

Fertilitätsrelevante Virusinfektionen beim Pferd

K. Scheepers und H. Müller

Institut für Virologie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, Leipzig

Zusammenfassung

Als virusbedingte Ursachen von Fertilitätsstörungen sind beim Pferd nur die Abort auslösenden Equinen Herpes-Viren Typ 1 (EHV-1) und Typ 4 (EHV-4) sowie das Equine Arteriitis-Virus EAV bekannt. In diesem Artikel wird ein kurzer Überblick über die wesentlichsten strukturellen und biologischen Eigenschaften dieser Viren sowie den aktuellen Stand ihrer Diagnostik und ihrer Bekämpfung gegeben.

Schlüsselwörter: Pferd, Fertilitätsstörung, Abort, Equines Herpes-Virus, Equines Arteriitis-Virus

Virus infections causing fertility disturbances in the horse

Only equine herpes virus 1 (EHV-1), equine herpes virus 4 (EHV-4) and equine arteritis virus (EAV), causing abortion, have been recognized as viral etiological agents of fertility disturbances in horses. In this article a brief review of the main structural and biological properties of these viruses as well as the present state of their diagnosis and control is presented.

keywords: horse, fertility disturbances, abortion, equine herpes virus, equine arteritis virus

Ogleich bei Pferden vermutlich eine Vielzahl von Viren durch die von ihnen ausgelösten Allgemeinerkrankungen auch zu Fertilitätsstörungen führen können, sind nur die Equinen Herpes-Viren Typ 1 (EHV-1) und Typ 4 (EHV-4) sowie das Equine Arteriitis-Virus (EAV) wegen der von ihnen verursachten Aborte als fertilitätsrelevant anzusehen. Die verfügbaren Angaben über die Virusätiologie von Aborten unterliegen, in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitraum und der untersuchten Population, zum Teil erheblichen Schwankungen. Mit einem durchschnittlichen Anteil von 10 bis 15 % führt der virusbedingte Abort vor allem bei seuchenhaftem Auftreten zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten. Nach Erhebungen in der deutschen Vollblutzucht zwischen 1968 und 1990 nimmt EHV-1 die führende Position unter den infektiösen Abortursachen ein.

EHV-1, EHV-4

Herpesviren werden aufgrund biologischer und struktureller Eigenschaften in α -, β - und γ -Herpesviren eingeteilt (Telford et al. 1993). Unter den Herpesviren des Pferdes (Tabelle 1) haben die α -Herpesviren EHV-1 und EHV-4 die größte Bedeutung. EHV-1 verursacht vor allem Aborte und die Geburt lebensschwacher Fohlen, seltener respiratorische und nur gelegentlich zentralnervöse Erkrankungen. EHV-4 hingegen wird vor allem bei respiratorischen Erkrankungen und nur in Einzelfällen im Zusammenhang mit Aborten nachgewiesen (Crabb and Studdert, 1995). Von EHV-1 verursachte Aborte werden zumeist in den letzten vier Monaten der Gravidität beobachtet („Spätabort“). Die Übertragung des hochkontagiösen Erregers erfolgt direkt oder indi-

rekt über den Respirationstrakt oder über abortierte Feten, die eine Hauptansteckungsquelle darstellen. Die Inkubationszeit beträgt bei experimenteller Infektion 10 bis 20, bei Feldinfektion 9 bis 120 (!) Tage. Anzeichen eines drohenden Aborts werden nicht beobachtet.

