

Aus dem Institut für Virologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Untersuchungen zur Wirksamkeit von verschiedenen Impfstoffen
gegen Infektionen mit dem Equinen Herpesvirus Typ 1**

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

vorgelegt von
Claudia Bresgen
Tierärztin
aus Mechernich

Berlin 2011

Journal–Nr.: 3540

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Klaus Osterrieder
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen
Dritter Gutachter: PD Dr. Peter-Henning Clausen

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Equid herpesvirus 1, mares, abortion, field tests, vaccination, inactivated vaccines, live vaccines, antibody testing

Tag der Promotion: 08.03.2012

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: 978-3-86387-135-2

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011

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 2012

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de - www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

I. Tabellenverzeichnis	i
II. Abbildungsverzeichnis	iii
III. Abkürzungsverzeichnis	iv
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	2
2.1. Herpesviren	2
2.1.1. Morphologische Eigenschaften	2
2.1.2. Taxonomie der Herpesviren	2
2.2. Das Equine Herpesvirus Typ 1	3
2.2.1. Das EHV-1-Genom	4
2.2.2. Die Regulation der Expression herpesviraler Gene	4
2.2.3. Replikationszyklus	5
2.2.4. Erregereigenschaften	5
2.2.5. Pathogenese	6
2.2.6. Krankheitsbilder	7
2.2.7. Epidemiologie	8
2.2.8. Diagnostik	8
2.2.9. Prophylaxe.....	10
2.3. Das Immunsystem.....	11
2.3.1. Das angeborene (innate) Immunsystem	11
2.3.2. Das erworbene (spezifische, adaptive) Immunsystem	11
2.3.3. Das Immunsystem des Fohlens	13
2.3.4. Das equine Immunsystem und die EHV-1-Infektion.....	14
2.4. Immunisierung	15
2.4.1. Lebendimpfstoffe	16
2.4.2. Inaktivierte Impfstoffe.....	16
2.4.3. Weitere Impfstoffe	17
2.4.4. Impfstoffe gegen EHV-1	18
3. Material und Methoden	21
3.1. Material	21
3.1.1. Pferde des Gestüts	21
3.1.2. Haltungsbedingungen.....	21
3.1.3. Verwendete Impfstoffe.....	22
3.1.3.1. Duvaxyn [®] EHV _{1,4} (Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen).....	22

3.1.3.2. Prevaccinol® (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim).....	22
3.2. Methoden	23
3.2.1. Probanden, Impfgruppen, Impfschema	23
3.2.2. Blutentnahme	23
3.2.3. Probenaufbereitung und –lagerung	24
3.2.4. Serologische Laboruntersuchungen	24
3.2.4.1. Serumneutralisationstest (SNT).....	25
3.2.4.2. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	28
3.2.5. Abortmanagement	30
3.2.6. Statistik.....	31
4. Ergebnisse	32
4.1. Vergleich der Antikörpertiter mit Hilfe des SNTs.....	32
4.1.1. Vergleich des Antikörpertiterverlaufs von mit Duvaxyn® EHV _{1,4} und Prevaccinol® geimpften Stuten über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen	32
4.2. Relativer Vergleich der IgG-Isotypen mit Hilfe des ELISAs.....	34
4.2.1. Relativer Vergleich der IgG-Isotypen – IgG1, IgG4/7 und IgG3/5 - von mit Duvaxyn® EHV _{1,4} und Prevaccinol® geimpften Stuten über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen	34
4.2.2. Vergleich des IgG3/5:IgG1- und des IgG3/5:IgG4/7-Verhältnisses der drei Impfstoffgruppen über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen	37
4.3. Aborte	39
4.3.1. Abortzahlen in der Zuchtsaison 2009/2010	39
4.3.2. Einfluss vorheriger Ereignisse auf die Aborte	41
4.3.3. Serumneutralisationstiter der EHV-1-Abortstuten.....	42
4.3.4. Die Verteilung der IgG-Isotypen zum Zeitpunkt des EHV-1-Abortes	43
5. Diskussion	44
5.1. Serumneutralisationstest	44
5.2. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.....	46
5.3. Abortzahlen.....	47
5.4. Schlussfolgerung.....	49
6. Zusammenfassung	51
7. Summary	52

A. Literaturverzeichnis	53
B. Anhang	67
C. Danksagung	125
D. Selbstständigkeitserklärung	126

I. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Impfstoffzusammensetzung von Duvaxyn [®] EHV _{1,4}	22
Tabelle 2: Impfstoffzusammensetzung von Prevaccinol [®]	22
Tabelle 3: Zeitpunkte der Blutentnahme	24
Tabelle 4: Vorlage von Gewebekulturmedium	25
Tabelle 5: Testseren (S ₁ , S ₂ , S ₃) sowie Positiv- (K _P) und Negativkontrolle (K _N) wurden im Doppelansatz in Reihe A vorgelegt	25
Tabelle 6: Serumverdünnung.....	26
Tabelle 7: Viruszugabe.....	26
Tabelle 8: Zellenzugabe.....	27
Tabelle 9: Auftragen der verdünnten Testseren (S ₁ ,S ₂ ,S ₃ , ..., S ₁₂ ,S ₁₃ , usw.) sowie der Positiv- (K _P) und Negativkontrolle (K _N) auf drei unterschiedliche Platten	28
Tabelle 10: Auftragen der monoklonalen Antikörper	29
Tabelle 11: Aborthäufigkeit in den beiden Herpesimpfstoff-Gruppen	40
Tabelle 12: Anzahl der Aborte in den einzelnen Monaten.....	41
Tabelle 13: Vorherig aufgetretene Aborte.....	42
Tabelle 14: Antikörpertiter der neun EHV-1-Abortstuten	42
Tabelle 15: Antikörpertiter im SNT, Duvaxyn-Gruppe, n = 149	67
Tabelle 16: Antikörpertiter im SNT, DPS-Gruppe, n = 106	70
Tabelle 17: Antikörpertiter im SNT, PPS-Gruppe, n = 86	73
Tabelle 18: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146	75
Tabelle 19: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA, DPS-Gruppe, n=106	79
Tabelle 20: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA, PPS-Gruppe, n=83	81
Tabelle 21: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146	83
Tabelle 22: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, DPS-Gruppe, n=106	87
Tabelle 23: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, PPS-Gruppe, n=83	90
Tabelle 24: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146	92
Tabelle 25: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA, DPS-Gruppe, n=106	95
Tabelle 26: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA, PPS-Gruppe, n=83	98
Tabelle 27: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146.....	100
Tabelle 28: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146	104
Tabelle 29: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, DPS-Gruppe, n=106.....	107
Tabelle 30: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, DPS-Gruppe, n=106.....	110
Tabelle 31: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, PPS-Gruppe, n=83.....	112
Tabelle 32: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, PPS-Gruppe, n=83	115

Tabelle 33: EHV-1-Abortstuten in der Zuchtsaison 2009/2010, Antikörpertiter im SNT, n=9 Duv = Duvaxyn [®] EHV _{1,4} Prev = Prevaxinol [®]	117
Tabelle 34: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA; EHV-1-Abortstuten.....	117
Tabelle 35: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, EHV-1-Abortstuten.....	118
Tabelle 36: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA; EHV-1-Abortstuten.....	118
Tabelle 37: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, EHV-1-Abortstuten	118
Tabelle 38: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, EHV-1-Abortstuten.....	119
Tabelle 39: Chemikaliennachweis	120
Tabelle 40: Gerätenachweis.....	120
Tabelle 41: Gebrauchsmaterialiennachweis	121

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Serumneutralisationstest.....	27
Abbildung 2: Unterschiedliche Farbintensität im ELISA	30
Abbildung 3: SNT-Titerverlauf der mit Duvaxyn [®] EHV _{1,4} und Prevaccinol [®] geimpften Stuten über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen dargestellt als geometrische Mittelwerte + Standardabweichungen in logarithmischer Darstellung.....	33
Abbildung 4: IgG1-Isotyp über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen dargestellt als Mittelwerte + Standardabweichungen (mittels ELISA); Duvaxyn [®] EHV _{1,4} -Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich	35
Abbildung 5: IgG3/5-Isotyp über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen dargestellt als Mittelwerte + Standardabweichungen (mittels ELISA); Duvaxyn [®] EHV _{1,4} -Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich	36
Abbildung 6: IgG4/7-Isotyp über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen dargestellt als Mittelwerte + Standardabweichungen (mittels ELISA); Duvaxyn [®] EHV _{1,4} -Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich	37
Abbildung 7: Das IgG3/5:IgG1-Verhältnis über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen; Duvaxyn [®] EHV _{1,4} geimpfte Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich	38
Abbildung 8: Das IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen; Duvaxyn [®] EHV _{1,4} geimpfte Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich	39
Abbildung 9: Prozentualer Anteil der durch EHV-1 induzierten Aborte in mit Duvaxyn [®] EHV _{1,4} bzw. Prevaccinol [®] geimpften Stuten im Vergleich zu den nicht infektiösen Aborten	40
Abbildung 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der drei IgG-Isotypen zum Zeitpunkt des EHV-1-Abortes (mittels ELISA).....	43
Abbildung 11: Abortbogen.....	122

III. Abkürzungsverzeichnis

A

A 183 Army 183 (EHV-1-Stamm)

Abb. Abbildung

APZ antigenpräsentierende Zellen

Aqua dest destilliertes Wasser

B

B-Lymphozyten B-Bursa Fabricii (bone marrow)-Lymphozyten

C

ca. circa

CCLV Collection of Cell Lines in Veterinary Medicine

CD4+ Zellen Cluster of Differentiation - membrangebundene Glykoproteine der T-Helferzellen

CD8+Zellen Cluster of Differentiation - membrangebundene Glykoproteine der zytotoxischen T-Lymphozyten

CF-Antikörper complement-fixing Antikörper

CPE cytopathic effect

CTL zytotoxische T-Lymphozyten

CVS 39, 40, 45 monoklonale Antikörper

D

DC dendritic cells

DIVA Differentiating Infected from Vaccinated Animals

DMSO Dimethylsulfoxid

DNA Desoxyribonukleinsäure

DPS Duvaxyn-Prevaccinol-Stuten

E

eCG equines Chorion Gonadotropin

EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EHM	Equine Herpesvirus Myeloenzephalopathie
EHV-1	Equines Herpesvirus Typ 1
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
E-Phase	early-Phase
et al.	und andere
F	
FCS	Foetales Calf Serum
G	
gG	Glykoprotein G
GIT	Gastrointestinaltrakt
H	
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
I	
ICTV	International Committee on the Taxonomy of Viruses
IE-Phase	immediate early-Phase
IF	Immunfluoreszenz
IFN- γ	Interferon- γ
IgG	Immunglobulin G
IgG1	IgG(a)
IgG3/5	IgG(T)
IgG4/7	IgG(b)
Il-2	Interleukin 2
i.m.	intramuskulär
I _R	Internal Repeat
K	
kb	Kilobasen

KBR	Komplementbindungsreaktion
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
K _N	Negativkontrolle
K _P	Positivkontrolle
KyA	Kentucky A (EHV-1-Stamm)
L	
L-Phase	late-Phase
M	
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
N	
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ CO ₃	Natriumcarbonat
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
O	
OD	optische Dichte
ORF	open reading frame
P	
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
PAP	Peroxidase-Antiperoxidase-Technik
PBS	phosphate buffered saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFU	plaque-forming unit
p.i.	post infectionem
PPS	Prevaccinol-Prevaccinol-Stuten

R

RacL11	EHV-1-Stamm
RK13-Zellen	Rabbit Kidney Epithelial Cells
rpm	rounds per minute
RT	Respirationstrakt

S

SNT	Serumneutralisationstest
-----	--------------------------

T

TAP	transporter associated with antigen processing
T-Lymphozyten	T-Thymus-Lymphozyten
TMB	Tetramethylbenzidine
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
T _R	Terminal Repeat

U

U _S	Unique Short Region
U _L	Unique Long Region

V

V _K	Viruskontrolle
VN-Antikörper	virusneutralisierende Antikörper
vs	versus

Z

Z _K	Zellkontrolle
ZNS	Zentrales Nervensystem

1

1.LW	Erste Lebenswoche
------	-------------------

3

3. LM	Dritter Lebensmonat
-------	---------------------

1. Einleitung

Das Equine Herpesvirus Typ 1 (EHV-1), ein Mitglied der Subfamilie *Alphaherpesvirinae*, stellt eines der wichtigsten viralen Pathogene beim Pferd dar. Obwohl Infektionen mit dem EHV-1 in den meisten Fällen mild bis subklinisch verlaufen, können auch respiratorische Erkrankungen, Aborte bei tragenden Stuten und die seltene Form der Myeloenzephalopathie als neurologische Erkrankung hervorgerufen werden (Murphy et al. 1999; van Maanen 2002; Thein 2006a). Trotz präventiver Maßnahmen der Immunisierung und des Hygienemanagements treten Erkrankungen relativ häufig auf und verursachen weltweit schwere wirtschaftliche Schäden. Zur Minimierung dieser Verluste sollen neue Impfstoffe entwickelt werden, die vor einer EHV-1-bedingten Erkrankung schützen (Kydd et al. 2006). Die Identifizierung der im Rahmen einer EHV-1-Infektion ablaufenden Immunmodulationsprozesse ist jedoch Voraussetzung für eine gezielte Verbesserung des Impfstoffs und somit für einen effektiveren Schutz der Pferde vor EHV-1-assoziierten Erkrankungen (Soboll et al. 2003; Minke et al. 2004). Der gewünschte Impfstoff sollte in einer robusten, zellulär vermittelten Immunantwort resultieren (O'Neill et al. 1999; Kydd et al. 2003; Minke et al. 2004).

Da es jedoch bis heute noch keinen Impfstoff gibt, der diese Wirkung erzielt, wird in der vorliegenden Arbeit die Intensität der zellulären Immunantwort der beiden kommerziell erhältlichen Impfstoffe Prevaccinol[®] (Intervet, Lebendimpfstoff) und Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Fort Dodge, inaktivierter Kombinationsimpfstoff) anhand von Immunglobulinprofilen verglichen, um herauszufinden welcher Impfstoff momentan einen verlässlicheren Schutz gegen EHV-1-Aborte gewährleistet. Des Weiteren soll untersucht werden, in welcher Häufigkeit die EHV-1-Aborte im Zusammenhang mit dem jeweils verwendeten Impfstoff auftreten.

2. Literaturübersicht

2.1. Herpesviren

Die Herpesviridae (griech. herpein, schleichen; lat. virus, Gift) sind weltweit verbreitet und finden sich überall im Tierreich wieder, von Säugetieren bis hin zu Reptilien, Amphibien, Fischen und Wirbellosen (Murphy et al. 1999; Davison et al. 2006; Wibbelt et al. 2007; Modrow et al. 2010). Durch Herpesviren werden schwere und wirtschaftlich bedeutende Infektionskrankheiten bei den domestizierten Tierarten verursacht. Das Wirtsspektrum ist eng, sodass eine Übertragung zwischen Spezies die Ausnahme ist. Trotz variierender Symptome weisen sie Gemeinsamkeiten in der Partikelmorphologie sowie in den molekularbiologischen Eigenschaften auf (Modrow et al. 2010). Ein weiteres charakteristisches Merkmal aller Herpesviren stellt die sich nach Erstinfektion entwickelnde lebenslange Latenz dar, die sich in verschiedenen Zellen etablieren kann (Slater 2007). Von den insgesamt neun equinen Herpesviren wurden fünf (EHV-1 bis EHV-5) beim domestizierten Pferd isoliert (Borchers et al. 1999). Die Equinen Herpesviren 1 und 4 (EHV-4) sind dabei die klinisch, ökonomisch und epidemiologisch relevantesten Pathogene (Patel und Heldens 2005).

2.1.1. Morphologische Eigenschaften

Das Herpesvirion variiert mit einer Größe von 120– 300nm und setzt sich aus vier Strukturen zusammen. Im Inneren befindet sich die lineare, doppelsträngige DNA, die um eine fibrilläre Proteinmatrix, das Core gewunden ist. Das Genom wird von einem ikosaedrischen Nukleokapsid mit einem Durchmesser von etwa 125nm umgeben, welches aus 162 Kapsomeren besteht (Pellett und Roizman 2007). Die Lipoproteinhülle bildet die äußerste Struktur des Virions und lässt sich von einer umgebauten Zellmembran ableiten (Falke et al. 1959). Sie trägt integrierte Glykoproteine, die in ihrer Anzahl variieren und als Antigene agieren. Eine weitere entscheidende Rolle spielen sie bei der Infektion der Zelle. Zwischen dem Kapsid und der Hülle ist das Tegument lokalisiert, welches in seiner Komposition variiert und somit die Größe der unterschiedlichen Herpesviren festlegt (Pellett und Roizman 2007). Das Tegument des Herpes-Simplex-Virus 1 setzt sich beispielsweise aus mehr als 15 Proteinen zusammen, die in einem komplexen Netzwerk mit dem Kapsid und den zytoplasmatischen Fortsätzen der Glykoproteine interagieren (Mettenleiter 2002).

2.1.2. Taxonomie der Herpesviren

Die Herpesviren gehören zu den doppelsträngigen DNA-Viren der Ordnung Herpesvirales, die wiederum in die Familie der Herpesviridae untergliedert wird. Eine weitere Unterteilung in drei Subfamilien erfolgt aufgrund ihrer Pathogenität, ihrem Zelltropismus und ihren Replikationseigenschaften durch das „International Committee

on the Taxonomy of Viruses“ (ICTV) - *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae*, *Gammaherpesvirinae* (Murphy et al. 1999; Pellett und Roizman 2007). Die folgende Einordnung in verschiedene Genera wird aufgrund der Sequenz der Virus-DNA, des Genomaufbaus und der immunologischen Verwandtschaft durchgeführt. Viele der in den letzten Jahren isolierten Herpesviren konnten jedoch noch nicht soweit charakterisiert werden, dass sie sich in eine der Subfamilien bzw. in die bisher definierten Genera einordnen ließen (Murphy et al. 1999; Mayr und Kaaden 2006; Pellett und Roizman 2007; Modrow et al. 2010). Neben den allgemein gebräuchlichen Virusnamen werden die Herpesvirustypen nach ihrem jeweiligen Wirt bezeichnet und chronologisch in der Reihenfolge ihrer Entdeckung durchnummeriert (Modrow et al. 2010).

Zu den *Alphaherpesvirinae* gehören die Genera *Simplexvirus* (z.B. Humanes Herpesvirus 1) und *Varicellovirus* (z.B. Equines Herpesvirus 1). Sie weisen ein relativ breites Zellspektrum auf, haben *in vitro* einen kurzen Replikationszyklus, lysieren infizierte Zellen und finden sich hauptsächlich in sensorischen Ganglien und Lymphozyten in Form latenter Infektionsstadien wieder (Modrow et al. 2010). Die *Betaherpesvirinae* werden ebenfalls in zwei Genera eingeteilt, das *Cytomegalovirus* (z.B. Humanes Zytomegalovirus) und das *Muromegalovirus* (z.B. Murines Zytomegalovirus). Das *Roseolovirus* (z.B. Humanes Herpesvirus 6) ist noch nicht offiziell als solches anerkannt (Mayr und Kaaden 2006). Typisch für diese Subfamilie sind die Riesenzellbildung (Cytomegalie) und die variable Organmanifestation. Es werden sekretorische Drüsen, lymphoretikuläre Zellen, das zentrale Nervensystem (ZNS) und die Niere befallen. Außerdem haben sie nur ein begrenztes Wirtsspektrum, der Vermehrungszyklus erfolgt *in vitro* nur langsam und die Zellyse tritt erst einige Tage nach erfolgter Infektion auf (Murphy et al. 1999). Die *Gammaherpesvirinae* werden in die Gattungen *Lymphocryptovirus* (z.B. Epstein-Barr-Virus) und *Rhadinovirus* (z.B. Humanes Herpesvirus 8) unterteilt (Mayr und Kaaden 2006). Diese Subfamilie weist ein sehr enges Wirtszellspektrum auf und repliziert sich vornehmlich in lymphoiden Zellen. Die Viren haben eine besondere Affinität zu T- und B-Lymphozyten, wo sie auch ihre Viruslatenz etablieren (Murphy et al. 1999; Mayr und Kaaden 2006). Es können jedoch auch epitheliale und fibroblastische Zellen lytisch infiziert werden. Die Dauer des Replikationszyklus ist abhängig von den verschiedenen Virustypen. Die noch namenlose vierte Subfamilie, welche das Channel-Catfish-Herpesvirus erfasst, unterscheidet sich hinsichtlich der Genomorganisation und -sequenz deutlich von den Vertretern der anderen Unterfamilien (Murphy et al. 1999).

2.2. Das Equine Herpesvirus Typ 1

Das Equine Herpesvirus Typ 1 wurde zum ersten Mal von W.W. Dimock und P.R. Edwards in Lexington, Kentucky im Jahr 1932 in Zusammenhang mit einem abortierten equinen Fetus beschrieben (Dimock und Edwards, 1933). In einer weiteren Studie deuten Bryans et al. (1957) an, dass es sich aufgrund der Hauptläsionen in der Lunge jeoch um ein respiratorisches Virus handelt. Bereits 1965 wiesen Mayr et al. nach, dass die EHV-1-Virusstämme aus dem Genital- und Respirationstrakt nicht nur aufgrund ihres Tropismus unterschieden werden können, sondern dass trotz enger immunologischer Verwandtschaft keine völlige Kreuzimmunität besteht. Sie schlugen deshalb eine Differenzierung in den Subtyp 1 (Stutenabort) und Subtyp 2

(Rhinopneumonitis) vor. Bei Subtyp 1 handelte es sich meist um Isolate aus Feten, während Subtyp 2 nahezu ausschließlich von respiratorisch erkrankten Tieren isoliert wurde (Mayr et al. 1965). Diese Systematik wurde bis 1981 aufrecht erhalten, bis genetische und serologische Untersuchungen mit monoklonalen Antikörpern eine genauere Charakterisierung der Herpesviren ermöglichten (Sabine et al. 1981; Studdert et al. 1981). Durch DNA-Analysen (molecular fingerprinting) wurde festgestellt, dass sich das Genmaterial beider Subtypen deutlich unterscheidet (Studdert 1983; Telford et al. 1992; Nagy et al. 1997; Telford et al. 1998). Dies führte zu einer Korrektur der Systematik. Die beiden Subtypen gelten seit 1984 als jeweils eigenständige Spezies der Subfamilie *Alphaherpesvirinae*, Genus *Varicellovirus*, mit den Bezeichnungen EHV-1 (ehemaliger Subtyp 1) und EHV-4 (ehemaliger Subtyp 2) (Fitzpatrick und Studdert 1984). EHV-3 gehört ebenfalls zu den Alphaherpesviren. EHV-2 und EHV-5 dagegen werden den Gammaherpesviren zugeordnet (Murphy et al. 1999). EHV-1 und EHV-4 besitzen neben typspezifischen Oberflächenglykoproteinen, wie beispielsweise dem Glykoprotein G (gG), auch gemeinsame Epitope (Crabb et al. 1992). Experimentell konnte daraufhin eine Kreuzreaktivität nachgewiesen werden (Fitzpatrick und Studdert 1984).

2.2.1. Das EHV-1-Genom

Das erste komplette EHV-1-Genom wurde von Telford et al. (1992) sequenziert und publiziert. Es besitzt eine lineare, doppelsträngige DNA und hat eine Größe von ca. 150 Kilobasen (kb). Es ist unterteilt in ein kurzes und ein langes Segment, die sogenannte Unique Short Region (U_S) und die Unique Long Region (U_L) sowie zwei Wiederholungssequenzen, Terminal und Internal Repeats (T_R und I_R). Diese flankieren die Unique Short Region (Henry et al. 1981). Sowohl das kurze als auch das lange Segment kann invertieren, sodass das EHV-1-Genom theoretisch in vier verschiedenen Isoformen vorliegt (Murphy et al. 1999). Das Erbgut enthält mindestens 76 offene Leserahmen (open reading frames, ORF; Gene), die Proteine kodieren können (Slater 2007). Von den 76 ORF befinden sich 63 in der Unique Long Region, 9 in der Unique Short Region und 4 in den Wiederholungssequenzen. Insgesamt sind circa 30 Proteine mit dem Aufbau des Virions assoziiert. Die verbleibenden 46 sind in die virale Replikation und in die Regulation der viralen Genkaskade involviert. Zum Aufbau des Virions gehören elf Glykoproteine (Glykoprotein B (gB), gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM, gp2), die die wichtigsten viralen Immunogene darstellen (Slater 2007). Drei dieser elf Glykoproteine - gB, gC, gD - sind immundominant. Die Glykoproteine B und C sind in die Zell-Zell-Fusion und in die Virusausbreitung involviert, wohingegen gD für den Zelltropismus und das Eindringen in die Wirtszelle verantwortlich ist (Neubauer et al. 1997; Osterrieder 1999; Csellner et al. 2000).

2.2.2. Die Regulation der Expression herpesviraler Gene

Die Regulation der Genexpression läuft nach einer strengen Kaskade ab und wird in drei Phasen unterteilt: immediate early (IE), early (E) und late (L) (Murphy et al. 1999).

Das EHV-1 besitzt nur ein einziges IE-Protein, von dem die Transkription aller anderen viralen Gene abhängig ist (Gray et al. 1987). Es leitet die Virusreplikation ein, indem die entstandenen Genprodukte den Promotor der E-Gene stimulieren. Die virale Genomreplikation wird daraufhin von den E-Proteinen ausgeführt. Kaskadenartig regen die entstandenen IE- und E-Proteine die Expression der L-Gene an, welche die Produktion der Strukturproteine eines Virions übernehmen. Somit haben die Proteine jeder Phase eine regulatorische Aufgabe, indem sie die Genexpression anderer Phasen aktivieren oder inhibieren (Murphy et al. 1999). Zusätzlich trägt das IE-Protein ein dominantes, zytotoxisches T-Lymphozyten (CTL) Epitop und ist somit für die Impfstoffforschung von großem Interesse (Paillot et al. 2006a).

2.2.3. Replikationszyklus

Der Replikationszyklus des EHV-1 erfolgt nach einem für *Alphaherpesvirinae* typischen Muster. In einem ersten Schritt heften sich gB und gC an Heparansulfate der Wirtszellmembran (Neubauer et al. 1997; Osterrieder 1999). Im Anschluss bindet gD (Csellner et al. 2000) an einen bislang unbekanntem zellulären Rezeptor (Frampton et al. 2005) mit dem das EHV-1 in die Zelle aufgenommen wird. Hier werden zwei Methoden der Penetration beschrieben; einerseits die Fusion mit der Zellmembran und andererseits die pH-abhängige Endozytose (Frampton et al. 2007). Sobald das Kapsid das Zytoplasma der Zelle erreicht hat, wird es entlang der Mikrotubuli zum Nukleus transportiert, um dort die DNA durch die Kernporen zu entlassen. Im Folgenden findet die Transkription der viralen Gene statt. Die entstandene RNA wird aus dem Nukleus in das Zytoplasma entlassen, um die Synthese viraler Proteine einzuleiten. Einige werden in den Kern zurück transportiert, wo sie als Strukturproteine der Nukleokapsidbildung dienen (Pellett und Roizman 2007). Die weitere Prozessierung bis zur Freisetzung erfolgt nach der Theorie des De-/Re-Envelopment-Modells (Skepper et al. 2001; Mettenleiter 2004). Demnach erhalten die fertigen Nukleokapside durch einen Knospungsvorgang (Budding) an der inneren Kernmembran ihre erste Kernmembran-assoziierte Hülle (primäres Envelopment) und wandern in den perinukleären Raum ein. Durch eine Fusion mit der äußeren Kernmembran streifen sie ihre primäre Hülle wieder ab (Deenvelopment) und werden als nackte Nukleokapside in das Zytoplasma entlassen. Dort wird das Tegument in einem komplexen Vorgang um das Nukleokapsid herum aufgebaut. Ihre sekundäre Umhüllung beziehen die tegumenthaltigen Nukleokapside durch Knospung an Trans-Golgi-Vesikeln. Somit erhalten sie ihre endgültige Hülle. Nach Fertigstellung des Virions erfolgt die Ausschleusung durch eine Verschmelzung des Trans-Golgi-Vesikels mit der Plasmamembran (Mettenleiter 2004).

2.2.4. Erregereigenschaften

Aufgrund der lipidhaltigen Hülle ist das Virus empfindlich gegenüber Detergentien und Lipidlösungsmitteln. Es ist hitze- und säurelabil und wird ab einer Temperatur von 56°C innerhalb von fünf bis zehn Minuten inaktiviert. In einem Bereich von 20°C bis 40°C

bleibt es dagegen mehrere Tage vermehrungsfähig. An Oberflächen behält das EHV-1 unter Ausschluss von UV-Strahlung und in Abhängigkeit vom Feuchtigkeitsgrad der Trägersubstanz in einem Temperaturbereich von 22°C bis 35°C seine Infektiosität bis zu 48 Tage. Bei einer Temperatur von 4°C überlebt es bis zu sieben Monate. Fäulnis sowie pH-Werte unter vier und über zehn inaktivieren das Virus rasch (Verter et al. 1999).

Zu den charakteristischen Erregereigenschaften gehört außerdem die latente, intranukleäre Virusinfektion, die lebenslang im Pferd persistiert (Welch et al. 1992; Edington et al. 1994; Slater et al. 1994; Mayr und Kaaden 2006). Die Latenz der Herpesviren ist eine wichtige epidemiologische Strategie, um das Überleben sowie die Ausbreitung in der natürlichen Wirtpopulation zu sichern. Sie etablieren sich speziell in T-Lymphozyten und im Trigeminalganglion (Edington et al. 1994; Slater et al. 1994), wobei die CD8+T-Lymphozyten die dominierende Zellfraktion bei der Expression der viralen Antigene darstellt. Andere kleinere Fraktionen sind die CD4+T-Lymphozyten sowie 20-25% der Monozyten (Scott et al. 1983). Insgesamt sind 80% der Pferde weltweit latent infiziert (Welch et al. 1992). Solange eine latente Infektion besteht, werden keine neuen Viruspartikel gebildet und das Genom liegt in einer episomalen, zirkulären Form im Zellkern der infizierten Wirtszelle vor (Slater 2007). Eine Reaktivierung vom latenten in den lytischen Kreislauf ist jederzeit möglich (Gibson et al. 1992a; Gibson et al. 1992b), bis heute sind jedoch die molekularen Vorgänge und Regulationsprozesse weitestgehend unverstanden. Es besteht ein Zusammenhang mit auftretender Immunsuppression, welche durch eine Glukokortikoidverabreichung oder sozialen Stress, wie z.B. Umstellungen, Transporte, Geburten oder Absetzen der Fohlen ausgelöst wird (Burrows et al. 1984; Edington et al. 1985). Die damit verbundene Virusvermehrung und -ausscheidung wird bei einem adulten Tier häufig nur von milden klinischen Symptomen begleitet (Slater et al. 1994), was die Erkennung eines infizierten Tieres noch erschwert.

2.2.5. Pathogenese

Der Respirationstrakt stellt die natürliche, primäre Eintrittspforte des EHV-1 dar. Die Viren etablieren sich im oberen respiratorischen Epithel, wo sich charakteristische Läsionen in der Mukosa und eine starke, entzündliche Reaktion abzeichnen (Slater 2007). Die Virusausscheidung kann bis zu zwei Wochen andauern, wobei der Höhepunkt mit der Fieberphase innerhalb der ersten Tage einhergeht (Kydd et al. 1994a). Schon nach zwölf Stunden breiten sich die Virionen in den regionären Lymphknoten des Respirationstraktes aus (Kydd et al. 1994a; b). Dort werden mononukleäre Leukozyten befallen, die in die Zirkulation gelangen und infolge dessen eine Leukozyten-assoziierte Virämie verursachen (Patel et al. 1982; Edington et al. 1986). Die Virämie kann bis zu drei Wochen andauern (Lunn et al. 2009).

Im Fall des EHV-1-Abortes breitet sie sich bis in das Endometrium aus um dort Endothelzellen zu befallen. Die entstehende Vaskulitis führt dabei zu einer Thrombosierung der Gefäße. Damit verbunden entwickelt sich eine ischämische Degeneration im Uterusgewebe, gefolgt von einer Unterversorgung des fetalen Anteils der Plazenta und dem Abort einer nicht infizierten Frucht (Smith et al. 1992; Smith et al. 1993; Smith und Borchers 2001). Andererseits kann der Fetus auch über die Nabelschnur oder über virushaltige Amnionflüssigkeit, die er inhaliert, infiziert werden

(Smith et al. 1997). Je nach Virusbelastung stirbt der Fetus ab und induziert seinerseits einen Abort. EHV-1-Aborte treten bis zu 95% im letzten Drittel der Trächtigkeit auf (Allen und Bryans 1986), was für eine höhere Anfälligkeit der uterinen Endothelzellen zu diesem Zeitpunkt spricht (Smith et al. 1996). Der genaue Grund bleibt bis heute jedoch ungeklärt. Eine *in vitro*-Studie von Smith et al. (1998) besagt, dass Interleukin 2 (IL-2) und equines Choriongonadotropin (eCG) latent infizierte Leukozyten indirekt aktivieren. Es wird vermutet, dass die Expression von Adhäsionsmolekülen mit dem Trächtigkeitzeitpunkt assoziiert ist (Smith et al. 2001) und von einem speziellen Hormonmilieu bestimmt wird.

Im Fall der EHV-1-Myeloenzephalopathie (EHM) werden die Endothelzellen des ZNS befallen, was in einer Vaskulitis resultiert. Sie induziert eine Thrombosierung von Gefäßen und sekundär eine Ischämie, die zu einer hypoxischen Degeneration des Nervengewebes und damit zum Absterben von Neuronen führt (Jackson et al. 1977; Edington et al. 1986). Das klinische Bild äußert sich in Form einer Parese.

2.2.6. Krankheitsbilder

EHV-1 und EHV-4 kommen weltweit endemisch vor und verursachen große wirtschaftliche Verluste bedingt durch respiratorische und neurologische Erkrankungen sowie Aborte bei tragenden Stuten. Das klinische Bild der respiratorischen Erkrankung wird vorwiegend durch EHV-4-Infektionen verursacht (Crabb und Studdert 1995; Murphy et al. 1999). Es ist auch unter dem Begriff der Rhinopneumonitis bekannt und verläuft bei adulten Tieren meist asymptomatisch. Fohlen, Absetzer und Jährlinge hingegen zeigen nach einer Inkubationszeit von bis zu zehn Tagen Fieber, Rhinitis mit serösem bis mukopurulentem Sekret, Pharyngitis, Husten und angeschwollene Lymphknoten. Normalerweise betrifft die Infektion nur den oberen Respirationstrakt und klingt nach zwei Wochen ab. Sie kann sich jedoch bei schlimmeren Verläufen auch in tiefere Bereiche ausbreiten (Murphy et al. 1999; Mayr und Kaaden 2006).

Aborte können durch EHV-1 und -4 hervorgerufen werden. Der Virusabort durch EHV-1 spielt jedoch die entscheidende Rolle und ist zu 40% Ursache aller Aborte (van Maanen 2002). Dagegen konnte in Kentucky in den Jahren 1983 bis 1992 nur 1% der Aborte auf EHV-4 zurückgeführt werden (Ostlund 1993). Die hervorgerufenen Aborte treten gehäuft im letzten Drittel der Trächtigkeit ohne vorherige Anzeichen einer Erkrankung auf (Murphy et al. 1999). Die Inkubationszeit ist variabel und liegt zwischen drei Wochen und vier Monaten (Mayr und Kaaden 2006). Der Abort erfolgt in der Regel spontan und komplikationslos, wobei Frucht, Fruchtwasser und Fruchthüllen große Erregerkonzentrationen tragen (Carrigan et al. 1991). Bei Infektionen um den Geburtszeitpunkt werden die Fohlen lebensschwach oder tot geboren. Lebensschwache, infizierte Fohlen sterben gewöhnlich in den ersten Lebenstagen (Patel und Heldens 2005) aufgrund von Dyspnoe, die durch eine viralbedingte Pneumonie entsteht (Slater 2007). Nur selten abortieren tragende Stuten nochmals im darauffolgenden Jahr. Kydd et al. (2003) machten die Erfahrung, dass wiederholte, jährliche Infektionen mit dem gleichen Virusstamm eine Immunität von bis zu einem Jahr induziert, die vor Aborten schützt. Trotz Impfprogrammen und gutem Management treten jedoch noch immer sogenannte „abortion storms“ auf (van Maanen et al. 2000).

Die Equine Herpesvirus Myeloenzephalopathie (EHM) ist die neurologische Form der EHV-1 Infektion. Durch eine hypoxische Degeneration des Nervengewebes (Jackson et al. 1977; Edington et al. 1986) treten neurologische Ausfallserscheinungen auf. Ein häufig ausgeprägtes Bild stellt die Ataxie der Hintergliedmaßen, begleitet von Kot- und Urinabsatzstörungen, dar. Ebenfalls werden Verhaltenstörungen, beeinträchtigte Propriozeption bis hin zu hochgradiger Parese beobachtet, die nicht selten tödlich verläuft (Rosas et al. 2006; Thein 2006a).

2.2.7. Epidemiologie

Unter natürlichen Bedingungen sind Pferde, Esel und Maultiere für EHV-1 und -4 empfänglich. EHV-1 konnte jedoch auch bei Hirschen, Alpakas, Gazellen, Antilopen, Lamas, Zebras und Rindern isoliert werden (Montali et al. 1985; Crandell et al. 1988; Verter et al. 1999). EHV-1-Infektionen treten im Gegensatz zu ganzjährigen EHV-4-Infektionen vornehmlich in den Wintermonaten auf (Matsumura et al. 1992). Die Ausscheidung und somit die Übertragung von EHV-1 und -4 erfolgt normalerweise über das Nasensekret als Tröpfcheninfektion. Nur selten werden indirekte Vektoren und die Aerolisierung als Ursache betrachtet (Verter et al. 1999). Bedeutende Infektionsquellen stellen außerdem das abortierte Fetalmaterial, die Nachgeburt und die Fruchthüllen dar, die große Mengen an infektiösem EHV-1 beinhalten (Slater 2007).

Die wichtigste Rolle spielen vor allem latent infizierte Tiere, die durch Reaktivierung der Viren zu erneuten Ausscheidern werden (Gibson et al. 1992b; Murphy et al. 1999; Mayr und Kaaden 2006). Die Risikofaktoren für einen Ausbruch bzw. für eine Reaktivierung der latenten Infektionsstadien sind multifaktoriell. Neben Immunsuppression und Stressoren, wie Transporte, Umstellungen, Rangordnungskämpfe oder Geburten (Burrows et al. 1984; Edington et al. 1985), ist ebenfalls die Einführung neuer Pferde in die Herde eine Gefahr.

Primärinfektionen von Fohlen wurden ursprünglich aufgrund des sinkenden maternalen Antikörperspiegels um den Absetzzeitpunkt vermutet. Mumford et al. (1987) konnten jedoch bereits bei sieben bis neun Tage alten, klinisch gesunden Fohlen EHV-1 aus dem Nasopharynx isolieren. Foote et al. (2004) wiesen eine EHV-1-Infektion elf Tage post partum nach. Als Infektionsquelle werden die laktierenden Stuten und andere Kontakttiere aus der Gruppe betrachtet (Gilkerson et al. 1999).

2.2.8. Diagnostik

Eine Differenzierung von EHV-1 und -4 gegenüber anderen respiratorischen Erregern anhand des klinischen Erscheinungsbildes ist nicht möglich, da sie keine pathognomonischen Krankheitsanzeichen aufweisen (Verter et al. 1999). Daher wird die Diagnose mittels Laboruntersuchungen gesichert.

Direkter Erregernachweis

Als Gold-Standard des direkten Erregernachweis gilt die Virusisolierung von EHV-1 (Slater 2007). Es können Nasopharyngeal- und Konjunktivaltupferproben, Blutproben,

sowie Organmaterial von Fetus und Plazenta verwendet werden. Zahlreiche Zelllinien sind für EHV-1 empfänglich (Bryans 1980; O'Callaghan et al. 1983). Um jedoch die genaue Identität des isolierten Virus zu bestimmen, müssen die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) oder die Immunfluoreszenz (IF) als weiterführende Tests angewendet werden (Slater 2007).

Mit Hilfe von direkter und indirekter Immunfluoreszenz-, Immunperoxidase- und Peroxidase-Antiperoxidase (PAP)- Technik kann EHV-1 an formalinfixierten Paraffinschnitten oder Gefrierschnitten von Organen diagnostiziert werden (Whitwell und Blunden 1992; Schultheiss et al. 1993).

