

Bedeutende virale und bakterielle Atemwegserreger des Pferdes und deren diagnostischer Nachweis

Nicole Lorenz¹, Matthias Homuth¹, Monika Venner² und Katrin Strutzberg-Minder¹

Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH, Hannover¹ und Klinik für Pferde der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover²

Zusammenfassung

Bakteriell und viral bedingte Atemwegserkrankungen sind eine häufige Ursache für hohe wirtschaftliche Verluste in der Pferdepopulation. Insbesondere für Saug- und Absetzfohlen stellen virale Erreger wie das Equine Herpesvirus Typ 1 und Typ 4 und das Influenzavirus-Typ A und bakterielle Erreger wie Streptokokken, Rhodokokken und Actinobazillen eine große Belastung für das Immunsystem dar. Um eine genaue Identifizierung und Differenzierung des Erregers und der vorliegenden Erkrankung vornehmen zu können, bedarf es neben einer gründlichen klinischen Untersuchung auch einer umfassenden labor diagnostischen Untersuchung. In Abhängigkeit von der Fragestellung kann zwischen dem indirekten Erregernachweis und dem direkten Erregernachweis unterschieden werden. Bei den indirekten Methoden kann aufgrund des Nachweises von Antikörpern, die gegen einen Infektionserreger gebildet wurden, der Immunstatus des Tieres näher bestimmt werden. Je nach eingesetzter Testmethode und weiteren Informationen über mögliche Impfungen kann eine Aussage über eine stattgefunden Infektion getroffen und Impferfolge überprüft werden. Direkte Nachweismethoden ermöglichen neben einer Isolierung eine genaue Identifizierung und Differenzierung des Erregers in dem Untersuchungsmaterial. Abhängig von der Epidemiologie des Erregers und der Lokalisation der Erkrankung sind das Untersuchungsmaterial, der Zeitpunkt und die Durchführung der Probenentnahme entscheidend für eine gesicherte Diagnostik.

Schlüsselwörter: EHV-1/4, Equine Influenzavirus Typ A, *Streptococcus equi* subsp. *equi*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Rhodococcus equi*, *Actinobacillus equuli*, Diagnostik

Important viral and bacterial agents of the equine respiratory tract and their diagnostic detection

Bacterial and viral agents are important pathogens of respiratory infections that cause economic losses in horse populations. Exposure to viral agents like equine herpesvirus types 1 and 4 and equine influenza virus type A and to bacterial agents like streptococci, rhodococci and actinobacilli represents a serious challenge to the immune system, particularly in sucklings and weanlings. Both intensive clinical examination and comprehensive laboratory diagnostic analysis are necessary for the identification and differentiation of the pathogen and the existing condition. Depending on the diagnostic purpose, it is possible to differentiate between indirect and direct detection of the agents. Indirect methods facilitate the detection of antibodies against infectious agents and give further information about the immune status of the horse. Depending on the method of testing and the animal's vaccination status, conclusions can be drawn about the type of infection and on the success of vaccination. Direct test methods make possible the identification and differentiation of the agent isolated in the diagnostic sample. Diagnosis of viral infections from horses with acute respiratory illness is based either on isolation of the virus in cell culture or embryonated hens' eggs (equine influenza virus type A) or on the detection of specific DNA by polymerase chain reaction techniques. Culture and biochemical identification remain the gold standard for confirming the presence of bacterial pathogens. The polymerase chain reaction is an alternative or supplement to culture identification and provides highly specific and sensitive results that can often be obtained more quickly than by culture. A serological response to infections by viral and bacterial agents can be demonstrated by serological testing of paired sera to show a rise in antibody titre. Depending on the epidemiology of the pathogen and the site of the disease, important factors for a reliable diagnosis are the diagnostic material and the time and technique of sampling.

Keywords: EHV-1/4, equine influenza virus type A, *Streptococcus equi* subsp. *equi*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Rhodococcus equi*, *Actinobacillus equuli*, diagnostics

Einleitung

Atemwegserkrankungen bei Pferden gehören mit zu den Hauptursachen in der Schadensursachenstatistik. Neben mangelnden Haltungsbedingungen stellen Parasitenbefall und die Inhalation bakterieller und viraler Erreger Wegbereiter für Erkrankungen und eine große Belastung für das Immunsystem dar. Zu den wichtigsten viralen Erregern, die in Verbindung mit einer Erkrankung des Atmungsapparates stehen, zählt das Equine Influenzavirus und das Equine Herpesvirus Typ 1 und

Typ 4. Bedeutende bakterielle Erreger, die ursächlich an einer Atemwegserkrankung beteiligt sein können, sind *Streptococcus equi* subsp. *equi* als Erreger der Druse, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* und *Rhodococcus equi*. Zu den multi-kausalen Erregern wird im weiteren *Actinobacillus equuli* gezählt. Die großen Verluste, die letztendlich auch mit erheblichen wirtschaftlichen Einbußen einhergehen, lassen sich durch die meist zu späte Erkennung der Erkrankung durch den Tierbesitzer und die häufig fehlgeschlagene antibiotische Behandlung erklären. Um eine Verbesserung der Tiergesund-

heit zu ermöglichen, ist es erstrebenswert neben der Optimierung der Haltungsbedingungen, die Früherkennung von Infektionen durch verschiedene diagnostische Verfahren zu gewährleisten. Grundsätzlich ist zwischen der Möglichkeit des indirekten und direkten Erregernachweises zu unterscheiden. Das Untersuchungsmaterial, der Zeitpunkt und die Durchführung der Probenentnahme sind ausschlaggebend für eine verlässliche und aussagekräftige Diagnostik.