Herpesviren sind unregelmäßig geformte, ca. 150 nm große Viruspartikel mit ikosaedrischem Kapsid, umgebenem „Tegument“ und einer äußeren Hülle, in die Oberflächenprojektionen eingelagert sind (Abbildung 1). Ihr Genom ist eine DNA mit 76 Genen, die größtenteils nur geringe Homologie zwischen EHV-1 und EHV-4 aufweisen. Es kodiert für 25 bis 30 Strukturproteine, von denen mindestens 10 als Glykoproteine in der Virushülle verankert sind. Letztere vermitteln den Eintritt des Virus in die Wirtszelle und die Virusausbreitung von Zelle zu Zelle. Ihre Lage auf der Oberfläche des Viruspartikels und der infizierten Zelle macht sie zu einem Ziel der Immunantwort. Nach einer Ertsinfektion treten neutralisierende Antikörper um den 9. Tag p.i. auf, erreichen ein bis zwei Wochen später den höchsten Titer und können ein Jahr lang persistieren. Hohe Seruntiter bewirken jedoch nicht den Schutz vor einer Infektion und das Entstehen klinischer Symptome. Nach wie vor ist ungeklärt, ob neutralisierende Antikörper allein oder zusammen mit einer zellulären Immunantwort, wie bei der Maus gezeigt wurde (Azmi and Field, 1993), eine Rolle beim Schutz bzw. bei der Überwindung einer Infektion spielen.

Wie alle Herpesviren führen EHV-1 und EHV-4 zur Latenz, der lebenslangen Anwesenheit des Virus im Organismus, mit Reaktivierung und Rekurrenz. Latenz-assoziierte Transkripte, das sind RNA-Moleküle, die von einem bestimmten Abschnitt des während der Latenz ansonsten inaktiven Virus-

genoms translatiert werden, konnten bei EHV-1 ausschließlich in Neuronen des Ganglion trigeminale nachgewiesen werden (Baxi et al., 1995). Die Bedeutung von lymphatischem Gewebe oder von peripheren Blutlymphozyten als mögliche andere Orte der Latenz bleibt somit unklar. Diese Latenz stellt ein großes Problem dar, weil verschiedenartigste Belastungssituationen („Stress“) zu einer Reaktivierung mit Virusausscheidung, Abort oder beidem führen können. Slater et al. wiesen die ausschließliche neuronale Ausbrei-

Nach Hardt (1994) wird das durch EHV-1 ausgelöste Abortgeschehen durch zwei Hypothesen erklärt:

1. Die Virusinfektion der Endothelzellen soll zu einer Vasculitis endometrialer Gefäße führen, die wiederum Thrombosen und Ödeme der Plazenta zur Folge hat; Allantochorion und Endometrium werden dann durch Ödemflüssigkeit von einander getrennt.
2. Auf bisher nicht geklärtem Wege, möglicherweise durch den Übertritt (latent) infizierter Leukozyten durch

Tab. 1: Unterscheidung der equinen Herpesviren mit ihrer klinischen Manifestation.
Differentiation of clinical manifest equine Herpesvirus.

| Virus | Erkrankungen |
|------------------------|---|
| <i>α-Herpesvirinae</i> | |
| EHV-1 | Abort, Geburt infizierter Fohlen (neonatales Sterben), akute Erkrankung des Respirationstrakts, ZNS-Erkrankungen (Paresen) |
| EHV-3 | Coitalexanthem, akute, meist milde Erkrankung der Haut/Schleimhaut in erster Linie des Genitaltraktes. Führt beim Hengst zu einer herabgesetzten Libido, die Fertilität der Stute wird nicht beeinträchtigt |
| EHV-4 | Rhinopneumonitis, selten Abort, eng verwandt mit EHV-1 |
| <i>β-Herpesvirinae</i> | |
| EHV-2 | Nucleotid-Sequenzanalysen zeigen engere Beziehung zu <i>γ</i> -Herpesviren (Telford et al., 1993) |
| EHV-5 | sog. equines Cytomegalie-Virus, bei ca. 70 % der Pferde isolierbar, aus klinisch gesunden wie aus erkrankten Tieren mit breit-gefächelter, unspezifischer Symptomatik |
| | isoliert aus Pferden mit respiratorischer Symptomatik, eng verwandt mit EHV-2 |

tung von reaktiviertem Virus nach, das über das Nasensekret ausgeschieden wird. Die bei attenuiertem Virus in Lebendvakzinen mögliche Latenz muß nicht nachteilig sein, da am Ort der Latenz nur eine begrenzte Anzahl von inaktivem Virus vorhanden sein kann. Bei einer nachfolgenden Infektion mit Feldvirus ist somit kein oder nur geringer Raum vorhanden. Seine frühzeitige Besetzung durch ein Impfvirus wäre daher wünschenswert (Mettenleiter, persönliche Mitteilung).