Heute gilt die PCR als diagnostischer Test der Wahl. Sogar bei geringer Virusbelastung erzielt die PCR im Gegensatz zu der Virusisolation positive Ergebnisse (Lunn et al. 2009). Die konventionelle (nicht-quantitative) PCR ist limitiert, während die quantitative (real-time) PCR hohe Sensitivität und Spezifität sowie eine bessere Einschätzung der aktuellen viralen Belastung liefert (Allen und Breathnach 2006; Diallo et al. 2006; Pusterla et al. 2008). Diese erzielt eine genauere Aussage über die Einstufung des Krankheitszustandes, über das Risiko andere Tiere zu infizieren und über den Erfolg einer Behandlung. Aufgrund von fehlenden standardisierten Protokollen treten bei der Interpretation der Ergebnisse jedoch Probleme auf (Lunn et al. 2009).

Indirekter Erregernachweis

Mittels eines Antikörpernachweises durch den Serumneutralisationstest (SNT), die Komplementbindungsreaktion (KBR) oder den Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) erfolgt der indirekte Erregernachweis.

Mit Hilfe des SNTs können virusneutralisierende (VN) Antikörper gegen EHV-1/-4 quantitativ nachgewiesen werden. Sie steigen in der Regel bis zum 40. Tag post infektionem (p.i.) an und können bis zu neun Monate persistieren (Slater 2007). In diesem Testverfahren binden sie an virale Oberflächenantigene, bilden Antigen-Antikörper-Komplexe und verursachen somit einen Infektiositätsverlust, eine sogenannte Virusneutralisation (Selb 1992). Die Titerhöhe der VN-Antikörper wird von vorausgegangenen Infektionen, von der Impfanamnese sowie vom EHV-1-Stamm und dem Zellsystem beeinflusst. Ein großer Nachteil des SNTs und der KBR ist die mangelnde Differenzierungsmöglichkeit zwischen EHV-1- und EHV-4-Infektionen, da die Antikörper gegen beide Spezies eine Kreuzreaktivität aufweisen. Die Langlebigkeit der VN-Antikörper macht den Neutralisationstest zur Identifizierung einer akuten Herpesvirusinfektion nur bedingt brauchbar. Sie lässt sich nur anhand eines deutlichen Titeranstiegs um mindestens drei Stufen innerhalb von zwei Wochen nachweisen. Das Testverfahren wird daher vorwiegend für epidemiologische Fragestellungen eingesetzt (Slater 2007).

Bei der KBR werden hauptsächlich IgM-Antikörper gemessen, die in ihrem Titer sehr rasant ansteigen, einen Peak zwischen dem 20. bis 30. Tag p.i. aufweisen und nach 60 bis 80 Tagen wieder in ihrer Konzentration abfallen (Thomson et al. 1976). Mit diesem Testverfahren können aufgrund des schnellen Absinkens der komplementbindenden Antikörper akute Infektionen nachgewiesen werden (Selb 1992; McCartan et al. 1995).

Der ELISA basiert ebenfalls auf einem quantitativen Nachweis von Antikörpern, indem sie an virale Oberflächenantigene im Testsystem binden. Nachfolgend werden die entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe noch von einem zweiten Antikörper detektiert, der mit Hilfe eines Substrates eine Farbreaktion induziert (Slater 2007). Des Weiteren wurde herausgefunden, dass das gG des EHV-1 und EHV-4 jeweils typspezifische Antikörper produziert (Crabb et al. 1992), woraufhin Crabb et al. (1995) einen typspezifischen ELISA zur Unterscheidung von EHV-1- und EHV-4-Infektionen entwickelten. Die Aminosäuresequenzen des gG von EHV-1 und EHV-4 sind nur zu 58% identisch. Besonders stark divergieren die Aminosäure-Regionen 287 bis 382 des EHV-4 gG und 288 bis 350 des EHV-1 gG (Crabb und Studdert 1993).

2.2.9. Prophylaxe

Eine vollständige Elimination des EHV-1 aus der Pferdepopulation ist aufgrund der Erregereigenschaften schwierig. Daher wird auf präventive Maßnahmen zurückgegriffen, die die Infektionskette unterbinden sollen. Hierzu zählen die Immunisierung und die vorbeugenden Managementmaßnahmen (Mayr und Kaaden 2006).

Zu den präventiven Managementmaßnahmen gehört die Separation tragender Stuten in kleine, stabile Gruppen, die über den Trächtigkeitsverlauf bestehen bleiben (Allen und Bryans 1986; Ostlund 1993). Um Stress zu minimieren sollten in diesen isolierten Einheiten das Alter der Tiere, das Trächtigkeitsstadium und die Nutzung homogen sein. Besondere Sorgfalt ist bei der Verbringung von Neuzugängen in den Bestand zu gewährleisten, sie sollten vor der Integration einer Quarantänepflicht von mindestens 21 Tagen unterliegen. Im Bestand erkrankte Tiere müssen ebenfalls sofort von der Gruppe isoliert werden (Ostlund 1993; Verter et al. 1999). Stressfaktoren, wie Überbelegung, schlechter Ernährungszustand, Parasitenbefall, lange Transporte und Trennung bestehender sozialer Gruppen sollten vermieden werden, da dies zu einer Reaktivierung von latenten Infektionsstadien führen kann (Burrows et al. 1984). Eine andere grundlegende Maßnahme ist das Hygienemanagement, welches immer und besonders im Falle eines Ausbruchs streng durchgeführt werden muss. Nicht nur die Isolierung von Abortstuten, sondern auch das Entfernen von Abortmaterial und Einstreu muss erfolgen, um die Stallungen anschließend gründlich zu desinfizieren (Lunn et al. 2009). Um das Verschleppen von Erregern zu verhindern, ist Schutzkleidung vom Personal zu tragen.

Die prophylaktische Immunisierung wird an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt, da sie im weiteren Verlauf der Dissertation noch erläutert wird.

2.3. Das Immunsystem

Das equine Immunsystem setzt sich aus zwei Anteilen zusammen. Der immunologische Schutz basiert einerseits auf dem angeborenen (innate) und andererseits auf dem erworbenen (spezifischen, adaptiven) Abwehrsystem. Der erworbene Anteil lässt sich in eine zelluläre und humorale Komponente unterteilen, wobei sie eng ineinander greifen. Das angeborene Immunsystem beruht auf der Erkennung von Pathogen-assoziierten molekularen Mustern (Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) und bietet somit die erste Abwehr, die folglich das erworbene Abwehrsystem stimulieren kann. Dieses besitzt die Fähigkeit, Pathogene spezifisch zu erkennen und ein immunologisches Gedächtnis zu entwickeln (Janeway et al. 2002).

2.3.1. Das angeborene (innate) Immunsystem

Das angeborene Immunsystem setzt sich aus vielen individuellen Bausteinen zusammen, die verschiedene Funktionen im Wirt ausüben und untereinander interagieren (Medzhitov 2008). Die physikalischen Barrieremechanismen, zu denen die Oberflächenepithelien der Haut und der Schleimhaut, die Zilien des Respirationstrakts (RT) sowie die Enzyme und Säuren des Gastrointestinaltrakts (GIT) gehören, sind die primäre Abwehr des angeborenen Immunsystems (Medzhitov 2008). Eine weitere essentielle Komponente sind Gewebemakrophagen, die mit Hilfe von Opsoninen eingedrungene Erreger erkennen und phagozytieren. Opsonine sind Proteine der Akut-Phase-Reaktion, zu denen auch das Komplementsystem gezählt wird. Dieses stellt eine Akkumulation von Plasmaproteinen dar, die durch direkten Kontakt mit dem Krankheitserreger in einer Kaskade aktiviert werden. Es erfolgen Spaltungsreaktionen der Plasmaproteine, die zur Entstehung der aktiven Komplementkomponente - C3b - beitragen, welche auch zur Opsonierung eines Pathogens befähigt ist. Die nachfolgende Entzündungsreaktion aktiviert natürliche Killerzellen (NK-Zellen), die ihrerseits infizierte Zellen eliminieren (Medzhitov 2008). Eine Reihe von anderen Proteinen, wie die Chemokine und die Zytokine (Interleukine, Interferone, Tumornekrosefaktor- α), gehören ebenfalls zum angeborenen Immunsystem und spielen eine entscheidende Rolle bei viralen Infektionen, indem sie Mechanismen aktivieren, die die Apoptose infizierter Zellen einleiten oder den viralen Lebenszyklus inhibieren. Sie werden von allen Zellen des Abwehrsystems produziert, besonders von dendritischen Zellen (DC), Makrophagen und T-Helferzellen und beeinflussen die Regulation des Immunsystems (Meager 1998). Die Überleitung zur adaptiven Immunantwort wird durch antigenpräsentierende Zellen (APZ), speziell durch DC eingeleitet.

2.3.2. Das erworbene (spezifische, adaptive) Immunsystem

Das erworbene Immunsystem erlaubt eine Antigen-spezifische Immunantwort, die humoral und zellulär durch Lymphozyten vermittelt wird. Die wesentlichen Zellen sind die T- und B-Lymphozyten. Sie stammen beide von einer pluripotenten,

hämatopoetischen Stammzelle ab, welche sich über mehrere Stufen zu einem Lymphozyten weiter entwickelt. Die Reifung zum B-Lymphozyten erfolgt im Knochenmark, wohingegen die T-Lymphozyten im Thymus ihre Enddifferenzierung erlangen (Janeway et al. 2002).

Die humorale Immunität wird von B-Lymphozyten vermittelt. Sie werden von spezifischen Antigenen stimuliert und unter Einfluss von T-Helferzellen vom Typ 2 zu einer Differenzierung in Plasmazellen angeregt, welche ihrerseits Immunglobuline produzieren. Diese werden als lösliche Antikörper in den Extrazellularraum sezerniert, wo sie mit Pathogenen interagieren (Janeway et al. 2002). Pferde besitzen insgesamt vier verschiedene Antikörper-Klassen: Immunglobulin M (IgM), IgG, IgA, und IgE. IgM ist das größte Molekül, welches als Pentamer sezerniert wird oder an B-Lymphozyten gebunden vorliegt. Es wird initial bei einer neuen Infektion produziert. IgA ist als Dimer aus zwei Molekülen zusammengesetzt und tritt besonders an den Epithelien von Schleimhäuten des RT, des GIT oder des Urogenitaltrakts auf. IgE ist ein Monomer, das vornehmlich an der Oberfläche von Mastzellen und basophilen Granulozyten lokalisiert ist, die sich nach Antigenkontakt entleeren. Somit spielt IgE eine entscheidende Rolle bei allergischen Reaktionen und Parasitenbefall. IgG ist das Haupt-Immunglobulin, welches sich im Plasma befindet und der Opsonierung, der Virusneutralisation und der Komplementaktivierung dient (Lunn und Horohov 2004). Es repräsentiert 80% der gesamten Antikörperkonzentration, wobei vier IgG-Isotypen beim Pferd identifiziert wurden: IgG(a), IgG(b), IgG(c) und IgG(T) (Lunn et al. 1998). Eine Impfstudie von Goodman et al. (2006) zeigte, dass eine hohe IgG(T)-Konzentration (inzwischen IgG3/5) mit einer Th2-Immunantwort assoziiert ist (Rosas et al. 2006). Im Gegensatz dazu sind IgG(a) und IgG(b) Surrogate einer Th1-Immunität (Lunn und Horohov 2004). IgG(a) wird inzwischen als IgG1 und IgG(b) als IgG4/7 bezeichnet (Wagner 2006).

Die T-Lymphozyten repräsentieren die zelluläre Komponente des adaptiven Immunsystems. Sie lassen sich in zwei Subpopulationen einteilen, abhängig von ihren Rezeptormolekülen (Kisielow und Miazek 1996). Während die Mehrzahl der zytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) auf ihrer Oberfläche das CD8+ Molekül exprimieren, tragen die T-Helferzellen das CD4+ Molekül. Anhand dieser Oberflächenstrukturen ist ihre Funktion festgelegt. CTL erkennen und zerstören virusinfizierte Körperzellen sowie Tumorzellen. T-Helferzellen sind darauf spezialisiert andere Effektorzellen des Immunsystems, wie beispielsweise Makrophagen und B-Lymphozyten zu aktivieren (Janeway et al. 2002). Unter dem Einfluß einer bestimmten Zytokinumgebung differenzieren sie entweder zu T-Helferzellen vom Typ 1 (Th1-Zellen) oder zu T-Helferzellen vom Typ 2 (Th2-Zellen). Die Th1-Antwort involviert spezifische Zytokine, wie Interferon- γ (IFN- γ), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-2 (IL-2), die eine zellulär vermittelte Immunantwort induzieren, die sich besonders gegen intrazelluläre Erreger richtet. Die Th2-Antwort ist charakterisiert durch die Produktion von anderen Zytokinen, nämlich IL-4, IL-5 und IL-10, die B-Lymphozyten aktivieren und eine humorale Immunantwort anregen (Lunn und Horohov 2004).

T-Lymphozyten können die Anwesenheit eines Fremdartigens im nativen Zustand nicht erkennen, sondern benötigen einen zusammengesetzten Liganden aus fremdem Peptid und körpereigenem MHC-Molekül (Haupthistokompatibilitätskomplex).

MHC-Moleküle sind hochpolymorphe Glykoproteine, die in der Zelle synthetisiert werden und fremde Peptidfragmente an die Zelloberfläche transportieren, um mit ihnen dort eine Bindung einzugehen. Es gibt insgesamt zwei Klassen. Die MHC-Klasse-I-Moleküle (MHC-I), die von den meisten infizierten, kernhaltigen Zellen und speziell von Lymphozyten exprimiert werden und die MHC-Klasse-II-Moleküle (MHC-II), die von APZ – DC, B-Lymphozyten und Makrophagen – auf ihrer Zelloberfläche exprimiert werden (Lunn und Horohov 2004). Die MHC-I-Moleküle interagieren ausnahmslos mit CD8+ Zellen, die eine direkte Zerstörung der infizierten Zelle einleiten. MHC-II-Moleküle werden dagegen von CD4+ Zellen erkannt, die Effektorzellen aktivieren und eine zelluläre oder humorale Immunantwort anregen. Jeder T-Lymphozyt ist somit spezifisch für ein bestimmtes Peptid-MHC-Molekül und führt die passende Funktion aus (Janeway et al. 2002).

Die Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses wird sowohl von B- als auch von T-Lymphozyten vermittelt, indem sie zu Gedächtniszellen differenzieren, die schnell auf ein erneutes Auftreten desselben Krankheitserregers reagieren können.

2.3.3. Das Immunsystem des Fohlens

Die verschiedenen Anteile des angeborenen Immunsystems entwickeln sich beim Fohlen zu unterschiedlichen Zeitpunkten. In einer Studie von Gröndahl et al. (1999) wurden Blutproben von 13 Fohlen in den ersten 2 bis 56 Lebenstagen entnommen, um die Phagozytosekapazität mittels Durchflusszytometrie zu überprüfen. Solange zwei Tage alte Fohlen kein maternales Serum erhielten, war die Opsonierungskapazität reduziert und stieg erst in der dritten bis vierten Lebenswoche auf adulte Werte an. Zum Vergleich wurden sechs der 13 Fohlen in der ersten Lebenswoche mit adultem Plasma transfundiert, woraufhin die Opsonierungskapazität deutlich erhöht und sogar mit adulten Tieren vergleichbar war. Die Phagozytosekapazität ist somit abhängig von den maternalen Antikörpern (Hietala und Ardans 1987). Ähnliche Ergebnisse wurden von Demmers et al. (2001) erzielt. Dagegen zeigt das Komplementsystem in der ersten Lebenswoche eine verstärkte Aktivität bei Fohlen ohne maternale Antikörper im Gegensatz zu Fohlen, die Antikörper erhalten haben (Bernoco et al. 1994). T- und B-Lymphozyten sind schon zum Geburtszeitpunkt ausgebildet, steigen aber in ihrer Konzentration stetig bis zu einem Alter von drei Monaten an (Flaminio et al. 1999). Die erworbene humorale Immunität setzt jedoch erst nach den ersten Lebensmonaten ein (Lunn und Horohov 2004). Fohlen werden aufgrund ihrer epitheliochorialen Plazenta mit einer Agammaglobulinämie geboren. Sie sind auf die passive Immunität, die durch die Aufnahme von Kolostrum gesichert wird, angewiesen (Jeffcott 1974). Das Kolostrum enthält große Mengen an IgG, das in den ersten Lebensstunden über die Magen-Darm-Schranke resorbiert werden kann. Diese Fraktion setzt sich zu 60% aus IgG(b) zusammen, die restlichen Anteile werden von IgG(a) und IgG(T) gebildet (Sheoran et al. 2000). Innerhalb der ersten sechs Lebensstunden ist die Resorptionskapazität des GIT am größten und nimmt dann stetig ab (Jeffcott 1971). Die sogenannten maternalen Antikörper schützen das Fohlen in den ersten Lebenswochen vor einer Erkrankung. Da sie jedoch nur eine Halbwertszeit von 20 bis 30 Tagen aufweisen (Jeffcott 1974), erreichen die Antikörper nach zwei Lebensmonaten nur noch

sehr niedrige Konzentrationen, welche keinen vollständigen Schutz bieten. Zu diesem Zeitpunkt beginnt die endogene Synthese von Antikörpern, die zuvor durch maternale Antikörper inhibiert wurde. Im Rahmen dieser Entdeckung wurde von Bernoco et al. (1994) eine Studie durchgeführt, bei der Fohlen, die kein Kolostrum erhielten, höhere IgG-Konzentrationen im dritten bis fünften Lebensmonat erreichten als Fohlen mit Kolostrum. Die endogene IgG-Produktion setzt somit bei Fohlen ohne maternale Antikörper früher ein (Lunn und Horohov 2004). Weiterhin wurde festgestellt, dass Fohlen unempfindlich für Impfungen sind, solange sie noch geringe Mengen an maternalen Antikörpern besitzen. Dies kann bis zum sechsten Lebensmonat andauern (van Maanen et al. 1992). Fohlen ohne maternale Antikörper reagieren dagegen bereits im dritten Lebensmonat mit einer Immunantwort.

2.3.4. Das equine Immunsystem und die EHV-1-Infektion

Das EHV-1 hat diverse Strategien entwickelt um das Immunsystem des Wirtes zu umgehen und das eigene Überleben zu optimieren. Zur Kontrolle der Infektion müssen entsprechende Immunantworten des Wirtes erfolgen. Die erste wesentliche Taktik des EHV-1 ist der intrazelluläre Parasitismus in Leukozyten-Subpopulationen, der sich innerhalb weniger Stunden p.i. etabliert, um die Replikation zu sichern (Kydd et al. 1994a; b). Besonders CD8+ Zellen werden befallen sowie eine kleinere Anzahl der CD4+ Zellen und 20-25% der Monozyten (Scott et al. 1983). Als Reaktion des Wirtes ist die Synthese des IFN- γ in CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten zehn Tage p.i. erhöht (Breathnach et al. 2005). Im Rahmen der Th1- Antwort wird IFN- γ von den T-Lymphozyten synthetisiert, um die Produktion von weiteren CTL anzuregen und die Th2-Induktion zu inhibieren (Lunn und Horohov 2004). Dieses Phänomen spiegelt sich im Blut anhand eines Anstiegs der virusspezifischen CTL wieder (Lunn et al. 1991; Kydd et al. 1996). Pferde mit vorausgegangenen EHV-1-Infektionen zeigen im Gegensatz zu Pferden ohne vorherigen EHV-1-Kontakt eine deutlich höhere IFN- γ -Antwort und dadurch eine gesteigerte EHV-1-spezifische CTL-Proliferation p.i. (Coombs et al. 2006). Weitere Untersuchungen haben ergeben, dass eine erhöhte Anzahl an CTL mit dem Schutz vor EHV-1-Aborten korreliert (O'Neill et al. 1999; Kydd et al. 2003). Die lytische Eigenschaft der CTL führt vermutlich zu einer Reduktion der zellassoziierten Virämie und vermindert dadurch die Besiedelung im Uterus und das Auftreten von Aborten (Kydd et al. 2003). Daher sollte bei der Entwicklung neuer Impfstoffe gegen EHV-1 auf die Stimulation der zytotoxischen Immunantwort geachtet werden (Kydd et al. 2003). Des Weiteren ist das MHC-I-Molekül, welches verantwortlich für die Antigenpräsentation ist, in eine wichtige Ausweichstrategie der Viren involviert. EHV-1 bleibt unentdeckt, indem es nach einer *in vitro* Infektion die Zahl der MHC-I-Moleküle auf der Zelloberfläche reduziert (Rappocciolo et al. 2003; Ambagala et al. 2004). Rappocciolo et al. (2003) haben herausgefunden, dass ein „early-EHV-1“ Protein eine verstärkte MHC-I-Endozytose induziert und somit verantwortlich für diesen Vorgang ist. Ambagala et al. (2004) haben ein weiteres „early-EHV-1“ Protein identifiziert, welches zusätzlich die Peptid-Transport-Aktivität der TAP (transporter associated with antigen processing) hemmt. Koppers-Lalic et al. (2008) machten kürzlich das UL 49.5 Protein dafür verantwortlich, da es die Bindung von ATP an die TAP beeinträchtigt.

Insgesamt exprimieren annähernd 70% aller mit EHV-1 infizierten Zellen keine viralen Hüllproteine auf ihrer Oberfläche, trotz einem deutlichen intrazellulären Nachweis (van der Meulen et al. 2003). Somit sind sie unempfindlich gegenüber der Komplement vermittelten Zellyse. *In vitro* wird die Komplementaktivierung zusätzlich durch das gC des EHV-1 behindert, welches eine Bindung mit dem C3-Komplementfaktor eingeht (Huemer et al. 1995). Chemokine werden ebenfalls beeinflusst, indem sie an das virale gG gebunden werden und somit keine Chemokin-vermittelte Entzündungsreaktion mehr ausgeübt werden kann (Bryant et al. 2003). Neue Erkenntnisse zeigen, dass die Produktion der Chemokine außerdem durch die ORF1/2 Gene des EHV-1 vermindert wird, sodass eine Deletion dieser Gene zu einer gesteigerten Chemotaxis führt (Soboll Hussey et al. 2011).

Ab dem achten Tag p.i. werden vermehrt EHV-1-spezifische B-Lymphozyten produziert, die für die Synthese von VN- und komplementbindenden (CF)-Antikörpern verantwortlich sind (Lunn et al. 1991). VN-Antikörper richten sich hauptsächlich gegen gB, gC und gD (Slater 2007). Die vorherrschenden Antikörperklassen nach einer EHV-1-Infektion sind IgG und IgM. IgA ist dagegen nur in geringer Menge nachweisbar, was problematisch ist, da hohe IgA-Konzentrationen an der nasalen Schleimhaut vor einer erneuten EHV-1-Infektion schützen können (Breathnach et al. 2001). Nur durch eine intranasale experimentelle Infektion mit dem EHV-1-Stamm Army 183 (A183) wird die lokale IgA-Produktion gesteigert (Breathnach et al. 2001). Systemische VN-Antikörper können hingegen nicht vor einer Infektion schützen. Höhere VN-Antikörpertiter gehen zwar mit reduzierter Ausscheidung einher, haben aber keinen Einfluss auf die Virämie (Hannant et al. 1993).

2.4. Immunisierung

Die Immunisierung ist die beste prophylaktische Methode Leiden des Individuums und ökonomische Verluste zu reduzieren. Durch zunehmende internationale Pferdebewegungen ist die Häufigkeit von Infektionskrankheiten angestiegen, was die Impfung zur Methode der Wahl macht, um diese Erkrankungen effektiv zu kontrollieren (Minke et al. 2004). Die Entwicklung, die zu den heutigen Impfstoffen geführt hat, hat in den Jahren 1796 bis 1798 durch Edward Jenner (1749-1823) mit der Pockenimpfung des Menschen begonnen. Nach seiner Herkunft hat der Impfstoff den Namen „Vakzine“ (lat. vacca, die Kuh) erhalten (Mayr et al. 1984).

Zur Einteilung der Impfstoffe wird zunächst zwischen aktiver und passiver Immunisierung unterschieden. Während dem Organismus bei der aktiven Immunisierung ein bestimmtes Antigen zur Aktivierung von körpereigenen Abwehrreaktionen verabreicht wird, werden bei der passiven Impfung Antikörper zugeführt (Ungemach et al. 2006). Die zur aktiven Immunisierung eingesetzten Impfstoffe werden in Lebendvakzine und inaktivierte Vakzine unterteilt, wobei der Lebendimpfstoff als ältester Impfstofftyp bekannt ist (Mayr et al. 1984).

2.4.1. Lebendimpfstoffe

Der Lebendimpfstoff ist ein immunisierendes Agens, welches vermehrungsfähige, avirulente oder schwachvirulente, homologe oder heterologe Impfstoffe enthält, die nach Applikation keine Erkrankung mehr hervorrufen (Mayr et al. 1984). Die Herstellung einer Lebendvakzine erfolgt durch die sogenannte Attenuierung, eine gezielte künstliche Abschwächung oder Aufhebung der Virulenz unter Erhalt der Vermehrungsfähigkeit, Antigenität und Immunogenität, die über Generationsfolgen konstant bleibt. Sie wird mittels Kultur- oder Tierpassagen, chemisch induzierter Mutagenese oder durch Reassortment erzielt (Minke et al. 2004). Die Bedeutung lebender Erreger als Infektionsstoffe und das Prinzip der Attenuierung wurden von Louis Pasteur (1822-1895) entdeckt (Wiesner und Ribbeck 2000).

Die Vorteile dieses Impfstofftyps liegen in der Wirksamkeit, der einfachen Applikationsart und der Wirtschaftlichkeit begründet. Lebendimpfstoffe benötigen nur eine kurze Zeitspanne bis zum Eintritt der Wirkung und bieten dadurch einen sicheren, lange anhaltenden Impfschutz (Minke et al. 2004). Es müssen wenige Applikationen durchgeführt werden, Adjuvantien sind entbehrlich und eine lokale Applikation ist ebenfalls möglich. Außerdem entwickelt sich eine humorale sowie zelluläre Immunität, die mit einer natürlichen Infektion vergleichbar ist (Mayr et al. 1984). Besonders in der Massentierhaltung werden sie gerne verwendet, da sie aufgrund ihrer einfachen Applikationsart, wie beispielsweise über das Trinkwasser, bedeutend günstiger sind (Mayr et al. 1984; Ungemach et al. 2006). Ein großer Nachteil der Lebendvakzine betrifft ihre Sicherheit. Die Angst, ein nicht vollständig, attenuiertes Agens zu verwenden, welches noch imstande ist eine Krankheit hervorzurufen (Rosas et al. 2006) und die Gefahr der Rückmutation, die zur Wiedererlangung der Virulenz und zum Ausbruch der Erkrankung führt, bleibt bestehen (Minke et al. 2004). In der Massentierhaltung ist diese Gefahr besonders gegeben, da der Impfstoff sehr schnell entsprechende Passagen durchlaufen kann. Normalerweise ist die Menge der ausgeschiedenen Impfstoffe und ihre Kontagiosität nach einer Impfung jedoch so gering, dass es nicht zu Kontaktinfektionen kommt (Mayr et al. 1984).

2.4.2. Inaktivierte Impfstoffe

Inaktivierte Impfstoffe beinhalten Mikroorganismen in inaktiver Form sowie Adjuvantien zur Steigerung der immunisierenden Eigenschaften. Im Rahmen der Inaktivierung wird dem Erreger die Vermehrungsfähigkeit durch Wärme, chemische (z.B. Formaldehyd) oder physikalische (z.B. Ultraschall, UV-Strahlung) Einwirkungen genommen, ohne dass andere biologische Eigenschaften, besonders die immunisierenden Aktivitäten, beeinträchtigt werden (Mayr et al. 1984; Wiesner und Ribbeck 2000). Die Entwicklung und Herstellung der inaktivierten Impfstoffe hat erst im Jahr 1886 durch Salmon und Theobald Smith begonnen (Mayr et al. 1984).

Die Kultivierung der Viren erfolgt in Zellkulturen oder bebrüteten Hühnereiern, wo die Expression immunisierender Antigene durch bestimmte Kultivierungsbedingungen gesteigert wird. Die Immunogene werden gereinigt und mit Adjuvantien versehen.

Adjuvantien erreichen eine Steigerung und Verlängerung der immunisierenden Wirksamkeit (Minke et al. 2004), indem sie die Antikörperantwort, die zellulären Immunmechanismen und die Phagozytoseleistung durch die Bildung eines Antigen-Adjuvans-Komplexes verstärken. Außerdem wird durch eine langsamere Resorption des Komplexes von der Injektionsstelle eine Depotwirkung erzielt (Mayr et al. 1984; Wiesner und Ribbeck 2000).

Der große Vorteil des Einsatzes von inaktivierten Impfstoffen ist die Verwendung von nicht vermehrungsfähigen Erregern. Die Ausscheidung von Impfstoffkeimen, die Ansteckungsgefahr und die Virulenzreversion werden somit verhindert (Mayr et al. 1984). Um eine adäquate Immunität zu gewährleisten sind jedoch hohe Impfstoffkonzentrationen und mehrmalige Applikationen indiziert. Die Grundimmunisierung besteht aus zwei Impfungen, die in einem bestimmten Abstand erfolgen müssen. Nach Erstapplikation dominiert die IgM-Antikörperbildung, während die Produktion der IgG-Antikörper erst nach der Boosterimpfung einsetzt (Mayr et al. 1984; Ungemach et al. 2006). Die Schutzwirkung tritt im Vergleich zu Lebendimpfstoffen erst spät ein und ist nicht so stark und langandauernd. Sie wird überwiegend durch die Stimulierung der humoralen Abwehr hervorgerufen (Mayr et al. 1984), die alleine zur Eliminierung von Virus-infizierten Zellen nicht effizient genug ist (O'Neill et al. 1999). Ein weiterer Nachteil ist das Risiko einer inkompletten Inaktivierung der verabreichten Erreger (Minke et al. 2004). Außerdem müssen neben Adjuvantien begleitende Zusatzstoffe, wie Stabilisatoren und Konservierungsmittel, zugeführt werden, die ein allergisches Potential besitzen.

2.4.3. Weitere Impfstoffe

Spaltvakzinen enthalten statt des nativen Antigens, die durch Spaltung herausgelöste immunogene Untereinheit, die gereinigt, angereichert und als Impfstoff verabreicht wird (Wiesner und Ribbeck 2000). Durch die intensive Reinigung zeigen sie weniger Nebenwirkungen als Vollimpfstoffe. Außerdem sind es sichere Impfstoffe aus eindeutigen Komponenten, die keine Pathogenität oder Virusreplikation aufweisen und sich daher nicht ausbreiten können (Paillot et al. 2006b). Nachteilig ist jedoch ihre verminderte Immunogenität, woraufhin Adjuvantien zugeführt werden müssen, um eine adäquate Immunantwort zu erlangen (Akagi und Akashi 2006).

Der Beginn der rekombinanten DNA Technologie hat die Entwicklung von Impfstoffen der neuen Generation eingeleitet. Impfstoffe, denen eine Gendelektion zugrunde liegt, haben zur Entwicklung von Markervakzinen, sogenannter DIVA-Vakzinen (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) geführt. Bei dieser Impfstoffformulierung werden Deletionen von nicht-essentiellen Genen, die für immunogene Proteine kodieren, vorgenommen (Minke et al. 2004; Vannie et al. 2007). Der Nachweis von Antikörpern gegen diese Antigene weist somit auf eine Feldinfektion hin (Ungemach et al. 2006). Vektorvakzinen sind ebenfalls rekombinante Impfstoffe, die einen Impfstamm enthalten, dem auf gentechnischem Weg zusätzliche Antigene eines anderen Erregers eingepflanzt wurden (Minke et al. 2004). Des Weiteren gibt es DNA-Vakzinen. Sie stellen ein zirkuläres, virales DNA-Molekül (Plasmid) dar, welches

Gene enthält, die für bestimmte Immunogene kodieren. Dem Wirt wird die fremde DNA injiziert und die transfizierte Zelle wird zur Expression von Antigenen angeregt. Neben der Stimulation der humoralen und zellulären Immunität (Robinson 1999; Liu 2011) sind die Stabilität, die schnelle und einfache Herstellung sowie die längerfristige Lagerung bei Raumtemperatur weitere Vorteile dieser Vakzine (Paillot et al. 2006b; Liu 2011). Theoretisch lässt sich eine maßgeschneiderte DNA synthetisieren, die spezifische Aspekte des Immunsystems stimuliert (Liu 2011). Besorgniserregend ist jedoch die theoretische Annahme einer Integration des Plasmids in das Wirtgenom oder eine Erzeugung von anti-DNA-Antikörpern, die eine Autoimmunkrankheit hervorrufen können (Minke et al. 2004).

2.4.4. Impfstoffe gegen EHV-1

Im Jahr 1941 wurden die ersten Impfversuche gegen EHV-1 mit einem inaktivierten Impfstoff durchgeführt. Er wurde aus infiziertem, equinem Fetalgewebe und aus einem Hamster-adaptierten EHV-1-Virus aufbereitet und tragenden Stuten intra muskulär (i.m.) appliziert (Doll et al. 1959; Doll und Bryans 1963b). Aufgrund von diversen Nebenwirkungen wurde der Einsatz nicht fortgesetzt. Stattdessen wurde eine neue Lebendvakzine zur intranasalen Applikation entwickelt (Doll 1961). Sie stammte ebenfalls aus einem Hamster-adaptierten EHV-1-Virus zur Immunisierung tragender Stuten gegen den EHV-1-Abort. In einem geplanten Infektionsprogramm stellte sich heraus, dass der Impfstoff einen drei-monatigen Schutz gegen die respiratorische Erkrankung bietet und sich die Abortinzidenz bei geimpften Pferden reduziert (Doll und Bryans 1963b; a). Die Gefahr von Lebendimpfstoff induzierten Aborten blieb jedoch bestehen. Pette entwickelte (1966) ein Kultur-adaptiertes Virus aus einem abortierten Pferdefötus, das nach *in vivo* Hamsterpassagen, gefolgt von 80 Passagen in Schweinenierenzellen und 176 in Kaninchennierenzellen als RAC-H-Isolat bekannt wurde. Die Attenuierung des Impfstamms RAC-H ging so weit, dass seine virulenten Eigenschaften sowohl für den Goldhamster als auch für das Pferd weitgehend eingebüßt wurden. Die immunisierenden Eigenschaften blieben dabei erhalten (Mayr und Pette 1968). Die Deletion des IR6 Gens wurde für die Attenuierung verantwortlich gemacht (Osterrieder et al. 1996), da es in die Nukleokapsid-Ausschleusung und den Zell-Zell-Transport involviert ist und somit einen entscheidenden Virulenzfaktor darstellt (Osterrieder et al. 1998). RAC-H fand bis Ende der 90er Jahre in Deutschland als Impfstamm gegen EHV-1-Aborte Verwendung und ist bis heute noch als Derivat gegen die respiratorische Erkrankung auf dem europäischen Markt erhältlich (Prevaccinol[®], Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim). In einer Studie wurden über einen längeren Zeitraum 7100 tragende Stuten und Fohlen mehrmals mit Prevaccinol[®] geimpft. Es resultierten eine geringe Pathogenität, eine geringe Ansteckung und sieben Impfaborte (Mayr und Pette 1968; Mayr et al. 1968). Nach Pette (1966) scheint RAC-H nur gering virulent zu sein und resultiert nicht in einer Virämie. Dieses Ergebnis widerspricht den Resultaten von Bürki et al. (1990). In dieser Studie konnte die mehrfache Impfung mit Prevaccinol[®] über einen Zeitraum von 12 bis 20 Monaten keine Aborte und Virämien nach Infektion verhindern. In genannter Studie gab es jedoch keine Kontrollgruppe, die einen Vergleich der Abortraten ermöglicht hätte. In den 70er Jahren wurde RAC-H durch weitere Passagen in Kaninchennierenzellen und

Pferdehautzellen verändert und als Rhinomune[®] (Boehringer Ingelheim Vetmedica) vermarktet (Kydd et al. 2006). Rhinomune[®] wird heutzutage als Lebendimpfstoff gegen EHV-1 in Nordamerika zur Kontrolle der respiratorischen Infektion und der Minimierung der Ausscheidung eingesetzt (Goodman et al. 2006). Er dient jedoch nicht dem Schutz gegen Aborte, obwohl die Applikation bei tragenden Stuten als sicher gilt (Dutta und Shipley 1975; Mitchell 1983). Pneumabort-K[®] war der erste inaktivierte EHV-1-Impfstoff, der auf den Markt kam, um neben der Rhinopneumonitis auch gegen EHV-1-Aborte zu schützen. Getestet wurde dieser von Bryans und Allen (1982), wobei eine Reduzierung der Abortinzidenz nachgewiesen werden konnte. In Folgestudien wurde dies jedoch nicht bestätigt (Burrows et al. 1984; Burki et al. 1990). Er ist heutzutage als Pneumabort-K[®] (Pfizer AnimalHealth) in den USA kommerziell erhältlich. Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen) ist eine weitere inaktivierte Vakzine, die momentan als einzige auf dem europäischen Markt zum Schutz gegen EHV-1-Aborte lizenziert ist. Mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpfte Fohlen zeigen eine Reduktion klinischer Symptome und eine minimierte Virusausscheidung. Außerdem sind die Abortzahlen durch eine dreimalige Vakzination nach intranasaler Infektion mit dem EHV-1-Stamm Ab4 deutlich reduziert (Heldens et al. 2001a). Von fünf tragenden, geimpften Stuten fohten vier erfolgreich, im Gegensatz zu den Kontrolltieren, die alle zwischen 15 und 65 Tagen p.i. abortierten. Weiterhin wurde festgestellt, dass die Antikörpertiter nach der zweiten Impfung anstiegen, aber nie den Titer erreichten, der durch eine Infektion induziert wird. Dies ist ein Hinweis, dass nicht die Antikörper dem Schutz gegen die klinische Erkrankung dienen, sondern die zelluläre Immunität eine entscheidende Rolle spielt (Heldens et al. 2001b). Weitere Studien wurden mit einer Temperatur-sensitiven Lebendvakzine durchgeführt (Patel et al. 2003a; Patel et al. 2003b; Patel et al. 2004). Der Lebendimpfstoff bot nach intranasaler Applikation bei tragenden Stuten Schutz gegen EHV-1-Aborte. Vier bis sechs Monate nach Verabreichungstermin wurden die geimpften Stuten und die ungeimpften Kontrolltiere intranasal infiziert. Dabei abortierten zwei von elf geimpften Stuten, im Gegensatz zu den Kontrolltieren, wo alle sechs abortierten (Patel et al. 2003a). In einer weiteren Studie untersuchten Patel et al. (2003b) den Einfluss des Impfstoffs auf die respiratorische Erkrankung. Dabei stellten sie fest, dass die geimpften Tiere eine verminderte Ausscheidung und keine zellassozierte Virämie zeigten.

In Deutschland gibt es momentan drei zugelassene Impfstoffe gegen equine Herpesviren. Zur Vorbeugung gegen die Rhinopneumonitis gibt es den inaktivierten Kombinationsimpfstoff (EHV-1/-4 und Influenzaviren) Resequin NN plus[®] (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) und den Lebendimpfstoff (EHV-1) Prevaccinol[®] (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim). Gegen die Rhinopneumonitis und die EHV-1-Aborte ist in Deutschland nur der inaktivierte Impfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen → jetzt Pfizer) zugelassen. In den USA sind noch weitere inaktivierte Impfstoffe gegen die respiratorische Erkrankung auf dem Markt erhältlich. Dazu zählen: Equivac[™] EHV-1/4 (Fort Dodge, USA) und Prestige[®] with Havlogen[®] (Intervet, USA). Gegen EHV-1-Aborte wird in den USA neben Pneumabort-K[®] (Pfizer Animal Health, USA) die inaktivierte EHV-1 Vakzine Prodigy with Havlogen[®] (Intervet Schering-Plough Animal Health, USA) eingesetzt (Patel und Heldens 2005; Goehring et al. 2010). Außerdem gibt es diverse Kombinationsimpfstoffe.