Virale Erreger

Equines Influenzavirus Typ A

Die Equine Influenza, auch als Pferdegrippe oder Hoppegartener Husten bezeichnet, ist eine akute, hochkontagiöse Erkrankung der oberen und unteren Atemwege des Pferdes, hervorgerufen durch das Equine Influenzavirus Typ A. Das Equine Influenzavirus gehört zu der Familie der Orthomyxoviren, Typ A und ist ein einsträngiges 80-120 nm großes RNA-Virus. Aufgrund der unterschiedlichen antigenen Eigenschaften der Glykoproteine Hämagglutinin (H) und Neuraminidase (N), die in Form von Spikes die Virusoberfläche charakterisieren, wird das Influenzavirus Typ A beim Pferd in zwei verschiedene Subtypen (H7N7 [Subtyp 1] und H3N8 [Subtyp 2]) unterteilt. Ein wichtiges Charakteristikum des Influenzavirus ist die hohe antigenen Variabilität, die zum Entstehen neuer Feldstammvarianten führt. Eine Akkumulation von Punktmutationen verursacht antigenetische Unterschiede innerhalb eines Subtyps, der sogenannten „Antigen-Drift“. Bei dem „Antigen-Shift“ kommt es zu einem Austausch genetischer Information zweier Viruspartikel, z.B. zwischen equinen und porcinen, humanen bzw. aviären Influenzaviren, die zu einer Bildung von Subtypen mit einer völlig neuen H- und N- Konfiguration führen kann. Der Subtyp 1, erstmals 1956 in Osteuropa entdeckt und beschrieben, zeigte sich in der Vergangenheit als relativ stabil hinsichtlich der antigenen Variabilität, er verursacht im Gegensatz zu dem Subtyp 2 eher milde Erkrankungen (Sovinnova et al. 1958). Durch den Subtyp 1 hervorgerufene Erkrankungen treten nur noch sporadisch auf. Equine Influenza Stämme H7N7 wurden seit 1979 nicht mehr isoliert, in nicht geimpften Pferden konnten lediglich Antikörper gegen diesen Stamm detektiert werden, was einen Hinweis darauf gibt, dass dieser Stamm in subklinischer Form in der Pferdepopulation zirkuliert (Madic et al. 1996, Mumford 1990). Der Subtyp 2, erstmalig 1963 in Miami isoliert, führt durch eine hohe antigenen Variabilität zur Entstehung neuer Varianten; er verursacht spontane, seuchenhafte Influenza-Ausbrüche mit schwerem klinischem Verlauf (Wadell et al. 1963). Das klinische Bild der Influenza ist abhängig vom Immunstatus der Tiere und von der Virulenz und der antigenetischen Verwandtschaft des Feldstammes mit dem Impfstamm (Chambers et al. 1995 a, b, Mumford 1994 a, b). Der Erreger wird primär aerogen durch das Husten der Tiere übertragen, doch ist eine indirekte Übertragung über Personen und Gegenstände ebenso möglich (Wilson 1993). Nach einer Inkubationszeit von 2-4 Tagen treten charakteristische Symptome wie intermittierende Fieberphasen (Temperatur bis zu 41°C), wässrig-seröser Nasenausfluss, trockener Husten, Inappetenz und Apathie auf (Wilson 1993). Die Erkrankung heilt ohne Einfluss von Sekundärerregern nach 1-2 Wochen ab. Erst nach Besiedlung durch Sekundärerreger verwandelt sich das Nasensekret in muköses bis mukopurulenten Ausfluss. Die mandibulären Lymphknoten

und die Trachea erweisen sich in den ersten Stunden der Erkrankung als sehr druckempfindlich, eine milde Form der Laryngitis zeichnet sich ab. Die Hauptlokalisation der Influenza-Infektion ist der Bronchialbaum; häufig manifestieren sich eine Bronchitis, eine Bronchiolitis oder gar eine Viruspneumonie. Neben Inappetenz zeigen einige Pferde auch leichte Muskelschwäche und einen steifen Gang. Bei Hochleistungspferden und alten Tieren sind häufig auch eine Myokarditis und eine Myokardinsuffizienz erkennbar. Vakzinierter Pferde weisen zum Teil keine oder nur abgeschwächte klinischen Symptome wie lediglich leichtes Fieber auf (Morley et al. 1999). Die Morbidität ist insbesondere in ungeimpften Pferdebeständen sehr groß, die Mortalität im Allgemeinen niedrig, nur alte oder sehr junge sowie bereits kranke Tiere sind besonders gefährdet. Aufgrund der großen Ausbreitungsgeschwindigkeit der Erkrankung und dem charakteristischen trockenen Husten kann bereits klinisch eine Verdachtsdiagnose gestellt werden, doch mit Hilfe serologischer Untersuchungen kann eine Aussage über den Erregerkontakt getroffen und mit Hilfe virologischer oder molekularbiologischer Methoden eine genauere Differenzierung des Erregers durchgeführt werden. Geimpfte Pferde zeigen, abhängig von der Übereinstimmung des Impf- mit dem Feldstamm, nur eine teilweise Immunität; in Abwesenheit klinischer Symptome vermögen sie trotzdem Virus auszuschleiden. Diese Tiere stellen durch die Verbreitung des Erregers eine große Gefahr für den Bestand dar, sodass diagnostischen Verfahren zum Nachweis subklinischer Infektionen eine besondere Bedeutung zukommt. Erstmals infizierte Pferde scheiden 7-10 Tage post infectionem (p.i.) den Erreger über die nasopharyngealen Sekrete aus, während immunisierte, infizierte Pferde den Erreger meist nur transient ausscheiden. Aufgrund dessen ist es ratsam nasopharyngeale Tupfer innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Auftreten von Fieber zu entnehmen und in gekühltem Transportmedium innerhalb der nächsten 24 Stunden dem Labor zur weiteren Untersuchung zuzusenden.