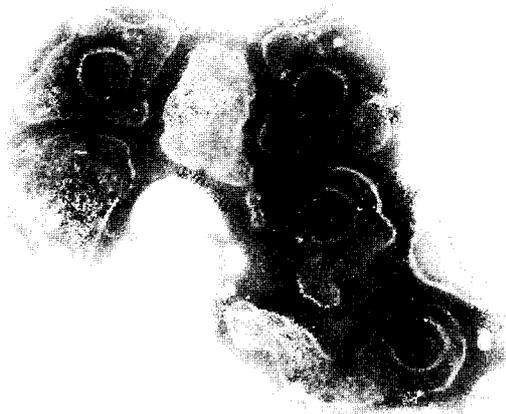


Abb. 1: Elektronenmikroskopische Darstellung von Herpesviren durch Negativkontrastierung mit Phosphorwolframsäure (Aufnahme Frau Dr. S. Menger, Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig).

Electron micrograph of herpesvirus, negatively stained with phosphotungstic acid (courtesy S. Menger, Institute of Veterinary Pathology, University of Leipzig).

die geschädigte Plazenta oder durch Zell-zu-Zell-Infektion soll der Fetus infiziert werden und schließlich absterben. Bei Infektionen nach dem sechsten Trächtigkeitsmonat sollen in beiden Fällen neben einer direkten Zellschädigung auch Antigen-Antikörperkomplexe ursächlich beteiligt sein. Von diagnostischer Relevanz ist es, daß im ersten Fall auch ein Virus-negatives Fohlen abortiert werden kann.

Der Nachweis EHV-1- bzw. EHV-4-spezifischer Antikörper erfolgt üblicherweise im Serum-neutralisations-Test (SNT). Der lange Zeitraum (5 bis 7 Tage) bis zur Befundung, die eingeschränkte Möglichkeit der Standardisierung eines solchen biologischen Testsystems, wie auch die mangelhafte Differenzierung zwischen den beiden Serotypen, die eine ausgeprägte Kreuzneutralisation zeigen, werden als Nachteil des SNT angesehen. Geeignere Methoden, wie z.B. kompetitive ELISAs, sind zur Zeit noch nicht kommerziell verfügbar. Serologische Tests sind in der Diagnostik des EHV-Abortes wenig aussagefähig, da eine Unterscheidung zwischen Impf- und Feldvirus-Antikörpern nicht möglich ist und nach einem Abortgeschehen Serokonversion oder Titeranstieg oft nicht beobachtet werden.

Bestand im Fetus vor dem Abort eine Virämie, so ist eine Virusisolierung in der Zellkultur aus zahlreichen Organen, insbesondere Lunge, Leber, Milz und aus der Plazenta möglich. Zahlreiche Zelllinien sind für EHV-1 empfänglich, während für EHV-4 Zellen equinen Ursprungs erforderlich sind. Die Vermehrung erfolgt unter Bildung eines lytischen cytopathogenen Effekts, der im Fall von EHV-1 be-

reits nach 24 Stunden erkennbar sein kann. Die Identifizierung des Isolats kann nachfolgend mittels typspezifischer Seren oder monoklonaler Antikörper in der Immunfluoreszenz oder durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) erfolgen.

