.

Den Gestütstierärzten und Gestütswärtern des Haupt- und Landgestütes Marbach für die Ermöglichung und Unterstützung der praktischen Arbeiten im Gestüt.

Der Firma Intervet International (Boxmeer, Niederlande) für die Bereitstellung des Impfstoffes und die finanzielle Unterstützung.

Den Mitarbeitern der Abteilungen für Bakteriologie und Pathologie des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes (STUA) Aulendorf und der Abteilung für Bakteriologie des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes (CVUA) Stuttgart für die Durchführung mikrobiologischer und pathologischer Untersuchungen sowie Herrn Dr. Georg Wolf, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der LMU München für die Differenzierung isolierter Streptokokken-Stämme.

Meinen Eltern für die großzügige Unterstützung bei der Verfolgung meiner beruflichen Ziele.

Jens Hanner und Marie-Liese Röhm für ihre stets verlässliche Hilfe beim Umgang mit MS-Word und MS-Excel.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Hohenstein, den 04.04.2008

Albert Röhm