Der direkte Nachweis des equinen Influenzavirus akut erkrankter Pferde basiert auf der Isolierung von infektiösem Virus in embryonierten Hühnereiern oder in Zellkulturen; das Vorhandensein des hämagglutinierenden Influenzavirus kann über den Hämagglutinationshemmtest (HAH) bestätigt werden. Die kulturelle Virusanzucht benötigt ca. 2-3 Tage, abhängig von der Anzahl der notwendigen Passagen verlängert sich die Zeit zum Teil erheblich. Weitere in der Routinediagnostik eingesetzte Methoden zum Virusnachweis in der akuten Phase der Infektion sind Immunoassays und ELISA (Abk. für engl.: Enzyme Linked Immunosorbent Assay), zum Antigennachweis. Ein aus der Humanmedizin stammendes kommerzielles Kit zum Nachweis von Influenza-A-Antigen aus nasopharyngealen Sekreten zeigt gegenüber der Virusisolierung eine Sensitivität von 83% und eine Spezifität von 78%. Aufgrund der schnellen und einfachen Durchführung ist diese Methode aber gut in der Routinediagnostik zum Screening von Pferdepopulationen einsetzbar (Chambers et al. 1994). Tests zum Antigennachweis sind zwar im Stande infizierte Tiere auf dem Höhepunkt ihrer Infektion zu detektieren, doch besitzen diese Testverfahren bei einer geringen Virusausscheidung eine zu geringe Sensitivität. Aufgrund der antigenen Variabilität des Influenzavirus ist eine Charakterisierung der Virusstämme von großer Bedeutung.

Als eine Alternative zur Virusisolierung wurde in den letzten Jahren vermehrt die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR; engl.:

Polymerase-Chain-Reaction) mit möglicher nachfolgender Sequenzierung in der Routinediagnostik zur Identifizierung des Virus aus diagnostischem Probenmaterial eingesetzt (Donofrio et al. 1994, Fouchier et al. 2000, Oxburg und Hagstrom 1999). Die PCR dient zum Nachweis von Abschnitten Erreger spezifischer Erbsubstanz. Diese sehr sensitive und spezifische Methode ist weniger zeitintensiv und aufwändig als die Erregeranzucht und bedarf zum Nachweis von RNA keines lebens- bzw. vermehrungsfähigen Erregers.

Mit Hilfe serologischer Verfahren wie beispielsweise dem ELISA, dem Hämagglutinationshemmtest (HAH), der „Single Radial Hemolysis“ (SRH) und dem Virusneutralisationstest (VNT) können Infektionen anhand gepaarter Serumproben (im Abstand von 2 Wochen) in Form eines Anstieg des Antikörperspiegels detektiert werden (Livesay et al. 1993, Morley et al. 1995).

Hämagglutinin und Neuraminidase sind wichtige antigene Determinanten des Influenzavirus, gegen welche, insbesondere gegen das Hämagglutinin, neutralisierende Antikörper gebildet werden. Diese Antikörper macht man sich im Hämagglutinationshemmtest (HAH) und der „Single Radial Hemolysis“ (SRH) zunutze. Die HAH kann zwischen den verschiedenen Subtypen (H7N7 und H3N8) unterscheiden und somit Aufschluss über eine stattgefunden Infektion des Tieres und eine im Tier gebildete Antikörperantwort geben. Sowohl die HAH als auch die SRH sind effiziente und weit verbreitete Testmethoden zum indirekten Erregernachweis (OIE-Manual 2004). Bislang wurden verschiedene ELISA zum Nachweis von Influenza spezifischen Antikörpern aus Blutserum etabliert. Auf der Basis des Nicht-Strukturproteins (NS1) des equinen Influenzavirus Typ A wurde ein ELISA entwickelt, der zwischen infizierten und geimpften Tieren differenziert. Während bei einer natürlichen Infektion im Wirt Antikörper gegen das NS1 gebildet werden, bleibt eine Antikörperantwort gegen das NS1 bei der Applikation inaktivierter Impfstoffe aus. Aufgrund der Einführung attenuierter Influenza-Impfstoffe in den USA verliert dieser Differenzierungs-ELISA dort zunehmend an Bedeutung (Birch-Machin et al. 1997, Daly et al. 2004, Ozaki et al. 2001). Da jedoch in Deutschland kein Lebendimpfstoff zugelassen ist, ist dieser ELISA für den diagnostischen Einsatz zur Differenzierung von infizierten und geimpften Tieren nutzbar. Zusammenfassend zeigt sich, dass Methoden zum direkten Nachweis von Influenzavirus Typ A sinnvolle Kontrollmöglichkeiten zur Erkennung Virus ausscheidender Pferde sind und nach einer anschließenden Isolierung der so identifizierten, betroffenen Tiere zu einer Senkung des Infektionsdruckes beitragen. Ein weiterer wesentlicher Vorteil ist die Differenzierung und Charakterisierung des Virusstammes im Untersuchungsmaterial. Mit Hilfe serologischer Nachweisverfahren können anhand der Höhe des Antikörpertiters gepaarter Serumproben Impferfolge überprüft und Aussagen über den Immunstatus eines einzelnen Tieres oder in Form einer Screening-Untersuchung eines ganzen Tierbestandes bezüglich einer Influenza-A-Infektion getroffen werden.