Die PCR ist auch zum direkten Virusnachweis im Untersuchungsmaterial und zur Differenzierung von EHV-1 und EHV-4 hervorragend geeignet. Hierbei wird DNA aus den Proben extrahiert und ein Teil des Virusgenoms spezi-

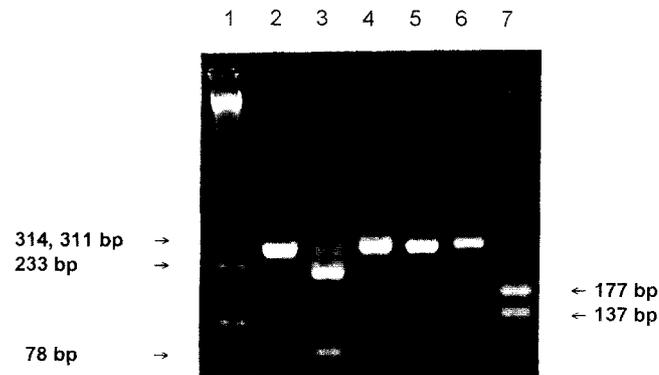


Abb. 2: RFLP-Analyse von EHV-1/-4 PCR-Produkten. Das in unserem Institut verwendete Primerpaar (Hardt, 1994) amplifiziert eine 311bp (EHV-1) bzw. 314 bp (EHV-4) große Sequenz des gp13. Die Proben sind durch Spaltung mit Restriktionsenzymen eindeutig voneinander zu unterscheiden. Hierdurch wird nicht nur eine Spezifizierung des PCR-Produkts möglich, sondern auch eine Differenzierung zwischen EHV-1 und EHV-4.

Spur 1: 123 bp-DNA-Standard. EHV-1 (Spur 2 bis 4) und EHV-4 (Spur 5 bis 7) wurden ohne Enzymzugabe (Spur 2 und 5), mit den Enzymen Hinf I (Spur 3 und 6) und Bgl I (Spur 4 und 7) 4 Stunden bei 37°C inkubiert und anschließend durch Elektrophorese aufgetrennt.

Analysis of EHV-1/-4 PCR-products. Primers used in PCR will amplify a 311 bp (EHV-1) or a 314 bp (EHV-4) nucleotide sequence of the gene encoding viral glycoprotein gp 13 (Hardt, 1994). By restriction enzyme cleavage, the specificity of the PCR products is demonstrated; the differentiation between EHV-1 and EHV-4 is possible as well.

Lane 1: DNA size marker. PCR products of EHV-1 in lanes 2 to 4, and of EHV-4 in lanes 5 to 7. Prior to electrophoresis, samples in lanes 2 and 5 were incubated without restriction enzymes, in lanes 3 and 6 with Hinf I and in lanes 4 and 7 with Bgl I, respectively, for 4 hours at 37°C.

fisch vermehrt. Bei Wahl geeigneter Primer kann die Spezifität des erhaltenen Produkts bestimmt werden (Abbildung 2). Trotz hoher Spezifität und hoher Sensitivität muß der alleinige Einsatz der PCR unter Vorbehalt gesehen werden, da sie nicht über das „offene Auge“ der Zellkulturtechnik verfügt, sondern sich spezifisch nur auf einen Erreger richtet. Der Nachweis viruspezifischer Antigene in Gewebeschnitten mittels der indirekten Immunfluoreszenz- oder Immunperoxidase-Technik ist weniger aussagefähig als die Virusisolierung (Osterrieder et al., 1995). Es muß allgemein festgestellt werden, daß ein negativer Virus- oder Antigennachweis wie auch das Fehlen

pathologischer Veränderungen nicht den Ausschluß eines EHV-1-induzierten Aborts bedeutet, da eine durch die Virusvermehrung hervorgerufene Schädigung des Endometriums zum Abort eines virologisch negativen Fetus führen kann (Smith et al., 1992).