Die stark variierenden Ergebnisse der einzelnen Impfstudien resultieren vermutlich aus Unterschieden im Immunstatus eines Tieres, im Trächtigkeitsstadium, in der Zucht, in der vorherigen Exposition oder vorherigen Impfung gegen EHV-1 (Minke et al. 2004; Kydd et al. 2006). Aufgrund der Tatsache, dass bis heute noch kein Impfstoff entwickelt wurde, der vor der EHV-1-Infektion schützt, wurden Versuche mit rekombinanten Impfstoffen durchgeführt. Die avirulente gE/gI-Deletionsmutante des EHV-1-Stammes Kentucky A (KyA) bietet nur begrenzten Schutz gegen respiratorische Symptome nach einer EHV-1-Infektion (Matsumura et al. 1998). Ähnlich wie die Thymidin-Kinase-negative Mutante, die ebenfalls keinen signifikanten Schutz verspricht und die Virämie nicht verhindern kann. Sie verursacht jedoch im Gegensatz zu dem EHV-1-Wildtyp geringere klinische Symptome und eine verkürzte Ausscheidungsdauer (Slater et al. 1993; Tewari et al. 1993). Als weiterer rekombinanter Impfstoff wurde eine Vektor-Vakzine aus Kanarienvogelpocken mit gB, gC und gD Genen des EHV-1 hergestellt und Ponies zweimal im Abstand von fünf Wochen appliziert. Nach intranasaler Infektion mit dem EHV-1-Stamm Ab4 konnte die Virusausscheidung reduziert werden, die Virämie hingegen nicht. Ähnliche Ergebnisse wurden mit DNA-Vakzinen erzielt (Minke et al. 2006). Die Bemühungen der Zukunft liegen daher in der Entwicklung eines Impfstoffs, der Sicherheit mit größtmöglicher Wirkung verbindet. Dieses Ziel sollte durch eine weitere Identifizierung von Virulenzgenen und immundominanter Antigenen verfolgt werden (Osterrieder et al. 2001; Soboll et al. 2003), die in einer zellulär vermittelten Immunantwort resultieren (O'Neill et al. 1999; Minke et al. 2004).

3. Material und Methoden

Als Ziel der vorliegenden Studie sollte die Wirksamkeit der beiden kommerziell erhältlichen Impfstoffe Prevaccinol[®] (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) und Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen → heute Pfizer) gegen EHV-1 im Hinblick auf ihren klinischen Schutz vor Aborten bestimmt und mit serologischen Untersuchungsmethoden gefestigt werden. Anhand von Immunglobulinprofilen sollte insbesondere die Intensität der zellulären Immunantwort der beiden Impfstoffe verglichen werden.

Dabei wurden zwei Testverfahren zum Nachweis von Antikörpern gegen EHV-1 angewendet. Der SNT mit rein quantitativer Aussagekraft diente der Bestimmung von Antikörpertitern, um die Entwicklung neutralisierender Antikörper infolge der Applikation der beiden Impfstoffe zu vergleichen. Der ELISA hingegen diente dem Nachweis der unterschiedlichen IgG-Isotypen – IgG1, IgG4/7 und IgG3/5 - die ihrerseits entweder eine Th1- oder eine Th2-vermittelte Immunantwort der beiden Impfstoffe anzeigen (Lunn und Horohov 2004; Goodman et al. 2006).

3.1. Material

3.1.1. Pferde des Gestüts

Die vorliegende Impfstudie wurde in der Zuchtsaison 2009/2010 auf einem privaten norddeutschen Gestüt durchgeführt. Insgesamt wurden auf diesem Gestüt ca. 3500 Pferde gehalten, wovon 775 tragende Stuten waren. Es handelte sich um Warmblüter unterschiedlicher Rassen und Altersstufen. Im Rahmen der Bestandsimpfung wurden sie regelmäßig nach Herstellerangaben gegen equine Influenzaviren, equine Herpesviren und Tetanus immunisiert. Die Grundimmunisierung der Fohlen erfolgte nach dem Absetzen im fünften bis sechsten Lebensmonat. Darüber hinaus wurden die Pferde regelmäßig mit wechselnden Wirkstoffen entwurmt.

3.1.2. Haltungsbedingungen

Die Stuten, die zum Zeitpunkt des Absetzens häufig bereits im fünften bis sechsten Monat tragend waren, wurden nach der Trennung von ihren Fohlen auf die Weide verbracht, wo sie in stabilen Herden von bis zu 40 Stuten bis zum Spätherbst gehalten wurden. Sie hatten freien Zugang zu Gras, Heu und Wasser und wurden zusätzlich einmal täglich mit einer Gras- und Maissilage gefüttert. Die nachfolgende Aufstallung erfolgte in Laufställen mit einer Besatzdichte von bis zu 80 Pferden. Je nach Trächtigkeitsstadium wurden sie entweder auf dem Hauptgestüt oder in Stallungen zehn Kilometer entfernt untergebracht. Alle Laufställe waren mit Stroh eingestreut. Kurz vor dem Geburtstermin kamen die hochtragenden Stuten in einen für die Abfohlung vorgesehenen Stall mit Einzelboxen. Am Tag der Geburt wurde die jeweilige Stute mit

ihrem Fohlen in eine frisch gereinigte und desinfizierte Box umgestellt. Eine Woche nach der Abfohlung wurden sie in Laufställe verbracht mit einer variierenden Besatzdichte zwischen acht und vierzehn Mutterstuten. Diese Laufställe waren ebenfalls mit Stroh eingestreut. Vor jeder Neuebelegung stand die Reinigung und Desinfektion der Ställe. Aufgrund von Erkrankungen unterlagen die bestehenden Gruppen einer ständigen Neuordnung um den Infektionsdruck zu minimieren. In einem Alter von fünf bis sechs Lebensmonaten wurden die Fohlen von den Stuten abgesetzt.

3.1.3. Verwendete Impfstoffe

3.1.3.1. Duvaxyn[®] EHV_{1,4} (Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen)

Eine Impfdosis von 1,5ml Duvaxyn[®] EHV_{1,4} enthält nach Beipackzettel:

inaktiviertes equines Herpesvirus Typ 1 (EHV-1)	
Stamm 438/77	min. $10^{7,3}$ GKID ₅₀
inaktiviertes equines Herpesvirus Typ 4 (EHV-4)	
Stamm 405/76	min. $10^{7,3}$ GKID ₅₀
Carbopol	6,0 mg

Tabelle 1: Impfstoffzusammensetzung von Duvaxyn[®] EHV_{1,4}

Nach telefonischer Rücksprache mit einem Mitarbeiter des Paul-Ehrlich-Instituts, wurde Duvaxyn[®] EHV_{1,4} im Jahr 1997 zugelassen, wobei der damalige Zulassungsinhaber die Pfizer GmbH war. Der nachfolgende Zulassungsinhaber war die Fort Dodge Veterinär GmbH. Aktuell wurde die Fort Dodge Veterinär GmbH jedoch von der Pfizer GmbH aufgekauft, die somit die Duvaxyn[®] EHV_{1,4} Zulassung zurückerhalten hat. Duvaxyn[®] EHV_{1,4} ist das einzige Präparat auf dem europäischen Markt, welches zum Schutz gegen die respiratorische Erkrankung und zum Schutz gegen EHV-1-Aborte zugelassen ist.

3.1.3.2. Prevaccinol[®] (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim)

Eine Impfdosis von 5ml Prevaccinol[®] enthält nach Beipackzettel:

lebend, attenuiertes equines Herpesvirus Typ 1 (EHV-1)	
Stamm RAC-H	min. 10^6 , max. $10^{7,7}$ GKID ₅₀
Spuren von Neomycin	
Lösungsmittel enthält: Phosphatpuffer	

Tabelle 2: Impfstoffzusammensetzung von Prevaccinol[®]

Der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] zur Vorbeugung gegen die Rhinopneumonitis und den EHV-1-Abort wurde nach telefonischer Rücksprache mit einem Mitarbeiter des

Paul-Ehrlich-Instituts im Jahr 1979 in Deutschland zugelassen. Aufgrund von neuen EU-Vorschriften unterlagen die damals kommerziell erhältlichen Impfstoffe neuen Zulassungsverfahren. Die erneute Abort-Zulassung ging im Rahmen dieser Verfahren verloren, woraufhin der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] im Jahr 2004 nur noch zum Schutz gegen die Rhinopneumonitis in Deutschland zugelassen wurde. Die Zusammensetzung des Impfstoffs wurde jedoch nicht verändert. Momentaner Zulassungsinhaber ist die Intervet Deutschland GmbH.

3.2. Methoden

3.2.1. Probanden, Impfgruppen, Impfschema

Von den 775 tragenden Stuten des Gestüts wurden insgesamt 342 Stuten mit den dazugehörigen gesund geborenen Fohlen in die Impfstudie aufgenommen, die in dem Zeitraum von Mai 2009 bis Juli 2010 durchgeführt wurde. Das Alter der Stuten lag im Mittel bei 8,9 Jahren, die Spannweite zwischen 3 und 23 Jahren. Bezüglich der Herpesimpfung wurden die tragenden Stuten in zwei Impfgruppen unterteilt. Eine Gruppe erhielt den Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] im fünften und achten Trächtigkeitsmonat, der zweiten Gruppe wurde im fünften, siebten und neunten Monat der inaktivierte Impfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} appliziert. Die Auswahl der Pferde erfolgte zufällig. Die Verteilung der tragenden Stuten in zwei Impfstoffgruppen wurde bereits ein Jahr vor Beginn der Studie vorgenommen, um die Durchführbarkeit zu testen. Zuvor wurden die tragenden Stuten alle mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisiert. Von den 342 Stuten wurden 192 im Verlauf der Studie mit dem Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] und 150 mit dem inaktivierten Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisiert. Die 192 Prevaccinol-Stuten ließen sich erneut in zwei Gruppen unterteilen. Die erste Gruppe wurde bereits ein Jahr vor der Studie durchgängig mit Prevaccinol[®] immunisiert (Prevaccinol-Prevaccinol-Stuten, PPS), der zweiten Gruppe wurde erstmals im Verlauf der Studie im fünften Trächtigkeitsmonat Prevaccinol[®] verabreicht, zuvor erhielten sie in regelmäßigen Abständen den Impfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Duvaxyn-Prevaccinol-Stuten, DPS).

Gruppeneinteilung:

1. 150 durchgängig mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpfte Stuten
2. 106 mit Prevaccinol[®] geimpfte Stuten, die im Vorjahr Duvaxyn[®]EHV_{1,4} erhielten (Duvaxyn-Prevaccinol-Stuten, DPS)
3. 86 mit Prevaccinol[®] geimpfte Stuten, die im Vorjahr Prevaccinol[®] erhielten (Prevaccinol-Prevaccinol-Stuten, PPS)

3.2.2. Blutentnahme

An den Tagen der Herpesimpfung und am Tag der Geburt wurde den Stuten 10ml Blut mit einer Kanüle (BD Microlance[™], 1,2mm x 40mm, Becton Dickinson, Drogheda, Irland) durch Punktion der Vena jugularis externa entnommen und in einem mit der Stutenummer beschrifteten Serumröhrchen (10ml, Sarstedt AG u. Co, Nümbrecht)

aufgefangen. Die ersten Blutproben wurden somit im fünften Trächtigkeitsmonat entnommen. Um die Übertragung der neutralisierenden Antikörper auf die gesund geborenen Fohlen zu beurteilen, wurde den Fohlen in ihrer ersten Lebenswoche und in ihrem dritten Lebensmonat ebenfalls eine Blutprobe entnommen.

	Blutentnahme Stute	Blutentnahme Fohlen
Duvaxyn[®] EHV_{1,4}	5., 7. und 9. Monat	1. Lebenswoche
	Tag der Geburt	3. Lebensmonat
Prevaccinol[®]	5. und 8. Monat	1. Lebenswoche
	Tag der Geburt	3. Lebensmonat

Tabelle3: Zeitpunkte der Blutentnahme

3.2.3. Probenaufbereitung und –lagerung

Die gewonnenen Serumblutproben wurden ein bis zwei Tage in einem Kühlschrank bei 4°C senkrecht gelagert, bevor sie fünf Minuten bei 5000 rpm (rounds per minute) zentrifugiert wurden (Beckmann tj 6 Zentrifuge, USA). Nachfolgend wurde 1ml des Überstandes mit Hilfe einer Einmalspritze (2ml Inject[®] Solo, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) mit aufgesetzter Kanüle in ein Eppendorfgefäß überführt. Dieses wurde mit der Stutennummer und dem Entnahmedatum gekennzeichnet und schließlich in einer Box nach Stutennummern sortiert. Die Lagerung erfolgte bei -20°C.

3.2.4. Serologische Laboruntersuchungen

Zellen und Viren

Für die Vermehrung der Viren wurden Kaninchennierenzellen (RK13, rabbit kidney) verwendet, die ursprünglich aus Tschechien stammten und 1982 in den Besitz der „Collection of Cell Lines in Veterinary Medicine“ (CCLV) des Friedrich-Loeffler-Instituts übergangen. Die Überführung in das virologische Institut in Berlin fand im Jahr 2007 statt.

Das verwendete Virus trägt den EHV-1-Virusstamm RacL11, der aus einem abortierten Pferdefetus in Polen isoliert wurde (Mayr et al. 1965).

Kontrollseren

Bei dem negativen Kontrollserum handelte es sich um ein Instituts-eigenes, negatives Kontrollserum mit einem Serumneutralisationstiter von < 1:4.

Das positive Kontrollserum war ebenfalls ein Instituts-eigenes Kontrollserum und zeigte im Serumneutralisationstest einen Titer von 1:128.

3.2.4.1. Serumneutralisationstest (SNT)

Das theoretische Prinzip des SNTs zur quantitativen Antikörper-Bestimmung wurde bereits im Abschnitt 2.2.8. erläutert. In der vorliegenden Studie wurde der SNT wie folgt durchgeführt.

Die Serumproben wurden zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut und zur Inaktivierung des Komplementsystems bei 56°C für 30 Minuten in einem Wasserbad inkubiert. Die Durchführung des Tests erfolgte an einer Sterilbank auf Zellkulturplatten mit 96 Vertiefungen, einer sogenannten 96-Loch-Zellkulturplatte. Zuerst wurden jeweils 25µl eines Gewebekulturmediums (MEM Earle's / 1% Pen-Strep-Lösung) in jede Kavität einer 96-Lochplatte vorgelegt, wobei die Zellkontrollen (Z_K) die doppelte Menge erhielten.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												Z _K
F												
G												
H												

Tabelle 4: Vorlage von Gewebekulturmedium

Danach wurden 25µl der zu testenden Serumproben und 25µl einer Positiv- und Negativkontrolle mit bekanntem Titer im Doppelansatz in Reihe A pipettiert. Neben der Zellkontrolle (Z_K) wurde zusätzlich eine Viruskontrolle (V_K) angelegt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S ₁	S ₁	S ₂	S ₂	S ₃	S ₃		K _P	K _P	K _N	K _N	V _K
B												
C												
D												
E												Z _K
F												
G												
H												

Tabelle 5: Testseren (S₁, S₂, S₃) sowie Positiv- (K_P) und Negativkontrolle (K_N) wurden im Doppelansatz in Reihe A vorgelegt

Von den Serumproben sowie von der Positiv- und Negativkontrolle wurde eine logarithmische Verdünnung zur Basis zwei hergestellt, indem jeweils 25µl aus Reihe A

in die folgende Reihe B usw. überführt und gemischt wurden. Die letzten 25µl wurden verworfen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	V _K
B	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
C	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
D	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
E	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	Z _K
F	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
G	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
H	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	
	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	

Tabelle 6: Serumverdünnung

Nach abgeschlossener Serumverdünnung wurde eine Virusverdünnung von 1:10.000 mit dem EHV-1-Virusstamm RacL11 (Virustiter von $1,2 \times 10^7$ PFU/ml) und dem Gewebekulturmedium hergestellt. In jede Kavität, außer der Zellkontrolle, wurden 25µl einer auf 100 PFU/100µl eingestellten Virussuspension hinzu pipettiert, also 25 PFU.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												Z _K
F												
G												
H												

Tabelle 7: Viruszugabe

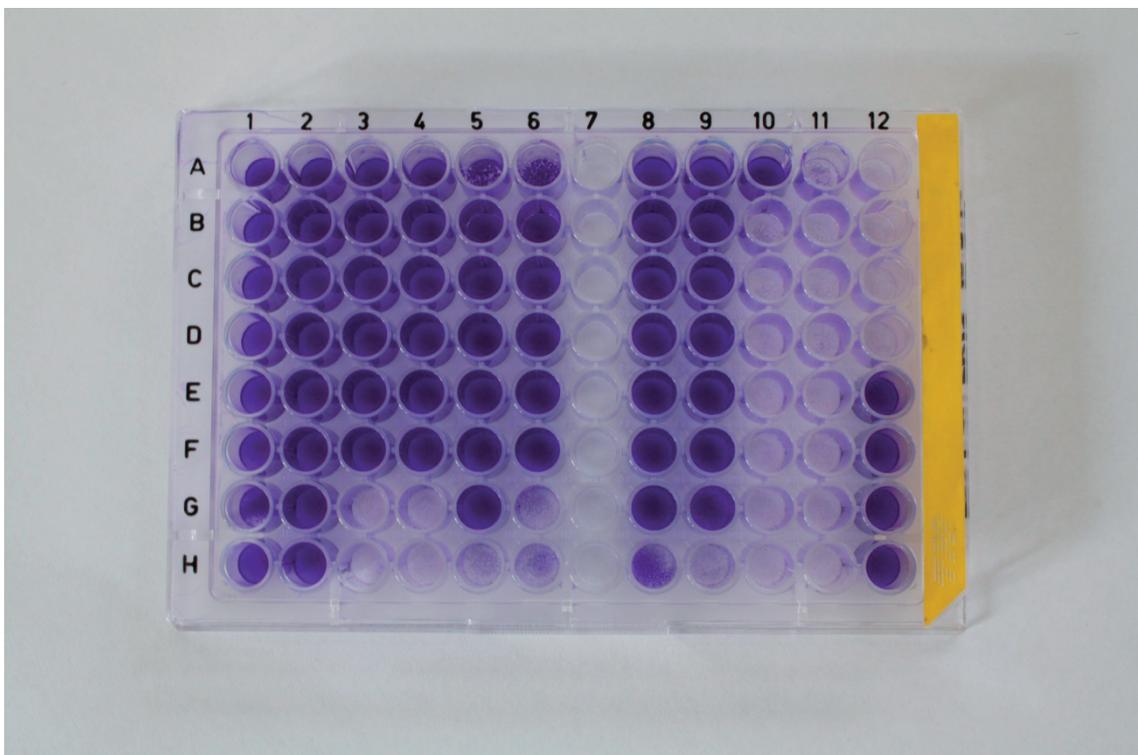
Nach einer einstündigen Inkubation im Feuchtbrutschrank bei 37°C und 5% CO₂ Atmosphäre wurde in jede Kavität, außer der Viruskontrolle, 100µl einer vorher zubereiteten Zellsuspension (5×10^4 RK-13 Zellen/100µl in MEM Earle's / 1% Pen-Strep / 5% FCS-Medium) hinzu gegeben.

Nach mikroskopischer Beurteilung der Zellen wurde zunächst das Gewebekulturmedium der in der Petrischale angezüchteten Zellen mittels einer Glaspipette abgesaugt. Daraufhin wurde der Zellrasen mit 1,5ml einer Trypsin/EDTA-Lösung beschichtet und nach kurzem Schwenken wieder abgenommen. Bis zur vollständigen Auflösung der Zell-zu-Zell-Verbindungen inkubierte die Petrischale für etwa fünf bis zehn Minuten im Feuchtbrutschrank. Sobald alle Zellen gelöst waren, wurden sie in 20ml Medium (MEM Earle's / 1% Pen-Strep / 5% FCS-Medium) resuspendiert und als Zellsuspension verwendet.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												V _K
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Tabelle 8: Zellenzugabe

In den nächsten fünf Tagen erfolgte eine Inkubation im Feuchtbrutschrank bei 37°C und 5% CO₂. Nach Abschluss der Inkubation wurden die 96-Loch-Zellkulturplatten mit 3% Formalin/PBS fixiert und anschließend mittels Giemsa-Färbung unter dem Lichtmikroskop (Olympus, Hamburg / Modell: CK2) beurteilt. Der Test war auswertbar, wenn die Zellkontrollen einen gleichmäßig geschlossenen Zellrasen und die Viruskontrollen eine komplette Zerstörung des Zellrasens aufwiesen. Außerdem sollte sich der Titer des negativen Kontrollserums unterhalb der Nachweisgrenze befinden und der Titer des positiven Kontrollserums nicht von den vorher ermittelten Werten abweichen. Als Antikörpertiter, der zu untersuchenden Serumproben, wurde die höchste Verdünnungsstufe angegeben, bei der 100% des Zellrasens im Doppelansatz ohne CPE war.

**Abbildung 1: Serumneutralisationstest**

3.2.4.2. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Vor Anfertigung der ELISA-Platten wurde zunächst das Antigen des EHV-1-Virusstamms RacL11 (1 PFU/Zelle) aufbereitet. Dafür wurden RK13-Zellen (1×10^7) in drei Gewebekulturflaschen mit dem Virus infiziert. Nach einer 24-stündigen Inkubation im Feuchtbrutschrank war der Zellrasen fast vollständig mit Plaques durchsetzt. Daraufhin wurden die Platten dreimal bei -70°C gefroren und wieder aufgetaut. Der verbliebene Inhalt der Platten wurde in ein Zentrifugenröhrchen abpipettiert und 15 Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert. Das erhaltene Pellett wurde in 5ml Coatingpuffer aufgenommen und dreimal für zehn Sekunden in einem Ultraschallbad behandelt. Eine weitere Zentrifugation wurde für fünf Minuten bei 5000 rpm durchgeführt, wobei der Überstand danach in ein separates Röhrchen pipettiert wurde.

Nachdem eine 1:50 Verdünnung des aufbereiteten RacL11-Antigens in dem Coatingpuffer hergestellt wurde, erhielt jede Kavität der ELISA-Platten eine Menge von $100\mu\text{l}$ der Verdünnung. Diese wurde über Nacht bei 4°C belassen und am nächsten Tag über einen dreimaligen Waschvorgang mit dem Waschpuffer entfernt.

Nachfolgend wurde jedes Testserum sowie die Positiv- und Negativkontrolle 1:200 mit PBST verdünnt und im Doppelansatz mit $100\mu\text{l}$ /well identisch auf drei verschiedene Platten aufgetragen. Nachdem die Inkubation der ELISA-Platten von einer Stunde im Feuchtbrutschrank bei 37°C und 5% CO_2 Atmosphäre beendet war, erfolgte erneut ein dreimaliges Waschen.

Drei identische Platten

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S ₁	S ₂	S ₃									K _P
B	S ₁	S ₂	S ₃									K _P
C	S ₁₂	S ₁₃										K _N
D	S ₁₂	S ₁₃										K _N
E												
F												
G												
H												

Tabelle 9: Auftragen der verdünnten Testseren (S₁,S₂,S₃, ..., S₁₂,S₁₃, usw.) sowie der Positiv- (K_P) und Negativkontrolle (K_N) auf drei unterschiedliche Platten

Im folgenden Schritt wurden drei 1:50 Verdünnungen der monoklonalen Antikörper - CVS 39, CVS 40, CVS 45 - mit PBST angefertigt und auf drei Platten verteilt. Dabei erhielt jede Platte nur einen monoklonalen Antikörper und jede Kavität $100\mu\text{l}$ der Verdünnung. Der monoklonale Antikörper CVS 39 erkennt equines IgG4/7, CVS 40 equines IgG3/5 und CVS 45 equines IgG1 (Sheoran et al. 1998).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

CVS-39

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

CVS-40

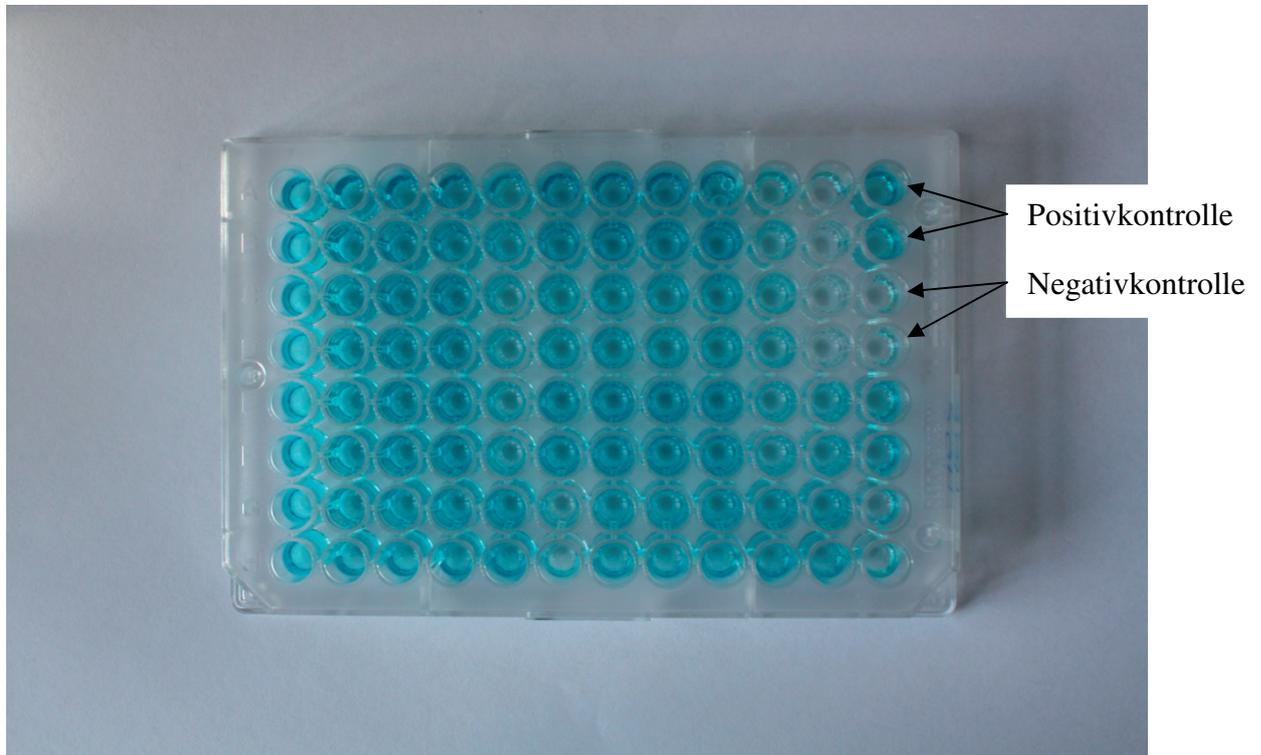
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Tabelle 10: Auftragen der monoklonalen Antikörper

CVS-45

Nach einer weiteren Stunde der Inkubation wurde wiederum ein Waschprozess durchgeführt. Nachdem dies beendet war, wurde der sekundäre Antikörper (Protein-A) 1:10.000 mit PBST verdünnt und 100µl in alle Kavitäten übertragen. Diesmal folgte eine Inkubation von nur 45 Minuten mit einem letzten Waschvorgang. Nachdem die Reinigung beendet war, wurden jeweils 100µl TMB-Substrat in alle Kavitäten vorgelegt. Je nach Antikörpergehalt färbten sich die Kavitäten in einer unterschiedlichen Intensität blau an. Nach zwei bis drei Minuten wurde die Farbreaktion

mittels 50µl/well Schwefelsäure gestoppt, um die optische Dichte im ELISA-Reader bei 620nm zu messen. Jede Platte war mit einer Positiv- und einer Negativkontrolle versehen, sodass alle Werte (Optische Dichte, OD) nach Korrektur mit der Negativkontrolle in Prozentzahlen umgerechnet werden konnten, wobei die Positivkontrolle nach Korrektur 100% entsprach.



Abbinldung 2: Unterschiedliche Farbtintensität im ELISA

3.2.5. Abortmanagement

Im Fall eines Abortes, unabhängig davon ob die Stute in der vorliegenden Impfstudie involviert war oder nicht, wurde die jeweilige Stute sofort von ihrer sozialen Gruppe getrennt und in einer Quarantänebox 15km entfernt vom Hauptgestüt isoliert aufgestellt. Das Abortmaterial und die Nachgeburt wurden nach Möglichkeit gesichert, um die Ansteckungsgefahr für die restlichen Stuten zu minimieren. Bei Kontakt mit der Stute oder dem Abortmaterial war das Personal verpflichtet Schutzkleidung zu tragen. Nach erfolgter Isolation wurde der Stute ein Vaginaltupfer (Equi Vet STERILE, Uterine cultureswab, Jorgen Kruuse A/S, Denmark) sowie eine Blutprobe und dem abortierten Fetus ein Lungenaspirat mittels einer sterilen Braunüle (MT, 4/G12, 8cm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) von der rechten Thoraxseite im dritten Intercostalraum entnommen. Das Lungenaspirat wurde in einem Eppendorfgefäß aufgefangen und zusammen mit dem Vaginaltupfer an ein privates Labor versandt, um eine Infektion mit EHV-1, EHV-4, Arterivirus (equineVirusarteritis, EVA) oder Leptospiren mittels PCR nachzuweisen bzw. auszuschließen. Die Blutprobe wurde für diese Studie entnommen

und wie alle anderen behandelt. Nach der Probenentnahme wurde die Nachgeburt auf Vollständigkeit überprüft und die Stute einer gynäkologischen Untersuchung unterzogen, um verbleibende Nachgeburtsanteile zu entfernen oder Verletzungen des Uterus zu überprüfen. Bis zum Erhalt des Laborergebnisses wurde die Stute unter Quarantänebedingungen gehalten. Sobald mehr als drei Aborte in einer Woche auftraten, wurden die abortierten Feten und die Nachgeburten zur Sektion in die Tierpathologie nach Berlin versandt. Jeder Abort auf dem Gestüt wurde mittels eines Untersuchungsbogens dokumentiert (s. Anhang, Abb. 11).

3.2.6. Statistik

Die statistische Auswertung und graphische Aufbereitung der Daten erfolgte mit Hilfe der Computer-Programme STATISTICA (Fa. StatSoft, Inc., Tulsa, USA) und Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Die statistische Auswertung wurde unter Mithilfe von Herrn Dr. Wolfgang Reimers durchgeführt und vom Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung der Freien Universität Berlin von Herrn Fabian Lotz weiter betreut. Im Rahmen dieser Auswertung erfolgte zunächst eine deskriptive Darstellung der Daten.

Für die Ermittlung von Zusammenhängen oder Unterschieden wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit p als Ergebnis jeden Tests angegeben. Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde angenommen, wenn p kleiner als 0,05 (5%) war.

Zur Untersuchung von unabhängigen Stichproben wurden der t-Test sowie der U-Test von Mann und Whitney angewandt um eine Aussage über die Irrtumswahrscheinlichkeit zu machen. Der t-Test kann nur bei intervallskalierten Daten angewendet werden und untersucht, ob sich Mittelwerte zweier Gruppen systematisch unterscheiden. Der U-Test von Mann und Whitney wird dagegen auch bei rangskalierten Variablen eingesetzt.

Zur Berechnung von kleinen Besetzungszahlen wurde der exakte Test nach Fisher genutzt

4. Ergebnisse

4.1. Vergleich der Antikörpertiter mit Hilfe des SNTs

4.1.1. Vergleich des Antikörpertiterverlaufs von mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} und Prevaccinol[®] geimpften Stuten über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen

In der folgenden Abbildung (Abb.3) wird der Antikörpertiterverlauf der mit Prevaccinol[®] und mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen dargestellt. Die Ergebnisse des SNTs wurden in Form von geometrischen Mittelwerten eines jeden Zeitpunkts in einem Punktdiagramms abgebildet. Die mit Prevaccinol[®] geimpften Stuten wurden dabei in zwei Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe, mit einer Anzahl von 86 Stuten, wurde bereits ein Jahr vor der Studie durchgängig mit Prevaccinol[®] immunisiert (Prevaccinol-Prevaccinol-Stuten, PPS). Der zweiten Gruppe, mit einer Gesamtzahl von 106 Stuten, wurde erstmals zu Studienbeginn im fünften Trächtigungsmonat (5.Mo) Prevaccinol[®] verabreicht. Zuvor erhielten sie in regelmäßigen Abständen den Impfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Duvaxyn-Prevaccinol-Stuten, DPS). Den 150 Duvaxyn-Stuten wurde ausschließlich Duvaxyn[®]EHV_{1,4} appliziert. Die erste Impfung erfolgte in allen drei Gruppen im fünften Trächtigungsmonat. Die Folgeimpfungen des inaktivierten Kombinationsimpfstoffs Duvaxyn[®]EHV_{1,4} wurden im siebten (7.Mo) und im neunten Trächtigungsmonat (9.Mo) verabreicht, der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] wurde hingegen nur ein weiteres Mal im achten Monat (8.Mo) appliziert. Zu jedem Impfzeitpunkt und am Tag der Geburt wurde jeweils eine Blutprobe von den Stuten entnommen.

Aufgrund der gegebenen Ausgangssituation waren die mittleren SNTs der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten und der DPS im fünften Trächtigungsmonat fast identisch ($p = 0,417$). Dagegen zeigten die PPS zu diesem Zeitpunkt einen deutlich höheren mittleren Ausgangsantikörpertiter, welcher bis zur zweiten Prevaccinol[®]-Impfung im achten Monat relativ konstant blieb, dann jedoch sichtlich bis zum Geburtstermin anstieg. Die DPS kennzeichneten sich durch einen permanenten Antikörpertiteranstieg vom fünften Trächtigungsmonat bis zum Geburtstermin. Die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten verblieben bis zum Zeitpunkt der dritten Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Impfung im neunten Monat auf einem konstanten mittleren SNT-Level und erfuhren erst danach eine verstärkte Immunantwort. Allen drei Gruppen war jedoch der mittlere Höchstititer am Tag der Geburt gemein.

Um die Übertragung der maternalen Antikörper über das Kolostrum der Stute auf das geborene Fohlen zu überprüfen, wurde den Fohlen eine Blutprobe in ihrer ersten Lebenswoche (1.LW) entnommen. Die mittleren SNTs der Fohlen lagen minimal unter denen des Geburtszeitpunkts der Stute, was darauf zurückzuführen ist, dass die Fohlen zu diesem Zeitpunkt keine endogene Antikörpersynthese aufweisen, sondern die Antikörper vollständig über das Kolostrum aufnehmen (Lunn und Horohov 2004). Der jeweilige Titer war somit abhängig vom Trinkverhalten des Fohlens in den ersten

Lebensstunden. Die Fohlen der mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften Stuten unterschieden sich zu diesem Zeitpunkt statistisch signifikant von den Fohlen der DPS-Gruppe ($p < 0,001$), die Mittelwerte der PPS und DPS wiesen dagegen statistisch keinen signifikanten Unterschied auf ($p = 0,194$). Um die Titerveränderung zu überprüfen, wurden den Fohlen in ihrem dritten Lebensmonat (3.LM) erneut Blutproben entnommen. Ein rasanter Abfall der SNT's wurde hier ersichtlich. Zu diesem Zeitpunkt unterschieden sich nur die mittleren Antikörpertiter der PPS-Fohlen statistisch signifikant von den Fohlen der mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften Stuten ($p < 0,001$).

Insgesamt zeigten die PPS zu jedem Zeitpunkt die höchsten mittleren Antikörpertiter, wobei sich die DPS im Verlauf der Trächtigkeit den PPS-Tieren hinsichtlich des Titers annäherten, diesen jedoch nicht erreichten. Die PPS hatten daher statistisch signifikant höhere Mittelwerte im fünften ($p < 0,001$) und im achten Trächtigkeitmonat ($p = 0,004$) sowie zum Geburtstermin ($p = 0,03$). Der Unterschied der mittleren Antikörpertiter in der ersten Lebenswoche und im dritten Lebensmonat der Fohlen war zwischen der PPS- und der DPS-Gruppe nicht statistisch signifikant ($p = 0,194$; $p = 0,107$). Die mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften Stuten hatten die niedrigsten mittleren Antikörpertiter im gesamten Zeitverlauf, was im Vergleich mit der PPS-Gruppe zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant war ($p < 0,001$).

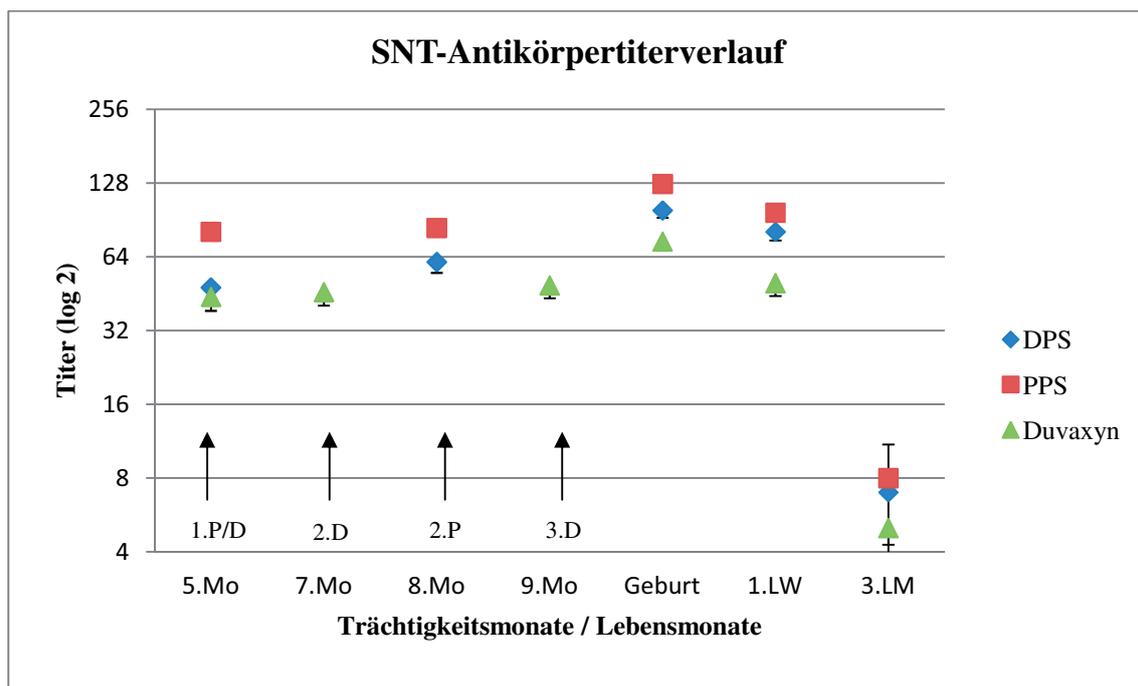


Abbildung 3: SNT-Titerverlauf der mit Duvaxyn®EHV_{1,4} und Prevaccinol® geimpften Stuten über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen dargestellt als geometrische Mittelwerte + Standardabweichungen in logarithmischer Darstellung

- 1.P/D:** 1. Impfung Prevaccinol®/Duvaxyn®EHV_{1,4}
- 2.D:** 2. Impfung Duvaxyn®EHV_{1,4}
- 2.P:** 2. Impfung Prevaccinol®
- 3.D:** 3. Impfung Duvaxyn®EHV_{1,4}

4.2. Relativer Vergleich der IgG-Isotypen mit Hilfe des ELISAs

4.2.1. Relativer Vergleich der IgG-Isotypen – IgG1, IgG4/7 und IgG3/5 - von mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} und Prevaccinol[®] geimpften Stuten über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen

Es lagen insgesamt Ergebnisse von 83 PPS, von 106 DPS und von 146 mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten sowie ihren Fohlen vor. Mit Hilfe des ELISA wurden quantitativ die IgG-Isotypen der anti-EHV-1-Antikörper ermittelt, um eine Aussage über die Entwicklung der adaptiven Immunität der drei Impfstoffgruppen zu machen. Antikörper des IgG3/5-Isotyps werden als Surrogat einer von Th2-Zellen orchestrierten Immunantwort gesehen (Goodman et al. 2006), die eher für eine humorale Immunität stehen, IgG1 und IgG4/7 sind als Folge einer durch Th1-Zellen kontrollierten Immunantwort zu finden, weisen also diagnostisch eher auf eine zellvermittelte Immunität hin (Lunn und Horohov 2004; Goodman et al. 2006). Die Werte der optischen Dichte (OD) stellten dabei quantitativ die EHV-1-spezifischen Isotypen dar. Alle ODs einer ELISA-Platte wurden wie im Abschnitt 3.2.4.2. beschrieben umgerechnet. Die relativen Serumkonzentrationen waren alle deutlich positiv, was als Nachweis der einzelnen IgG-Isotypen gilt. Die mittleren Serumkonzentrationen der Fohlen im dritten Lebensmonat waren jedoch wesentlich geringer im Gegensatz zu den anderen Werten, da zu diesem Zeitpunkt nur noch eine verminderte Menge an virusspezifischen Antikörpern existierte. Allgemein kann man sagen, dass für alle Vergleichszeitpunkte unabhängig der verschiedenen Isotypen die mittlere relative Serumkonzentration in der PPS-Gruppe statistisch signifikant höher war als in der DPS- ($p < 0,25$) oder Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Gruppe ($p < 0,00$).