Equines Herpesvirus Typ 1 und Typ 4

Die Equine Rhinopneumonitis ist eine hochkontagiöse Erkrankung von Equiden, hervorgerufen durch zwei Mitglieder der Familie der Herpesviridae, Subfamilie Alphaherpesvirinae,

Genus Varicellovirus: dem Equinen Herpesvirus Typ 1 (kurz: EHV-1) und dem Equinen Herpesvirus Typ 4 (kurz: EHV-4). Beide Viren gehören zu den doppelsträngigen behüllten DNA-Viren. EHV-1, auch als „Abortvirus“ bezeichnet, verursacht neben Aborten auch respiratorische und neurologische Symptome. EHV-4, auch „Rhinopneumonitisvirus“ genannt, verursacht vorwiegend Erkrankungen des oberen Respirationstraktes (Patel 2005, Van Maanen 2002). EHV-1/4 ist weltweit verbreitet und tritt in vielen Ländern mit einer hohen Seroprävalenz auf (Crabb 1993). EHV-4 ist ganzjährig bei Pferden jeder Altersstufe aus dem Respirationstrakt isolierbar, EHV-1 hauptsächlich in den Wintermonaten (Matsumura et al. 1992). Während die Infektion mit EHV-4 bei älteren Tieren häufig klinisch inapparent verläuft, stellt das Virus ein hohes Infektionsrisiko insbesondere für Saugfohlen und Fohlen im Absetzalter dar (Allen und Bryans 1986, Van Maanen 2002). Das Equine Herpesvirus persistiert in Zellen des Immunsystems wie zum Beispiel in Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, Plasmazellen und auch in Ganglienzellen (Edington et al. 1994 a und b, Welch et al. 1992). Ein einmal infiziertes Tier scheidet als latent infizierter Virusträger lebenslang intermittierend Virus aus und begünstigt somit das Entstehen von Enzootien. Durch verschiedene Faktoren wie Stress, Krankheit usw. kann das Virus jederzeit reaktiviert werden (Welch et al. 1992). In den meisten Populationen verläuft die Erkrankung endemisch (Edington et al. 1994 a). Bei Pferden im Alter unter drei Jahren stellt sich die Equine Rhinopneumonitis insbesondere hervorgerufen durch EHV-4 klinisch in Form einer akuten, fiebrigen Erkrankung des Respirationstraktes dar. Das Equine Herpesvirus tritt sowohl aerogen als auch direkt durch Nasensekret in den Respirationstrakt ein, nach einer Inkubationszeit von 2-10 Tagen zeichnen sich erste klinische Symptome wie Fieber, seröser bis mukopurulenter Nasenausfluss, feuchter Husten, geschwollene Mandibularlymphknoten, Pharyngotracheitis, Inappetenz und Apathie ab. Die Tiere weisen eine Leukopenie mit einer für 5-12 Tage andauernden Neutrophilendepression auf, die Lymphozytenwerte sind für kurze Zeit erniedrigt. Ältere Tiere verhalten sich meist klinisch inapparent. Das Equine Herpesvirus vermehrt sich in den Epithelien der Nase, des Pharynx, der Trachea und der Bronchien und streut in die regionalen Lymphknoten. Junge Fohlen entwickeln zum Teil in den mukösen Bereichen des oberen Respirationstraktes Herpes typische Läsionen. Eine Reinfektion mit EHV ist innerhalb von 4 bis 5 Monaten möglich, jedoch verläuft diese meist subklinisch. Bei der manifesten Form der Krankheit entstehen häufig Sekundärinfektionen mit Streptokokken, die sich bei jungen Fohlen in Bronchopneumonien äußern (Allen und Bryans 1986).

Der Nachweis von EHV-1 und EHV-4 erfolgt über die Virusanzucht in equinen Zellkulturen aus während der Fieberphase entnommenen nasopharyngealen Tupfern von Pferden. Die Tupfer sollten in gekühltem Transportmedium dem Labor zur weiteren Untersuchung schnellstmöglich zugesandt werden. Auch der Einsatz der aus dem Blut von akut erkrankten Tieren gewonnenen Leukozytenfraktion ist zur Virusanzucht möglich. Die Virusisolierung ist jedoch aufgrund der hohen Sensibilität des Virus und der kurzen und zum Teil geringen Virusausscheidung häufig nicht erfolgreich. Nach der Virusisolierung erfolgt mit Hilfe Typ spezifischer monoklonaler Antikörper in Form von Immunfluoreszenztests oder mit Antigen-detektierenden ELISA die weitere Identifizierung des Virus (Allen und Bryans 1986, Crabb und Studert 1995).

Die PCR (siehe Abbildung 1) zum Nachweis EHV spezifischer DNA stellt eine gute Alternative zur aufwändigen Virusisolierung dar (Lawrence et al. 1994, Osterrieder et al. 1994, Wagner et al. 1992). Bei einem Einsatz von Nasentupfern ist die PCR sensitiver als die Virusisolierung (Van Maanen et al. 2002). Der Nachweis der Virausscheidung ist mit Hilfe der PCR über einen längeren Zeitraum möglich, sodass die Entnahme des in der PCR zu untersuchenden Probenmaterials nicht unbedingt in der akuten Phase der Erkrankung erfolgen muss.