Die zugelassenen Impfstoffe, Lebend- oder Totvakzinen, bewirken nur einen unzureichenden Schutz, da Aborte nicht zuverlässig verhindert werden können (Bürki, 1993). Dabei muß offen bleiben, ob diese Aborte bei mangelhaftem Impfschutz durch Feldvirus, durch reaktiviertes latentes Virus, oder nach dem Einsatz von Lebendvakzinen durch das Impfvirus selbst verursacht werden. Empfohlen werden häufige und regelmäßig wiederholte Impfungen, wobei im letzten Drittel der Trächtigkeit Lebendimpfstoffe nicht angewendet werden sollten. Nach Crabb und Studdert (1995) wird eine maximale protektive Immunität durch Impfstoffe erzielt, die sowohl EHV-1 als auch EHV-4 enthalten. Von großer Bedeutung für eine Infektionsprophylaxe ist zudem ein gutes Management, bei dem die Vermeidung von Stress-Situationen, die Durchführung von Quarantänemaßnahmen für neu eingestellte Pferde, die Vermeidung von Kontakt mit infektiösem Material und die Isolierung infizierter Tiere im Vordergrund stehen sollten.

EAV

Serologische Untersuchungen zeigen eine weite Verbreitung von EAV in Deutschland mit zunehmender Prävalenz. So stieg der Anteil seropositiver Pferde von 1,8 % in den Jahren 1987/88 auf 24,85 % im Jahr 1994 (Eichhorn et al., 1995; Kaaden et al., 1996). Vergleichbare Werte wurden auch von einer weiteren Arbeitsgruppe ermittelt (Herbst, persönliche Mitteilung). EAV-Infektionen, die bei graviden Stuten mit Aborten einhergehen, treten dennoch nur sporadisch auf und wurden aus Nordamerika, Kanada, Österreich, Italien, Polen und der Schweiz wie auch aus Deutschland (Eichhorn et al., 1995; Kramer, 1995) berichtet.

Das erstmals 1953 aus der Lunge eines abortierten Pferdefetus isolierte EAV (Doll et al., 1957) wurde mit dem Simian hemorrhagic fever- (SHFV), dem Lactatdehydrogenase-elevating- (LDHV) und dem Porcine reproductive and respiratory syndrome- (PRRSV) Virus in der Familie der Arteriviridae zusammengefaßt. Neben einer Ähnlichkeit der Strukturproteine ist allen Vertretern dieser Gruppe ihre Affinität zu Makrophagen und ihre Neigung zu asymptomatisch verlaufenden, persistierenden Infektion gemeinsam. Das sphärische Viruspartikel hat einen Durchmesser von 45 bis 70 nm. Eine Hülle mit ringförmigen Oberflächenstrukturen umgibt das ca. 35 nm große ikosaedrische Nukleokapsid, welches RNA als genetisches Material enthält. Eine EAV-Infektion induziert langjährig persistierende neutralisierende Antikörper, die protektiv sein sollen (McCullum et al., 1988). Bisher wurde nur ein Serotyp von EAV beschrieben. Neben weniger bedeutenden Unterschieden in der Antigenstruktur bestehen je-