Die Antikörper des IgG1-Isotyps, welche vom monoklonalen Antikörper CVS 45 identifiziert werden, waren zu Beginn der Studie im fünften Trächtigkeitsmonat bereits in allen drei Gruppen nachweisbar, was auf das vorherige Impfmanagement zurückgeführt werden kann (Abb.4). Die IgG1-Serumkonzentration der DPS und der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten war zu diesem Zeitpunkt ungefähr identisch, die relative Ausgangsserumkonzentration der PPS lag deutlich darüber. Die mittlere IgG1-Konzentration der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten war bis zur dritten Impfung im neunten Monat relativ konstant und stieg erst dann deutlich an. Die relative Serumkonzentration der PPS blieb ebenfalls bis zur zweiten Prevaccinol-Impfung im achten Trächtigkeitsmonat unverändert und verzeichnete dann erst einen Anstieg bis zum Geburtstermin. Nur die IgG1-Serumkonzentration der Tiere in der DPS-Gruppe erhöhte sich bereits merklich nach der ersten Impfung im fünften Monat. Am Tag der Geburt ihrer Fohlen erreichten alle drei Gruppen ihre mittleren IgG1-Höchstwerte. Die Titer der Fohlen fielen danach aber rasant bis zum dritten Lebensmonat ab. Hier wurden nur noch geringe Serumkonzentrationen zwischen 27% und 38% erreicht, da zu diesem Zeitpunkt der größte Anteil der maternalen Antikörper offenbar abgebaut war. Die mittleren IgG1-Konzentrationen der Fohlen in der ersten Lebenswoche und im dritten Lebensmonat zeigten in der Gruppe der DPS und der PPS fast identische Werte. Die Fohlen der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten lagen mit ihren Serumkonzentrationen darunter. Generell konnten große Parallelen zwischen dem IgG1-

und dem SNT-Verlauf über die gesamte Trächtigkeit gesehen werden. Die PPS erreichten im Mittel zu jedem Zeitpunkt eine höhere relative Serumkonzentration als die beiden anderen Gruppen. Die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten zeigten dagegen die niedrigsten mittleren Werte.

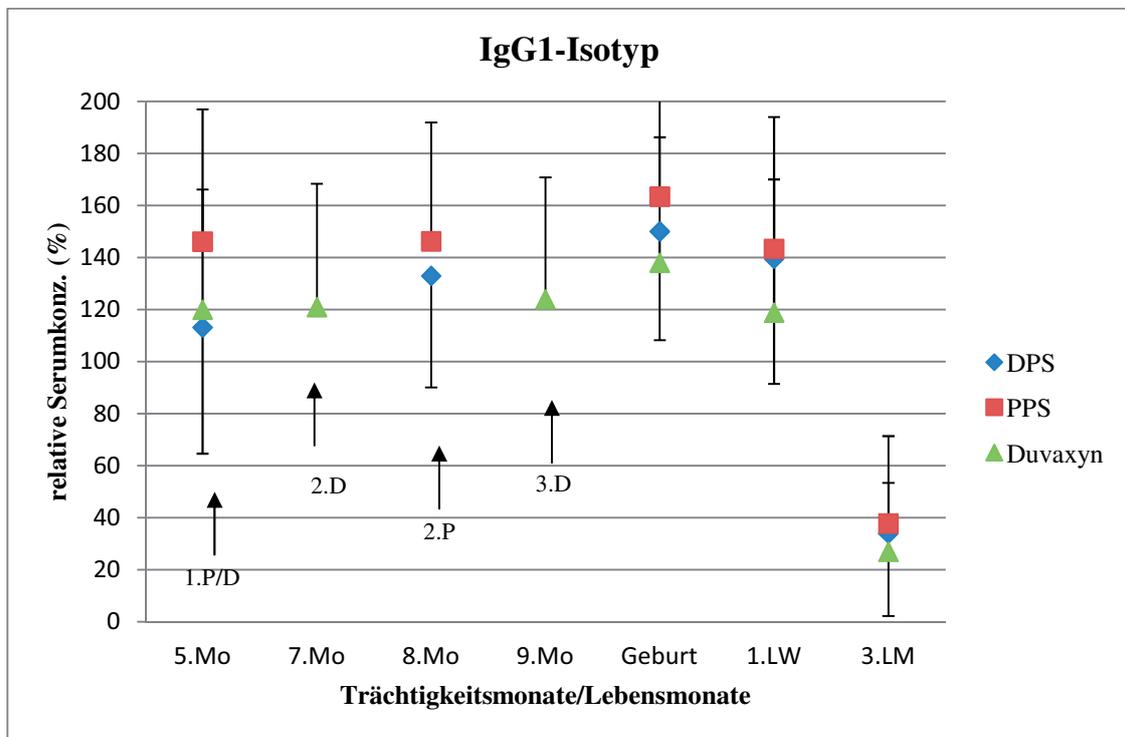


Abbildung 4: IgG1-Isotyp über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen dargestellt als Mittelwerte + Standardabweichungen (mittels ELISA); Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich

Die Antikörper des IgG3/5-Isotyps, die von dem monoklonalen Antikörper CVS 40 erkannt werden, wiesen ein ähnliches Verhalten wie die des IgG1-Isotyps bezüglich der drei Impfstoffgruppen auf. Die PPS-Gruppe hatte über den gesamten Zeitraum die höchsten mittleren Serumkonzentrationen, gefolgt von der DPS-Gruppe, die sich im Trächtigkeitsverlauf immer mehr annäherte. Die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten zeigten im Verlauf die niedrigsten mittleren IgG3/5-Serumkonzentrationen, obwohl sie im fünften Trächtigkeitsmonat mit einer minimal höheren relativen Serumkonzentration starteten als die DPS-Gruppe. Die mittleren Höchstwerte erreichten sie wiederum alle am Tag der Geburt ihrer Fohlen (Abb.5). Die Mittelwerte der Fohlen im dritten Lebensmonat waren ebenfalls mit den Serumkonzentrationen des IgG1-Isotyps vergleichbar.

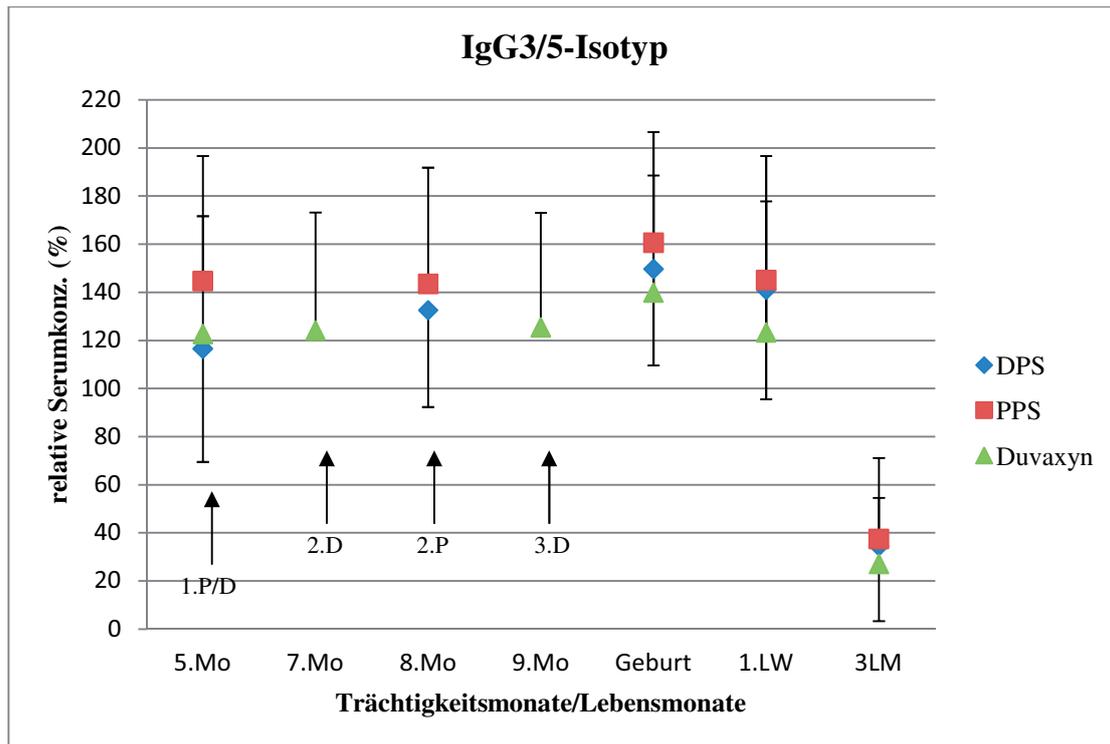


Abbildung 5: IgG3/5-Isotyp über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen dargestellt als Mittelwerte + Standardabweichungen (mittels ELISA); Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich

Die Antikörper des Isotyps IgG4/7, die von CVS 39 identifiziert werden, zeigten im Gegensatz zu den vorherigen IgG-Isotypen bei allen Impfstoffgruppen leicht verminderte mittlere Serumkonzentrationen und eine geringere Schwankungsbreite zwischen den einzelnen Gruppen (Abb.6). Davon ausgenommen waren die Mittelwerte der Fohlen im dritten Lebensmonat, die im Vergleich zu den anderen Isotypen höhere Mittelwerte zwischen 39% und 55% aufwiesen. Somit konnte bestätigt werden, dass sich das Kolostrum bzw. die übertragenen maternalen Antikörper zu 60% aus IgG4/7 zusammensetzt und die restliche Fraktion aus IgG1 und IgG3/5 besteht (Sheoran et al. 2000). Im Trächtigkeitsverlauf waren die Mittelwerte der PPS-Gruppe wiederum am höchsten, stiegen jedoch nur noch auf maximale mittlere Serumkonzentrationen von 147%, die der DPS auf 135% und die der Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten auf 128%. Die vorherigen deutlichen Konzentrationsanstiege zum Geburtszeitpunkt konnten hier nicht nachgewiesen werden.

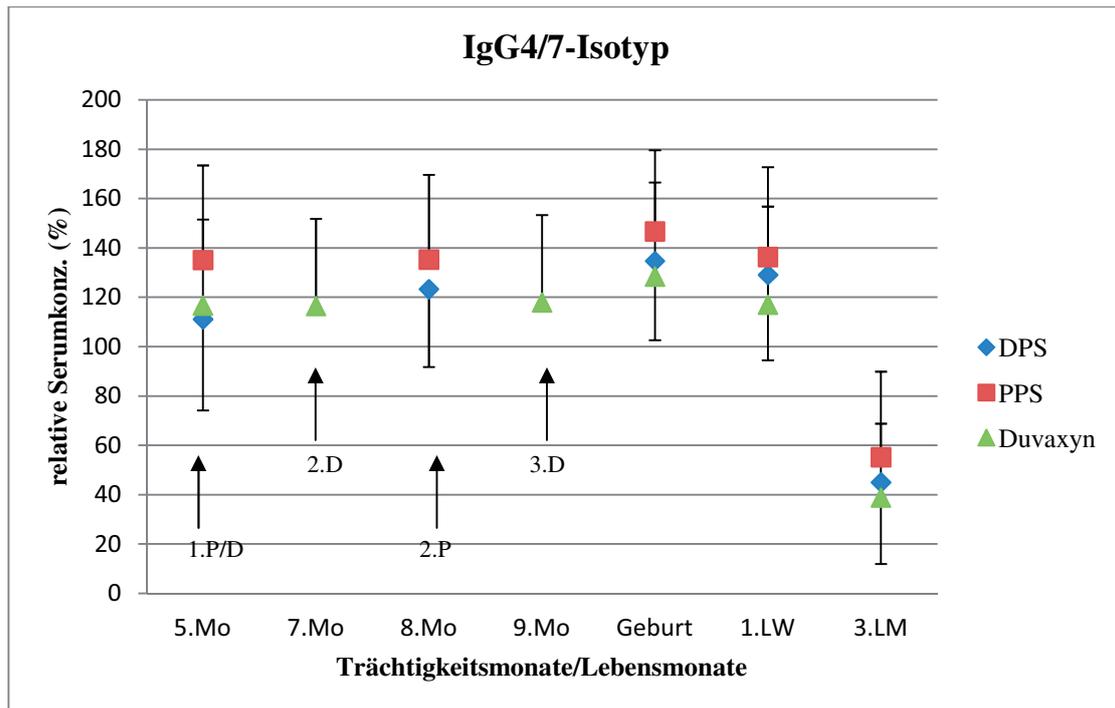


Abbildung 6: IgG4/7-Isotyp über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen dargestellt als Mittelwerte + Standardabweichungen (mittels ELISA); Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich

Zusammenfassend reagierte die Gruppe der PPS hinsichtlich der IgG-Isotypen zu allen Vergleichszeitpunkten mit statistisch signifikant höheren mittleren Serumkonzentrationen als die DPS-Gruppe ($p < 0,25$) und die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} ($p < 0,00$) geimpften Stuten. Die Mittelwerte der DPS und der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten waren im fünften Trächtigkeitsmonat bei allen drei Isotypen annähernd identisch. Die IgG-Konzentrationen der DPS stiegen ab diesem Zeitpunkt sichtbar an, um sich den PPS anzunähern. Die Mittelwerte der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten blieben hingegen über den gesamten Zeitraum bei niedrigeren Konzentrationen. Die mittleren Serumkonzentrationen der einzelnen IgG-Isotypen untereinander waren jedoch sehr ähnlich. Die Isotypen IgG1 und IgG3/5 hatten innerhalb einer Impfgruppe sogar fast identische Mittelwerte. Die Werte des Isotyps IgG4/7 waren dagegen in allen drei Gruppen etwas vermindert, außer im dritten Lebensmonat der Fohlen, wo erhöhte Konzentrationen angenommen wurden.

4.2.2. Vergleich des IgG3/5:IgG1- und des IgG3/5:IgG4/7-Verhältnisses der drei Impfstoffgruppen über die gesamte Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat ihrer gesund geborenen Fohlen

In den folgenden Abbildungen (Abb.7 und 8) wird das Verhältnis der IgG-Isotypen zueinander (IgG3/5:IgG1 und IgG3/5:IgG4/7) dargestellt, um eine etwaige Tendenz in Richtung einer Th1- oder Th2-vermittelten Immunantwort nach der Immunisierung mit

den verschiedenen Vakzinen zu identifizieren. Das Verhältnis IgG3/5:IgG1 war in der PPS-Gruppe sehr ausgeglichen, sodass kein Isotyp als dominant identifiziert werden konnte. Die Werte im Verlauf der Trächtigkeit bis zur ersten Lebenswoche der Fohlen lagen alle in einem Bereich zwischen 0,99 und 1,03. In der Gruppe der DPS schwankte das IgG3/5:IgG1-Verhältnis zwischen 1,01 und 1,05, ähnlich wie bei den mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Pferden zwischen 1,03 und 1,05. Das Verhältnis dieser beiden Gruppen war daher minimal zu Gunsten des IgG3/5-Isotyps verschoben, was eher auf eine Th2-vermittelte Immunantwort hindeutet. Die Mittelwerte der einzelnen Zeitpunkte lagen jedoch so eng beieinander, dass keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bestanden ($p = 0,99$; $p = 0,52$; $p = 0,67$). Die gesund geborenen Fohlen der PPS-Gruppe zeigten in ihrem dritten Lebensmonat einen Mittelwert von 0,87. In den beiden anderen Gruppen wurden dagegen Werte von 1 und 1,02 verzeichnet. Dies deutet bei den Fohlen der PPS-Gruppe eine eher Th1-vermittelte Immunantwort an. Aufgrund der großen Standardabweichungen ist es jedoch schwierig die Aussagekraft dieser Ergebnisse abschließend zu werten.

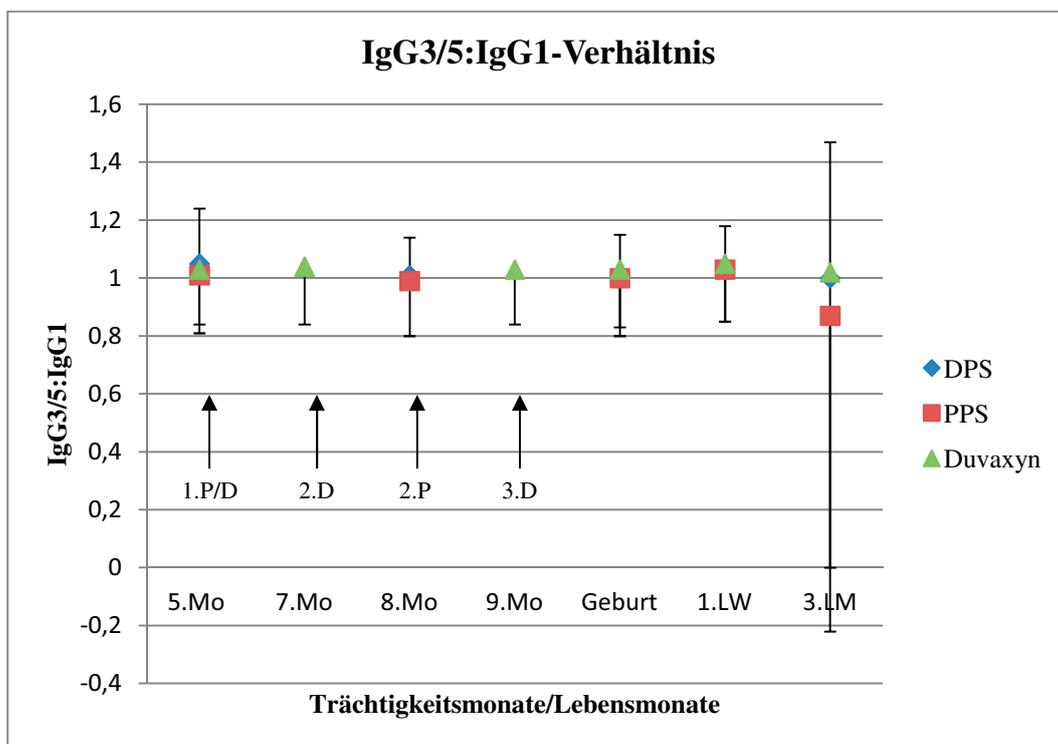


Abbildung 7: Das IgG3/5:IgG1-Verhältnis über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen; Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpfte Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich

Das IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis war in allen drei Impfgruppen minimal in Richtung des IgG3/5-Isotyps verschoben (Abb.8). Im Zeitraum vom fünften Trächtigkeitsmonat bis zur ersten Lebenswoche der Fohlen zeigte die PPS-Gruppe Mittelwerte zwischen 1,05 und 1,1, die DPS-Gruppe Werte zwischen 1,03 und 1,1 und die Stuten, die ausschließlich mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpft wurden, wiesen mittlere Werte zwischen

1,02 und 1,09 auf. Sie lagen alle in einem ähnlichen Bereich. Diese Ergebnisse waren daher ebenfalls zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant ($p = 0,82$; $p = 0,67$; $p = 0,99$). Die Mittelwerte der Fohlen im dritten Lebensmonat variierten zwischen 0,58 in der DPS- und in der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Gruppe und 0,64 in der PPS-Gruppe. Alle zeigten einen deutlich erhöhten IgG4/7-Anteil, was die Aussage von Sheoran et al. (2000) bestätigt. Die Standardabweichungen sind hier jedoch ebenfalls sehr groß, sodass sie eine Auswertung erschweren.

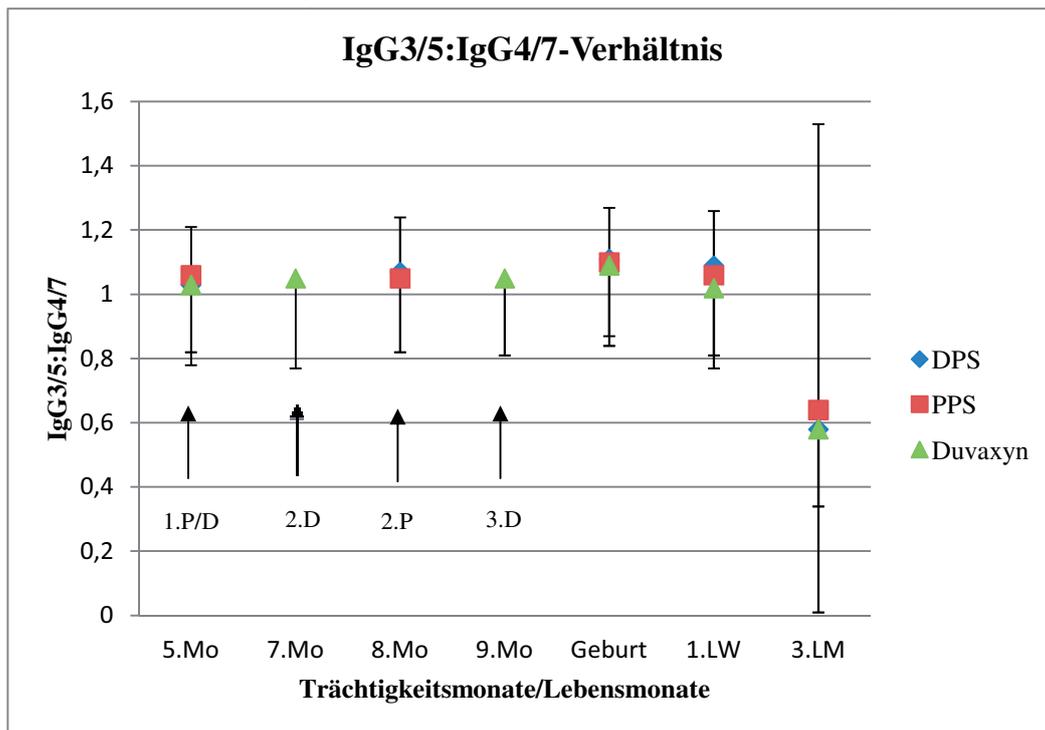


Abbildung 8: Das IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis über die Trächtigkeit bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen; Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpfte Stuten, DPS und PPS sowie ihre gesund geborenen Fohlen im Vergleich

4.3. Aborte

4.3.1. Abortzahlen in der Zuchtsaison 2009/2010

In der Zuchtsaison 2009/2010 abortierten insgesamt 55 von 775 tragenden Stuten, was einer Abortrate von 7,1% entspricht. Von den 55 Aborten waren 25 Stuten mit Prevaccinol[®] und 30 mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpft. Neun der 55 Aborte wurden durch EHV-1 induziert, was mittels PCR nachgewiesen werden konnte, wobei sieben Stuten mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} und zwei mit Prevaccinol[®] geimpft waren (Tab.11, Abb.9). Die zwei Prevaccinol[®]-EHV-1-Abortstuten gehörten zu der PPS-Gruppe. Die Nachweise stammten entweder aus den entnommenen Vaginaltupfern oder den Lungenaspiraten der Fohlen. Dabei waren sechs Vaginaltupfer EHV-1-positiv, einer negativ und bei zwei

Stuten konnten keine Angaben gemacht werden. Acht Lungenaspirate waren EHV-1-positiv und eines negativ.

Aborte	Anzahl (absolut)	Anzahl (prozentual)	Duvaxyn®EHV _{1,4}	Prevaccinol®
insgesamt	55	7,10%	30	25
EHV-1 positiv	9	1,61%	7	2
EHV-1 negativ	46	5,94%	23	23

Tabelle 11: Aborthäufigkeit in den beiden Herpesimpfstoff-Gruppen

In der folgenden Abbildung wird der prozentuale Anteil der EHV-1-Aborte im Vergleich zu den nicht infektiösen Aborten dargestellt. Dabei wurden besonders die beiden Impfstoffgruppen hervorgehoben. Die EHV-1-Aborte der mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften Stuten stellten einen Anteil von 23,3% der gesamten Duvaxyn®EHV_{1,4}-Aborte dar. Die durch EHV-1 verursachten Aborte der mit Prevaccinol® geimpften Stuten stellten hingegen nur 8% der Gesamtaborte dar. Dies zeigt einen deutlichen, klinischen Unterschied zu Gunsten des Prevaccinol®, der jedoch statistisch nicht signifikant ist ($p=0,1596$).

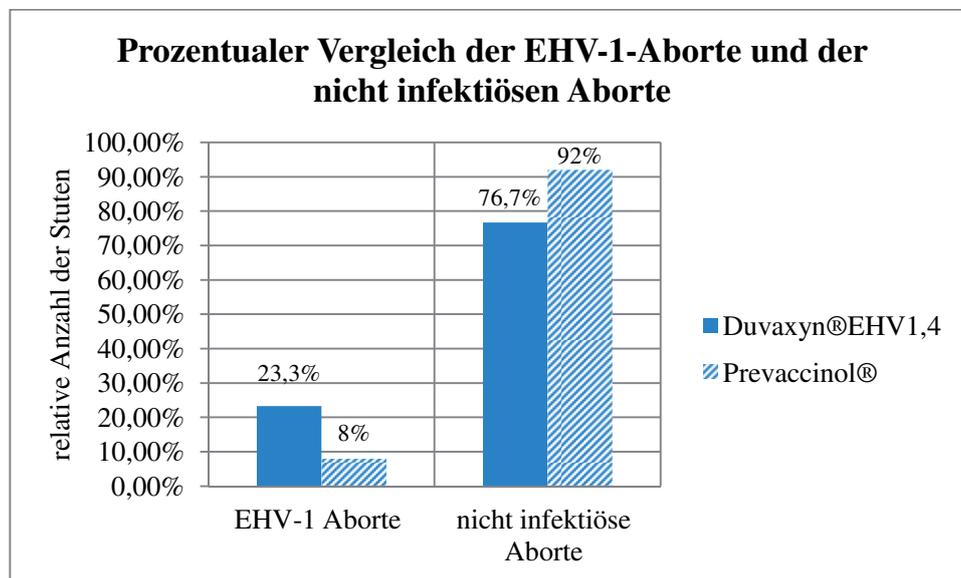


Abbildung 9: Prozentualer Anteil der durch EHV-1 induzierten Aborte in mit Duvaxyn®EHV_{1,4} bzw. Prevaccinol® geimpften Stuten im Vergleich zu den nicht infektiösen Aborten

Das Alter der 23 mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften Abortstuten die keinen EHV-1 induzierten Abort hatten, lag im Mittel bei 11,9 Jahren, das der 23 Prevaccinol® Stuten bei 11,1 Jahren. Die sieben mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften und mit einem EHV-1-

positiven Abort diagnostizierten Stuten hatten ein Altersmittel von 6,9 Jahren, die zwei mit Prevacinol[®] geimpften und abortierenden Stuten dagegen ein Altersmittel von 5,5 Jahren. Die beiden Altersstufen lagen jeweils in einem ähnlichen Bereich. Deutlich ist jedoch, dass die Stuten, bei denen ein EHV-1 induzierter Abort diagnostiziert wurde im Durchschnitt 5,3 Jahre jünger waren als die anderen Abortstuten.

Die EHV-1-Aborte traten im Mittel am 303. Trächtigkeitstag bzw. im zehnten Trächtigkeitsmonat auf. Insgesamt lagen sie zwischen dem 288. bis 331. Trächtigkeitstag, bei einer Gestationsdauer der Pferde von 335 +/- 10 Tagen. Die Aussage von Allen und Bryans (1986), dass 95% der EHV-1-Aborte im letzten Trächtigkeitsdrittel auftreten, wird somit bestätigt. Die nicht infektiösen Aborte lagen dagegen im Mittel bei 254 Trächtigkeitstagen, was einer Trächtigkeitsdauer von 8,5 Monaten entspricht. Bei fünf dieser Stuten konnten keine Angaben gemacht werden. Sie wurden daher nicht in die Bewertung einbezogen.

Die 55 Aborte wurden in dem Zeitraum von Oktober 2009 bis Mai 2010 nachgewiesen (Tab.12), wobei im Dezember, Februar und März eine Steigerung erkennbar war. Von den EHV-1-Aborten traten zwei im Februar, vier im März und drei im April auf.

Monat	Anzahl der nicht infektiösen Aborte / EHV-1 Aborte
Oktober	1
November	4
Dezember	12
Januar	6
Februar	7/2
März	8/4
April	2/3
Mai	6

Tabelle 12: Anzahl der Aborte in den einzelnen Monaten

4.3.2. Einfluss vorheriger Ereignisse auf die Aborte

Weiterhin wurden Aborte in vorausgegangenen Jahren als Einflussfaktor in Betracht gezogen. Für eine mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpfte Stute, deren Fetus mit EHV-1 infiziert war, wurde ein nicht infektiöser Abort im Jahr 2009 aufgezeichnet. Alle anderen acht Stuten waren zuvor unauffällig. Bei den nicht infektiösen Aborten waren 17 Stuten mit und 23 Stuten ohne vorherige Aborte sowie sechs Stuten ohne weitere Angaben (Tab.13).

	vorherige Aborte	keine vorherigen Aborte	keine Angaben
EHV-1 positiv	1	8	0
EHV-1 negativ	17	23	6

Tabelle 13: Vorherig aufgetretene Aborte

Es konnten auch andere, eventuell belastende Ereignisse nachvollzogen werden, die vor den Aborten auftraten. Dazu gehörten Umstellungen, die mit Rangordnungskämpfen einhergingen, Impfungen, Entwurmungen, Behandlungen durch den Hufschmied und ein mangelhafter Gesundheitszustand der einzelnen Stuten. Möglicherweise führten sie zu einer Beeinträchtigung des Immunsystems und somit zu einer Reaktivierung des latenten EHV-1-Stadiums. Bei vier mit Duvaxyn®EHV_{1,4} geimpften EHV-1-Abortstuten fanden solche Ereignisse kurz vor der Verfohlung statt. Drei EHV-1-Aborte konnten nicht auf vorausgegangene Stressfaktoren zurückgeführt werden und bei zwei EHV-1-Aborten wurden keine Angaben gemacht.

4.3.3. Serumneutralisationstiter der EHV-1-Abortstuten

In der folgenden Tabelle (Tab. 14) sind die Antikörpertiter der Stuten aufgeführt, bei denen EHV-1 als Abortursache nachgewiesen werden konnte. Die Blutproben wurden am Tag des Abortes entnommen. Generell liegen die SNT's der Abortstuten in einem ähnlichen Bereich wie die SNT's zum Zeitpunkt der normalen Geburt. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Höhe des SNT-Titers alleine keinen Einfluss auf die Verhinderung eines EHV-1-Abortes hatte, da ähnliche Antikörpertiter wie die Geburtstiter angenommen wurden. Somit konnte die Aussage von Hannant et al. (1993) bestätigt werden, dass systemische VN-Antikörper nicht vor einer Infektion schützen können. Sie gehen zwar mit reduzierter Ausscheidung einher, haben aber keinen Einfluss auf die Virämie.

SNT-Titer	Duvaxyn®EHV _{1,4} geimpfte Stuten	Prevaccinol® geimpfte Stuten
1:4	0	0
1:8	0	0
1:16	0	0
1:32	1	1
1:64	3	0
1:128	3	1
1:256	0	0
gesamt	7	2

Tabelle 14: Antikörpertiter der neun EHV-1-Abortstuten

4.3.4. Die Verteilung der IgG-Isotypen zum Zeitpunkt des EHV-1-Aborte

Die mittleren Serumkonzentrationen der drei EHV-1-spezifischen IgG-Isotypen waren zum Zeitpunkt des EHV-1-Abortes bei den mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten höher als zum Geburtszeitpunkt. Die zwei mit Prevaccinol[®] geimpften EHV-1-Abortstuten wiesen dagegen nur eine erhöhte IgG4/7-Konzentration auf. Entgegengesetzt der Stuten die keinen Abort hatten, wiesen die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften EHV-1-Abortstuten in allen drei ELISA-Messungen höhere Werte auf als die mit Prevaccinol[®] geimpften (Abb.10). Die Standardabweichungen waren bei beiden Impfstoffgruppen groß und variierten von 106% bis 137% und 112% bis 126%.

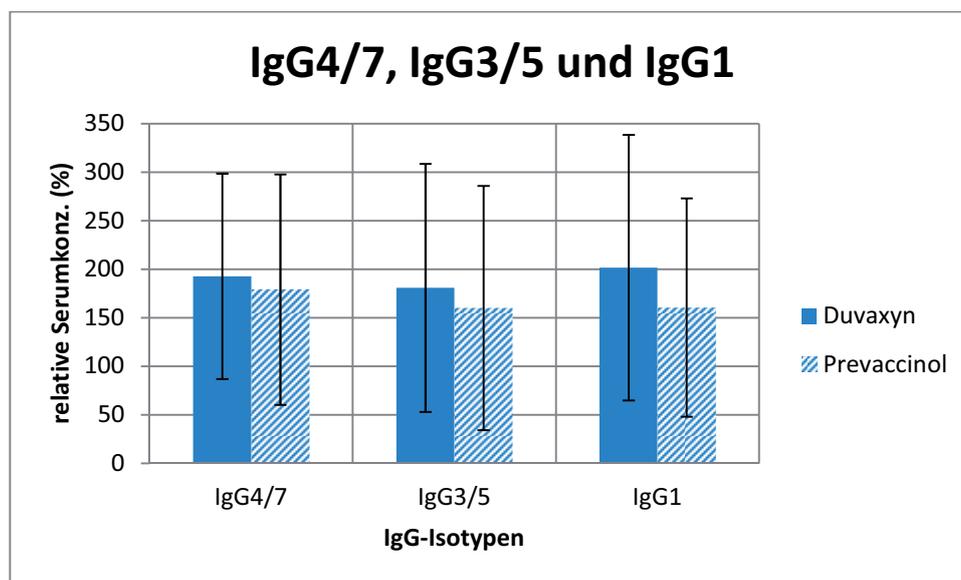


Abbildung 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der drei IgG-Isotypen zum Zeitpunkt des EHV-1-Abortes (mittels ELISA)

Daraus ergab sich das IgG3/5:IgG1-Verhältnis, welches einen mittleren Wert von 0,89 bei den Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Stuten und einen Mittelwert von 0,96 bei den Prevaccinol[®]-Stuten annahm. Das Verhältnis IgG3/5:IgG4/7 zeigte ähnliche Tendenzen mit Mittelwerten von 0,9 und 0,85. Beide Ergebnisse wiesen einen verminderten Anteil der IgG3/5-Subklasse auf, was eher auf eine durch Th1-Zellen orchestrierte Immunantwort hindeutet, für die die Isotypen IgG1 und IgG4/7 als Surrogate gesehen werden. Im Gegensatz zu den normalen Geburten, bei denen das Verhältnis zwischen den Subtypen deutlich ausgeglichener bzw. eher zu Gunsten des IgG3/5-Isotyps verschoben war, welcher als Surrogat der Th2-Antwort gilt.

5. Diskussion

Die equinen Herpesviren Typ 1 und Typ 4 haben beim Pferd eine große Bedeutung, da sie klinisch relevante Erkrankungen verursachen. EHV-1 stellt die häufigste und auch wirtschaftlich bedeutendste virale Abortursache dar (Thein 2006b). Zur Vorbeugung gegen wirtschaftliche Verluste durch eine Herpesvirusinfektion beim Pferd wird der Immunisierung gegen EHV-1 und EHV-4 besondere Bedeutung zugemessen. Im Rahmen dieser Arbeit sollte daher die Intensität der zellulären Immunantwort der beiden kommerziell erhältlichen Impfstoffe Prevaccinol[®] (Intervet, Lebendimpfstoff) und Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Pfizer, inaktivierter Impfstoff) anhand von Immunglobulinprofilen verglichen werden, um die grundlegende Frage zu klären, welcher der getesteten Impfstoffe einen verlässlicheren Schutz gewährleistet. Des Weiteren sollte untersucht werden, in welcher Häufigkeit die EHV-1-Aborte im Zusammenhang mit dem jeweils verwendeten Impfstoff auftreten.

Der erste Abschnitt der Diskussion beschäftigt sich mit den Resultaten des Serumneutralisationstests zum Vergleich der durch die Impfstoffe induzierten Antikörpertiter. Im Folgenden werden die Anteile einzelner IgG-Isotypen an der humoralen Immunantwort im ELISA beurteilt, um eine Aussage über die Th1- bzw. Th2-vermittelte Immunität der beiden Impfstoffe zu treffen. Weiterhin werden die genauen Abortzahlen bezüglich der beiden Impfstoffe betrachtet, um schlussfolgernd einen Ausblick auf die Impfstoffentwicklung in der Zukunft zu geben.

5.1. Serumneutralisationstest

Mit Hilfe des Serumneutralisationstests wurden die neutralisierenden Antikörper, die durch die beiden Impfstoffe Prevaccinol[®] und Duvaxyn[®]EHV_{1,4} induziert wurden, quantitativ in Form des Antikörpertiters bestimmt und verglichen. Auffällig war, dass die DPS-Gruppe und die Stuten, die ausschließlich mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpft wurden, einen deutlich geringeren Ausgangsantikörpertiter im fünften Trächtigkeitsmonat aufwiesen als die PPS-Gruppe, die als einzige bereits im Vorjahr mit Prevaccinol[®] geimpft worden waren. In den folgenden Trächtigkeitsmonaten bis hin zum Geburtstermin setzten sich diese Unterschiede in den Antikörpertiter-Verlaufskurven fort. Die PPS-Gruppe hatte zu jedem Vergleichszeitpunkt statistisch signifikant höhere mittlere Antikörpertiter als die DPS-Gruppe und die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten, wobei sich die Gruppe der DPS stetig annäherte. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] eine stärkere humorale Immunantwort induzieren konnte als der inaktivierte Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4}. Die Resultate von Goodman et al. (2006) sowie Goehring et al. (2010) wurden somit in einer größeren Kohorte mit regelmäßiger Impfung nicht bestätigt. In diesen Studien wurden jeweils höhere SNT-Titer durch den inaktivierten Impfstoff erzielt, wobei die Pferde im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit alle zuvor keinen EHV-1-Kontakt hatten und auch nicht immunisiert wurden. Goehring et al. (2010) untersuchten insgesamt 24 Pferde, acht wurden mit dem Lebendimpfstoff Rhinomune[®] immunisiert, acht mit dem inaktivierten Impfstoff Pneumabort K[®] und

weitere acht waren Kontrolltiere. Die Studie von Goodman et al. (2006) umfasste insgesamt nur 15 Pferde, wovon fünf mit Rhinomune[®] geimpft wurden, fünf mit dem inaktivierten Kombinationsimpfstoff Innovator[®] und fünf zu der Kontrollgruppe gehörten. Die Ursache für diese abweichenden Ergebnisse kann möglicherweise auch auf die verschiedenen Impfstoffe, auf die unterschiedliche vorherige Exposition gegen EHV-1 sowie auf die in dieser Arbeit deutlich höheren Stichprobenanzahlen zurückgeführt werden. Der Impfstamm RAC-H, der dem Impfstoff Prevaccinol[®] zugrunde liegt, obgleich auch in Rhinomune enthalten, wurde in letzterem weiter passagiert (Kydd et al. 2006), was ebenfalls zu einer verminderten Induktion der Immunantwort geführt haben könnte.

Die maternalen Antikörper, die auf die Fohlen übertragen wurden, verhielten sich in ähnlicher Weise, wobei die mittleren Antikörpertiter der PPS- und der DPS-Gruppe fast identische Werte annahmen. Die Fohlen der mit Duvaxyn[®] EHV_{1,4} geimpften Stuten hatten deutlich niedrigere SNT-Titer. Auffällig war außerdem, dass der passive Impfstoff-Titer rapide bis zum dritten Lebensmonat der Fohlen abnahm, was die Aussage von Jeffcott (1974) bestätigt. Er berichtete, dass die generelle Halbwertszeit von maternalen IgG-Antikörpern in Fohlen 20 bis 30 Tage beträgt, wobei genauere Daten bezüglich EHV-1-spezifischer Antikörper nicht existieren. Aufgrund dieser Resultate entsteht die Überlegung Fohlen bereits früher zu immunisieren. Untersuchungen von van Maanen et al. (1992) zeigten jedoch, dass Fohlen unempfindlich für Impfungen sind, solange sie noch geringe Mengen an maternalen Antikörpern besitzen. Diese können teilweise bis zum sechsten Lebensmonat persistieren (van Maanen et al. 1992). Die lange Persistenz ist vermutlich einer der Gründe, warum die meisten Impfstoffhersteller die erste Immunisierung der Fohlen im sechsten Lebensmonat empfehlen.