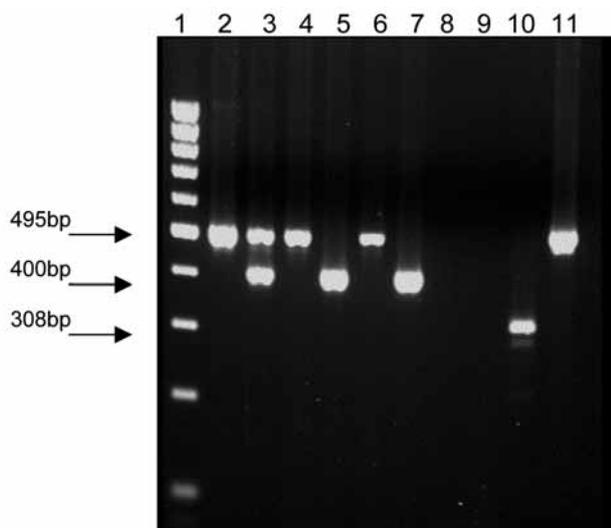


Abb 1 Produkte der EHV-1-PCR im Agarosegel dargestellt: Größenstandard (1), Wildtypstamm-positive Proben (2, 4, 6), interne Amplifikationskontrollen (3, 5, 7), negative Präparationskontrolle (8), negative PCR-Kontrolle (9), positive PCR-Kontrolle (Impfstamm) (10), positive PCR-Kontrolle (Wildtypstamm) (11).

Agarose gel electrophoresis of EHV-1-PCR products: DNA-ladder (1), wild-type strain positive samples (2, 4, 6), internal amplification controls (3, 5, 7), negative preparation control (8), negative PCR control (9), positive PCR control (modified live vaccine strain) (10), positive PCR control (wild-type strain) (11).

Bei einer EHV-Infektion sind neutralisierende Antikörper ab der 2. Woche bis zu einem halben Jahr nachweisbar und haben ihren maximalen Spiegel in der 3.-5. Woche erreicht. Bei latent infizierten Virusträgern gibt es jedoch Phasen, in denen die neutralisierenden Antikörper unter die Nachweisgrenze fallen und somit serologisch nicht erfasst werden können. Aufgrund der hohen Seroprävalenz von EHV-4 und der in einigen Testverfahren vorliegenden Kreuzreaktion der EHV-1- und EHV-4-Antikörper, ist eine Interpretation des vorliegenden Immunstatus des Tieres nur über eine gepaarte Serumprobe (im Abstand von 2 bis 4 Wochen) möglich. In der Routinediagnostik sind neben dem Virusneutralisationstest (VNT), die Komplement-Bindungs-Reaktion (KBR) zum Nachweis von komplementbindenden Antikörpern, die jedoch nur bis zu einem Monat p.i. nachweisbar sind und der ELISA die am häufigsten eingesetzten Verfahren zum indirekten Erregernachweis. Die Messung des Antikörperspiegels mit Hilfe des Virusneutralisationstests ergibt bei frühen Infektionen meist nur eine schwache oder sogar gar keine Antwort (McCartan et al. 1995). Bei einer beginnenden Infektion mit EHV-4 treten Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen EHV-1 auf, die insbesondere in der KBR und im VNT detektiert werden. Aufgrund dieser Eigenschaft sind diese Nachweismethoden für eine Typ-spezifische serologische Untersuchung nicht geeig-

net (McCartan et al. 1995). Der bereits in der Routinediagnostik erfolgreich eingesetzte Differenzierungs-ELISA (siehe Abbildung 2) zum Nachweis von Antikörpern gegen Epitope immundominanter Strukturproteine (Glykoprotein G) erlaubt anhand von gepaarten Serumproben eine Typ-spezifische Unterscheidung zwischen EHV-1 und EHV-4 (Crabb et al. 1993, 1995).

Zur EHV-Diagnostik lässt sich zusammenfassend feststellen, dass die PCR aufgrund der besseren Sensitivität, der Schnelligkeit der Methode und dem möglichen Nachweis des Virus über einen längeren Zeitraum nach Infektion der Virusisolierung gegenüber überlegen ist. Als serologisches Nachweisverfahren wird der Differenzierungs-ELISA zur Unterscheidung von EHV-1 und EHV-4-Antikörpern aus gepaarten Serumproben in der Routinediagnostik erfolgreich eingesetzt (Crabb et al. 1995, Drummer et al. 1995).

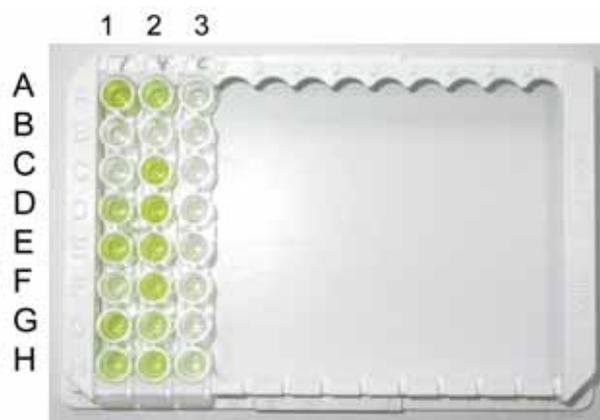


Abb 2 EHV-1/4-Antikörper-ELISA: EHV-1-Antigen (Spalte 1), EHV-4-Antigen (Spalte 2), Kontrollantigen (Spalte 3), EHV-1/4-Positivkontrollserum (Reihe A), EHV-1/4-Negativkontrollserum (Reihe B), EHV-4-Positivkontrollserum (Reihe C), diagnostische Serumproben (Reihe D-H).