doch offenbar erhebliche Unterschiede in der Virulenz der verschiedenen Isolate. Ein phylogenetischer Stammbaum führte zur Differenzierung von vier verschiedenen Gruppen von EAV-Isolaten, 2 nordamerikanischen und 2 europäischen, die auf beiden Kontinenten vorzufinden sind. Die equine Virusarteriitis ist eine typische zyklische Allgemeininfektion. Zielzellen sind Makrophagen und Endothelzellen. Neben wenigen akuten Erkrankungen mit variablem klinischem Bild werden überwiegend asymptomatische Infektionen beobachtet. Nach der Infektion gravider Stuten kann es allerdings in bis zu 50 % der Fälle und mehr (Timoney und McCollum, 1993) zu einem Abort kommen, ohne daß Krankheitssymptome feststellbar sein müssen. Wie EHV-1 verursacht auch EAV eine ausgedehnte Vaskulitis, wobei die Pathogenese des Abortes auch hier nicht eindeutig geklärt ist. Bei der tragenden Stute soll jedoch die Infektion des Myometriums zu Muskelnekrosen und Ödemen mit Ablösung der Plazenta und dem Tod des Fetus führen (Coignoul und Chevillat, 1984). De Vries et al. (1997) halten dies für die Mehrheit der Fälle als eher unwahrscheinlich und machen ein Zusammentreffen verschiedener Ereignisse verantwortlich, einschließlich der Beeinträchtigung der maternal-fetalen Nährstoffversorgung sowie der Infektion des Fetus. Aborte erfolgen nach dem dritten, zumeist zwischen dem 9. und dem 11. Monat der Trächtigkeit. Bei fieberhaften EAV-Infektionen kann die Zeit zwischen dem Beginn des Fiebers und dem Abort 6 bis 29 Tage betragen. Eine Serokonversion erfolgt im Allgemeinen zwischen dem 4. und dem 10. Tag p.i., beziehungsweise 29 Tage vor bis 3 Tage nach dem Abort.

Bei Stuten sind Fertilitätsprobleme nach einer EAV-Infektion nicht bekannt. Bei Hengsten wurde jedoch eine vorübergehende verminderte Fertilität als Folge der reduzierten Produktion morphologisch normaler Spermatozyten in den ersten drei bis vier Monaten nach einer experimentellen Infektion beschrieben. Die Verminderung der Sperma-Qualität soll dabei auf Entzündung und Hyperthermie des Skrotums zurückzuführen sein. Ein epidemiologisches Problem stellen persistent infizierte Hengste dar, die das Virus über Monate oder Jahre mit dem Sperma ausscheiden und so über den Deckakt oder die künstliche Besamung zur Verbreitung von EAV beitragen. Die Viruspersistenz steht offenbar direkt oder indirekt im Zusammenhang mit der Produktion von Testosteron (Little et al., 1992), da ein Trägerstatus bei Stuten und Hengstfohlen wie auch bei Wallachen nicht auftritt. Infizierte Stuten können das Virus über mehrere Wochen horizontal verbreiten.

In Deutschland ist derzeit kein Impfstoff zugelassen. Der Nachweis neutralisierender Antikörper mit einem Titer > 1:4 ist meldepflichtig. Aufgrund ihrer Persistenz (Monate bis Jahre, kolostrale Antikörper 2 bis 6 Monate post partum) ist nur der Nachweis einer Serokonversion oder eines Titeranstiegs um das Vierfache bei der Untersuchung von Serumpaaren, die im Abstand von 2 bis 3 Wochen gewonnen wurden, für ein akutes Infektionsgeschehen beweisend. Der zur Anwendung kommende SNT ist für

Export- bzw. Importuntersuchungen anerkannt. Seine Durchführung ist jedoch aufwendig und eine Befunderhebung ist erst nach ca. 5 Tagen möglich. Auch hier wäre daher ein aussagefähiger ELISA erstrebenswert. Bisher wiesen bei dieser Methode die Seren jedoch häufig starke unspezifische Reaktionen auf. Eine mögliche Ursache hierfür ist vermutlich im Einsatz von verschiedenen Virusimpfstoffen zu sehen, die in der Zellkultur hergestellt worden waren. Einen vielversprechenden Ansatz zur Umgehung dieser Probleme stellt die Verwendung gentechnologisch hergestellter Antigene dar; ein von Chirnside et al. (1995) beschriebener ELISA weist neben einer hohen Sensitivität auch eine gute Spezifität auf.

Die Isolierung von EAV aus Nasopharyngeal- bzw. Konjunktivalupferproben, aus Sperma sowie aus Homogenaten von Organen abortierter Feten und der Plazenta ist in einer Reihe von Zellen möglich. Es können jedoch bis zu acht Passagen erforderlich sein, die aber selbst bei bekannter Infektion oder deutlicher Symptomatik nicht immer zum Erfolg führen. Ursache hierfür könnte die geringe Tenazität des EAV oder das frühzeitige Auftreten neutralisierender Antikörper sein.