Bezüglich der humoralen Immunantwort bei einer EHV-1-Infektion stellten Hannant et al. (1993) fest, dass erhöhte VN-Antikörpertiter zwar üblicherweise mit einer reduzierten Virusausscheidung einhergehen, jedoch keinen Einfluss auf die Höhe der viralen Titer im peripheren Blut, also die Ausprägung der Virämie, haben. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass eine hohe Konzentration von IgA-Antikörpern an der nasalen Schleimhaut vor einer erneuten EHV-1-Infektion schützen kann (Breathnach et al. 2001). Daher ist es wichtig festzuhalten, dass der entscheidende Schutz gegen EHV-1-Aborte nicht primär aus einer humoralen Immunantwort resultiert, sondern, wie O'Neill et al. (1999) und Kydd et al. (2003) zeigten, auf einer zytotoxischen, durch CD8⁺ T-Zellen vermittelten Immunantwort basiert. Die Bedeutung der zellulären Immunität wird zusätzlich noch dadurch hervorgehoben, dass EHV-1 ein obligat intrazellulärer Erreger ist, der schon nach 12-48 Stunden in Leukozyten nachweisbar ist, aber nie frei im Serum vorliegt (Kydd et al. 1994a; b). Aufgrund dessen ließ sich mittels der SNT-Ergebnisse noch keine Aussage über eine bessere Schutzwirkung des einen oder des anderen Impfstoffs machen, da die Ausprägung und Qualität der Immunantwort nicht über den SNT ermittelt werden konnte. Auch die Differenzierung zwischen Antikörpern gegen EHV-1 oder EHV-4 war aufgrund einer bestehenden hohen Kreuzreaktivität (Fitzpatrick und Studdert 1984) im SNT nicht möglich. Dies sollte in den folgenden Experimenten berücksichtigt werden. Des Weiteren gelingt es nicht zwischen Impfantikörpern und Antikörpern, die infolge einer Infektion entstanden sind, zu unterscheiden, da es bis heute noch keine EHV-1-DIVA-Vakzine gibt.

5.2. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Zum Nachweis der unterschiedlichen IgG-Isotypen – IgG1, IgG4/7 und IgG3/5 – wurde ein EHV-1-spezifischer ELISA eingesetzt, der eine Aussage über eine eher Th1- oder Th2-vermittelte Immunität der beiden Impfstoffe liefern sollte. Antikörper des IgG3/5-Isotyps werden als Surrogat einer von Th2-Zellen orchestrierten Immunantwort gesehen (Goodman et al. 2006), die eher für eine humorale Immunität stehen. IgG1 und IgG4/7 sind als Folge einer durch Th1-Zellen kontrollierten Immunantwort zu finden, weisen also diagnostisch eher auf eine zellvermittelte Immunität hin (Lunn und Horohov 2004; Goodman et al. 2006). Es wurde berichtet, dass die gewünschte Immunantwort gegen eine EHV-1-Infektion Th1-Zell vermittelt ist, da sie eine vermehrte Produktion virusspezifischer, zytotoxischer T-Zellen induziert. Diese wiederum korrelieren in erhöhter Anzahl mit dem Schutz vor durch EHV-1 bedingten Aborten (O'Neill et al. 1999; Kydd et al. 2003). Der Vergleich der IgG-Isotypen in den drei Impfgruppen sollte daher Aufschluss darüber geben, welcher Impfstoff eine stärkere Th1-Immunität induziert und somit theoretisch eine erhöhte Sicherheit vor Herpesvirusaborten bietet.

Die höchsten mittleren Serumkonzentrationen wurden im Falle aller drei Isotypen in der PPS-Gruppe bestimmt, dagegen wiesen die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten die niedrigsten Werte auf. Diese Ergebnisse waren gegensätzlich zu den Resultaten von Goehring et al. (2010), die generell höhere Serumkonzentrationen durch den inaktivierten Impfstoff erreichten. In der Studie von Goodman et al. (2006) resultierten die höchsten mittleren Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 aus dem inaktivierten Impfstoff. Die Isotypen IgG1 und IgG4/7 nahmen hingegen in der Lebendimpfstoff-Gruppe höhere Werte an. Wie bereits im SNT ersichtlich war, induzierte der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] im ELISA ebenfalls eine stärkere Immunantwort als der inaktivierte Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4}. Dies lässt sich möglicherweise auf die Vermehrungsfähigkeit der attenuierten Erreger in Lebendimpfstoffen zurückführen, die im Gegensatz zu inaktivierten Impfstoffen eine Imitation der natürlichen Infektion ermöglichen (Mayr et al. 1984). Infolge dessen wurde vermutlich eine bessere Immunisierung erzielt.

Um jedoch eine genaue Aussage über eine Th1- oder Th2-vermittelte Immunität der Impfstoffe zu machen, musste das Verhältnis der Isotypen zueinander innerhalb einer Impfgruppe betrachtet werden. Die beiden Isotypen IgG1 und IgG3/5 verhielten sich in den einzelnen Gruppen sehr ähnlich mit nahezu identischen mittleren Serumkonzentrationen, sodass keine Subklasse herausragte. Die Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 nahmen dagegen im Vergleich in allen drei Impfgruppen geringere Werte an. Somit ergab sich sowohl in den Prevaccinol[®]-Gruppen als auch in der Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Gruppe ein sehr ausgeglichenes IgG3/5:IgG1- und IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis. Ein signifikanter Unterschied zwischen dem Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] und dem inaktivierten Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} ließ sich also bezüglich der induzierten IgG-Isotypen nicht feststellen. Keiner der beiden Impfstoffe induzierte daher, basierend auf den Titern der als Surrogat verwandten IgG-Isotypen, eine bessere zellvermittelte Immunantwort. Die Lebendimpfstoff-Gruppe in der Studie von Goodman et al. (2006) zeichnete sich dagegen durch hohe IgG4/7-Serumkonzentrationen aus, die für eine Th1-Immunantwort sprechen. In der genannten Studie tendierten die Pferde, die mit dem inaktivierten Impfstoff immunisiert wurden, eher zu einer durch Th2-Zellen vermittelten humoralen Immunität, was aufgrund der

erhöhten Werte des IgG3/5-Isotyps geschlossen wurde. Diese Ergebnisse, also deutliche Unterschiede im Hinblick auf die unterschiedliche Polarisierung der Immunantwort durch Lebend- bzw. Inaktivatvakzinen, konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Unsere Ergebnisse waren eher denen der Untersuchung von Goehring et al. (2010) ähnlich. Diese zeigte nämlich, dass das IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis in der Lebendimpfstoff-Gruppe sowie in der inaktivierten Impfstoff-Gruppe vergleichbar war, sodass kein Impfstoff bezüglich der Polarisierung auf eine eher humoral oder zellulär vermittelte Immunität hervorgehoben werden konnte. Die Ursache für diese abweichenden Ergebnisse kann möglicherweise auf die verschiedenen Impfstoffe, auf die unterschiedliche vorherige Exposition gegen EHV-1 sowie auf die hier doch deutlich höhere Zahl der untersuchten Tiere zurückgeführt werden. Die in den Kombinationsimpfstoffen verwendeten Adjuvantien müssen ebenfalls als potentielle Einflussfaktoren betrachtet werden.

Bei den weiterführenden Untersuchungen der Fohlen dominierte im dritten Lebensmonat sowohl in den Prevaccinol[®]-Gruppen als auch in der Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Gruppe der IgG4/7-Isotyp. Diese Verteilung ist eine direkte Folge der Zusammensetzung des Kolostrums bzw. der übertragenen maternalen Antikörper, die zu 60% den Isotyp IgG4/7 repräsentieren (Sheoran et al. 2000). Der verstärkte Nachweis von IgG4/7 im Fohlenserum induzierte daher eine Verschiebung des IgG3/5:IgG4/7-Verhältnisses. Der Schutz vor einer EHV-1-Infektion ist in diesem Alter jedoch fraglich, da die mittleren Serumkonzentrationen der drei Isotypen im dritten Lebensmonat der Fohlen nur noch sehr geringe Werte annahmen. Diesbezüglich müssten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Allgemein und zusammenfassend betrachtet, konnte mit Hilfe des IgG-Isotyp-ELISAs kein signifikanter Unterschied zwischen dem Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] und dem inaktivierten Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} bezüglich der induzierten Immunität festgestellt werden. Die Ergebnisse der PPS, der DPS und der mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Stuten waren alle vergleichbar. Es konnte daher keine eindeutige Aussage über das Potential einem Abort vorzubeugen nach Applikation von Prevaccinol[®] oder Duvaxyn[®]EHV_{1,4} getroffen werden.

5.3. Abortzahlen

In diesem Abschnitt werden die Abortzahlen der Zuchtsaison 2009/2010 betrachtet, um die verabreichten Impfstoffe Prevaccinol[®] und Duvaxyn[®]EHV_{1,4} bezüglich ihrer Sicherheit vor Herpesaborten auch aus klinischer Sicht beurteilen zu können. Duvaxyn[®]EHV_{1,4} (Heldens et al. 2001a) wie auch Prevaccinol[®] (Mayr und Pette 1968; Mayr et al. 1968) wurden in früheren Studien als sicher in der Anwendung eingestuft. Dies konnte durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Nach der Impfung traten keine direkten Aborte und auch keine klinischen Symptome auf. Unabhängig von der Impfung abortierten trotz allem insgesamt 55 von 775 tragenden Stuten, wobei 25 Stuten mit Prevaccinol[®] und 30 mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisiert worden waren. Basierend auf diagnostischen Resultaten der abortierten Früchte durch PCR-Verfahren, waren neun dieser insgesamt 55 Aborte durch EHV-1 induziert, alle anderen waren offensichtlich nicht infektiös. Interessanterweise wurden sieben EHV-1-Abortstuten zuvor mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpft und nur zwei mit Prevaccinol[®], welche der PPS-Gruppe angehörten. Dieser Unterschied in der Aborthäufigkeit in Abhängigkeit vom

Impfstoff war aufgrund der geringen Anzahl nicht statistisch signifikant, jedoch aus klinischer Sicht von Bedeutung. Unsere Ergebnisse führten zu der Schlussfolgerung, dass der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] klinisch einen besseren oder zumindest keinen schlechteren Schutz vor EHV-1-Aborten bietet als der inaktivierte und für diese Anwendung explizit zugelassene Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4}. In einer anderen Studie wurde festgestellt, dass die Abortzahlen nach Infektion bei mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisierten Stuten im Vergleich zu den Stuten der Kontrollgruppe deutlich reduziert waren (Heldens et al. 2001a). Dagegen waren die Untersuchungsergebnisse bezüglich des Impfstoffs Prevaccinol[®] eher fraglich. Nach Mayr und Pette (1968) schien die Impfung mit Prevaccinol[®] in einer leichten biphasischen Temperaturerhöhung zu resultieren, die nicht von Störungen des Allgemeinbefindens oder von Aborten begleitet wurde. Tragende Stuten fehlten völlig normal ab. In der Studie von Bürki et al. (1990) stellte sich jedoch heraus, dass die Prevaccinol[®]-Impfung bei darauffolgender EHV-1-Infektion nicht vor Aborten zu schützen schien. Es gab in dieser Untersuchung jedoch keine Kontrollgruppe, sodass ein direkter Vergleich fehlte und eine wirkliche Einschätzung der Wirksamkeit praktisch nicht möglich war. Aufgrund dieser Resultate sollten weitere Untersuchungen folgen, die einen Vergleich zwischen ungeimpften Kontrolltieren und mit Prevaccinol[®] geimpften Pferden ermöglichen, um eine genauere Aussage über den tatsächlichen Schutz vor Aborten zu erhalten. Aus ethischen aber auch aus logistischen und ökonomischen Gründen war es nicht möglich diesen Versuch an Test- und nicht immunisierten Kontrollgruppen durchzuführen. Aus genannten Gründen wurden in der vorliegenden Studie daher nur Testgruppen einbezogen.

Bei der Untersuchung der Abortfälle war neben der Häufung in der Duvaxyn-Gruppe auffällig, dass die Stuten, bei denen ein EHV-1-Abort diagnostiziert wurde, im Durchschnitt 5,3 Jahre jünger waren als die Stuten, die einen nicht infektiösen Abort erlitten. Coombs et al. (2006) fanden heraus, dass Pferde mit vorausgegangen EHV-1-Infektionen im Gegensatz zu Pferden ohne vorherigen EHV-1-Kontakt eine deutlich höhere IFN- γ -Antwort und dadurch eine gesteigerte EHV-1-spezifische CTL-Proliferation nach Infektion zeigten. Weitere Untersuchungen ergaben, dass eine erhöhte Anzahl an CTL mit dem Schutz gegen EHV-1-Aborte korreliert (O'Neill et al. 1999; Kydd et al. 2003). Daher ist es wahrscheinlich und nachvollziehbar, dass jüngere Stuten aufgrund ihres verminderten Immunstatus eher zu EHV-1-bedingten Aborten neigen als ältere.

Allen und Bryans (1986) stellten fest, dass 95% der EHV-1-Aborte im letzten Trächtigkeitsdrittel auftraten. Dieses Phänomen konnte hier bestätigt werden, da die EHV-1-Abortstuten im Mittel am 303. Trächtigkeitstag abortierten, was dem zehnten Trächtigkeitsmonat entspricht. Die EHV-1-Aborte häuften sich daher zum Zeitpunkt der Hochträchtigkeit in den Monaten Februar bis April.

Die SNT-Titer, die am Tag des EHV-1-Abortes erreicht wurden, waren vergleichbar mit den SNTs zum Zeitpunkt einer normalen Geburt. Dies war ein weiterer Hinweis, dass die Höhe des Antikörpertiters auf die Verhinderung eines EHV-1-Abortes keinen Einfluss hat. Die Aussage von Hannant et al. (1993) wurde somit wiederum bestätigt. VN-Antikörper gehen zwar mit reduzierter Ausscheidung einher, haben aber keinen Einfluss auf die Virämie und die nachfolgenden klinischen Komplikationen einer EHV-1-Infektion.

Der ELISA wurde ebenfalls bei den Stuten, die einen durch EHV-1 induzierten Abort erlitten, durchgeführt. Es stellte sich heraus, dass die Abortstuten, die mit

Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpft worden waren, höhere mittlere Serumkonzentrationen aller drei EHV-1-spezifischen IgG-Isotypen zum Abortzeitpunkt aufwiesen als zum Geburtszeitpunkt. Dieses Resultat lässt sich vermutlich auf die geringe Anzahl der EHV-1-Aborte zurückführen, die mit der großen Stichprobenanzahl der Duvaxyn[®]EHV_{1,4}-Gruppe nicht vergleichbar ist. Alternativ könnte jedoch auch eine Antikörper-Erhöhung infolge einer Infektion in Betracht gezogen werden. Die mit Prevaccinol[®] geimpften EHV-1-Abortstuten zeigten dagegen nur erhöhte IgG4/7-Konzentrationen.

Folglich ergaben sich daraus die jeweiligen IgG3/5:IgG1- und IgG3/5:IgG4/7-Verhältnisse. Die Ergebnisse beider Impfstoffe wiesen einen verminderten Anteil des IgG3/5-Isotyps auf, was eher auf eine durch Th1-Zellen orchestrierte Immunantwort hindeutet. Die verstärkte Th1-Immunantwort zum Abortzeitpunkt, die durch die Surrogate IgG1 und IgG4/7 vermittelt wird, lässt sich eventuell auf die akute Herpesinfektion zu diesem Zeitpunkt zurückführen. Der Befall von T-Lymphozyten mit dem EHV-1 führt etwa zehn Tage nach Infektion zu einer verstärkten Synthese von IFN- γ in CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten (Breathnach et al. 2005). Im Rahmen der Th1-Antwort regt IFN- γ die Produktion von weiteren CTL an, um so der durch Th2-Zellen orchestrierten Immunantwort entgegen zu wirken. Dieses Phänomen spiegelt sich im Blut anhand eines Anstiegs der virusspezifischen, zirkulierenden CTL wieder (Lunn et al. 1991; Kydd et al. 1996). Mit unserer Untersuchung lässt sich die Erkenntnis somit bestätigen, da zum Abortzeitpunkt die IgG-Isotypen, die als Surrogat für eine Th1-Immunantwort gesehen werden, vermehrt nachgewiesen werden können.

5.4. Schlussfolgerung

Unsere im Rahmen der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse zeigen, dass der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] und der inaktivierte Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4} bezüglich der Induktion von neutralisierenden Antikörpern und spezifischer IgG-Isotypen ähnliche Potenz zeigten. Prevaccinol[®] induzierte zwar insgesamt eine stärkere Immunantwort mit höheren neutralisierenden EHV-1-spezifischen Antikörpertitern und höheren mittleren Serumkonzentrationen der IgG-Isotypen, ein Unterschied des jeweiligen IgG-Isotypen-Verhältnisses zeichnete sich jedoch nicht ab. Wir können also nicht schlussfolgern, dass einer der beiden Impfstoffe eine bessere humorale oder zelluläre anti-EHV-1-Immunantwort induzierte, die mit dem Schutz vor EHV-1-Aborten korrelierte (Kydd et al. 2003). Auffällig waren allerdings die deutlich verminderten EHV-1-Abortzahlen der mit Prevaccinol[®] geimpften Stuten im Vergleich zu den mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisierten Tieren. Obwohl der Unterschied nicht statistisch signifikant war, bot der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] aus klinischer Sicht einen zumindest nicht schlechteren Schutz vor EHV-1-induzierten Aborten. Um eine genauere Aussage über die Wirkung der Impfstoffe zu machen, hätte eine Kontrollgruppe hinzugezogen werden müssen, die einen Vergleich der Abortzahlen von ungeimpften und geimpften Pferden ermöglicht hätte. Des Weiteren sollten in Folgestudien idealerweise komplett naive Tiere als Testgruppe immunisiert werden. Auf dem Gestüt konnte beides nicht verwirklicht werden, da die Tiere sich bereits im Fohlenalter aufgrund der großen Tierdichte mit EHV-1 auseinandersetzen und eine Nichtimpfung tragender Tiere ethisch und betriebswirtschaftlich nicht vertretbar war.

Als Resultat dieser Arbeit kann die Aussage getroffen werden, dass beide Impfstoffe gleichermaßen in der Abortprophylaxe eingesetzt werden können. Offenbar aber bieten sie beide keinen vollständigen Schutz vor EHV-1-Aborten, was jedoch auch zu erwarten war, da keine Impfung einen 100%-igen Schutz des Einzeltieres bietet. Der Einsatz des Lebendimpfstoffs Prevaccinol[®] bei tragenden Stuten konnte mit Hilfe dieser Studie als ungefährlich bestätigt werden. Darüber hinaus scheint die Lebendvakzine Vorteile zu bieten, da in der DPS- und PPS-Gruppe weniger EHV-1-Aborte auftraten im Vergleich zu der Gruppe, die mit dem inaktivierten Impfstoff immunisiert worden war. Als Entscheidungshilfe sollten die individuellen Vor- und Nachteile, wie beispielsweise die Applikationsanzahl in der Trächtigkeit (zwei Applikationen bei der Lebendvakzine vs drei Applikationen bei der Inaktivatvakzine), der damit verbundene Aufwand sowie der preisliche Unterschied der beiden Impfstoffe betrachtet werden. In der Praxis ist der Einsatz des Impfstoffs Prevaccinol[®] zum Schutz gegen EHV-1-Aborte jedoch nach wie vor problematisch, da er in Deutschland für diese Indikation nicht lizenziert und somit rechtlich nicht eindeutig zu werten ist, obgleich eine Anwendung in der Trächtigkeit ausdrücklich als unbedenklich zu betrachten ist. Aufgrund dieser Tatsachen ist zu fordern, einen Impfstoff zu entwickeln, der Sicherheit mit größtmöglicher Wirkung verbindet und zur Anwendung im tragenden Tier zugelassen ist. Dieses Ziel sollte durch eine weitere Identifizierung von Virulenzgenen und immundominanten Antigenen verfolgt werden (Osterrieder et al. 2001; Soboll et al. 2003) und dieses Wissen dazu verwendet werden Impfstoffe zu generieren, die nach Immunisierung eine robuste, humoral und zellulär vermittelte Immunantwort induzieren (O'Neill et al. 1999; Kydd et al. 2003; Minke et al. 2004). Dadurch dass alle EHV-1-Gene in den ersten Stunden der Infektion exprimiert werden, sollte die angeborene Immunität ebenfalls ein Ziel neuer Forschungen sein, um weitere EHV-1-Immunmodulationsprozesse zu entschlüsseln (Soboll Hussey et al. 2011).

6. Zusammenfassung

Das Equine Herpesvirus vom Typ 1 (EHV-1) stellt die häufigste virale Abortursache beim Pferd dar und ruft außerdem respiratorische Erkrankungen sowie selten eine besondere Form der Myeloenzephalopathie hervor (Kydd et al. 2006). Zur Minimierung wirtschaftlicher Schäden wurden daher diverse Impfstoffe entwickelt, die jedoch bis heute die offenbar protektiv wirksame zelluläre Immunantwort nicht ausreichend stimulieren (Minke et al. 2004). Infolgedessen wurde in dieser Studie die Wirksamkeit von zwei kommerziell erhältlichen Impfstoffen gegen EHV-1-Aborte miteinander verglichen, um zu überprüfen, welcher eher eine zellvermittelte Immunität induziert und somit eine bessere Schutzwirkung erzielt. Die Probanden unterlagen bereits vor der Untersuchung einem regelmäßigen Impfmanagement mit dem inaktivierten Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4}. Im Rahmen der Studie wurden 150 Stuten weiterhin mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisiert, eine andere Gruppe mit 192 Tieren erhielt hingegen den Lebendimpfstoff Prevaccinol[®]. Die mit Prevaccinol[®] geimpften Stuten wurden dabei in zwei Gruppen unterteilt, nämlich die Stuten, die nur in einem Jahr Prevaccinol[®] erhielten (Duvaxyn-Prevaccinol-Stuten - DPS) und solche, die in zwei aufeinander folgenden Jahren mit Prevaccinol[®] immunisiert wurden (Prevaccinol-Prevaccinol-Stuten - PPS).

Die zu bestimmten Zeitpunkten entnommenen Blutproben wurden zum quantitativen Antikörpernachweis mittels des Serumneutralisationstests untersucht. Die mit dem Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] immunisierten Stuten, besonders die PPS-Gruppe, erreichten deutlich höhere mittlere Antikörpertiter über den gesamten Verlauf der Studie als die mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} geimpften Tiere. Die Fohlen der immunisierten Stuten zeigten eine ähnliche Verteilung. Auffällig war jedoch, dass die SNT-Titer der Fohlen im dritten Lebensmonat unabhängig vom verwendeten Impfstoff rapide abfielen.

Im Vordergrund stand auch der Nachweis der IgG-Isotypen der EHV-1-spezifischen Antikörperantwort - IgG1, IgG3/5 und IgG4/7 - mittels eines ELISA-Tests. Die Ergebnisse können entweder als Surrogat einer Th1- (IgG1 und IgG4/7) oder Th2-Zell (IgG3/5) gerichteten Immunantwort betrachtet werden. Der ELISA sollte also Aufschluss darüber geben, welcher Impfstoff eine vermehrt zelluläre Immunantwort induzierte. Das Isotypen-Verhältnis der drei Impfgruppen zeigte jedoch annähernd identische Ergebnisse, sodass mit diesem Verfahren kein Unterschied zwischen den beiden Impfstoffen bezüglich der induzierten Immunität festgestellt werden konnte.

Weiterhin wurden die Abortzahlen der Zuchtsaison 2009/2010 auf dem Gestüt betrachtet. Unabhängig von der Impfung abortierten insgesamt 55 von 775 tragenden Stuten. Mittels PCR konnte bei neun Stuten ein EHV-1 induzierter Abort diagnostisch nachgewiesen werden. Sieben dieser EHV-1-Abortstuten wurden zuvor mit Duvaxyn[®]EHV_{1,4} immunisiert, die restlichen zwei mit Prevaccinol[®] (PPS). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant, aber das Ergebnis führte trotz allem zu der Schlussfolgerung, dass insbesondere bei regelmäßiger Anwendung der Lebendimpfstoff Prevaccinol[®] klinisch einen besseren Schutz vor EHV-1-Aborten bietet als der inaktivierte Kombinationsimpfstoff Duvaxyn[®]EHV_{1,4}.

7. Summary

Efficacy of different vaccines against infections with equine herpesvirustype 1 (EHV-1)

Equine herpesvirustype 1 (EHV-1) is the most frequent viral cause for abortion in horses and also induces respiratory diseases as well as equine herpesvirus myeloencephalopathy (Kydd et al. 2006). In order to minimise economic losses due to EHV-1-infection, a number of vaccines were developed, which however do not sufficiently stimulate cellular immune responses that are considered vital for protection against disease (Minke et al. 2006). Consequently, we compared the efficiency of two commercial vaccines against EHV-1-abortions. The aim was to investigate which vaccine rather induces cell-mediated immunity and better protection. All subjects were immunized regularly with the inactivated combination vaccine Duvaxyn[®]EHV_{1,4} before start of the study. In the study, 150 mares were continuously immunized with Duvaxyn[®]EHV_{1,4}. In contrast, a group of 192 mares were immunized with the modified live virus vaccine Prevaccinol[®], where mares immunized with Prevaccinol[®] were divided into two groups – one group that received the modified live virus vaccine for one year following the Duvaxyn[®]EHV_{1,4} regimen (DPS mares) and one that received Prevaccinol[®] treatment for two consecutive years (PPS mares).

Serum samples taken at various times after vaccination were analysed in a virus serum neutralisation test (SNT). The results show that mares immunized with Prevaccinol[®] (especially the PPS-group) had significantly higher average SN titers in comparison to the animals immunized with Duvaxyn[®]EHV_{1,4}. The foals of the immunized mares presented with very similar results. However, it was noticeable that the SN titers of foals declined dramatically in the third month of life irrespective of the applied vaccine. However, the major focus was on the analysis of the IgG isotopes (IgG1, IgG3/5 and IgG4/7) induced by the vaccines by means of the ELISA. The ratio of different IgG isotopes is considered a surrogate for either a Th1 (in case of IgG1 and IgG4/7) or a Th2 based (in case of IgG3/5) immune response. The ELISA should, therefore, clarify which of the vaccines induced a stronger cell-mediated immunity and, theoretically, would offer better protection against abortions caused by EHV-1. As we obtained virtually identical results it was impossible to detect a difference between the two vaccines concerning the type of immunity induced.

Finally, the number of abortions in the breeding season 2009/2010 was recorded. In total 55 out of 775 gestating mares aborted. By means of PCR, EHV-1 induced abortion could be attested in nine cases. Seven mares suffering from an EHV-1-induced abortion were immunized with Duvaxyn[®]EHV_{1,4}, whereas the remaining two mares had been immunized with Prevaccinol[®]. Although the difference was not significant, the result led us to conclude that, from a clinical viewpoint, the modified live virus vaccine Prevaccinol[®] offered a better protection against EHV-1 abortions when compared to the inactivated combination vaccine Duvaxyn[®]EHV_{1,4}.

A. Literaturverzeichnis

- Akagi, T. und Akashi, M. (2006). "Development of polymeric nanoparticles-based vaccine". *Nippon Rinsho*, 64(2), 279-285.
- Allen, G. P. und Breathnach, C. C. (2006). "Quantification by real-time PCR of the magnitude and duration of leucocyte-associated viraemia in horses infected with neuropathogenic vs. non-neuropathogenic strains of EHV-1". *Equine veterinary journal*, 38(3), 252-257.
- Allen, G. P. und Bryans, J. T. (1986). "Molecular epizootiology, pathogenesis, and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections". *Progress in Veterinary Microbiology and Immunology*, 2, 78-144.
- Ambagala, A. P., Gopinath, R. S. und Srikumaran, S. (2004). "Peptide transport activity of the transporter associated with antigen processing (TAP) is inhibited by an early protein of equine herpesvirus-1". *Journal of General Virology*, 85(Pt 2), 349-353.
- Bernoco, M. M., Liu, I. K. und Willits, N. H. (1994). "Hemolytic complement activity and concentrations of its third component during maturation of the immune response in colostrum-deprived foals". *American Journal of Veterinary Research*, 55(7), 928-933.
- Borchers, K., Frolich, K. und Ludwig, H. (1999). "Detection of equine herpesvirus types 2 and 5 (EHV-2 and EHV-5) in Przewalski's wild horses". *Archives of Virology*, 144(4), 771-780.
- Breathnach, C. C., Soboll, G., Suresh, M. und Lunn, D. P. (2005). "Equine herpesvirus-1 infection induces IFN-gamma production by equine T lymphocyte subsets". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 103(3-4), 207-215.
- Breathnach, C. C., Yeargan, M. R., Sheoran, A. S. und Allen, G. P. (2001). "The mucosal humoral immune response of the horse to infective challenge and vaccination with equine herpesvirus-1 antigens". *Equine Veterinary Journal*, 33(7), 651-657.
- Bryans, J. T. (1980). "Herpesviral diseases affecting reproduction in the horse". *The Veterinary clinics of North America. Equine practice.*, 2(2), 303-312.
- Bryans, J. T. und Allen, G. P. (1982). "Application of a chemically inactivated, adjuvanted vaccine to control abortigenic infection of mares by equine herpesvirus I". *Developments in Biological Standardization*, 52, 493-498.

- Bryans, J. T., Crowe, M. E., Doll, E. R. und McCollum, W. H. (1957). "Isolation of a filterable agent causing arteritis of horses and abortion by mares; its differentiation from the equine abortion (influenza) virus". *Cornell Vet*, 47(1), 3-41.
- Bryant, N. A., Davis-Poynter, N., Vanderplasschen, A. und Alcami, A. (2003). "Glycoprotein G isoforms from some alphaherpesviruses function as broad-spectrum chemokine binding proteins". *European Molecular Biology Organization Journal*, 22(4), 833-846.
- Burki, F., Rossmanith, W., Nowotny, N., Pallan, C., Mostl, K. und Lussy, H. (1990). "Viraemia and abortions are not prevented by two commercial equine herpesvirus-1 vaccines after experimental challenge of horses". *Veterinary Quarterly*, 12(2), 80-86.
- Burrows, R., Goodridge, D. und Denyer, M. S. (1984). "Trials of an inactivated equid herpesvirus 1 vaccine: challenge with a subtype 1 virus". *Veterinary Record*, 114(15), 369-374.
- Carrigan, M., Cosgrove, P., Kirkland, P. und Sabine, M. (1991). "An outbreak of Equid herpesvirus abortion in New South Wales". *Equine veterinary journal*, 23(2), 108-110.
- Coombs, D. K., Patton, T., Kohler, A. K., Soboll, G., Breathnach, C., Townsend, H. G., et al. (2006). "Cytokine responses to EHV-1 infection in immune and non-immune ponies". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 111(1-2), 109-116.
- Crabb, B. S., MacPherson, C. M., Reubel, G. H., Browning, G. F., Studdert, M. J. und Drummer, H. E. (1995). "A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesviruses 4 and 1". *Archives of Virology*, 140(2), 245-258.
- Crabb, B. S., Nagesha, H. S. und Studdert, M. J. (1992). "Identification of equine herpesvirus 4 glycoprotein G: a type-specific, secreted glycoprotein". *Virology*, 190(1), 143-154.
- Crabb, B. S. und Studdert, M. J. (1993). "Epitopes of glycoprotein G of equine herpesviruses 4 and 1 located near the C termini elicit type-specific antibody responses in the natural host". *Journal of Virology*, 67(10), 6332-6338.
- Crabb, B. S. und Studdert, M. J. (1995). "Equine herpesviruses 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus)". *Advances in Virus Research*, 45, 153-190.
- Crandell, R. A., Ichimura, H. und Kit, S. (1988). "Isolation and comparative restriction endonuclease DNA fingerprinting of equine herpesvirus-1 from cattle". *American Journal of Veterinary Research*, 49(11), 1807-1813.

- Csellner, H., Walker, C., Wellington, J. E., McLure, L. E., Love, D. N. und Whalley, J. M. (2000). "EHV-1 glycoprotein D (EHV-1 gD) is required for virus entry and cell-cell fusion, and an EHV-1 gD deletion mutant induces a protective immune response in mice". *Archives of Virology*, 145(11), 2371-2385.
- Davison, A. J., Cunningham, C., Sauerbier, W. und McKinnell, R. G. (2006). "Genome sequences of two frog herpesviruses". *Journal of General Virology*, 87(Pt 12), 3509-3514.
- Demmers, S., Johannisson, A., Grondahl, G. und Jensen-Waern, M. (2001). "Neutrophil functions and serum IgG in growing foals". *Equine veterinary journal*, 33(7), 676-680.
- Diallo, I. S., Hewitson, G., Wright, L., Rodwell, B. J. und Corney, B. G. (2006). "Detection of equine herpesvirus type 1 using a real-time polymerase chain reaction". *Journal of Virological Methods*, 131(1), 92-98.
- Dimock, W. W. und Edwards, P. R. (1933). "Is there a filterable virus of abortion in mares?". Kentucky Agriculture Experiment Station, Bulletin 333, Supplement, Lexington.
- Doll, E. R. (1961). "Immunization against viral rhinopneumonitis of horses with live virus propagated in hamsters". *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 139, 1324-1330.
- Doll, E. R. und Bryans, J. T. (1963a). "A planned infection program for immunizing mares against viral rhinopneumonitis". *Cornell Vet*, 53, 249-262.
- Doll, E. R. und Bryans, J. T. (1963b). "Immunization of young horses against viral rhinopneumonitis". *Cornell Vet*, 53, 24-41.
- Doll, E. R., Crowe, M. E., Mc, C. W. und Bryans, J. T. (1959). "In vitro serum neutralization of hamster-propagated equine rhinopneumonitis virus". *Cornell Vet*, 49(1), 28-33.
- Dutta, S. K. und Shipley, W. D. (1975). "Immunity and the level of neutralization antibodies in foals and mares vaccinated with a modified live-virus rhinopneumonitis vaccine". *American Journal of Veterinary Research*, 36(4 Pt.1), 445-448.
- Edington, N., Bridges, C. G. und Huckle, A. (1985). "Experimental reactivation of equid herpesvirus 1 (EHV 1) following the administration of corticosteroids". *Equine veterinary journal*, 17(5), 369-372.
- Edington, N., Bridges, C. G. und Patel, J. R. (1986). "Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis caused by equid herpesvirus-1: equine stroke". *Archives of Virology*, 90(1-2), 111-124.

- Edington, N., Welch, H. M. und Griffiths, L. (1994). "The prevalence of latent Equid herpesviruses in the tissues of 40 abattoir horses". *Equine veterinary journal*, 26(2), 140-142.
- Falke, D., Siegert, R. und Vogell, W. (1959). "Electron microscopic findings on the problem of double membrane formation in herpes simplex virus". *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 9, 484-496.
- Fitzpatrick, D. R. und Studdert, M. J. (1984). "Immunologic relationships between equine herpesvirus type 1 (equine abortion virus) and type 4 (equine rhinopneumonitis virus)". *American Journal of Veterinary Research*, 45(10), 1947-1952.
- Flaminio, M. J., Rush, B. R. und Shuman, W. (1999). "Peripheral blood lymphocyte subpopulations and immunoglobulin concentrations in healthy foals and foals with *Rhodococcus equi* pneumonia". *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13(3), 206-212.
- Foote, C. E., Love, D. N., Gilkerson, J. R. und Whalley, J. M. (2004). "Detection of EHV-1 and EHV-4 DNA in unweaned Thoroughbred foals from vaccinated mares on a large stud farm". *Equine veterinary journal*, 36(4), 341-345.
- Frampton, A. R., Jr., Goins, W. F., Cohen, J. B., von Einem, J., Osterrieder, N., O'Callaghan, D. J., et al. (2005). "Equine herpesvirus 1 utilizes a novel herpesvirus entry receptor". *Journal of Virology*, 79(5), 3169-3173.
- Frampton, A. R., Jr., Stolz, D. B., Uchida, H., Goins, W. F., Cohen, J. B. und Glorioso, J. C. (2007). "Equine herpesvirus 1 enters cells by two different pathways, and infection requires the activation of the cellular kinase ROCK1". *Journal of Virology*, 81(20), 10879-10889.
- Gibson, J. S., O'Neill, T., Thackray, A., Hannant, D. und Field, H. J. (1992a). "Serological responses of specific pathogen-free foals to equine herpesvirus-1: primary and secondary infection, and reactivation". *Veterinary Microbiology*, 32(3-4), 199-214.
- Gibson, J. S., Slater, J. D., Awan, A. R. und Field, H. J. (1992b). "Pathogenesis of equine herpesvirus-1 in specific pathogen-free foals: primary and secondary infections and reactivation". *Archives of Virology*, 123(3-4), 351-366.
- Gilkerson, J. R., Whalley, J. M., Drummer, H. E., Studdert, M. J. und Love, D. N. (1999). "Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals". *Veterinary Microbiology*, 68(1-2), 27-34.
- Goehring, L. S., Wagner, B., Bigbie, R., Hussey, S. B., Rao, S., Morley, P. S., et al. (2010). "Control of EHV-1 viremia and nasal shedding by commercial vaccines". *Vaccine*, 28(32), 5203-5211.

- Goodman, L. B., Wagner, B., Flaminio, M. J., Sussman, K. H., Metzger, S. M., Holland, R., et al. (2006). "Comparison of the efficacy of inactivated combination and modified-live virus vaccines against challenge infection with neuropathogenic equine herpesvirus type 1 (EHV-1)". *Vaccine*, 24(17), 3636-3645.
- Gray, W. L., Baumann, R. P., Robertson, A. T., O'Callaghan, D. J. und Staczek, J. (1987). "Characterization and mapping of equine herpesvirus type 1 immediate early, early, and late transcripts". *Virus Research*, 8(3), 233-244.
- Grondahl, G., Johannisson, A., Demmers, S. und Jensen Waern, M. (1999). "Influence of age and plasma treatment on neutrophil phagocytosis and CD18 expression in foals". *Veterinary Microbiology*, 65(3), 241-254.
- Hannant, D., Jessett, D. M., O'Neill, T., Dolby, C. A., Cook, R. F. und Mumford, J. A. (1993). "Responses of ponies to equid herpesvirus-1 ISCOM vaccination and challenge with virus of the homologous strain". *Research in Veterinary Science*, 54(3), 299-305.
- Heldens, J. G., Hannant, D., Cullinane, A. A., Prendergast, M. J., Mumford, J. A., Nelly, M., et al. (2001a). "Clinical and virological evaluation of the efficacy of an inactivated EHV1 and EHV4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV1,4). Vaccination/challenge experiments in foals and pregnant mares". *Vaccine*, 19(30), 4307-4317.
- Heldens, J. G., Kersten, A. J., Weststrate, M. W. und van den Hoven, R. (2001b). "Duration of immunity induced by an adjuvanted and inactivated equine influenza, tetanus and equine herpesvirus 1 and 4 combination vaccine". *Veterinary Quarterly*, 23(4), 210-217.
- Henry, B. E., Robinson, R. A., Dauenhauer, S. A., Atherton, S. S., Hayward, G. S. und O'Callaghan, D. J. (1981). "Structure of the genome of equine herpesvirus type 1". *Virology*, 115(1), 97-114.
- Hietala, S. K. und Ardans, A. A. (1987). "Neutrophil phagocytic and serum opsonic response of the foal to *Corynebacterium equi*". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 14(3), 279-294.
- Huemer, H. P., Nowotny, N., Crabb, B. S., Meyer, H. und Hubert, P. H. (1995). "gp13 (EHV-gC): a complement receptor induced by equine herpesviruses". *Virus Research*, 37(2), 113-126.
- Jackson, T. A., Osburn, B. I., Cordy, D. R. und Kendrick, J. W. (1977). "Equine herpesvirus 1 infection of horses: studies on the experimentally induced neurologic disease". *American Journal of Veterinary Research*, 38(6), 709-719.
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M. und Shlomchik, M. (2002). *Immunologie* (pp. Heidelberg-Berlin Spektrum-Akademischer Verlag

- Jeffcott, L. B. (1971). "Duration of permeability of the intestine to macromolecules in the newly-born foal". *Veterinary Record*, 88(13), 340-341.
- Jeffcott, L. B. (1974). "Studies on passive immunity in the foal. 1. Gamma-globulin and antibody variations associated with the maternal transfer of immunity and the onset of active immunity". *Journal of Comparative Pathology*, 84(1), 93-101.
- Kisielow, P. und Miazek, A. (1996). "Thymic selection and tolerance". *Transplantation Proceedings*, 28(6), 3429-3430.
- Koppers-Lalic, D., Verweij, M. C., Lipinska, A. D., Wang, Y., Quinten, E., Reits, E. A., et al. (2008). "Varicellovirus UL 49.5 proteins differentially affect the function of the transporter associated with antigen processing, TAP". *Public Library of Science Pathogens*, 4(5), e1000080.
- Kydd, J. H., Hannant, D. und Mumford, J. A. (1996). "Residence and recruitment of leucocytes to the equine lung after EHV-1 infection". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 52(1-2), 15-26.
- Kydd, J. H., Smith, K. C., Hannant, D., Livesay, G. J. und Mumford, J. A. (1994a). "Distribution of equid herpesvirus-1 (EHV-1) in respiratory tract associated lymphoid tissue: implications for cellular immunity". *Equine veterinary journal*, 26(6), 470-473.
- Kydd, J. H., Smith, K. C., Hannant, D., Livesay, G. J. und Mumford, J. A. (1994b). "Distribution of equid herpesvirus-1 (EHV-1) in the respiratory tract of ponies: implications for vaccination strategies". *Equine veterinary journal*, 26(6), 466-469.
- Kydd, J. H., Townsend, H. G. und Hannant, D. (2006). "The equine immune response to equine herpesvirus-1: the virus and its vaccines". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 111(1-2), 15-30.
- Kydd, J. H., Wattrang, E. und Hannant, D. (2003). "Pre-infection frequencies of equine herpesvirus-1 specific, cytotoxic T lymphocytes correlate with protection against abortion following experimental infection of pregnant mares". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96(3-4), 207-217.
- Liu, M. A. (2011). "DNA vaccines: an historical perspective and view to the future". *Immunological Reviews*, 239(1), 62-84.
- Lunn, D. P., Davis-Poynter, N., Flaminio, M. J., Horohov, D. W., Osterrieder, K., Pusterla, N., et al. (2009). "Equine herpesvirus-1 consensus statement". *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 450-461.