EHV-1/4-Antikörper-ELISA: EHV-1-Antigen (column 1), EHV-4-Antigen (column 2), control antigen (column 3), EHV-1/4 positive control serum (line A), EHV-1/4 negative control serum (line B), EHV-4 positive control serum (line C), diagnostic serum samples (line D-H).

Bakterielle Erreger

Streptokokken

Streptokokken sind grampositive, β -hämolyzierende Bakterien, die als Erreger eitriger Entzündungen bei Mensch und Tier von klinischer Bedeutung sind.

Streptococcus equi subsp. *equi*

Streptococcus equi subsp. *equi* (kurz: *Streptococcus equi*) gehört zu den primär pathogenen Erregern von Atemwegserkrankungen bei Pferden. Insbesondere Tiere in einem Alter von 1-5 Jahren sind für eine *Streptococcus equi*-Infektion prädisponiert. Er verursacht beim Pferd vor allem das spezifische Krankheitsbild der Druse. *Streptococcus equi* gilt als Ursache für Septikämien bei Fohlen (Proctor 1969) und in seltenen Fällen auch als Aborterreger bei Stuten. *Streptococ-*

cus equi kann in der direkten Umgebung des Pferdes Tage bis Wochen überleben (Jorm 1991). Die Übertragung des Erregers verläuft direkt über eine Tröpfcheninfektion oder indirekt durch kontaminierte Tränkeimer, Futtergeschirre usw. Die Aufnahme des Keimes erfolgt über die Schleimhäute des Nasen-Rachenraumes. Nach einer Inkubationszeit von ca. 4-8 Tagen treten erste Krankheitserscheinungen in Form von Fressunlust, Apathie, Fieber (bis zu 41°C), ein- oder beidseitigem seromukösen bis purulentem Nasenausfluss, Schwellung der Mandibularlymphknoten, Husten, Druckempfindlichkeit des Kehlkopfes und eine gestreckte Kopf- und Halshaltung auf. Die „schwere Form“ der Druse geht mit mukopurulentem Nasenausfluss, eitriger Lymphadenitis mit abszedierenden, durch die Haut durchbrechenden Lymphknoten im Hals-, Kopfbereich und anderen Körperregionen einher. Durch Einengung des Pharynx kommt es zu einer lebensbedrohlichen Dyspnoe und Dysphagie. 5 Tage p.i. ist eine deutliche Leukozytose festzustellen. Nach Vermehrung des Erregers über die Lymph- und Blutbahnen, schließen sich hochgradige Lymphadenitiden mit Abszedierung der Kopf- und Halslymphknoten und Metastasierungen in anderen Körperlymphknoten insbesondere der Gekrösewurzel an. Durch Besiedlung der Axillar- und Buglymphknoten sind Lahmheitserscheinungen die Folge. Die nasale Ausscheidung des Erregers beginnt 2-3 Tage nach dem Auftreten von Fieber und hält für 2-3 Wochen, in einigen Fällen bis zu 6 Wochen nach dem Abklingen klinischer Symptome an (Chanter et al. 1998, Newton et al. 1997, Timoney 1987). Bei diesen Tieren, die subklinische Überträger darstellen, ist der Erreger am ehesten in den Tonsillen und am weichen Gaumen nachweisbar (Wood et al. 1993). 75 % der erkrankten Tiere entwickeln nach überstandener Infektion eine stabile und lang anhaltende Immunität gegen *Streptococcus equi*. Ältere Pferde mit einer Residualimmunität entwickeln eine milde katarrhalische Form der Druse, die durch Nasenausfluss, Husten und leichtes Fieber charakterisiert ist. In seltenen Fällen treten kleine Lymphknotenabszesse auf (Sweeney 2005, Timoney 1993). Säugende Fohlen rekonvaleszenter Stuten sind bis ins Absetzalter vor einer Infektion mit *Streptococcus equi* durch die Aufnahme von IgG und IgA-haltigem Kolostrum innerhalb der ersten 24 Stunden post partum (p.p.) geschützt (Sweeney et al. 2005).

Der direkte Nachweis von *Streptococcus equi* aus Eiter-, Abszessmaterial, Nasen- und Tracheobronchialsekret erfolgt routinediagnostisch mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchung und biochemischer Differenzierung. Die kulturelle Untersuchung gilt als sogenannter „Goldstandard“ für die Detektion von *Streptococcus equi* (Sweeney et al. 2005). Das Auftreten anderer β -hämolyzierenden Streptokokken wie *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* erschwert häufig die Interpretation der kulturellen Untersuchung, sodass eine biochemische Differenzierung unumgänglich ist (Timoney und Artiushin 1997). Die kulturelle Untersuchung kann sich während der Inkubationszeit und der frühen klinischen Phase erfolglos darstellen, denn *Streptococcus equi* ist gewöhnlich während der ersten 24-48 Stunden nach Ausbruch der Fieberphase auf der Mukosa nicht gegenwärtig. Durch tägliches Messen der Rektaltemperatur kann der Ausbruch einer Erkrankung früh erkannt und somit betroffene Tiere auch früh isoliert werden (Sweeney et al. 2005, Timoney 2003). Der Einsatz von Nasenspülflüssigkeiten (50 ml warmer Kochsalzlösung) zeigt aufgrund des größeren beprobten Schleimhaut-