Die RT-PCR, bei der die virale RNA in DNA umgeschrieben und vermehrt wird, bietet neben dem Vorteil eines schnell erhaltenen Resultats die Möglichkeit, das EAV-Genom auch in solchem Probenmaterial nachzuweisen, bei dem Versuche zur Virusisolierung ohne Erfolg waren. Dies gelang im Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der Justus-Liebig-Universität Gießen in 14 von insgesamt 68 solchen Fällen (Herbst, persönliche Mitteilung). Durch den Einsatz der sogenannten „Nested PCR“, mit anschließender analytischer Restriktionsspaltung der PCR-Produkte sind geringste RNA-Mengen nachweisbar und verschiedenen EAV-Stämmen zuzuordnen (Sekiguchi et al., 1995). Die Anwendung der RT-PCR zur Ermittlung permanent infizierter Hengste erfolgt derzeit noch mit Einschränkung, weil sie durch unspezifische Inhibitoren in Spermaproben nicht immer die gewünschte Sensitivität besitzen soll. Zudem ist zu beachten, daß die Variabilität des EAV-Genoms zu falsch negativen Ergebnissen in der molekular-biologischen Diagnostik führen kann.

In den USA und Kanada eingesetzte Lebendvakzinen führen zwar nicht zu persistierenden Infektionen, das Impfvirus wird jedoch ausgeschieden und kann beim Hengst zu einer kurzzeitigen Beeinträchtigung der Spermaqualität führen. Bei tragenden Stuten besteht bei Impfung in den letzten Monaten Abortgefahr. Einen risikoloser Einsatz versprechen inaktivierte Vakzinen, die jedoch eine weniger belastbare Immunantwort hervorrufen. Vakzinationsprogramme erscheinen daher weniger geeignet. Im Hinblick auf den innergemeinschaftlichen Handel und den Export von Pferden bzw. von Pferdesperma sollte die Prävention einer weiteren Ausbreitung der Infektion das Ziel sein (Kaaden et al., 1990), mit dem abschließlichen Einsatz seronegativer Hengste in EAV-freien Beständen, dem Ausschluß von Virusausscheidern aus der Zucht und einem Einfuhrverbot seropositiver Pferde.