- Lunn, D. P., Holmes, M. A., Antczak, D. F., Agerwal, N., Baker, J., Bendali-Ahcene, S., et al. (1998). "Report of the Second Equine Leucocyte Antigen Workshop, Squaw valley, California, July 1995". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 62(2), 101-143.
- Lunn, D. P., Holmes, M. A., Gibson, J., Field, H. J., Kydd, J. H. und Duffus, W. P. H. (1991). "Haematological changes and equine lymphocyte subpopulation kinetics during primary infection and attempted re-infection of specific pathogen free foals with EHV-1". *Equine veterinary journal, Suppl. 12*, 35-41.
- Lunn, D. P. und Horohov, D. W. (2004). "The Equine Immune System". In S. M. Reed, W. M. Bayly & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (2 ed., pp. 1-28). St. Louis: Saunders-Verlag.
- Matsumura, T., Kondo, T., Sugita, S., Damiani, A. M., O'Callaghan, D. J. und Imagawa, H. (1998). "An equine herpesvirus type 1 recombinant with a deletion in the gE and gI genes is avirulent in young horses". *Virology*, 242(1), 68-79.
- Matsumura, T., Sugiura, T., Imagawa, H., Fukunaga, Y. und Kamada, M. (1992). "Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations". *Journal of Veterinary Medical Science*, 54(2), 207-211.
- Mayr, A., Bohm, H. O., Brill, J. und Woyciechowska, S. (1965). "Characterization of an equine abortion virus from Poland and comparison with known equine rhinopneumonitis virus strains". *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 17(2), 216-230.
- Mayr, A., Eißner, G. und Mayr-Bibrack, B. (1984). *Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin* (pp. 168-213). Berlin, Hamburg: Parey.
- Mayr, A. und Kaaden, O.-R. (2006). "Infektionen und Krankheiten durch Herpesviren". In M. Rolle & A. Mayr (Eds.), *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre* (8 ed., pp. 166-191): Enke.
- Mayr, A. und Pette, J. (1968). "[1st experiments concerning the vaccination of horses against rhino-pneumonia (viral abortion of mares) with a live vaccine from cell cultures]". *Bulletin de l'Office internationale des épizooties*, 70(1), 133-140.
- Mayr, A., Pette, J., Petzoldt, K. und Wagener, K. (1968). "Studies on the development of a live vaccine against rhinopneumonitis (mare abortion) of horses". *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 15(3), 406-418.
- McCartan, C. G., Russell, M. M., Wood, J. L. und Mumford, J. A. (1995). "Clinical, serological and virological characteristics of an outbreak of paresis and neonatal foal disease due to equine herpesvirus-1 on a stud farm". *Veterinary Record*, 136(1), 7-12.

-
- Meager, T. (1998). "Overview". In K. James & A. Morris (Eds.), *The Molecular Biology of Cytokines* (pp. 1-21). Chichester, England
- Medzhitov, R. (2008). "The Innate Immune System". In W. E. Paul (Ed.), *Fundamental Immunology* (6 ed., pp. 427-450). Philadelphia, USA: Kluwer-Lippincott.
- Mettenleiter, T. C. (2002). "Herpesvirus assembly and egress". *Journal of Virology*, 76(4), 1537-1547.
- Mettenleiter, T. C. (2004). "Budding events in herpesvirus morphogenesis". *Virus Research*, 106(2), 167-180.
- Minke, J. M., Audonnet, J. C. und Fischer, L. (2004). "Equine viral vaccines: the past, present and future". *Veterinary Research*, 35(4), 425-443.
- Minke, J. M., Fischer, L., Baudu, P., Guigal, P. M., Sindle, T., Mumford, J. A., et al. (2006). "Use of DNA and recombinant canarypox viral (ALVAC) vectors for equine herpes virus vaccination". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 111(1-2), 47-57.
- Mitchell, D. (1983). "Vaccines for EHV1 abortion". *Veterinary Record*, 112(12), 285.
- Modrow, S., Falke, D. und Truyen, U. (2002). *Molekulare Virologie* (pp. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
- Modrow, S., Falke, D., Truyen, U. und Schätzl, H. (2010). "Herpesviren". In S. Modrow, D. Falke, U. Truyen & H. Schätzl (Eds.), *Molekulare Virologie* (3 ed., pp. 544-608). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Montali, R. J., Allen, G. P., Bryans, J. T., Phillips, L. G. und Bush, M. (1985). "Equine herpesvirus type 1 abortion in an onager and suspected herpesvirus myelitis in a zebra". *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187(11), 1248-1249.
- Mumford, J. A., Rosedale, P. D., Jessett, D. M., Gann, S. J., Ousey, J. und Cook, R. F. (1987). "Serological and virological investigations of an equid herpesvirus 1 (EHV-1) abortion storm on a stud farm in 1985". *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 35, 509-518.
- Murphy, F. A., Gibbs, E. P. J., Horzinek, M. C. und Studdert, M. J. (1999). "Herpesviridae". In F. A. Murphy, E. P. J. Gibbs, M. C. Horzinek & M. J. Studdert (Eds.), *Veterinary Virology* (pp. 301-327). San Diego, California, USA: Academic Press.
- Nagy, E., Idamakanti, N. und Carman, S. (1997). "Restriction endonuclease analysis of equine herpesvirus-1 isolates recovered in Ontario, 1986-1992, from aborted, stillborn, and neonatal foals". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 9(2), 143-148.

- Neubauer, A., Braun, B., Brandmuller, C., Kaaden, O. R. und Osterrieder, N. (1997). "Analysis of the contributions of the equine herpesvirus 1 glycoprotein gB homolog to virus entry and direct cell-to-cell spread". *Virology*, 227(2), 281-294.
- O'Callaghan, D. J., Gentry, G. A. und Randall, C. C. (1983). "The Equine Herpesviruses". In B. Roizman (Ed.), *The Herpesviruses 2* (Vol. 2, pp. 215-225). New York: Plenum Press.
- O'Neill, T., Kydd, J. H., Allen, G. P., Watrang, E., Mumford, J. A. und Hannant, D. (1999). "Determination of equid herpesvirus 1-specific, CD8+, cytotoxic T lymphocyte precursor frequencies in ponies". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 70(1-2), 43-54.
- Osterrieder, N. (1999). "Construction and characterization of an equine herpesvirus 1 glycoprotein C negative mutant". *Virus Research*, 59(2), 165-177.
- Osterrieder, N., Neubauer, A., Brandmuller, C., Kaaden, O. R. und O'Callaghan, D. J. (1996). "The equine herpesvirus 1 IR6 protein influences virus growth at elevated temperature and is a major determinant of virulence". *Virology*, 226(2), 243-251.
- Osterrieder, N., Neubauer, A., Brandmuller, C., Kaaden, O. R. und O'Callaghan, D. J. (1998). "The equine herpesvirus 1 IR6 protein that colocalizes with nuclear lamins is involved in nucleocapsid egress and migrates from cell to cell independently of virus infection". *Journal of Virology*, 72(12), 9806-9817.
- Osterrieder, N., Seyboldt, C. und Elbers, K. (2001). "Deletion of gene 52 encoding glycoprotein M of equine herpesvirus type 1 strain RacH results in increased immunogenicity". *Veterinary Microbiology*, 81(3), 219-226.
- Ostlund, E. N. (1993). "The equine herpesviruses". *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 9(2), 283-294.
- Paillot, R., Ellis, S. A., Daly, J. M., Audonnet, J. C., Minke, J. M., Davis-Poynter, N., et al. (2006a). "Characterisation of CTL and IFN-gamma synthesis in ponies following vaccination with a NYVAC-based construct coding for EHV-1 immediate early gene, followed by challenge infection". *Vaccine*, 24(10), 1490-1500.
- Paillot, R., Hannant, D., Kydd, J. H. und Daly, J. M. (2006b). "Vaccination against equine influenza: quid novi?". *Vaccine*, 24(19), 4047-4061.
- Patel, J. R., Bateman, H., Williams, J. und Didlick, S. (2003a). "Derivation and characterisation of a live equid herpes virus-1 (EHV-1) vaccine to protect against abortion and respiratory disease due to EHV-1". *Veterinary Microbiology*, 91(1), 23-39.

-
- Patel, J. R., Didlick, S. und Bateman, H. (2004). "Efficacy of a live equine herpesvirus-1 (EHV-1) strain C147 vaccine in foals with maternally-derived antibody: protection against EHV-1 infection". *Equine Veterinary Journal*, 36(5), 447-451.
- Patel, J. R., Edington, N. und Mumford, J. A. (1982). "Variation in cellular tropism between isolates of equine herpesvirus-1 in foals". *Archives of Virology*, 74(1), 41-51.
- Patel, J. R., Foldi, J., Bateman, H., Williams, J., Didlick, S. und Stark, R. (2003b). "Equid herpesvirus (EHV-1) live vaccine strain C147: efficacy against respiratory diseases following EHV types 1 and 4 challenges". *Veterinary Microbiology*, 92(1-2), 1-17.
- Patel, J. R. und Heldens, J. (2005). "Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)--epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review". *The Veterinary Journal*, 170(1), 14-23.
- Pellet, P. E. und Roizman, B. (2007). "Herpesviridae". In D. M. Knipe & P. M. Howley (Eds.), *Fields Virology* (Vol. 2, pp. 2479-2500). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Pette, J. (1966). "Development of a living virus vaccine against rhinopneumonitis of horses". In J. T. Bryans (Ed.), *Proceedings of the First International Conference on Equine Infectious Diseases* (pp. 112-116). Lexington, Kentucky, USA: The Grayson Foundation.
- Pusterla, N., Mapes, S. und Wilson, W. D. (2008). "Use of viral loads in blood and nasopharyngeal secretions for the diagnosis of EHV-1 infection in field cases". *Veterinary Record*, 162(22), 728-729.
- Rappocciolo, G., Birch, J. und Ellis, S. A. (2003). "Down-regulation of MHC class I expression by equine herpesvirus-1". *Journal of General Virology*, 84(Pt 2), 293-300.
- Robinson, H. L. (1999). "DNA vaccines: basic mechanism and immune responses (Review)". *International Journal of Molecular Medicine*, 4(5), 549-555.
- Rosas, C. T., Goodman, L. B., von Einem, J. und Osterrieder, N. (2006). "Equine herpesvirus type 1 modified live virus vaccines: quo vaditis?". *Expert Review of Vaccines*, 5(1), 119-131.
- Sabine, M., Robertson, G. R. und Whalley, J. M. (1981). "Differentiation of sub-types of equine herpesvirus I by restriction endonuclease analysis". *Australian Veterinary Journal*, 57(3), 148-149.

- Schultheiss, P. C., Collins, J. K. und Carman, J. (1993). "Use of an immunoperoxidase technique to detect equine herpesvirus-1 antigen in formalin-fixed paraffin-embedded equine fetal tissues". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5(1), 12-15.
- Scott, J. C., Dutta, S. K. und Myrup, A. C. (1983). "In vivo harboring of equine herpesvirus-1 in leukocyte populations and subpopulations and their quantitation from experimentally infected ponies". *American Journal of Veterinary Research*, 44(7), 1344-1348.
- Selb, B. (1992). *Medizinische Virusdiagnostik* (pp. 129-137).
- Sheoran, A. S., Lunn, D. P. und Holmes, M. A. (1998). "Monoclonal antibodies to subclass-specific antigenic determinants on equine immunoglobulin gamma chains and their characterization". *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 62(2), 153-165.
- Sheoran, A. S., Timoney, J. F., Holmes, M. A., Karzenski, S. S. und Crisman, M. V. (2000). "Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses". *American Journal of Veterinary Research*, 61(9), 1099-1105.
- Skepper, J. N., Whiteley, A., Browne, H. und Minson, A. (2001). "Herpes simplex virus nucleocapsids mature to progeny virions by an envelopment --> deenvelopment --> reenvelopment pathway". *Journal of Virology*, 75(12), 5697-5702.
- Slater, J. (2007). "Equine herpesviruses". In D. C. Sellon & M. T. Long (Eds.), *Equine Infectious Diseases* (pp. 134-153). St. Louis: Saunders Elsevier
- Slater, J. D., Borchers, K., Thackray, A. M. und Field, H. J. (1994). "The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus 1 latency and reactivation in the horse". *Journal of General Virology*, 75 (Pt 8), 2007-2016.
- Slater, J. D., Gibson, J. S. und Field, H. J. (1993). "Pathogenicity of a thymidine kinase-deficient mutant of equine herpesvirus 1 in mice and specific pathogen-free foals". *Journal of General Virology*, 74 (Pt 5), 819-828.
- Smith, D. J., Hamblin, A. S. und Edington, N. (2001). "Infection of endothelial cells with equine herpesvirus-1 (EHV-1) occurs where there is activation of putative adhesion molecules: a mechanism for transfer of virus". *Equine veterinary journal*, 33(2), 138-142.
- Smith, D. J., Iqbal, J., Purewal, A., Hamblin, A. S. und Edington, N. (1998). "In vitro reactivation of latent equine herpesvirus-1 from CD5+/CD8+ leukocytes indirectly by IL-2 or chorionic gonadotrophin". *Journal of General Virology*, 79 (Pt 12), 2997-3004.

- Smith, K. C. und Borchers, K. (2001). "A study of the pathogenesis of equid herpesvirus-1 (EHV-1) abortion by DNA in-situ hybridization". *Journal of Comparative Pathology*, 125(4), 304-310.
- Smith, K. C., McGladdery, A. J., Binns, M. M. und Mumford, J. A. (1997). "Use of transabdominal ultrasound-guided amniocentesis for detection of equid herpesvirus 1-induced fetal infection in utero". *American Journal of Veterinary Research*, 58(9), 997-1002.
- Smith, K. C., Mumford, J. A. und Lakhani, K. (1996). "A comparison of equid herpesvirus-1 (EHV-1) vascular lesions in the early versus late pregnant equine uterus". *Journal of Comparative Pathology*, 114(3), 231-247.
- Smith, K. C., Whitwell, K. E., Binns, M. M., Dolby, C. A., Hannant, D. und Mumford, J. A. (1992). "Abortion of virologically negative foetuses following experimental challenge of pregnant pony mares with equid herpesvirus 1". *Equine veterinary journal*, 24(4), 256-259.
- Smith, K. C., Whitwell, K. E., Mumford, J. A., Gower, S. M., Hannant, D. und Tearle, J. P. (1993). "An immunohistological study of the uterus of mares following experimental infection by equid herpesvirus 1". *Equine veterinary journal*, 25(1), 36-40.
- Soboll, G., Whalley, J. M., Koen, M. T., Allen, G. P., Fraser, D. G., Macklin, M. D., et al. (2003). "Identification of equine herpesvirus-1 antigens recognized by cytotoxic T lymphocytes". *Journal of General Virology*, 84(Pt 10), 2625-2634.
- Soboll Hussey, G., Hussey, S. B., Wagner, B., Horohov, D. W., Van de Walle, G. R., Osterrieder, N., et al. (2011). "Evaluation of immune responses following infection of ponies with an EHV-1 ORF1/2 deletion mutant". *Veterinary Research*, 42(1), 23.
- Studdert, M. J. (1983). "Restriction endonuclease DNA fingerprinting of respiratory, foetal and perinatal foal isolates of equine herpesvirus type 1". *Archives of Virology*, 77(2-4), 249-258.
- Studdert, M. J., Simpson, T. und Roizman, B. (1981). "Differentiation of respiratory and abortigenic isolates of equine herpesvirus 1 by restriction endonucleases". *Science*, 214(4520), 562-564.
- Telford, E. A., Watson, M. S., McBride, K. und Davison, A. J. (1992). "The DNA sequence of equine herpesvirus-1". *Virology*, 189(1), 304-316.
- Telford, E. A., Watson, M. S., Perry, J., Cullinane, A. A. und Davison, A. J. (1998). "The DNA sequence of equine herpesvirus-4". *Journal of General Virology*, 79 (Pt 5), 1197-1203.

- Tewari, D., Gibson, J. S., Slater, J. D., O'Neill, T., Hannant, D., Allen, G. P., et al. (1993). "Modulation of the serological response of specific pathogen-free (EHV-free) foals to EHV-1 by previous infection with EHV-4 or a TK-deletion mutant of EHV-1". *Archives of Virology*, 132(1-2), 101-120.
- Thein, P. (2006a). "Infektionskrankheiten mit Herpesviren". In O. Dietz & B. Huskamp (Eds.), *Handbuch Pferdepraxis* (3 ed., pp. 662-666). Stuttgart: Enke.
- Thein, P. (2006b). "Virusabort-Equines Herpesvirus Typ 1 und Typ 4". In O. Dietz & B. Huskamp (Eds.), *Handbuch Pferdepraxis* (3 ed., pp. 683-685). Stuttgart: Enke.
- Thomson, G. R., Mumford, J. A., Campbell, J., Griffiths, L. und Clapham, P. (1976). "Serological detection of equid herpesvirus 1 infections of the respiratory tract". *Equine veterinary journal*, 8(2), 58-65.
- Ungemach, F. R., Moos, M. und Selbitz, H.-J. (2006). "Immunpharmaka". In W. Löscher, F. R. Ungemach & R. Kroker (Eds.), *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren* (7 ed., pp. 481-499). Berlin: Parey.
- van der Meulen, K. M., Nauwynck, H. J. und Pensaert, M. B. (2003). "Absence of viral antigens on the surface of equine herpesvirus-1-infected peripheral blood mononuclear cells: a strategy to avoid complement-mediated lysis". *Journal of General Virology*, 84(Pt 1), 93-97.
- van Maanen, C. (2002). "Equine herpesvirus 1 and 4 infections: an update". *Veterinary Quarterly*, 24(2), 58-78.
- van Maanen, C., Bruin, G., de Boer-Luijtz, E., Smolders, G. und de Boer, G. F. (1992). "Interference of maternal antibodies with the immune response of foals after vaccination against equine influenza". *Veterinary Quarterly*, 14(1), 13-17.
- van Maanen, C., Willink, D. L., Smeenk, L. A., Brinkhof, J. und Terpstra, C. (2000). "An equine herpesvirus 1 (EHV1) abortion storm at a riding school". *Veterinary Quarterly*, 22(2), 83-87.
- Vannie, P., Capua, I., Le Potier, M. F., Mackay, D. K., Muylkens, B., Parida, S., et al. (2007). "Marker vaccines and the impact of their use on diagnosis and prophylactic measures". *Revue scientifique et technique*, 26(2), 351-372.
- Verter, W., Hamann, J. und Mayr, A. (1999). "Rhinopneumonitis". In O. Dietz & M. Huskamp (Eds.), *Handbuch Pferdepraxis* (2 ed., pp. 353-256). Stuttgart: Enke
- Wagner, B. (2006). "Immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse". *Developmental and Comparative Immunology*, 30(1-2), 155-164.

-
- Welch, H. M., Bridges, C. G., Lyon, A. M., Griffiths, L. und Edington, N. (1992). "Latent equid herpesviruses 1 and 4: detection and distinction using the polymerase chain reaction and co-cultivation from lymphoid tissues". *Journal of General Virology*, 73 (Pt 2), 261-268.
- Whitwell, K. E. und Blunden, A. S. (1992). "Pathological findings in horses dying during an outbreak of the paralytic form of Equid herpesvirus type 1 (EHV-1) infection". *Equine veterinary journal*, 24(1), 13-19.
- Wibbelt, G., Kurth, A., Yasmum, N., Bannert, M., Nagel, S., Nitsche, A., et al. (2007). "Discovery of herpesviruses in bats". *Journal of General Virology*, 88(Pt 10), 2651-2655.
- Wiesner, E. und Ribbeck, R. (2000). *Lexikon der Veterinärmedizin A-Z* (4 ed.pp. Stuttgart: Enke.

B. Anhang

Tabelle 15: Antikörpertiter im SNT, Duvaxyn-Gruppe, n = 149

Stuten-Nr.	Titer 5.Monat	Titer 7.Monat	Titer 9.Monat	Titer Geburt	Titer 1.LW	Titer 3.LM
87281	128	128	256	128	256	16
91577	64	128	256	128	64	4
91588	64	256	256	128	64	16
91648	128	128	128	256	128	32
92768	64	64	32	64	64	4
92799	128	64	128	128	64	8
93060	128	256	256	256	8	2
93166	128	64	64	128	16	4
93172	16	32	16	16	16	2
94017	64	32	32	64	16	4
95048	16	16	16	16	8	2
95060	128	128	64	128	16	4
95072	32	128	128	256	128	8
95114	32	32	32	32	32	2
95216	32	64	32	64	32	8
96094	64	128	64	128	64	4
96139	128	64	32	64	64	8
96173	256	256	256	256	256	32
96181	256	256	256	512	512	32
96194	64	64	32	128	128	2
96197	32	64	64	256	32	4
96199	128	128	32	64	64	16
96209	16	16	8	16	8	2
97002	64	32	64	64	64	2
97044	16	8	16	32	16	4
97062	64	32	64	64	64	8
97135	128	256	256	256	512	16
97153	64	32	16	64	64	4
98061	64	64	32	256	32	4
98096	64	32	32	32	32	8
98142	128	256	128	256	64	16
98151	16	16	16	64	64	2
98205	256	128	128	128	256	16
98240	8	16	16	16	16	2
98253	128	256	128	256	128	16
99014	128	32	64	64	256	8
99040	8	16	16	16	32	4

99052	128	64	64	256	64	2
99119	32	32	16	64	64	8
99124	128	32	32	256	64	8
99137	64	64	64	128	128	16
99142	128	256	256	256	128	8
99167	512	256	128	256	128	8
99170	128	128	128	256	32	4
99173	16	32	32	32	64	4
99178	64	64	256	128	256	16
00002	64	128	64	128	128	2
00010	32	32	128	64	64	8
00021	16	32	32	32	64	8
00034	16	16	32	16	4	4
00042	64	64	32	64	32	4
00051	64	8	16	64	64	16
00073	32	16	16	64	16	4
00081	32	32	32	32	32	8
00082	64	64	64	128	128	4
00129	32	64	128	64	64	4
00138	32	64	16	64	32	2
00167	16	16	8	64	16	4
00172	64	64	32	64	128	8
00174	64	32	32	128	64	4
00195	16	32	16	128	128	16
01022	8	16	32	64	32	2
01039	64	64	64	64	32	8
01051	64	128	64	64	128	4
01071	64	32	64	64	64	4
01099	128	128	128	256	8	2
01103	128	128	128	64	64	16
01106	16	32	32	32	32	4
01112	128	128	256	256	64	8
01140	32	32	32	32	16	4
01147	64	64	256	64	64	16
01162	64	128	64	128	256	8
01167	32	32	32	64	4	4
01191	32	32	16	32	32	4
01227	128	64	256	256	128	32
01233	128	64	128	128	128	8
01246	32	16	16	16	64	4
01256	64	64	64	64	4	8
01268	64	64	64	128	32	4
02001	32	16	32	32	64	4
02047	32	16	16	64	16	4

02048	128	256	256	256	256	8
02055	64	64	64	256	64	4
02100	64	128	64	128	64	4
02145	256	256	128	256	256	16
02158	64	128	128	128	128	16
02164	64	32	32	64	256	16
02200	64	128	128	128	32	2
02215	64	64	64	128	64	2
02221	64	16	16	64	64	4
02271	64	32	16	32	16	2
02297	16	32	32	32	16	2
03052	32	16	64	32	128	8
03063	128	64	128	64	256	32
03100	32	32	64	128	128	4
03103	16	32	16	32	64	4
03118	64	64	64	128	256	32
03154	128	128	128	128	128	16
03201	32	32	32	64	128	8
03244	64	128	128	256	32	4
03290	32	32	32	64	64	2
04003	32	32	32	64	128	8
04034	32	128	32	64	32	4
04044	32	32	32	128	128	16
04053	16	16	32	32	32	2
04074	128	64	256	128	64	4
04090	16	64	64	128	128	4
04094	32	32	32	128	64	4
04116	128	128	64	128	64	8
04129	32	64	32	128	16	16
04232	32	32	32	64	64	4
04336	64	32	64	64	32	4
04338	128	64	64	64	64	8
04340	16	32	64	256	32	4
05020	64	64	64	32	16	4
05028	32	32	32	64	32	4
05068	8	8	8	32	8	4
05182	32	32	64	32	32	2
05272	32	32	64	32	64	8
05337	32	32	32	32	16	2
05409	16	32	64	64	128	4
06001	16	32	32	64	64	4
06018	64	64	64	64	32	4
06026	16	16	16	16	16	4
06034	64	32	32	128	32	16

06045	32	16	16	16	32	4
06057	16	32	32	64	64	16
06062	16	8	16	32	32	2
06063	4	8	16	32	16	2
06067	64	64	64	32	64	4
06073	8	8	8	16	16	4
06079	64	32	32	64	128	8
06084	64	128	128	256	64	8
06096	16	8	16	16	8	2
06157	32	32	32	64	32	2
06185	16	8	16	64	32	4
06193	64	32	64	64	64	4
06204	8	32	64	64	64	8
06268	8	16	16	32	16	4
06271	8	16	32	16	16	2
06292	16	64	64	64	32	8
06316	16	4	8	16	16	2
06318	16	64	64	128	32	16
06374	32	32	16	64	32	2
070048	16	128	256	256	128	8
070198	8	64	64	32	128	4
E 07	64	64	256	64	64	16
E08	64	64	32	64	64	16
E09	128	64	128	128	64	4

Tabelle 16: Antikörpertiter im SNT, DPS-Gruppe, n = 106

Stuten-Nr.	Titer 5.Monat	Titer 8.Monat	Titer Geburt	Titer 1.LW	Titer 3.LM
88306	128	32	64	8	2
88316	256	128	128	64	2
88447	64	64	128	16	2
91600	128	64	256	64	2
91644	256	64	128	256	16
92756	64	256	256	128	8
94006	128	128	256	128	8
95044	32	32	64	128	4
95063	128	128	256	256	8
95066	256	128	256	128	4
95081	256	256	256	128	64
95160	128	64	128	128	8
95221	128	128	128	128	16

96002	32	32	64	128	4
96102	128	128	128	32	8
96105	128	64	128	128	16
96125	128	64	256	256	16
96202	32	64	64	32	4
97037	128	128	128	64	4
97187	256	256	128	128	16
97220	256	256	512	512	64
97229	32	64	32	32	4
98037	64	128	64	32	4
98128	64	64	64	64	8
98166	64	16	128	64	4
98242	256	128	128	128	8
99073	16	8	32	8	2
99123	128	256	256	128	8
00011	64	64	256	64	4
00125	128	128	256	64	16
01037	32	32	64	64	4
01068	128	128	256	128	4
01132	32	64	128	256	4
01138	64	128	128	128	16
01170	16	32	32	64	4
01218	128	128	128	16	8
01250	32	128	128	128	16
01252	64	64	128	256	32
02023	128	128	128	128	16
02063	32	64	64	256	8
02125	32	16	128	128	16
02140	64	32	32	32	8
02212	64	128	128	128	16
02250	16	32	128	64	4
02275	32	32	256	128	8
03041	32	32	64	16	4
03076	16	32	256	128	16
03126	64	32	64	128	4
03128	128	128	256	128	16
03138	64	128	128	128	8
03176	64	128	256	128	8
03212	128	128	256	64	16
03215	64	128	256	256	16
03219	16	64	128	256	4
03251	16	16	32	64	4
03270	32	64	32	16	4

03298	16	32	32	16	2
04018	16	32	256	16	2
04037	32	32	64	32	4
04039	32	64	64	128	8
04042	64	64	256	128	8
04062	64	256	256	128	8
04131	8	32	32	32	2
04152	16	32	32	128	8
04170	128	64	128	256	16
04237	16	32	32	128	8
04291	256	128	128	128	8
04305	16	16	128	128	4
04310	32	32	64	32	4
04312	16	64	128	32	4
05004	8	16	16	256	2
05037	16	16	64	128	4
05104	64	128	128	128	4
05131	128	256	128	128	16
05135	64	64	128	64	16
05153	16	16	16	32	4
05169	8	16	32	32	2
05198	16	16	64	64	2
05218	16	64	64	128	4
05243	64	256	256	512	8
05266	16	64	128	64	16
05279	16	16	64	64	4
05285	16	64	64	64	8
05298	16	32	16	32	4
05323	256	64	64	128	8
05355	8	16	32	32	4
05402	16	64	32	64	2
06004	64	128	64	256	8
06017	128	32	64	32	4
06027	64	64	256	256	16
06029	16	64	128	64	16
06077	16	32	32	64	4
06124	32	128	128	256	8
06263	16	32	64	128	8
06296	32	32	32	64	4
06299	64	32	128	8	2
070002	128	128	256	256	16
070033	16	16	64	32	2
070057	32	64	64	64	8

070060	32	64	32	64	4
070080	64	128	256	128	32
070084	32	128	256	256	32
070176	16	64	128	16	2
070186	64	16	16	32	8
070627	128	128	256	256	16
E05	128	128	256	64	4

Tabelle 17: Antikörpertiter im SNT, PPS-Gruppe, n = 86

Stuten-Nr.	Titer 5.Monat	Titer 8.Monat	Titer Geburt	Titer 1.LW	Titer 3.LM
91533	64	64	64	128	4
91643	256	128	128	256	16
92716	128	64	256	64	8
92797	64	32	64	64	8
93103	256	64	256	256	8
94114	128	128	128	128	8
94201	64	128	128	128	16
94213	256	256	256	64	4
95110	32	256	128	128	8
95145	128	128	128	64	8
95194	256	256	512	256	8
96022	32	64	128	32	4
96032	32	64	128	32	4
96192	128	128	256	256	16
96196	64	32	128	64	2
97048	256	128	256	128	4
97068	128	128	128	32	8
97144	64	128	128	64	8
97155	64	32	32	64	2
98035	128	128	256	64	4
98070	128	128	256	128	32
98097	64	64	128	32	4
98141	64	64	32	32	2
98188	128	128	256	256	8
98194	256	256	512	32	16
98254	64	64	128	64	4
99049	128	64	64	64	8
99060	64	128	128	128	8
99064	32	64	64	128	8

99079	32	32	64	256	8
99099	64	128	64	32	8
99149	128	64	128	128	8
99150	1024	256	128	256	16
99152	16	32	32	16	2
99162	256	128	128	32	8
99168	32	32	64	128	8
00017	64	64	64	128	4
00020	256	64	128	128	16
00087	128	64	256	256	32
00149	128	64	64	64	4
01062	64	128	128	32	8
01077	16	64	256	128	8
01090	64	64	64	128	4
01097	128	128	128	64	4
01104	128	128	256	256	16
01109	128	128	128	128	8
01141	256	256	512	512	8
01193	64	64	128	32	8
01212	128	256	256	256	32
01249	64	64	64	128	4
01264	128	32	64	128	8
02051	128	128	128	256	32
02064	64	64	256	128	16
02067	128	128	256	256	32
02147	32	32	64	128	8
02148	128	64	128	16	2
02170	32	32	16	32	2
02205	256	256	128	128	8
02254	128	128	128	64	4
02263	64	64	256	512	8
03072	256	128	128	128	4
03084	32	64	128	256	32
03240	128	64	256	512	16
03243	64	32	256	128	8
03282	128	128	256	256	32
04021	64	64	256	512	32
04077	128	64	256	32	8
04092	8	16	4	4	2
04140	128	128	256	64	4
04143	64	64	128	128	16
04260	128	64	128	128	8
05043	128	128	256	256	8

05075	64	128	256	128	8
05125	64	128	128	128	8
05132	64	64	128	256	16
05255	64	256	128	128	8
05300	32	32	128	64	8
06012	16	64	32	64	4
06020	64	128	256	128	32
06037	32	128	128	16	16
06052	32	16	32	16	2
06076	64	64	256	512	8
06121	32	64	128	64	16
06135	64	128	64	128	8
06244	16	32	128	32	8
06461	64	128	128	128	8

Tabelle 18: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146

Stuten-Nr.	IgG4/7 5.Monat	IgG4/7 7.Monat	IgG4/7 9.Monat	IgG4/7 Geburt	IgG4/7 1.LW	IgG4/7 3.LM
87281	95	102	96	96	71	29
91577	105	103	89	100	61	2
91588	137	121	133	152	127	45
91648	106	83	103	109	112	44
92768	75	63	69	83	50	9
92799	159	161	153	163	141	91
93060	162	182	173	174	58	2
93166	101	86	66	108	42	-22
93172	67	64	58	65	59	14
94017	140	139	137	144	121	17
95048	117	100	116	134	104	15
95060	124	122	106	131	84	13
95114	101	92	82	99	78	20
95216	113	114	115	125	73	75
96094	133	136	127	140	111	34
96139	120	116	107	134	108	18
96173	156	146	144	150	154	36
96181	140	139	138	137	124	63
96194	116	126	122	129	137	33
96197	87	76	90	86	55	12
96199	140	131	136	135	140	74
96209	52	48	52	65	33	12

97002	86	79	71	89	69	15
97044	122	145	125	132	121	45
97062	104	94	95	101	100	41
97135	152	132	147	129	137	64
97153	73	53	62	80	71	12
98061	134	126	121	135	56	10
98096	130	129	130	135	141	20
98142	157	152	149	153	155	94
98151	133	104	118	126	129	25
98205	148	124	137	134	148	56
98240	125	118	125	132	111	27
98253	106	95	99	104	99	26
99014	112	106	84	101	101	19
99040	106	99	118	111	100	34
99052	109	136	132	127	113	24
99119	117	105	104	115	128	25
99124	130	131	143	144	142	55
99137	175	155	168	170	185	112
99142	89	76	69	88	65	-21
99167	135	129	123	152	121	41
99170	67	64	54	73	57	-30
99173	146	136	129	155	155	37
99178	104	116	110	110	109	41
00002	118	116	111	119	112	68
00010	175	161	162	158	158	107
00021	111	105	108	115	113	38
00034	67	157	81	84	36	-20
00042	170	163	159	183	155	67
00051	96	73	67	97	91	35
00073	84	65	93	80	78	14
00081	183	190	178	205	155	25
00082	134	122	116	173	161	32
00129	153	150	162	145	154	69
00138	99	114	107	109	117	10
00167	74	69	73	96	85	14
00172	133	126	119	138	143	62
00174	96	99	106	112	102	23
00195	55	52	82	113	101	20
01022	102	112	129	121	126	20
01039	147	144	143	147	146	112
01051	135	142	139	136	129	49
01071	103	97	93	105	80	13
01099	170	164	145	167	45	5

01103	215	218	213	227	230	140
01106	133	132	132	142	118	23
01112	191	200	182	200	190	81
01140	196	205	200	200	192	111
01147	145	97	126	126	160	38
01162	156	137	145	140	142	77
01167	147	139	135	172	23	10
01191	135	122	108	148	141	18
01227	137	127	161	175	188	45
01233	135	134	139	138	137	83
01246	107	100	97	93	114	30
01268	99	86	101	119	94	20
02001	85	99	92	78	98	13
02047	112	116	116	116	93	28
02048	136	136	136	145	120	46
02055	131	69	142	140	140	124
02100	149	149	142	318	141	61
02145	141	158	154	163	154	68
02158	74	91	68	94	105	-21
02164	102	114	113	125	151	43
02200	139	138	148	170	110	18
02215	117	130	108	130	140	32
02221	113	109	113	118	111	79
02271	104	84	76	85	72	17
02297	133	126	142	161	142	35
03052	122	103	138	134	169	55
03063	161	146	155	153	153	99
03100	134	127	128	120	134	34
03103	118	118	118	123	139	63
03118	138	140	123	147	151	76
03154	132	126	111	128	138	13
03201	114	113	99	117	126	41
03244	143	143	145	144	142	63
03290	111	123	124	130	128	40
04003	78	94	105	128	101	47
04034	129	133	132	129	139	39
04044	122	128	131	130	139	83
04053	82	66	55	79	75	23
04074	195	187	195	193	192	67
04090	141	144	172	167	170	83
04094	86	84	98	100	106	33
04116	159	152	146	163	145	50
04129	93	74	91	108	71	8

04232	108	100	89	119	109	27
04336	111	113	108	117	104	29
04338	102	117	120	113	129	55
04340	114	122	128	127	132	48
05020	92	113	101	138	108	23
05028	94	136	132	124	119	20
05068	77	69	63	71	58	20
05182	51	76	63	64	50	9
05272	123	115	152	145	168	67
05337	128	103	92	108	44	1
05409	62	134	137	132	107	33
06001	192	239	257	268	197	69
06018	101	82	92	118	99	32
06026	57	105	91	88	98	18
06034	104	130	132	150	155	81
06045	146	144	159	162	200	64
06057	151	106	132	135	178	39
06062	59	38	67	66	92	6
06063	84	75	73	87	76	21
06073	49	79	77	69	88	9
06079	121	107	113	123	133	75
06084	155	158	169	170	176	64
06096	82	75	123	116	82	15
06157	97	103	93	117	87	29
06185	99	81	95	134	138	29
06193	153	142	160	158	158	72
06204	127	154	167	170	155	51
06268	45	68	66	73	77	30
06271	56	44	72	92	85	24
06292	80	118	122	125	108	29
06316	43	37	48	72	84	11
06318	122	170	155	185	165	62
06374	69	107	75	99	89	15
070048	70	104	102	109	114	46
070198	48	84	55	81	75	21
E 07	151	158	170	181	161	41
E08	122	105	102	52	123	26
E09	148	139	142	153	162	48

Tabelle 19: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA, DPS-Gruppe, n=106

Stuten-Nr.	IgG4/7 5.Monat	IgG4/7 8.Monat	IgG4/7 Geburt	IgG4/7 1.LW	IgG4/7 3.LM
88306	115	116	125	83	7
88316	107	91	112	60	-25
88447	63	71	78	65	8
91600	97	106	123	99	22
91644	78	89	106	94	16
92756	142	135	142	153	40
94006	214	205	210	206	64
95044	72	78	91	77	18
95063	72	66	84	76	-2
95066	186	182	199	184	-11
95081	120	110	121	132	82
95160	129	129	130	115	28
95221	61	50	85	73	17
96002	97	96	100	100	27
96102	130	122	118	98	13
96105	120	128	130	125	58
96125	115	103	118	110	49
96202	32	59	42	72	-20
97037	108	116	107	101	29
97187	135	147	179	169	51
97220	176	174	172	181	162
97229	176	172	172	146	34
98037	102	115	112	84	16
98128	145	136	149	164	23
98166	162	174	171	177	87
98242	145	139	147	152	60
99073	131	134	143	120	48
99123	123	125	128	119	43
00011	177	176	177	133	46
00125	158	159	159	158	123
01037	126	135	129	126	80
01068	134	132	135	137	50
01132	120	126	135	131	34
01138	134	158	157	170	66
01170	77	108	119	90	42
01218	150	158	162	146	42
01250	124	139	201	169	54
01252	109	117	125	128	48
02023	127	135	141	135	83

02063	166	150	173	167	134
02125	104	115	122	126	73
02140	142	135	146	142	104
02212	141	145	152	152	80
02250	142	152	151	177	114
02275	74	81	97	65	16
03041	136	139	143	132	59
03076	158	168	207	176	90
03126	101	111	120	107	41
03128	113	126	137	114	40
03138	153	155	187	188	93
03176	135	147	154	149	58
03212	155	150	163	145	71
03215	162	205	212	209	67
03219	101	117	114	131	64
03251	109	118	122	119	50
03270	171	184	190	117	9
03298	92	123	128	79	-2
04018	117	131	189	184	56
04037	167	165	173	126	13
04039	89	135	153	160	78
04042	138	141	143	142	126
04062	103	161	179	170	44
04131	67	100	112	83	13
04152	88	121	136	161	58
04170	148	144	153	156	76
04237	74	109	123	130	58
04291	158	161	159	179	32
04305	94	110	126	128	36
04310	101	109	118	96	20
04312	124	122	132	143	74
05004	49	79	126	109	13
05037	98	99	120	122	58
05104	74	120	122	95	7
05131	106	133	146	150	51
05135	94	125	119	147	34
05153	107	132	149	156	108
05169	102	122	125	151	52
05198	45	90	86	92	6
05218	92	102	109	112	47
05243	140	163	177	198	58
05266	86	91	119	108	47
05279	126	120	134	126	54