bereichs gegenüber dem Einsatz von Nasentupfern in der kulturellen Untersuchung Ergebnisse höherer Sensitivität (Galán et al. 1986, Timoney und Artiushin 1997). Untersuchungen zeigten, dass bei Pferden, bei denen vorrangig die Lymphonodii retropharyngeales mediales durch die Druse betroffen sind, *Streptococcus equi* aus Nasentupfern oder Nasenspülproben über mehrere Monate kulturell nicht nachweisbar ist. Die Ausscheidung des Erregers beginnt erst sehr spät und verläuft sporadisch. Nur durch eine endoskopische Untersuchung der Luftsäcke und Probenentnahme gelingt die kulturelle Isolierung des Erregers (Newton et al. 1997). Als eine gute Alternative bzw. Ergänzung zum kulturellen Nachweis wird die PCR als eine Methode mit hoher Spezifität und Sensitivität zum Nachweis von *Streptococcus equi* spezifischer DNA eingesetzt (Newton et al. 2000, Timoney und Artiushin 1987). Der Vorteil der PCR gegenüber der Kultur ist die bessere Nachweisgrenze. Der Nachteil der PCR liegt in dem möglichen Vorliegen von Inhibitoren in dem diagnostischen Material insbesondere in Nasentupfern und Tracheobronchialsekret, die möglicherweise negative PCR-Ergebnisse zur Folge haben. Studien zeigen, dass die PCR kombiniert mit der kulturellen Untersuchung aus Nasentupfern bzw. -spülflüssigkeiten die Nachweisrate von *Streptococcus equi* aus Pferden, deren Luftsack erkrankt ist, deutlich erhöht. Noch Monate nachdem *Streptococcus equi* kulturell nicht mehr nachweisbar ist, ist ein positiver Nachweis mit Hilfe der PCR möglich (Newton et al. 1997, Timoney und Artiushin 1997). Bei rekonvaleszenten Tieren jedoch ist aufgrund der schnellen mukoziliären Clearance des Nasenrachenraumes der direkte Erregernachweis mittels PCR erfolglos (Newton et al. 1997, Timoney und Artiushin 1997).

Der Einsatz einer Multiplex-PCR zur Differenzierung von *Streptococcus equi* subsp. *equi* und *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* auf der Basis des Superoxid-Dismutase-Gens und zweier nur bei *Streptococcus equi* subsp. *equi* vorkommenden Exotoxin-Genen ermöglicht eine einfache und schnelle Identifizierung dieser beiden eng verwandten Spezies in der Routinediagnostik (Alber et al. 2004). Geeignete Untersuchungsmaterialien sind, abhängig vom Krankheitsgeschehen, neben Organmaterialien wie Lunge und Lymphknoten, Nasentupfer und Nasenspülflüssigkeiten, Tracheobronchialsekret und im Falle von Abszedierungen Abszessmaterial und Eiter. Eine Vorinkubation in Nährmedium kann eine Anreicherung des Erregers erzielen und somit eine Erhöhung der Sensitivität beim Nachweis mittels PCR bewirken.

Als indirektes Testverfahren wird in den USA ein ELISA zum Nachweis von *Streptococcus equi*-spezifischen Antikörpern aus Blutserum eingesetzt, der jedoch in Deutschland bislang nicht zugelassen ist (Sheoran et al. 1997, Sweeney et al. 2005, Timoney 1997). Über 15 verschiedene an der Oberfläche exprimierte Proteine von *Streptococcus equi* führen während der Infektion zu einer starken Antikörperantwort im Serum (Timoney et al. 1985). Insbesondere die Immunantwort gegenüber dem SeM-Protein, dem wichtigsten Virulenzfaktor und protektivem Immunogen von *Streptococcus equi* (Sheoran et al. 2002, Sweeney et al. 2005, Timoney 2004), kann in diesem ELISA quantitativ bestimmt werden. Diese Testmethode erlaubt keine Differenzierung zwischen Impfstoff- und Infektionsantikörpern, doch liefern Antikörperproben gepaarter Serumproben und zusätzliche Informationen über mögliche Impfungen einen genaueren Anhaltspunkt über den

Infektionsstatus. In den USA durchgeführte Studien zeigten, dass nach einer Infektion die gebildeten Antikörper für 6 Monate im Serum verbleiben, wobei bereits der Höhepunkt des Antikörperspiegels bei einer Infektion nach 5 Wochen erreicht ist; kommerzielle Extrakt-Vakzinen zeigten ebenfalls für 6 Monate einen Antikörperspiegel im Serum, wobei bereits der Höhepunkt des Antikörperspiegels bei einer Impfung nach 2 Wochen erreicht wurde (Sheoran et al. 1997). Der ELISA kann somit in den USA erfolgreich zur Detektion frischer Infektionen und zur Überprüfung eines eventuell erforderlichen Impfstoffeinsatzes genutzt werden (Timoney et al. 1997). In Deutschland gibt es bisher nur einen zugelassenen intramukosal zu verabreichenden Lebendimpfstoff und keine Extrakt-Vakzine. Die Differenzierung zwischen Impf- und Infektionsantikörper wurde bei intramukosal verabreichten Impfstoffen mittels ELISA auf SeM-Basis nach bisherigem Kenntnisstand noch nicht überprüft.