Literatur

- Azmi, M. und Field, H.J. (1993): Cell-mediated antiviral response to equine herpesvirus type 1 demonstrated in a murine infection model by means of adoptive transfer of immune cells. *J. Gen. Virol.* 74, 275–280
- Baxi, M.K., Efstathiou, S., Lawrence, G., Whalley, J.M., Slater, J.D. und Field, H.J. (1995): The detection of latency-associated transcripts of equine herpesvirus 1 in ganglionic neurons. *J. Gen. Virol.* 76, 3113–3118
- Bürki, F. (1993): Der „Wiener Impfplan 1991“ für Zucht- und Reitpferde. *Tierärztl. Umschau* 48, 3–10
- Chirnside, E.D., Francis, P.M., De Vries, A.A.F., Sinclair, R. und Mumford, J.A. (1995): Development and evaluation of an ELISA using recombinant fusion protein to detect the presence of host antibodies to equine arteritis virus. *J. Virol. Meth.* 54, 1–13
- Coignoul, F.L. und Chevillat, N.F. (1984): Pathology of the maternal genital tract, placenta and foetus in equine viral arteritis. *Vet. Pathol.* 21, 333–340
- Crabb, B.S. und Studdert, M.J. (1995): Equine herpes 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus). *Adv. Virus Res.* 45, 153–190
- De Vries, A.A.F., Rottier, P.J.M., Glaser, A.L. und Horzinek, M.C. (1997): Equine Viral Arteritis In: *Virus Infections of Equines*, herausgegeben von M. C. Horzinek, Elsevier, Amsterdam, 171–200
- Doll, E.A., Bryans, J.T., McCollum, W.H. und Crowe, M. (1957): Isolation of a filterable agent causing arteritis of horses and abortion in mares. Its differentiation from the equine abortion virus. *Cornell Vet.* 57, 3–41
- Eichhorn, W., Heilmann, M. und Kaaden, O.-R. (1995): Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. *Zentralbl.-Veterinärmed.-B.* 42 (9), 573–576
- Hardt, M. (1994): Die Polymerasekettenreaktion (PCR) und in situ Hybridisierung zum Nachweis der equinen Herpesviren 1 und 4. *Diss. vet. med., Giessen*
- Kaaden, O.-R., Haas, L. und Klopries, M. (1990): Equine Virusarteriitis. *Tierärztl. Prax.* 18, 277–282
- Kaaden, O.-R., Klopries, M. und Eichhorn, W. (1996): The epidemiology of equine viral arteritis in Germany. „The first european symposium on equine viral arteritis“ in Utrecht, 14
- Kramer, C. (1995): Virusabort beim Pferd: Nachweis des equinen Herpesvirus Typ 1 (EHV1) und des Arteriitisvirus (EAV) in der Zellkultur sowie EAV-spezifischer Antikörper mittels Neutralisationstest und Immunoblot. *Diss. vet. med., Giessen*
- Little, T.V., Holoyak, G.R., McCollum, W.H. und Timoney, P.J. (1992): Output of equine arteritis virus from persistent infected stallions is testosterone dependent. *Proc. 6th Int. Conf. Equine Inf. Dis.*, R. und W. Publications (Newmarket), ISBN 0-9516604-3-8, 225–229
- McCollum, W.H., Timoney, P.J., Roberts, A.W., Willard, J.E. und Carswell, G.D. (1988): Responses of vaccinated and non-vaccinated mares to artificial insemination with semen from stallions persistently infected with equine arteritis virus. *Proceedings of the 5th Inter. Conf. Equine Inf. Dis.*, D.G. Powell, University Press of Kentucky, 13–18
- Osterrieder, N., Eichhorn, W. und Kaaden, O.-R. (1995): Vergleich verschiedener Nachweismethoden für die Equinen Herpesviren vom Typ 1 und Typ 4 (EHV-1 und EHV-4). *Tierärztliche Umschau* 50, 447–449
- Sekiguchi, K., Fukunaga, Y., Wadw, R., Kamada, M. und Yamaguchi, S. (1995): Detection of equine arteritisvirus (EAV) by polymerase chain reaction (PCR) and differentiation of EAV strains by restriction enzyme analysis of PCR products. *Arch. Virol.* 140, 1483–1491
- Slater, J.D., Borchers, K., Thachray, A.M. und Field, H.J. (1994): The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus 1 latency and reactivation in the horse. *J. Gen. Virol.* 75, 2007–2016
- Smith, K.C., Whitwell, K.E., Binns, M.M., Dolby, C.A., Hannant, D. und Mumford, J.A. (1992): Abortion of virologically negativ foetuses following experimental challenge of pregnant pony mares with equid herpesvirus 1. *Equine Vet. J.* 24 (4), 256–259
- Telford, E.A.R., Studdert, M.J., Agius, C.T., Watson, M.S., Aird, H.C. und Davidson, A.J. (1993): Equine Herpesviruses 2 and 5 are (-Herpesviruses. *Virology* 195, 492–499
- Timoney, P.J. und Mccollum, W.H. (1993): Equine viral arteritis. *Vet. Clin. North. Am. Equine Prac.* 9, 295–309

Prof. Dr. H. Müller

Dr. K. Scheepers

Institut für Virologie

Veterinärmedizinische Fakultät

Universität Leipzig

Margarete-Blank-Str. 8

04103 Leipzig

Tel.: 0341/9738200

Fax: 0341/9738219