05285	97	104	134	128	39
05298	58	88	99	104	7
05323	110	120	126	123	78
05355	121	178	183	173	59
05402	60	101	132	143	32
06004	114	134	142	135	36
06017	94	109	116	117	11
06027	114	114	133	149	67
06029	88	138	144	146	53
06077	35	80	86	97	19
06124	88	114	121	122	42
06263	90	102	111	113	51
06296	133	129	121	134	27
06299	55	92	102	52	2
070002	78	91	109	93	17
070033	66	94	109	92	21
070057	69	73	124	140	40
070060	44	57	56	77	12
070080	79	107	144	119	24
070084	50	92	143	154	19
070176	64	103	86	89	15
070186	57	63	82	95	11
070627	127	130	157	181	34
E05	153	142	142	127	61

Tabelle 20: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA, PPS-Gruppe, n=83

Stuten-Nr.	IgG4/7 5.Monat	IgG4/7 8.Monat	IgG4/7 Geburt	IgG4/7 1.LW	IgG4/7 3.LM
91533	82	65	85	66	7
91643	102	105	104	105	50
92797	110	98	108	96	22
93103	154	153	153	166	78
94114	134	120	128	125	37
94201	110	103	109	111	59
94213	187	191	199	126	22
95110	150	150	145	143	91
95145	183	180	173	176	112
95194	101	99	116	122	55
96032	132	142	147	132	21
96192	80	76	78	75	28

96196	147	140	143	136	31
97048	114	111	118	109	18
97068	137	132	130	106	50
97144	131	128	136	131	89
97155	131	109	127	124	16
98035	193	187	202	191	72
98070	165	164	171	198	113
98097	109	116	122	78	21
98141	205	177	192	202	59
98188	141	145	152	144	68
98194	110	102	105	60	55
98254	68	86	150	66	9
99049	141	131	137	136	58
99060	92	82	113	95	14
99064	84	116	98	134	23
99079	156	87	139	136	37
99099	132	114	128	106	24
99149	167	151	167	162	61
99150	149	156	165	146	73
99152	139	132	147	133	43
99162	208	187	197	139	21
99168	173	151	170	155	118
00017	150	146	147	131	47
00020	163	157	165	150	76
00087	138	131	142	136	61
00149	112	117	109	83	21
01062	145	192	187	184	137
01077	114	124	132	132	30
01090	101	97	112	77	18
01097	19	133	119	153	47
01104	143	139	147	153	24
01109	117	117	125	109	26
01141	137	120	137	137	41
01193	152	141	149	149	62
01212	145	135	160	158	54
01249	163	155	168	148	54
01264	126	140	145	152	84
02051	241	236	243	266	137
02064	149	193	174	163	25
02067	168	167	187	196	98
02147	123	121	137	141	102
02148	137	146	164	76	19
02170	138	140	143	142	52

02205	143	136	146	121	56
02254	215	211	234	194	76
02263	162	153	137	145	70
03072	165	159	170	145	33
03084	197	198	203	198	165
03240	206	193	206	196	138
03243	144	130	141	130	52
03282	179	204	200	208	90
04021	138	120	132	143	63
04092	103	112	121	124	12
04140	150	143	149	133	55
04143	141	143	157	140	96
04260	146	144	149	139	56
05043	150	149	151	150	73
05075	130	143	146	136	59
05125	140	132	150	150	52
05132	170	157	172	168	135
05255	111	130	143	148	54
05300	80	92	123	125	40
06012	55	73	84	111	22
06020	96	97	115	110	28
06037	103	103	122	135	29
06052	102	110	129	101	7
06076	81	92	225	109	26
06121	55	77	102	127	32
06135	136	149	158	137	50
06244	121	139	151	150	66
06461	148	152	145	152	79

Tabelle 21: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146

Stuten-Nr.	IgG1 5.Monat	IgG1 7.Monat	IgG1 9.Monat	IgG1 Geburt	IgG1 1.LW	IgG1 3.LM
87281	89	97	85	89	57	17
91577	93	99	82	110	31	-1
91588	127	111	118	150	118	10
91648	83	54	79	91	80	18
92768	87	62	64	91	58	15
92799	209	211	207	213	207	68
93060	171	172	169	172	30	2
93166	98	79	77	105	54	9

93172	50	46	33	45	45	0
94017	121	94	102	122	87	5
95048	115	93	112	125	90	6
95060	163	162	119	166	78	6
95114	101	74	62	91	47	7
95216	86	94	102	113	50	47
96094	163	160	147	160	113	22
96139	136	128	109	150	108	13
96173	188	188	187	187	175	21
96181	175	177	178	176	157	46
96194	126	135	127	146	137	29
96197	83	79	81	89	58	18
96199	171	157	171	171	165	95
96209	39	34	49	60	21	9
97002	87	74	60	88	56	10
97044	96	121	99	108	88	25
97062	104	92	95	100	105	31
97135	163	142	166	148	151	68
97153	77	46	58	73	59	3
98061	168	148	121	158	45	2
98096	141	144	134	149	154	9
98142	202	198	194	199	201	92
98151	98	74	91	100	118	5
98205	138	112	128	138	159	26
98240	145	148	139	153	118	29
98253	120	106	112	106	102	20
99014	119	113	80	106	85	8
99040	102	98	131	108	84	24
99052	116	154	145	139	113	16
99119	121	112	111	117	129	13
99124	145	148	154	153	145	47
99137	188	160	175	190	204	86
99142	103	92	92	88	76	12
99167	127	122	118	154	99	19
99170	78	83	72	95	67	-9
99173	159	156	141	176	176	27
99178	113	125	115	124	113	18
00002	130	130	129	130	120	53
00010	214	205	211	194	186	99
00021	112	95	116	121	107	15
00034	91	132	97	95	51	0
00042	191	193	182	160	163	26
00051	115	82	70	123	97	30

00073	85	53	75	81	64	15
00081	206	232	229	266	171	-5
00082	134	123	118	197	174	15
00129	188	177	206	178	182	42
00138	102	130	124	138	128	3
00167	80	69	70	124	81	9
00172	125	122	122	159	159	35
00174	96	109	115	128	109	10
00195	54	49	69	99	81	12
01022	108	127	148	140	146	13
01039	211	202	186	209	201	112
01051	176	210	198	187	168	16
01071	102	99	104	115	97	24
01099	191	196	173	199	21	2
01103	211	198	216	210	209	127
01106	123	131	116	135	95	8
01112	258	234	247	246	227	74
01140	169	185	190	190	173	58
01147	141	79	106	116	169	23
01162	191	173	181	186	183	53
01167	167	138	198	179	7	3
01191	127	118	103	146	135	6
01227	115	101	139	154	170	22
01233	157	159	160	176	159	66
01246	120	117	100	114	135	25
01268	75	68	112	138	58	18
02001	84	118	93	68	95	6
02047	156	155	148	152	111	22
02048	147	143	146	148	127	22
02055	139	158	164	73	150	119
02100	147	157	150	375	155	39
02145	155	156	161	172	165	50
02158	88	99	78	111	108	-4
02164	103	115	114	138	172	24
02200	157	165	170	189	102	13
02215	109	128	91	139	150	16
02221	148	135	148	146	161	91
02271	79	67	62	72	53	10
02297	138	139	171	169	158	29
03052	125	72	143	138	131	21
03063	210	207	218	226	224	97
03100	135	129	136	127	140	15
03103	139	151	144	156	171	48

03118	153	146	144	156	177	44
03154	133	132	116	131	141	17
03201	103	104	88	116	132	24
03244	137	131	132	141	134	46
03290	139	165	159	162	155	26
04003	67	88	95	136	101	28
04034	202	201	203	218	208	18
04044	160	179	173	173	184	88
04053	54	40	35	48	49	13
04074	168	174	181	179	154	29
04090	151	150	175	183	188	79
04094	66	47	111	108	98	9
04116	171	156	156	171	142	33
04129	108	56	101	143	71	4
04232	119	96	82	132	113	14
04336	134	139	131	113	120	22
04338	69	108	114	88	136	16
04340	129	142	143	149	159	36
05020	80	93	84	130	95	14
05028	73	152	148	135	117	13
05068	47	47	40	50	37	6
05182	33	62	44	51	32	3
05272	109	88	139	140	185	42
05337	103	76	70	92	23	-2
05409	57	139	141	129	97	25
06001	170	218	238	267	169	32
06018	86	65	93	122	71	16
06026	39	82	77	72	90	5
06034	147	189	191	209	224	82
06045	122	110	142	137	185	26
06057	116	90	103	146	163	24
06062	41	25	48	59	81	-2
06063	70	71	64	86	62	13
06073	24	62	57	95	59	0,61
06079	123	119	130	135	150	45
06084	132	163	150	175	173	25
06096	62	55	130	119	55	5
06157	94	102	81	109	74	17
06185	95	81	100	133	125	17
06193	138	117	128	137	143	27
06204	116	99	157	169	165	35
06268	50	72	68	71	74	22
06271	48	38	61	95	79	25

06292	50	115	114	131	85	8
06316	27	19	36	81	84	1
06318	94	185	174	210	189	26
06374	61	107	95	98	77	7
070048	57	102	100	106	115	28
070198	39	72	39	78	65	14
E 07	135	185	175	204	153	35
E08	119	95	99	113	121	49
E09	134	140	139	145	152	18

Tabelle 22: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, DPS-Gruppe, n=106

Stuten-Nr.	IgG1 5.Monat	IgG1 8.Monat	IgG1 Geburt	IgG1 1.LW	IgG1 3.LM
88306	123	117	135	76	4
88316	116	116	135	65	8
88447	47	56	63	40	1
91600	95	103	136	81	10
91644	80	93	109	96	12
92756	144	131	143	153	34
94006	242	227	246	220	54
95044	78	81	100	70	11
95063	80	38	92	76	27
95066	78	194	212	179	11
95081	117	113	127	133	59
95160	147	157	150	115	12
95221	52	42	73	62	12
96002	88	90	101	108	17
96102	186	172	147	86	6
96105	140	164	165	158	45
96125	130	100	134	114	28
96202	38	49	53	69	12
97037	126	138	127	122	25
97187	112	143	182	157	22
97220	177	163	176	171	164
97229	166	158	171	134	21
98037	102	125	122	67	5
98128	152	147	157	174	36
98166	164	179	180	177	81
98242	174	165	180	177	47
99073	181	182	193	166	31

99123	146	152	162	149	39
00011	201	197	205	158	30
00125	188	195	200	196	142
01037	166	167	161	157	82
01068	250	246	265	244	48
01132	118	125	139	135	20
01138	149	166	158	127	27
01170	62	102	117	85	28
01218	152	157	162	145	47
01250	85	107	160	144	34
01252	103	122	129	139	34
02023	148	160	164	152	70
02063	183	180	202	200	135
02125	121	145	158	146	24
02140	160	167	174	170	108
02212	167	184	190	199	70
02250	144	156	163	174	111
02275	76	79	99	65	18
03041	173	172	181	161	38
03076	160	164	229	207	61
03126	98	117	133	112	22
03128	114	131	158	118	23
03138	168	184	217	240	66
03176	220	246	242	262	50
03212	163	161	177	159	48
03215	150	241	255	251	28
03219	123	136	148	154	41
03251	106	120	127	127	21
03270	206	223	239	125	-5
03298	73	116	128	64	-18
04018	93	108	178	163	28
04037	142	141	143	88	3
04039	70	135	168	169	39
04042	159	164	172	162	136
04062	141	145	166	155	32
04131	85	122	130	93	8
04152	76	130	140	173	41
04170	176	189	228	245	48
04237	69	123	140	138	35
04291	88	131	137	168	20
04305	86	107	132	136	22
04310	101	116	142	90	11
04312	127	142	153	183	79

05004	39	82	144	120	3
05037	103	111	144	145	37
05104	64	122	133	96	7
05131	114	122	135	134	38
05135	63	97	91	107	18
05153	80	151	176	192	80
05169	96	145	153	184	35
05198	46	100	99	97	5
05218	87	105	126	120	30
05243	110	151	162	182	31
05266	71	88	143	125	26
05279	134	130	151	139	33
05285	100	160	188	192	25
05298	52	91	108	106	9
05323	103	122	131	130	59
05355	125	199	215	196	33
05402	65	118	153	183	23
06004	93	141	160	131	22
06017	74	89	102	101	3
06027	138	141	171	194	58
06029	60	133	136	135	25
06077	28	83	92	91	13
06124	96	147	160	145	34
06263	90	119	132	143	54
06296	134	141	125	151	12
06299	41	86	87	36	-4
070002	66	88	128	106	4
070033	57	93	115	96	10
070057	57	71	169	213	21
070060	41	48	53	58	10
070080	62	106	148	116	15
070084	43	89	150	176	8
070176	45	87	68	67	9
070186	49	60	85	102	14
070627	96	108	143	184	20
E05	154	151	150	127	41

Tabelle 23: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, PPS-Gruppe, n=83

Stuten-Nr.	IgG1 5.Monat	IgG1 8.Monat	IgG1 Geburt	IgG1 1.LW	IgG1 3.LM
91533	80	53	81	56	3
91643	108	123	125	107	31
92797	84	90	102	84	10
93103	165	167	163	169	56
94114	195	171	192	181	32
94201	126	116	144	98	33
94213	240	231	250	125	-1
95110	161	179	167	102	46
95145	157	154	162	133	20
95194	161	148	183	180	43
96032	116	148	141	117	17
96192	62	48	57	46	19
96196	154	135	144	123	17
97048	123	121	130	105	5
97068	161	137	147	97	18
97144	208	180	203	195	56
97155	178	139	155	138	6
98035	194	188	194	181	49
98070	170	160	165	166	100
98097	141	130	150	85	12
98141	185	157	175	182	43
98188	159	156	163	151	45
98194	109	93	96	32	48
98254	51	66	114	44	4
99049	183	169	188	180	32
99060	71	94	113	78	0
99064	80	82	97	118	6
99079	137	79	140	161	21
99099	178	148	192	101	13
99149	163	157	172	164	34
99150	163	173	188	157	50
99152	150	126	155	118	18
99162	239	218	234	140	-8
99168	190	184	194	190	104
00017	262	234	245	201	33
00020	224	214	223	218	88
00087	191	170	169	168	20

00149	135	137	143	60	5
01062	163	170	164	134	34
01077	110	116	152	99	19
01090	103	94	113	62	8
01097	8	144	125	177	30
01104	148	137	155	150	33
01109	117	110	133	108	14
01141	141	131	152	146	28
01193	143	134	146	147	43
01212	150	139	170	184	38
01249	159	146	170	148	20
01264	130	134	137	145	63
02051	212	207	228	257	106
02064	178	222	213	180	24
02067	206	199	230	242	79
02147	135	124	66	144	95
02148	172	179	219	72	19
02170	165	167	180	174	34
02205	145	149	166	127	33
02254	271	277	291	220	39
02263	150	152	142	147	50
03072	152	155	168	124	12
03084	200	199	205	195	168
03240	192	178	185	175	84
03243	187	164	186	170	28
03282	214	217	227	218	61
04021	126	107	123	142	42
04092	72	90	101	115	2
04140	141	133	144	122	42
04143	217	201	233	240	147
04260	152	159	161	161	40
05043	153	178	179	179	57
05075	144	164	169	154	42
05125	134	128	164	174	34
05132	166	171	189	196	137
05255	144	204	218	239	49
05300	88	97	156	152	24
06012	38	58	74	94	14
06020	67	61	100	81	10
06037	100	111	135	150	14
06052	100	116	148	101	2
06076	81	97	245	117	18
06121	45	71	113	150	18

06135	121	149	159	120	17
06244	141	201	230	246	55
06461	170	177	183	182	81

Tabelle 24: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146

Stuten-Nr.	IgG3/5 5.Monat	IgG3/5 7.Monat	IgG3/5 9.Monat	IgG3/5 Geburt	IgG3/5 1.LW	IgG3/5 3.LM
87281	94	96	89	91	59	17
91577	88	96	78	101	35	0
91588	133	123	113	145	113	11
91648	75	50	68	77	81	21
92768	71	54	57	77	40	9
92799	182	183	179	185	161	50
93060	175	180	173	179	41	2
93166	97	82	76	104	52	7
93172	46	41	49	35	43	6
94017	123	126	127	142	111	28
95048	123	88	101	125	90	2
95060	145	139	108	146	67	3
95114	111	107	97	103	48	3
95216	104	105	105	119	52	64
96094	150	152	137	150	108	22
96139	135	127	102	143	114	14
96173	186	178	174	174	172	17
96181	140	137	141	142	129	36
96194	129	136	134	144	151	29
96197	82	74	74	83	49	16
96199	161	149	164	163	164	82
96209	37	33	42	53	12	-2
97002	83	78	62	90	57	10
97044	93	105	92	105	94	27
97062	107	100	103	106	111	30
97135	167	153	165	154	160	67
97153	68	46	55	67	55	3
98061	145	127	126	147	44	2
98096	146	162	141	157	174	10
98142	163	161	163	165	166	68
98151	103	82	94	102	122	8
98205	133	115	133	133	147	31
98240	145	137	137	149	126	22

98253	123	108	116	116	105	20
99014	109	105	76	98	92	10
99040	109	99	123	111	101	28
99052	124	159	149	139	114	14
99119	248	210	215	217	249	22
99124	155	147	158	160	150	45
99137	180	160	167	186	186	99
99142	104	91	83	80	69	9
99167	117	113	111	139	92	18
99170	65	74	67	80	60	-15
99173	81	169	162	188	186	29
99178	121	136	129	134	120	16
00002	131	128	121	117	119	51
00010	217	200	204	191	177	99
00021	124	118	129	133	115	17
00034	78	125	86	92	41	-2
00042	165	175	146	188	150	65
00051	97	81	73	105	91	26
00073	81	49	84	76	63	10
00081	198	211	197	242	155	9
00082	165	149	137	237	197	18
00129	193	181	206	172	171	35
00138	109	132	131	138	149	3
00167	78	60	63	118	91	8
00172	129	118	117	142	148	34
00174	97	108	111	130	108	12
00195	52	38	66	101	85	12
01022	92	107	133	123	134	7
01039	176	174	173	179	178	98
01051	170	198	182	172	173	16
01071	110	100	103	123	99	13
01099	166	163	153	168	24	0
01103	201	197	204	207	218	128
01106	139	147	126	150	109	1
01112	177	171	170	189	195	55
01140	193	203	202	207	199	36
01147	149	84	100	125	169	20
01162	168	154	166	159	164	51
01167	213	180	191	237	14	11
01191	117	104	100	134	126	7
01227	127	110	157	162	164	26
01233	275	283	292	301	309	125
01246	219	236	194	220	253	50

01268	97	80	118	153	69	14
02001	86	116	100	74	109	5
02047	143	142	139	145	107	18
02048	157	153	148	159	131	24
02055	147	168	154	160	154	126
02100	159	166	164	296	164	45
02145	147	172	162	172	161	75
02158	81	95	75	99	108	-13
02164	113	133	123	151	205	24
02200	137	142	153	160	109	18
02215	133	153	112	163	174	19
02221	135	123	117	126	134	79
02271	103	89	77	85	64	11
02297	138	140	168	174	160	27
03052	129	76	149	133	171	53
03063	189	174	178	183	187	79
03100	145	151	160	150	161	20
03103	140	139	149	154	173	54
03118	171	172	161	176	194	49
03154	142	136	113	137	147	14
03201	129	126	113	141	157	36
03244	178	170	172	172	171	49
03290	121	149	137	143	147	21
04003	80	99	103	158	118	31
04034	190	180	183	187	183	20
04044	156	168	169	168	181	82
04053	58	41	30	51	52	14
04074	183	165	172	180	168	7
04090	155	157	185	174	184	84
04094	84	75	113	110	114	11
04116	175	154	153	172	151	28
04129	99	65	99	116	66	7
04232	113	91	77	124	108	14
04336	131	131	137	139	136	21
04338	85	127	138	109	160	10
04340	134	149	147	154	162	37
05020	89	101	92	143	102	14
05028	71	152	146	127	122	9
05068	53	49	47	58	42	8
05182	29	52	37	56	36	5
05272	119	93	144	143	175	49
05337	124	88	79	97	24	-3
05409	53	150	129	131	87	23

06001	158	230	229	271	170	38
06018	90	64	87	122	85	22
06026	27	60	58	64	82	9
06034	127	174	175	188	188	77
06045	122	108	142	147	202	-3
06057	144	106	120	134	167	21
06062	46	31	54	64	97	-3
06063	70	58	56	80	66	14
06073	26	70	64	55	82	2
06079	126	125	133	144	156	1
06084	148	152	172	174	180	27
06096	59	58	112	118	61	11
06157	98	111	93	115	82	21
06185	119	101	133	187	177	23
06193	142	137	154	154	160	36
06204	120	139	155	158	167	34
06268	41	63	66	77	74	19
06271	50	41	69	96	84	23
06292	47	101	101	119	82	8
06316	33	22	40	82	88	5
06318	89	160	163	196	190	30
06374	70	110	68	95	81	19
070048	58	100	94	110	112	25
070198	39	71	38	71	59	11
E 07	138	156	165	201	155	22
E08	142	116	105	127	142	24
E09	135	141	145	162	145	18

Tabelle 25: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA, DPS-Gruppe, n=106

Stuten-Nr.	IgG3/5 5.Monat	IgG3/5 8.Monat	IgG3/5 Geburt	IgG3/5 1.LW	IgG3/5 3.LM
88306	122	118	138	84	6
88316	119	111	134	63	4
88447	46	57	66	41	1
91600	93	100	129	79	13
91644	78	96	114	93	10
92756	178	165	181	190	57
94006	241	232	247	224	61
95044	84	83	111	86	14
95063	78	38	93	75	21

95066	110	194	216	192	10
95081	243	210	242	251	111
95160	138	143	138	112	11
95221	57	42	78	70	10
96002	94	90	102	107	15
96102	167	152	145	91	4
96105	138	165	162	156	49
96125	117	97	110	101	30
96202	36	44	49	65	7
97037	122	137	119	126	22
97187	124	131	188	176	22
97220	172	172	172	181	163
97229	168	153	164	124	26
98037	106	117	116	71	9
98128	172	149	168	182	35
98166	143	155	156	163	79
98242	165	167	173	182	37
99073	171	176	187	154	30
99123	146	148	164	149	38
00011	184	176	185	130	26
00125	165	170	175	170	124
01037	151	152	153	144	75
01068	196	196	211	193	41
01132	135	147	151	152	25
01138	134	155	140	148	29
01170	64	118	128	75	32
01218	164	176	170	157	39
01250	111	112	164	139	36
01252	155	133	146	156	30
02023	138	143	148	138	62
02063	196	195	209	197	153
02125	127	144	155	166	27
02140	153	160	166	167	102
02212	139	148	159	170	60
02250	137	140	154	166	106
02275	65	70	95	61	13
03041	151	166	171	154	39
03076	156	164	215	196	62
03126	102	111	129	112	25
03128	116	146	163	139	17
03138	144	164	207	211	59
03176	191	192	214	212	48
03212	192	196	212	182	45

03215	162	212	190	210	33
03219	124	131	147	147	35
03251	103	113	122	121	25
03270	183	197	219	124	10
03298	87	117	115	55	0
04018	102	109	175	173	32
04037	195	174	193	130	7
04039	74	144	173	186	42
04042	149	153	153	154	127
04062	104	144	169	159	32
04131	69	122	123	95	8
04152	85	121	128	159	43
04170	199	200	227	234	46
04237	61	106	119	124	31
04291	171	159	177	195	21
04305	86	104	128	132	21
04310	97	106	131	88	9
04312	135	145	157	178	60
05004	42	85	140	131	5
05037	86	105	131	139	30
05104	62	122	136	99	6
05131	111	151	176	175	30
05135	86	118	115	146	17
05153	89	131	149	159	81
05169	94	141	153	185	38
05198	54	115	112	118	4
05218	90	105	124	126	30
05243	145	173	187	208	37
05266	83	91	132	126	32
05279	133	126	145	132	39
05285	96	160	175	183	28
05298	45	80	98	103	3
05323	111	123	132	132	58
05355	135	211	246	217	38
05402	67	134	157	178	24
06004	100	124	138	121	20
06017	97	108	121	123	5
06027	133	145	177	199	61
06029	68	131	135	126	29
06077	27	75	81	88	11
06124	90	133	149	143	43
06263	95	115	130	141	52
06296	139	135	124	148	20

06299	44	81	102	51	1
070002	81	91	123	104	10
070033	54	89	106	90	10
070057	72	70	150	183	21
070060	38	46	52	65	8
070080	72	111	178	133	13
070084	48	92	166	188	7
070176	55	104	76	79	14
070186	52	60	84	94	14
070627	119	144	173	200	20
E05	165	161	165	140	43

Tabelle 26: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA, PPS-Gruppe, n=83

Stuten-Nr.	IgG3/5 5.Monat	IgG3/5 8.Monat	IgG3/5 Geburt	IgG3/5 1.LW	IgG3/5 3.LM
91533	86	67	87	67	2
91643	106	120	122	107	31
92797	74	80	102	83	8
93103	175	176	172	182	55
94114	183	172	174	171	40
94201	135	118	135	107	29
94213	201	199	216	121	11
95110	146	155	146	99	68
95145	157	124	127	113	-12
95194	137	134	157	163	40
96032	128	147	156	126	18
96192	64	54	60	52	13
96196	148	148	141	131	17
97048	128	125	132	111	4
97068	157	150	158	107	16
97144	188	177	180	175	56
97155	131	92	101	99	4
98035	209	192	211	197	27
98070	141	151	160	165	90
98097	155	141	159	100	14
98141	186	174	189	207	21
98188	165	158	165	144	46
98194	129	114	124	37	63
98254	59	74	119	46	5

99049	150	142	152	152	28
99060	77	77	104	86	4
99064	88	96	109	132	13
99079	155	80	146	163	19
99099	159	134	162	116	7
99149	154	136	146	142	32
99150	155	166	174	153	50
99152	130	124	141	116	16
99162	227	201	216	140	5
99168	151	149	154	151	99
00017	209	190	221	183	30
00020	201	192	199	196	88
00087	178	168	167	172	21
00149	130	122	125	64	4
01062	161	160	175	142	12
01077	109	113	109	96	17
01090	115	98	122	70	12
01097	9	154	169	179	30
01104	155	147	154	163	23
01109	130	121	142	138	9
01141	73	65	125	168	27
01193	176	162	180	178	53
01212	139	132	153	151	45
01249	144	125	148	123	7
01264	156	181	182	201	68
02051	222	226	243	267	109
02064	212	228	223	225	27
02067	190	181	219	225	90
02147	137	124	114	144	87
02148	158	168	198	76	17
02170	141	140	149	149	29
02205	283	268	308	246	63
02254	239	230	258	218	46
02263	144	135	137	151	50
03072	173	164	179	137	13
03084	183	190	187	183	161
03240	193	188	207	197	70
03243	171	146	161	144	31
03282	221	236	230	217	79
04021	122	98	120	139	41
04092	87	98	109	125	8
04140	187	175	185	160	40
04143	175	155	208	187	120

04260	139	143	155	149	40
05043	311	317	319	328	115
05075	141	157	171	143	36
05125	126	134	149	152	34
05132	155	147	172	178	127
05255	121	172	192	207	42
05300	77	87	155	151	24
06012	39	54	71	94	16
06020	80	67	100	81	6
06037	65	78	110	138	13
06052	110	128	149	110	3
06076	87	102	203	120	21
06121	42	60	88	120	15
06135	132	146	152	119	22
06244	129	163	190	209	54
06461	165	175	175	177	78

Tabelle 27: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146

Stuten -Nr.	IgG3/5: IgG1 5.Mo	IgG3/5: IgG1 7.Mo	IgG3/5: IgG1 9.Mo	IgG3/5: IgG1 Geburt	IgG3/5: IgG1 1.LW	IgG3/5: IgG1 3.LM
87281	1,06	0,99	1,05	1,02	1,04	1,01
91577	0,94	0,97	0,96	0,92	1,12	-0,41
91588	1,05	1,11	0,96	0,96	0,96	1,12
91648	0,9	0,93	0,85	0,85	0,99	1,2
92768	0,81	0,87	0,89	0,84	0,69	0,62
92799	0,87	0,87	0,86	0,87	0,78	0,73
93060	1,03	1,05	1,03	1,04	1,35	0,93
93166	0,99	1,04	0,98	0,99	0,96	0,75
93172	0,91	0,88	1,49	0,78	0,95	0
94017	1,01	1,35	1,24	1,16	1,29	5,28
95048	1,06	0,95	0,9	1,01	1,01	0,38
95060	0,89	0,86	0,9	0,88	0,87	0,46
95114	1,1	1,44	1,58	1,14	1,03	0,5
95216	1,2	1,11	1,04	1,05	1,04	1,37
96094	0,92	0,95	0,93	0,94	0,96	1,04
96139	1	0,99	0,94	0,95	1,05	1,06
96173	0,99	0,94	0,93	0,93	0,98	0,81
96181	0,8	0,77	0,79	0,81	0,82	0,77
96194	1,03	1,01	1,05	0,99	1,1	0,99
96197	0,99	0,94	0,92	0,93	0,85	0,91

96199	0,94	0,95	0,96	0,95	0,99	0,87
96209	0,94	0,96	0,87	0,88	0,57	-0,23
97002	0,95	1,04	1,03	1,02	1,01	1,02
97044	0,97	0,87	0,93	0,98	1,07	1,05
97062	1,03	1,08	1,09	1,06	1,06	0,99
97135	1,03	1,07	1	1,04	1,06	0,98
97153	0,88	1	0,94	0,93	0,93	0,8
98061	0,86	0,86	1,05	0,93	0,99	1,05
98096	1,04	1,13	1,05	1,06	1,13	1,16
98142	0,81	0,81	0,84	0,83	0,83	0,74
98151	1,05	1,1	1,03	1,02	1,03	1,63
98205	0,97	1,03	1,04	0,96	0,93	1,21
98240	1	0,92	0,99	0,98	1,07	0,78
98253	1,02	1,03	1,03	1,09	1,03	1,01
99014	0,92	0,92	0,95	0,92	1,09	1,27
99040	1,06	1,01	0,94	1,02	1,2	1,15
99052	1,07	1,03	1,03	1	1,02	0,9
99119	2,05	1,88	1,94	1,85	1,94	1,77
99124	1,06	0,99	1,02	1,05	1,04	0,96
99137	0,96	1	0,96	0,98	0,91	1,15
99142	1,01	0,98	0,89	0,91	0,91	0,69
99167	0,92	0,92	0,94	0,9	0,92	0,95
99170	0,83	0,9	0,94	0,85	0,89	1,63
99173	0,51	1,09	1,15	1,07	1,06	1,06
99178	1,07	1,09	1,12	1,08	1,06	0,89
00002	1,01	0,98	0,94	0,9	0,99	0,96
00010	1,02	0,98	0,96	0,98	0,95	1
00021	1,11	1,23	1,12	1,1	1,08	1,16
00034	0,86	0,95	0,89	0,97	0,81	-10,4
00042	0,86	0,91	0,8	1,17	0,92	2,51
00051	0,84	1	1,05	0,85	0,94	0,87
00073	0,96	0,92	1,12	0,94	1	0,68
00081	0,96	0,91	0,86	0,91	0,9	-1,74
00082	1,24	1,21	1,16	1,2	1,13	1,23
00129	1,03	1,02	1	0,97	0,94	0,84
00138	1,07	1,01	1,05	1	1,17	0,77
00167	0,98	0,87	0,9	0,95	1,12	0,89
00172	1,03	0,96	0,95	0,89	0,93	0,97
00174	1,01	0,99	0,96	1,01	0,99	1,16
00195	0,96	0,79	0,96	1,01	1,05	0,98
01022	0,85	0,84	0,9	0,88	0,92	0,53
01039	0,83	0,86	0,93	0,86	0,88	0,88
01051	0,97	0,94	0,92	0,92	1,02	1,03

01071	1,07	1,01	0,98	1,07	1,02	0,54
01099	0,87	0,83	0,89	0,85	1,15	-0,02
01103	0,95	1	0,95	0,99	1,04	1,01
01106	1,13	1,12	1,09	1,12	1,15	0,07
01112	0,69	0,73	0,69	0,77	0,86	0,74
01140	1,14	1,1	1,06	1,09	1,15	0,62
01147	1,06	1,06	0,94	1,08	1	0,87
01162	0,88	0,89	0,92	0,86	0,9	0,96
01167	1,28	1,3	0,96	1,32	2,06	3,27
01191	0,92	0,88	0,97	0,92	0,93	1,17
01227	1,1	1,08	1,13	1,05	0,96	1,18
01233	1,75	1,78	1,82	1,71	1,94	1,91
01246	1,82	2,01	1,95	1,93	1,87	2,03
01268	1,3	1,17	1,05	1,11	1,2	0,77
02001	1,02	0,98	1,08	1,09	1,14	0,71
02047	0,91	0,92	0,94	0,96	0,96	0,8
02048	1,07	1,07	1,01	1,08	1,03	1,11
02055	1,06	1,06	0,94	2,2	1,03	1,06
02100	1,08	1,06	1,09	0,79	1,06	1,16
02145	0,95	1,1	1	1	0,98	1,51
02158	0,92	0,96	0,96	0,89	1	3,21
02164	1,09	1,16	1,08	1,1	1,19	1
02200	0,87	0,86	0,9	0,85	1,06	1,45
02215	1,22	1,19	1,23	1,18	1,16	1,2
02221	0,91	0,91	0,79	0,86	0,84	0,86
02271	1,31	1,32	1,24	1,19	1,19	1,15
02297	0,99	1	0,98	1,03	1,01	0,93
03052	1,03	1,04	1,05	0,96	1,31	2,53
03063	0,9	0,84	0,82	0,81	0,83	0,82
03100	1,08	1,17	1,17	1,18	1,15	1,31
03103	1,01	0,92	1,03	0,99	1,01	1,12
03118	1,12	1,18	1,12	1,13	1,09	1,11
03154	1,07	1,03	0,98	1,04	1,04	0,81
03201	1,26	1,22	1,28	1,22	1,19	1,46
03244	1,3	1,3	1,3	1,22	1,27	1,06
03290	0,87	0,9	0,86	0,88	0,95	0,8
04003	1,2	1,13	1,08	1,17	1,17	1,08
04034	0,94	0,9	0,9	0,86	0,88	1,07
04044	0,97	0,94	0,98	0,97	0,98	0,93
04053	1,08	1,04	0,86	1,08	1,06	1,05
04074	1,09	0,94	0,95	1,01	1,09	0,23
04090	1,02	1,04	1,06	0,95	0,98	1,06
04094	1,27	1,6	1,03	1,02	1,16	1,21

04116	1,02	0,99	0,98	1,01	1,07	0,84
04129	0,92	1,16	0,99	0,81	0,91	1,64
04232	0,95	0,95	0,93	0,94	0,96	0,95
04336	0,98	0,94	1,04	1,23	1,14	0,95
04338	1,23	1,17	1,21	1,24	1,18	0,6
04340	1,04	1,05	1,03	1,04	1,02	1,02
05020	1,11	1,08	1,09	1,1	1,08	1,02
05028	0,97	1,01	0,98	0,94	1,04	0,73
05068	1,13	1,03	1,17	1,16	1,13	1,28
05182	0,86	0,85	0,83	1,1	1,11	2,02
05272	1,1	1,05	1,04	1,02	0,95	1,18
05337	1,2	1,15	1,14	1,05	1,05	1,26
05409	0,93	1,08	0,92	1,02	0,89	0,93
06001	0,93	1,06	0,96	1,02	1	1,19
06018	1,05	0,98	0,93	1	1,2	1,44
06026	0,69	0,73	0,76	0,9	0,91	1,81
06034	0,86	0,92	0,91	0,9	0,84	0,93
06045	1	0,99	1	1,08	1,09	-0,1
06057	1,25	1,17	1,16	0,92	1,02	0,86
06062	1,1	1,22	1,11	1,09	1,2	1,34
06063	0,99	0,82	0,87	0,92	1,06	1,03
06073	1,07	1,12	1,13	0,57	1,38	3
06079	1,02	1,05	1,02	1,07	1,04	0,02
06084	1,12	0,93	1,15	0,99	1,04	1,05
06096	0,95	1,04	0,86	0,99	1,12	2,06
06157	1,04	1,09	1,14	1,05	1,1	1,27
06185	1,26	1,26	1,33	1,4	1,41	1,34
06193	1,03	1,17	1,2	1,12	1,12	1,31
06204	1,03	1,38	0,98	0,94	1,01	0,99
06268	0,84	0,88	0,97	1,07	1	0,88
06271	1,03	1,08	1,12	1,01	1,05	0,89
06292	0,95	0,88	0,89	0,91	0,97	1
06316	1,25	1,16	1,1	1,02	1,04	4,62
06318	0,95	0,86	0,94	0,94	1,01	1,15
06374	1,14	1,025	0,7	0,97	1,05	2,79
07004	1,01	0,98	0,95	1,04	0,97	0,89
07019	1	0,99	0,96	0,91	0,91	0,8
E07	1,02	0,84	0,94	0,98	1,01	0,62
E08	1,19	1,22	1,06	1,13	1,17	0,49
E09	1,01	1,01	1,04	1,11	0,95	1,02

Tabelle 28: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, Duvaxyn-Gruppe, n=146

Stuten -Nr.	IgG3/5: IgG4/7 5.Mo	IgG3/5: IgG4/7 7.Mo	IgG3/5: IgG4/7 9.Mo	IgG3/5: IgG4/7 Geburt	IgG3/5: IgG4/7 1.LW	IgG3/5: IgG4/7 3.LM
87281	0,99	0,95	0,93	0,95	0,83	0,61
91577	0,84	0,93	0,88	1,01	0,56	0,15
91588	0,97	1,02	0,85	0,95	0,89	0,25
91648	0,71	0,6	0,66	0,71	0,86	0,48
92768	0,94	0,86	0,82	0,92	0,8	1,02
92799	1,15	1,13	1,16	1,14	1,14	0,55
93060	1,08	0,99	1	1,03	0,71	1,26
93166	0,96	0,96	1,15	0,96	1,22	-0,3
93172	0,69	0,64	0,84	0,53	0,73	0,43
94017	0,88	0,91	0,92	0,99	0,92	1,68
95048	1,04	0,88	0,88	0,93	0,87	0,16
95060	1,17	1,14	1,02	1,11	0,8	0,19
95114	1,1	1,15	1,19	1,05	0,62	0,17
95216	0,92	0,92	0,91	0,95	0,71	0,86
96094	1,13	0,94	1,07	1,07	0,98	0,67
96139	1,12	1,09	0,96	1,06	1,05	0,78
96173	1,19	1,21	1,21	1,16	1,12	0,47
96181	1	0,99	1,03	1,03	1,04	0,57
96194	1,11	1,08	1,1	1,12	1,1	0,86
96197	0,94	0,98	0,82	0,96	0,89	1,28
96199	1,15	1,14	1,21	1,21	1,17	1,11
96209	0,71	0,68	0,82	0,81	0,36	-0,17
97002	0,96	0,98	0,88	1,02	0,82	0,66
97044	0,76	0,72	0,74	0,8	0,78	0,59
97062	1,03	1,06	1,09	1,04	1,11	0,75
97135	1,1	1,15	1,12	1,19	1,16	1,04
97153	0,92	0,87	0,88	0,84	0,77	0,22
98061	1,08	1	1,04	1,08	0,79	0,25
98096	1,12	1,26	1,08	1,16	1,23	0,51
98142	1,04	1,05	1,09	1,07	1,07	0,72
98151	0,77	0,78	0,8	0,81	0,94	0,32
98205	0,9	0,93	0,97	0,99	1	0,56
98240	1,16	1,16	1,1	1,13	1,14	0,83
98253	1,15	1,14	1,17	1,11	1,07	0,77
99014	0,98	0,99	0,91	0,97	0,92	0,51
99040	1,03	1	1,04	0,99	1,01	0,83
99052	1,14	1,17	1,13	1,09	1,01	0,59
99119	2,12	2,01	2,06	1,9	1,95	0,89
99124	1,19	1,12	1,11	1,11	1,06	0,82

99137	1,03	1,03	0,99	1,09	1,01	0,89
99142	1,17	1,2	1,19	0,9	1,05	-0,41
99167	0,87	0,87	0,9	0,92	0,76	0,43
99170	0,97	1,16	1,24	1,1	1,07	0,48
99173	0,56	1,24	1,26	1,22	1,2	0,78
99178	1,17	1,17	1,17	1,22	1,11	0,38
00002	1,11	1,1	1,09	0,99	1,07	0,74
00010	1,24	1,25	1,26	1,21	1,12	0,92
00021	1,12	1,17	1,2	1,16	1,02	0,44
00034	1,17	0,8	1,06	1,09	1,15	0,11
00042	0,97	1,07	0,92	1,02	0,97	0,97
00051	1,02	1,12	1,09	1,08	1	0,74
00073	0,96	0,75	0,9	0,95	0,82	0,71
00081	1,08	1,11	1,11	1,18	1	0,38
00082	1,23	1,22	1,18	1,37	1,23	0,57
00129	1,27	1,21	1,28	1,18	1,11	0,51
00138	1,1	1,16	1,22	1,26	1,27	0,27
00167	1,06	0,86	0,87	1,23	1,06	0,6
00172	0,97	0,94	0,98	1,02	1,03	0,55
00174	1,01	1,09	1,06	1,16	1,07	0,53
00195	0,94	0,73	0,8	0,89	0,84	0,61
01022	0,9	0,95	1,03	1,01	1,06	0,34
01039	1,2	1,21	1,21	1,22	1,22	0,88
01051	1,26	1,39	1,31	1,26	1,34	0,33
01071	1,06	1,03	1,1	1,17	1,24	1,01
01099	0,98	0,99	1,06	1,01	0,54	-0,01
01103	0,93	0,9	0,96	0,91	0,95	0,91
01106	1,04	1,11	0,96	1,06	0,93	0,02
01112	0,93	0,85	0,93	0,94	1,02	0,68
01140	0,98	0,99	1,01	1,03	1,04	0,33
01147	1,03	0,87	0,79	0,99	1,06	0,52
01162	1,08	1,13	1,14	1,14	1,16	0,66
01167	1,44	1,3	1,42	1,38	0,61	1,2
01191	0,86	0,85	0,93	0,91	0,89	0,39
01227	0,93	0,87	0,97	0,93	0,87	0,56
01233	2,04	2,11	2,1	2,18	2,25	1,51
01246	2,03	2,36	2,01	2,35	2,22	1,68
01268	0,98	0,93	1,16	1,29	0,74	0,67
02001	1,01	1,17	1,09	0,95	1,1	0,34
02047	1,27	1,22	1,2	1,25	1,15	0,64
02048	1,15	1,12	1,09	1,09	1,09	0,53
02055	1,12	2,43	1,09	1,14	1,1	1,02
02100	1,07	1,11	1,1	0,93	1,16	0,73

02145	1,04	1,09	1,05	1,05	1,05	1,1
02158	1,09	1,05	1,11	1,05	1,03	0,6
02164	1,11	1,17	1,09	1,21	1,36	0,56
02200	0,98	1,03	1,03	0,94	0,98	1,04
02215	1,14	1,18	1,03	1,26	1,25	0,61
02221	1,2	1,13	1,04	1,07	1,21	1
02271	0,99	1,07	1,02	1,01	0,88	0,64
02297	1,03	1,11	1,18	1,08	1,12	0,76
03052	1,05	0,74	1,08	0,99	1,01	0,96
03063	1,18	1,19	1,14	1,19	1,22	0,8
03100	1,08	1,2	1,25	1,25	1,2	0,57
03103	1,19	1,18	1,27	1,25	1,25	0,86
03118	1,23	1,23	1,32	1,2	1,28	0,65
03154	1,07	1,08	1,02	1,07	1,06	1,02
03201	1,13	1,12	1,14	1,2	1,25	0,86
03244	1,24	1,19	1,19	1,19	1,2	0,78
03290	1,09	1,21	1,1	1,1	1,14	0,52
04003	1,02	1,05	0,98	1,23	1,17	0,66
04034	1,47	1,35	1,39	1,45	1,32	0,5
04044	1,28	1,31	1,29	1,3	1,3	0,99
04053	0,71	0,63	0,55	0,65	0,69	0,61
04074	0,93	0,88	0,88	0,94	0,88	0,1
04090	1,1	1,09	1,07	1,04	1,08	1,01
04094	0,97	0,9	1,15	1,1	1,08	0,34
04116	1,1	1,01	1,04	1,06	1,04	0,56
04129	1,07	0,88	1,09	1,08	0,9	0,78
04232	1,05	0,92	0,87	1,04	1	0,51
04336	1,18	1,16	1,26	1,19	1,31	0,72
04338	0,83	1,09	1,15	0,97	1,25	0,17
04340	1,18	1,22	1,15	1,22	1,23	0,76
05020	0,97	0,89	0,91	1,04	0,95	0,62
05028	0,76	1,12	1,11	1,02	1,03	0,47
05068	0,69	0,7	0,74	0,82	0,72	0,38
05182	0,55	0,69	0,58	0,87	0,72	0,62
05272	0,97	0,81	0,95	0,99	1,04	0,73
05337	0,96	0,86	0,86	0,9	0,53	-4,8
05409	0,85	1,12	0,94	0,99	0,81	0,69
06001	0,82	0,97	0,89	1,01	0,86	0,55
06018	0,89	0,78	0,94	1,04	0,86	0,7
06026	0,47	0,57	0,64	0,73	0,83	0,49
06034	1,22	1,35	1,33	1,25	1,22	0,94
06045	0,83	0,75	0,89	0,91	1,01	-0,04
06057	0,96	1	0,91	0,99	0,93	0,53

06062	0,77	0,8	0,81	0,98	1,06	-0,47
06063	0,84	0,77	0,77	0,91	0,88	0,67
06073	0,54	0,87	0,83	0,8	0,93	0,25
06079	1,04	1,16	1,18	1,18	1,18	0,01
06084	0,95	0,96	1,02	1,02	1,02	0,41
06096	0,72	0,77	0,91	1,02	0,75	0,73
06157	1,01	1,07	1	0,98	0,93	0,74
06185	1,21	1,25	1,4	1,39	1,28	0,77
06193	0,93	0,97	0,96	0,97	1,01	0,5
06204	0,94	0,89	0,93	0,93	1,08	0,67
06268	0,91	0,93	0,99	1,05	0,96	0,65
06271	0,89	0,94	0,95	1,04	0,99	0,94
06292	0,59	0,86	0,83	0,95	0,76	0,28
06316	0,77	0,61	0,82	1,14	1,04	0,47
06318	0,73	0,94	1,05	1,06	1,15	0,48
06374	1,01	1,03	0,9	0,96	0,91	1,26
070048	0,82	0,96	0,92	1,01	0,99	0,54
070198	0,81	0,85	0,68	0,87	0,79	0,5
E 07	0,92	0,99	0,97	1,11	0,96	0,53
E08	1,16	1,11	1,02	2,36	1,16	0,92
E09	0,91	1,02	1,02	1,06	0,89	0,37

Tabelle 29: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, DPS-Gruppe, n=106

Stuten-Nr.	IgG3/5:IgG1 5. Mo	IgG3/5:IgG1 8. Mo	IgG3/5:IgG1 Geburt	IgG3/5:IgG1 1.LW	IgG3/5:IgG1 3.LM
88306	0,99	1,01	1,02	1,1	1,5
88316	1,02	0,96	0,99	0,97	0,47
88447	0,98	1,02	1,04	1,05	0,42
91600	0,98	0,97	0,95	0,98	1,26
91644	0,98	1,03	1,04	0,97	0,85
92756	1,24	1,26	1,27	1,24	1,7
94006	0,99	1,02	1,01	1,02	1,12
95044	1,09	1,02	1,11	1,23	1,24
95063	0,97	1	1,01	0,99	0,78
95066	1,42	1	1,02	1,08	0,89
95081	2,08	1,86	1,9	1,88	1,88
95160	0,94	0,91	0,92	0,97	0,91
95221	1,09	1,01	1,08	1,14	0,78
96002	1,06	1	1,01	0,99	0,9
96102	0,9	0,88	0,99	1,06	0,7

96105	0,99	1,01	0,99	0,99	1,08
96125	0,9	0,97	0,82	0,88	1,07
96202	0,93	0,91	0,92	0,95	0,55
97037	0,98	0,99	0,94	1,03	0,91
97187	1,1	0,92	1,03	1,13	1
97220	0,97	1,06	0,98	1,06	1
97229	1,01	0,97	0,96	0,92	1,22
98037	1,03	0,94	0,95	1,06	2,01
98128	1,13	1,01	1,07	1,05	0,97
98166	0,87	0,86	0,87	0,92	0,98
98242	0,95	1,01	0,96	1,03	0,78
99073	0,95	0,97	0,97	0,93	0,96
99123	1	0,97	1,01	1	0,99
00011	0,92	0,89	0,9	0,82	0,86
00125	0,88	0,87	0,88	0,87	0,87
01037	0,91	0,91	0,95	0,92	0,91
01068	0,78	0,79	0,8	0,79	0,85
01132	1,14	1,18	1,08	1,12	1,27
01138	0,9	0,93	0,89	1,17	1,09
01170	1,04	1,15	1,1	0,89	1,12
01218	1,07	1,12	1,05	1,08	0,84
01250	1,31	1,04	1,03	0,97	1,08
01252	1,12	1,09	1,13	1,12	0,89
02023	0,93	0,89	0,9	0,91	0,89
02063	1,07	1,08	1,03	0,98	1,13
02125	1,05	1	0,98	1,14	1,15
02140	0,96	0,96	0,95	0,98	0,94
02212	0,83	0,81	0,84	0,86	0,86
02250	0,95	0,9	0,95	0,96	0,96
02275	0,85	0,89	0,96	0,95	0,69
03041	0,87	0,96	0,95	0,96	1,03
03076	0,97	1	0,94	0,95	1,02
03126	1,05	0,95	0,97	1	1,14
03128	1,01	1,12	1,04	1,18	0,76
03138	0,86	0,89	0,95	0,88	0,89
03176	0,87	0,78	0,89	0,81	0,95
03212	1,18	1,22	1,2	1,14	0,93
03215	1,08	0,88	0,75	0,84	1,18
03219	1,01	0,96	0,99	0,95	0,86
03251	0,97	0,94	0,96	0,95	1,16
03270	0,89	0,88	0,91	0,99	-1,8
03298	1,19	1,01	0,9	0,86	0,02
04018	1,09	1,02	0,98	1,06	1,13

04037	1,37	1,23	1,35	1,47	2,24
04039	1,07	1,06	1,03	1,1	1,08
04042	0,94	0,93	0,89	0,95	0,93
04062	0,74	1	1,02	1,02	1
04131	0,82	1	0,95	1,03	0,95
04152	1,13	0,93	0,91	0,92	1,04
04170	1,13	1,06	0,99	0,95	0,96
04237	0,89	0,86	0,85	0,89	0,9
04291	1,95	1,22	1,3	1,16	1,08
04305	1	0,98	0,97	0,97	0,95
04310	0,95	0,92	0,92	0,98	0,79
04312	1,06	1,02	1,03	0,98	0,76
05004	1,06	1,04	0,97	1,09	2,15
05037	0,83	0,95	0,91	0,96	0,81
05104	0,97	1	1,02	1,03	0,84
05131	0,97	1,24	1,3	1,3	0,78
05135	1,38	1,21	1,26	1,36	0,96
05153	1,11	0,87	0,85	0,83	1,01
05169	0,99	0,97	1	1	1,09
05198	1,16	1,15	1,13	1,22	0,87
05218	1,03	1	0,98	1,05	0,99
05243	1,31	1,15	1,15	1,14	1,2
05266	1,16	1,03	0,92	1,01	1,23
05279	0,99	0,97	0,96	0,95	1,19
05285	0,96	1	0,93	0,95	1,12
05298	0,85	0,87	0,91	0,97	0,4
05323	1,08	1	1	1,02	0,98
05355	1,08	1,06	1,14	1,11	1,15
05402	1,03	1,14	1,03	0,98	1,01
06004	1,07	0,88	0,86	0,92	0,9
06017	1,31	1,21	1,18	1,21	1,65
06027	0,96	1,03	1,03	1,03	1,06
06029	1,14	0,98	1	0,94	1,19
06077	0,95	0,9	0,88	0,97	0,87
06124	0,94	0,91	0,93	0,99	1,26
06263	1,06	0,97	0,99	0,98	0,95
06296	1,03	0,95	0,99	0,98	1,71
06299	1,08	0,94	1,17	1,4	-0,25
070002	1,23	1,03	0,96	0,99	2,78
070033	0,95	0,95	0,92	0,94	0,92
070057	1,27	0,99	0,89	0,86	1,01
070060	0,92	0,95	0,99	1,13	0,73
070080	1,17	1,05	1,2	1,15	0,9

070084	1,12	1,03	1,11	1,07	0,9
070176	1,21	1,2	1,11	1,19	1,57
070186	1,06	1	0,99	0,92	1,01
070627	1,24	1,33	1,21	1,09	1,04
E05	1,07	1,07	1,1	1,1	1,04

Tabelle 30: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELSIA, DPS-Gruppe, n=106

Stuten-Nr.	IgG3/5: IgG4/7 5.Mo	IgG3/5: IgG4/7 8.Mo	IgG3/5: IgG4/7 Geburt	IgG3/5: IgG4/7 1.LW	IgG3/5: IgG4/7 3.LM
88306	1,06	1,01	1,11	1,01	1,82
88316	1,11	1,23	1,2	1,06	-0,15
88447	0,73	0,81	0,85	0,64	0,07
91600	0,96	0,95	1,05	0,8	0,59
91644	1	1,08	1,07	0,99	0,65
92756	1,26	1,22	1,27	1,24	1,45
94006	1,12	1,13	1,18	1,09	0,95
95044	1,18	1,06	1,22	1,13	0,76
95063	1,09	0,57	1,11	1	-8,54
95066	0,59	1,07	1,09	1,04	-0,88
95081	2,03	1,91	2,01	1,9	1,34
95160	1,07	1,1	1,06	0,98	0,38
95221	0,93	0,85	0,92	0,96	0,55
96002	1,01	1,02	1,02	1,07	0,55
96102	1,28	1,25	1,22	0,94	0,33
96105	1,15	1,28	1,24	1,25	0,84
96125	1,02	0,94	0,93	0,92	0,62
96202	1,11	0,75	1,16	0,91	-0,33
97037	1,14	1,18	1,12	1,25	0,77
97187	1,04	0,89	1,05	1,04	0,43
97220	0,97	0,99	1	1	1,01
97229	0,95	0,89	0,95	0,85	0,75
98037	1,04	1,02	1,14	0,85	0,56
98128	1,19	1,1	1,12	1,11	1,5
98166	0,88	0,89	0,91	0,92	0,91
98242	1,14	1,2	1,17	1,2	0,61
99073	1,31	1,31	1,31	1,28	0,63
99123	1,19	1,19	1,28	1,26	0,89
00011	1,04	1	1,04	0,98	0,56
00125	1,04	1,07	1,1	1,08	1,01
01037	1,19	1,13	1,19	1,14	0,94

01068	1,46	1,48	1,56	1,41	0,82
01132	1,12	1,16	1,11	1,16	0,75
01138	1	0,98	0,89	0,87	0,44
01170	0,83	1,09	1,08	0,83	0,76
01218	1,09	1,12	1,05	1,08	0,94
01250	0,9	0,8	0,82	0,82	0,67
01252	1,06	1,13	1,17	1,22	0,63
02023	1,09	1,06	1,05	1,02	0,75
02063	1,18	1,3	1,21	1,18	1,14
02125	1,22	1,26	1,27	1,32	0,37
02140	1,08	1,19	1,14	1,17	0,98
02212	0,99	1,02	1,05	1,12	0,75
02250	0,97	0,92	1,02	0,94	0,94
02275	0,87	0,87	0,98	0,95	0,77
03041	1,11	1,2	1,2	1,17	0,66
03076	0,99	0,97	1,04	1,11	0,69
03126	1,01	1,01	1,07	1,05	0,61
03128	1,02	1,15	1,2	1,23	0,43
03138	0,94	1,05	1,11	1,12	0,63
03176	1,42	1,31	1,39	1,42	0,82
03212	1,24	1,3	1,3	1,26	0,63
03215	1	1,04	0,9	1,01	0,5
03219	1,23	1,12	1,29	1,12	0,55
03251	0,95	0,95	1	1,01	0,5
03270	1,07	1,07	1,15	1,06	1,1
03298	0,94	0,95	0,9	0,7	0,2
04018	0,87	0,83	0,93	0,94	0,57
04037	1,17	1,05	1,12	1,03	0,5
04039	0,84	1,07	1,13	1,16	0,54
04042	1,08	1,08	1,07	1,08	1
04062	1,01	0,9	0,94	0,93	0,74
04131	1,04	1,21	1,1	1,14	0,61
04152	0,96	1,01	0,94	0,99	0,74
04170	1,34	1,39	1,48	1,5	0,61
04237	0,82	0,97	0,97	0,95	0,54
04291	1,08	0,99	1,11	1,09	0,66
04305	0,92	0,95	1,02	1,03	0,58
04310	0,96	0,98	1,11	0,92	0,44
04312	1,08	1,19	1,19	1,25	0,82
05004	0,85	1,09	1,11	1,2	0,43
05037	0,88	1,06	1,09	1,14	0,51
05104	0,84	1,01	1,11	1,04	0,77
05131	1,05	1,14	1,2	1,17	0,58

05135	0,92	0,94	0,96	1	0,5
05153	0,83	0,99	1	1,02	0,75
05169	0,93	1,15	1,22	1,23	0,73
05198	1,2	1,28	1,3	1,29	0,76
05218	0,98	1,03	1,1	1,13	0,64
05243	1,03	1,06	1,06	1,05	0,64
05266	0,96	1	1,11	1,17	0,67
05279	1,05	1,05	1,08	1,04	0,73
05285	0,99	1,53	1,31	1,43	0,71
05298	0,76	0,9	0,98	0,99	0,49
05323	1,01	1,02	1,04	1,07	0,74
05355	1,11	1,19	1,34	1,26	0,64
05402	1,11	1,19	1,19	1,25	0,74
06004	0,88	0,92	0,97	0,89	0,57
06017	1,03	1	1,05	1,05	0,42
06027	1,17	1,27	1,33	1,33	0,91
06029	0,78	0,94	0,94	0,87	0,56
06077	0,77	0,93	0,95	0,91	0,6
06124	1,03	1,16	1,23	1,18	1,02
06263	1,06	1,13	1,17	1,25	1,01
06296	1,04	1,04	1,02	1,11	0,76
06299	0,81	0,88	1	0,98	0,63
070002	1,04	1	1,13	1,12	0,6
070033	0,82	0,95	0,98	0,97	0,47
070057	1,04	0,97	1,21	1,31	0,53
070060	0,86	0,79	0,93	0,85	0,61
070080	0,92	1,03	1,24	1,12	0,55
070084	0,94	1	1,16	1,22	0,39
070176	0,85	1,01	0,89	0,89	0,92
070186	0,91	0,96	1,02	0,99	1,2
070627	0,93	1,11	1,11	1,11	0,61
E05	1,08	1,14	1,16	1,1	0,7

Tabelle 31: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, PPS-Gruppe, n=83

Stuten-Nr.	IgG3/5:IgG1 5.Mo	IgG3/5:IgG1 8.Mo	IgG3/5:IgG1 Geburt	IgG3/5:IgG1 1.LW	IgG3/5:IgG1 3.LM
91533	1,07	1,26	1,07	1,2	0,74
91643	0,99	0,98	0,98	1	1,03
92797	0,89	0,9	1	0,98	0,78
93103	1,06	1,06	1,05	1,08	0,99

94114	0,94	1	0,91	0,95	1,24
94201	1,07	1,02	0,94	1,09	0,89
94213	0,84	0,86	0,86	0,97	-7,64
95110	0,9	0,87	0,87	0,97	1,49
95145	1	0,81	0,78	0,84	-0,6
95194	0,85	0,91	0,86	0,9	0,92
96032	1,11	0,99	1,11	1,08	1,07
96192	1,03	1,12	1,06	1,14	0,72
96196	0,96	1,1	0,98	1,06	1,02
97048	1,04	1,03	1,01	1,06	0,83
97068	0,97	1,1	1,08	1,1	0,86
97144	0,9	0,98	0,89	0,9	1
97155	0,74	0,66	0,65	0,72	0,62
98035	1,08	1,02	1,09	1,09	0,55
98070	0,83	0,94	0,97	0,99	0,9
98097	1,1	1,08	1,06	1,18	1,14
98141	1,01	1,11	1,08	1,14	0,5
98188	1,03	1,01	1,01	0,95	1,02
98194	1,19	1,22	1,29	1,19	1,3
98254	1,15	1,11	1,05	1,04	1,27
99049	0,82	0,83	0,81	0,84	0,89
99060	1,08	0,81	0,91	1,11	0
99064	1,1	1,16	1,12	1,12	2,11
99079	1,13	1,02	1,04	1,01	0,87
99099	0,89	0,91	0,84	1,15	0,57
99149	0,94	0,87	0,85	0,86	0,94
99150	0,95	0,96	0,92	0,98	0,01
99152	0,86	0,98	0,91	0,98	0,94
99162	0,95	0,92	0,92	1	-0,63
99168	0,79	0,81	0,8	0,8	0,95
00017	0,8	0,81	0,9	0,91	0,92
00020	0,9	0,9	0,89	0,9	1
00087	0,93	0,99	0,99	1,03	1,06
00149	0,96	0,89	0,87	1,08	0,67
01062	0,99	0,94	1,06	1,06	0,35
01077	0,98	0,97	0,72	0,96	0,88
01090	1,12	1,04	1,08	1,12	1,42
01097	1,12	1,07	1,35	1,01	0,99
01104	1,04	1,07	0,99	1,09	0,72
01109	1,11	1,1	1,06	1,27	0,61
01141	0,52	0,5	0,82	1,15	0,98
01193	1,23	1,2	1,23	1,21	1,22
01212	0,93	0,95	0,9	0,82	1,17

01249	0,91	0,86	0,87	0,83	0,37
01264	1,2	1,35	1,33	1,38	1,08
02051	1,05	1,09	1,07	1,04	1,03
02064	1,19	1,03	1,05	1,25	1,15
02067	0,92	0,91	0,95	0,93	1,15
02147	1,02	1,01	1,74	1	0,92
02148	0,92	0,94	0,9	1,06	0,92
02170	0,85	0,84	0,83	0,86	0,87
02205	1,95	1,8	1,86	1,94	1,92
02254	0,88	0,83	0,89	0,99	1,17
02263	0,96	0,89	0,96	1,03	0,99
03072	1,13	1,06	1,07	1,1	1,08
03084	0,92	0,95	0,91	0,94	0,96
03240	1,01	1,06	1,12	1,12	0,83
03243	0,92	0,89	0,87	0,85	1,09
03282	1,03	1,08	1,01	1	1,31
04021	0,97	0,92	0,97	0,98	0,98
04092	1,21	1,09	1,08	1,09	4,22
04140	1,33	1,32	1,29	1,31	0,94
04143	0,8	0,77	0,9	0,78	0,81
04260	0,92	0,9	0,96	0,92	1
05043	2,04	1,78	1,78	1,83	2,02
05075	0,98	0,96	1,02	0,93	0,86
05125	0,94	1,05	0,91	0,88	0,98
05132	0,94	0,86	0,91	0,91	0,93
05255	0,83	0,85	0,88	0,86	0,85
05300	0,87	0,9	0,99	1	0,99
06012	1,04	0,94	0,96	1	1,13
06020	1,19	1,1	1	1,01	0,63
06037	0,65	0,71	0,82	0,92	0,94
06052	1,1	1,11	0,99	1,09	1,38
06076	1,08	1,05	0,83	1,03	1,19
06121	0,94	0,85	0,78	0,8	0,81
06135	1,09	0,98	0,96	1	1,27
06244	0,92	0,81	0,83	0,85	0,98
06461	0,97	0,99	0,95	0,97	0,96

Tabelle 32: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, PPS-Gruppe, n=83

Stuten-Nr.	IgG3/5: IgG4/7 5.Mo	IgG3/5: IgG4/7 8.Mo	IgG3/5: IgG4/7 Geburt	IgG3/5: IgG4/7 1.LW	IgG3/5: IgG4/7 3.LM
91533	1,04	1,04	1,02	1,01	0,27
91643	1,04	1,15	1,17	1,01	0,62
92797	0,67	0,82	0,94	0,86	0,35
93103	1,14	1,15	1,13	1,1	0,71
94114	1,37	1,44	1,35	1,37	1,07
94201	1,22	1,14	1,23	0,97	0,5
94213	1,08	1,04	1,08	0,95	0,51
95110	0,98	1,03	1,01	0,69	0,75
95145	0,86	0,69	0,73	0,64	-0,11
95194	1,35	1,35	1,35	1,33	0,72
96032	0,97	1,03	1,06	0,96	0,84
96192	0,8	0,71	0,77	0,69	0,49
96196	1	1,05	0,98	0,97	0,56
97048	1,12	1,13	1,12	1,02	0,25
97068	1,15	1,14	1,22	1,01	0,31
97144	1,43	1,38	1,32	1,33	0,63
97155	1	0,84	0,79	0,8	0,23
98035	1,08	1,02	1,04	1,03	0,38
98070	0,85	0,92	0,94	0,83	0,8
98097	1,42	1,22	1,3	1,28	0,65
98141	0,91	0,98	0,99	1,02	0,37
98188	1,17	1,09	1,08	1	0,68
98194	1,18	1,11	1,19	0,63	1,14
98254	0,86	0,86	0,8	0,7	0,57
99049	1,07	1,08	1,12	1,12	0,49
99060	0,83	0,94	0,92	0,9	0,31
99064	1,05	0,82	1,11	0,99	0,55
99079	1	0,92	1,04	1,2	0,5
99099	1,21	1,18	1,27	1,09	0,32
99149	0,92	0,9	0,87	0,88	0,52
99150	1,04	1,07	1,05	1,05	0,68
99152	0,93	0,94	0,96	0,87	0,38
99162	1,09	1,07	1,09	1,01	0,23
99168	0,87	0,99	0,91	0,98	0,84
00017	1,39	1,3	1,5	1,39	0,64
00020	1,24	1,22	1,21	1,31	1,16
00087	1,3	1,28	1,18	1,27	0,34
00149	1,17	1,05	1,14	0,77	0,17
01062	1,11	0,83	0,94	0,77	0,09

01077	0,95	0,91	0,83	0,73	0,58
01090	1,13	1,01	1,09	0,91	0,65
01097	0,51	1,16	1,41	1,17	0,63
01104	1,08	1,06	1,09	1,06	0,99
01109	1,11	1,04	1,14	1,26	0,33
01141	0,54	0,54	0,91	1,23	0,67
01193	1,16	1,14	1,21	1,2	0,85
01212	0,96	0,98	0,96	0,96	0,83
01249	0,88	0,81	0,88	0,83	0,13
01264	1,24	1,29	1,26	1,32	0,81
02051	0,92	0,96	1	1,01	0,8
02064	1,42	1,18	1,28	1,38	1,07
02067	1,13	1,09	1,17	1,15	0,92
02147	1,11	1,03	0,83	1,02	0,85
02148	1,15	1,15	1,21	1	0,9
02170	1,02	1	1,04	1,05	0,56
02205	1,97	1,98	2,11	2,03	1,58
02254	1,11	1,09	1,1	1,13	0,61
02263	0,89	0,88	1	1,04	0,71
03072	1,05	1,03	1,05	0,95	0,4
03084	0,93	0,96	0,92	0,92	0,97
03240	0,94	0,97	1,01	1	0,51
03243	1,19	1,12	1,14	1,11	0,59
03282	1,24	1,15	1,15	1,05	0,88
04021	0,88	0,81	0,91	0,97	0,65
04092	0,84	0,91	0,9	1,01	0,64
04140	1,24	1,23	1,25	1,21	0,71
04143	1,24	1,08	1,33	1,34	1,24
04260	0,95	0,99	1,04	1,07	0,72
05043	2,07	2,13	2,12	2,18	1,58
05075	1,08	1,09	1,17	1,05	0,61
05125	0,9	1,01	1	1,02	0,65
05132	0,92	0,94	1	1,06	0,94
05255	1,09	1,33	1,34	1,39	0,77
05300	0,96	0,94	1,26	1,2	0,61
06012	0,71	0,74	0,85	0,85	0,72
06020	0,83	0,69	0,86	0,74	0,22
06037	0,64	0,76	0,9	1,02	0,45
06052	1,08	1,16	1,03	1,1	0,48
06076	1,07	1,11	0,9	1,1	0,82
06121	0,76	0,78	0,87	0,94	0,46
06135	0,97	0,98	0,97	0,87	0,44
06244	1,07	1,17	1,26	1,39	0,81
06461	1,11	1,16	1,21	1,16	0,98

**Tabelle 33: EHV-1-Abortstuten in der Zuchtsaison 2009/2010, Antikörpertiter im SNT,
n=9**
Duv = Duvaxyn® EHV_{1,4}
Preva = Prevaxinol®

Impfung	Stuten-Nr.	Titer 5.Monat	Titer 7.Monat	Titer 9.Monat	Titer Abort
Duv	99153				128
Duv	01237	32	32	64	64
Duv	02016	16	32	32	128
Duv	04079	32	32	32	64
Duv	04083	16	8	16	64
Duv	06215	16	32	16	32
Duv	06279	8	16	32	128
Preva	03045				32
Preva	06206				128

**Tabelle 34: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG4/7 im ELISA;
EHV-1-Abortstuten**

Impfung	Stuten-Nr.	IgG4/7 5.Monat	IgG4/7 7.Monat	IgG4/7 9.Monat	IgG4/7 Abort
Duv	99153				417
Duv	01237	94	94	108	207
Duv	02016	71	45	68	117
Duv	04079	161	135	144	195
Duv	04083	81	57	83	158
Duv	06215	92	94	94	152
Duv	06279	27	8	103	103
Preva	03045				95
Preva	06206				263

Tabelle 35: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG1 im ELISA, EHV-1-Abortstuten

Impfung	Stuten-Nr.	IgG1 5.Monat	IgG1 7.Monat	IgG1 9.Monat	IgG1 Abort
Duv	99153				497
Duv	01237	84	91	108	169
Duv	02016	64	32	60	130
Duv	04079	172	133	172	224
Duv	04083	64	42	65	149
Duv	06215	58	82	64	157
Duv	06279	16	1	29	85
Preva	03045				81
Preva	06206				240

Tabelle 36: Mittlere Serumkonzentrationen des Isotyps IgG3/5 im ELISA; EHV-1-Abortstuten

Impfung	Stuten-Nr.	IgG3/5 5.Monat	IgG3/5 7.Monat	IgG3/5 9.Monat	IgG3/5 Abort
Duv	99153				460
Duv	01237	86	91	111	165
Duv	02016	66	34	69	103
Duv	04079	170	134	168	166
Duv	04083	68	46	70	159
Duv	06215	57	87	76	138
Duv	06279	37	4	38	74
Preva	03045				71
Preva	06206				249

Tabelle 37: IgG3/5:IgG1-Verhältnis im ELISA, EHV-1-Abortstuten

Impfung	Stuten-Nr.	IgG3/5:IgG1 5.Monat	IgG3/5:IgG1 7.Monat	IgG3/5:IgG1 9.Monat	IgG3/5:IgG1 Abort
Duv	99153				0,92
Duv	01237	1,03	1,01	1,03	0,98

Duv	02016	1,04	1,04	1,15	0,79
Duv	04079	0,99	1,01	0,98	0,74
Duv	04083	1,06	1,09	1,07	1,07
Duv	06215	0,99	1,06	1,18	0,88
Duv	06279	2,34	8,03	1,33	0,86
Preva	03045				0,88
Preva	06206				1,04

Tabelle 38: IgG3/5:IgG4/7-Verhältnis im ELISA, EHV-1-Abortstuten

Impfung	Stuten-Nr.	IgG3/5:IgG4/7 5.Monat	IgG3/5:IgG4/7 7.Monat	IgG3/5:IgG4/7 9.Monat	IgG3/5:IgG4/7 Abort
Duv	99153				1,1
Duv	01237	0,92	0,97	1,03	0,8
Duv	02016	0,94	0,75	1,01	0,88
Duv	04079	1,06	1	1,17	0,85
Duv	04083	0,84	0,8	0,84	1,01
Duv	06215	0,62	0,92	0,81	0,91
Duv	06279	1,37	0,54	0,37	0,72
Preva	03045				0,75
Preva	06206				0,94

Chemikalien-, Gebrauchsmaterialien- und Gerätenachweis

Tabelle 39: Chemikaliennachweis

Hersteller	Bezeichnung
A. Hartenstein Laborbedarf GmbH, Würzburg	Natriumchlorid, NaCl
AppliChem GmbH, Darmstadt	Ethanol 100%
Bernd Kraft GmbH, Duisburg	Schwefelsäure 1mol/l (H ₂ SO ₄)
Biochrom AG, Berlin	FoetalesCalf Serum (FCS)
	MEM Earle's
Biomol GmbH, Hamburg	Tetramethylbenzidine (TMB)
Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe	Tween
	Wasserstoff-Peroxid (H ₂ O ₂)
Difco, Michigan (USA)	Trypsin
Merck GmbH, Darmstadt	Chemikalien, ohne weiteren Vermerk
Millipore GmbH, Schwalbach	Protein A, HRP conjugate
Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim	Penicillin G
	Streptomycinsulfat
	Ethylendiamintetraacetat (EDTA)
College of Veterinary Medicine, Cornell, USA	monoklonale Antikörper (CVS 39, CVS 40, CVS 45)

Tabelle 40: Gerätenachweis

Hersteller	Bezeichnung
A. Hartenstein Laborbedarf GmbH, Würzburg	Saugflaschen, komplett (Pasteur)
	Glaspipetten
Berthold Technologies, Bad Wildbad	ELISA-Reader
Eppendorf, Wesseling-Berzdorf	Pipetten
	Gefäße
	Zentrifuge
Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Burgwedel	Wasserbad
G. Heinemann Ultraschall u. Labortechnik, Schwäbisch-Gmünd	Ultraschallbad
Heraeus Christ, Osterode	begasbarer Feuchtbrutschrank
IKA® Werke GmbH & Co. KG, Staufen	pH-Meter
IntegraBiosciences GmbH, Fernwald	Pipetboyacu
Kendo Laboratory Products, Wien (A)	Clean Air (Sterilbank)

Olympus, Hamburg	Lichtmikroskop
Sartorius AG, Göttingen	Waage

Tabelle 41: Gebrauchsmaterialiennachweis

Hersteller	Bezeichnung
A. Hartenstein Laborbedarf GmbH, Würzburg	Pipettenspitzen
B.BraunMelsungen AG, Melsungen	Einmalspritzen, Inject Solo (10ml)
Nunc A/S, Roskilde, Denmark	F96 MaxisorbImmunoplatte
TPP Tissue culture, Trasadingen (CH)	Zellkultur Testplatte 96F, 1Stk
	Zellkulturschale 100, 10Stk
	sonstiges steriles Einmalplastikmaterial

Abort bei der Stute

Nummer: _____
 Besamungsdatum: _____
 Hengst: _____
 Spender: _____

Abort am: _____
 Ort: _____
 Uhrzeit: _____

Nachgeburt: abgegangen → vollständig unvollständig Nachgeburtverhalten
 Sichtkontrolle → o.b.B. eingerissen
 Geruch → o.b.B. unangenehm
 Farbe → o.b.B. Farbabweichungen _____

Fetus: normal entwickelt Missbildung traumatisiert/ beschädigt im Stall
 Bemerkungen: _____

Allgemeinzustand der Stute: fett, gut, mittel, schlecht, sehr schlecht

Vorherige Aborte bei dieser Stute: ja nein

Sauberkeit des Stalls: in Ordnung, mangelhaft, sehr schlecht

Futterqualität: gut, mittel, schlecht

Tränke: in Ordnung, kurzfristiger Defekt (Frost, Schäden...)

Wetterumstellung: von _____ zu _____
 Gruppe umgestellt: von _____ nach _____ wann _____
 Einzeltiere eingestallt / umgestellt: _____
 Nachbarlaufställe umgestellt: _____

Hufschmied: ja, wann _____ nein
 Impf- und Entwurmung: ja, wann _____ nein

Weitere besondere Vorkommnisse: _____
 (Kolik, viel gelaufen, Unruhe im Stall, Misten)

Untersuchungsmaterial genommen:

- Blut (Serumm, EDTA)
- Fetus
- Plazenta
- Futterprobe

Tierärztliche Bemerkung: _____

Behandelnder Tierarzt/Tierärztin: _____

Abbildung 11: Abortbogen

Verwendete Chemikalien für den SNT

MEM Earle's Medium (500ml Flasche):

w 2,2g/l NaHCO₃
w stable glutamine
low endotoxin

Phosphat gepufferte Kochsalzlösung, PBS:

NaCl		8 g
KCl		0,2 g
KH ₂ PO ₄		0,2 g
Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O		1,44 g
Aqua dest.	ad	1 l

→ pH 7,4 einstellen

0,2 mol/l EDTA-Lösung:

Ethylendiamintetraacetat		7,45 g
Aqua dest.	ad	100 ml

→ pH 7,4 einstellen

Penicillin-Streptomycin-Lösung (Pen-Strep):

Penicillin-G, Kaliumsalz		10 ⁶ IE
Streptomycinsulfat		0,7 g
Aqua dest.	ad	100 ml

→ sterilfiltrieren, portioniert bei -20°C lagern

Trypsinlösung:

Trypsin		2,5 g
PBS	ad	1 l

→ sterilfiltrieren, bei -20°C lagern;

→ zum Passagieren der Zellen 1%, 0,2mol/l EDTA-Lösung zugeben

Verwendete Chemikalien für den ELISA

Waschpuffer:

NaCl		9 g
Tween		0,5 ml
Aqua dest	ad	1 l

Coatingpuffer:

Lösung A - Na ₂ CO ₃		0,2 M
Lösung B - NaHCO ₃		0,2 M
Gebrauchslösung:		
Lösung A		32,5 ml
Lösung B		92,5 ml
Aqua dest.		375 ml
pH 9,5 einstellen		

PBST:

PBS		500 ml
Tween		0,25 ml

Gallatipuffer:

Citronensäure		8,4 g
Aqua dest.	ad	200 ml
pH 3,95 einstellen		

Tetramethylbenzidine (TMB):

TMB		240 mg
DMSO 100%		5 ml
Ethanol 100%		5 ml

TMB-Substrat:

Gallatipuffer		6 ml
TMB		60 µl
H ₂ O ₂ 30%		10 µl

C. Danksagung

Mein größter Dank gilt meinen Eltern. Ihr habt mich in den entscheidenden Momenten immer unterstützt und mir die Stärke und den Halt gegeben, den ich während des Studiums, während meiner Dissertation und in manchen Lebenssituationen dringend gebraucht habe. Dafür danke ich euch von ganzem Herzen.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Klaus Osterrieder danke ich ganz besonders für die vielseitige Unterstützung bei der Bearbeitung meines Dissertations-themas, für seine Diskussionsbereitschaft und für seine schnellen und genauen Korrekturen.

Des Weiteren gilt mein Dank der P.S. Pferdehaltung GmbH für die Ermöglichung der Dissertation sowie den Mitarbeitern des Gestüts Lewitz, die mir bei der praktischen Durchführung der Studie sehr geholfen haben. Insbesondere möchte ich an dieser Stelle Uli, Inke und Antje für die kooperative Zusammenarbeit danken.

Ein riesiges Dankeschön auch an Sissy, Karina, Hannah, Kristina und Sabrina. Ich möchte mich für eure Mithilfe bei der Probensammlung, den nicht enden wollenden Pipettierabenden und den unvergesslichen Sommer 2009 auf dem Gestüt Lewitz bedanken.

Ganz herzlich möchte ich auch Tine Leiskau und Ann Leum aus dem Institut für Virologie der FU Berlin danken, die mich in die Laborarbeit eingewiesen und tatkräftig bei der Anfertigung meiner Proben unterstützt haben.

Herrn Fabian Lotz aus dem Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung der FU Berlin und Herrn Dr. Wolfgang Reimers möchte ich ebenso meinen Dank für die Beantwortung statistischer Fragestellungen aussprechen.

Zu guter Letzt danke ich meinem Freund Benni sowie Anna, Niki und Anja, die mich bei der Anfertigung der Arbeit vielfältig unterstützt und motiviert haben und mir auch in schlechten Zeiten Mut gemacht haben.

D. Selbstständigkeitserklärung

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

Mechernich, den 07.10.2011

Claudia Bresgen