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus*

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (kurz: *Streptococcus zooepidemicus*) ist ein natürlicher Besiedler der Maulhöhle des Pferdes (Baily und Love 1991, Woolcock 1975). Auch bei gesunden Pferden kann dieser Erreger als ubiquitärer Keim auf den Tonsillen und dem oberen Respirationstrakt isoliert werden. *Streptococcus zooepidemicus* spielt als Infektionserreger bei Nabelinfektionen und Wundinfektionen eine bedeutende Rolle (Selbitz 1992). Vor allem bei Fohlen und Jungpferden zeigen sich Infektionen durch *Streptococcus zooepidemicus* häufig als respiratorische Erkrankungen, der sogenannten Streptokokken-Pharyngitis, aber auch als eitrige Bronchopneumonien und in Form der Fohlenspätlähme (klassische Fohlenlähme). *Streptococcus zooepidemicus* ist das am häufigsten aus dem Atmungstrakt des Pferdes isolierte Bakterium (Hirsh und Jang 1987, Lavoie et al. 1994, Wood et al. 1993). Häufig bleibt jedoch unklar ob der Keim primär pathogen oder als Begleiterreger an dem Krankheitsgeschehen beteiligt ist. Bei der Streptokokken-Pharyngitis handelt es sich um eine früher recht häufig, heute eher selten auftretende Erkrankung junger Pferde. Abhängig von der Keimbelastung breitet sich der Erreger bei einer Infektion der Tonsillen bis in die ventralen Lungenregionen aus (Oikawa et al. 1994). Insbesondere Stresssituationen, wie hohe Besatzdichten, ständig wechselnde Pferdepopulationen, hohe Temperaturen, Parasitenbefall und das Absetzen der Fohlen begünstigen das Entstehen von *Streptococcus zooepidemicus* bedingten Erkrankungen (Timoney 1991). Die Verbreitung des Erregers erfolgt aerogen oder indirekt über kontaminiertes Futter, Tränken oder Ställe. Die Pharyngitis stellt häufig eine Folge von Virusinfektionen insbesondere von EHV-4-Infektionen dar; sie wird begleitet von einer Rhinitis, Sinusitis und einer eitrigem Bronchitis bis Bronchopneumonie (Sweeney et al. 1991). Klinisch ist die Infektion mit *Streptococcus zooepidemicus* kaum von einer Infektion mit *Streptococcus equi* zu unterscheiden. Die Pferde zeigen Fieber bis zu 41°C, eitrigem und mit Futterpartikeln vermischtem Nasenausfluss, feuchten Husten, Lymphknotenschwellungen, eine gestreckte Kopf- und Halshaltung, Speicheln und Schluckbeschwerden. Bei einer Beteiligung von *Streptococcus equi* kann sich eine Abszedierung der Kehlganglymphknoten anschließen. Blutuntersuchungen diagnostizieren eine geringgradige Anämie mit einer Leukozytose, Granulozytose

und einer Hyperfibrinogenämie (Lavoie et al. 1994). Ohne antibiotische Behandlung dauert die Erkrankung ein bis zwei Wochen an. Die als Fohlenspätlähme bezeichnete Streptokokken-Infektion der neugeborenen Fohlen wird durch *Streptococcus zooepidemicus* hervorgerufen. In den meisten Fällen werden die Fohlen gesund geboren und erkranken bei mangelnder Kolostrumaufnahme aufgrund eines geringen IgG-Spiegels im Serum in der Regel nach dem 5. Lebenstag mit hohem Fieber, Saugunlust, Mattigkeit, Anorexie und ausgeprägter Lahmheit. Präpartal wird der Erreger intrauterin und omphalogen übertragen, postpartal gelten der Nabelstumpf, die nasale oder orale Aufnahme des Erregers und die Aufnahme des Erregers über die Schleimhäute der Augen als Übertragungsweg (Bostedt 1999). Bei einer Vielzahl der Fohlen manifestiert sich die Erkrankung in Form einer eitrigem Bronchopneumonie. Bei älteren Saugfohlen, Absetzern und älteren Pferden äußert sich die Streptokokken-Besiedlung meist in einer Infektion der tiefen Atemwege, die durch mukös bis mukopurulenten Nasenausfluss und durch Schädigungen der Spitzenlappen charakterisiert ist (Viel und Hoffmann 1995). Bei adulten Tieren kann *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* insbesondere nach Übertragung des Keimes über den Deckakt zu Endometritiden und Aborten führen (Giles et al. 1993).

Der diagnostische Erregernachweis von *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* erfolgt ähnlich wie bei *Streptococcus equi* subsp. *equi* sowohl über die bakteriologische Untersuchung mit anschließender biochemischer Differenzierung als auch über den Nachweis spezifischer DNA mit Hilfe der PCR. Ähnlich wie bei *Streptococcus equi* subsp. *equi* gilt die kulturelle Untersuchung als „Goldstandard“. Doch erschweren die im Probenmaterial vorliegende Begleitflora und das Auftreten anderer β -hämolyzierender Streptokokken den kulturellen Nachweis des Erregers, sodass erst eine biochemische Untersuchung eine genaue Identifizierung des Keimes ermöglicht.

Der Einsatz der bereits unter *Streptococcus equi* subsp. *equi* beschriebenen Multiplex-PCR zur Differenzierung von *Streptococcus equi* und *Streptococcus zooepidemicus* ermöglicht eine einfache und schnelle Identifizierung dieser beiden Erreger in der Routinediagnostik (Alber et al. 2004).

Rhodococcus equi

Rhodococcus equi, ein grampositives pleomorphes Stäbchen, ist ein weltweit verbreiteter Infektionserreger und eine der wichtigsten Ursachen für Atemwegserkrankungen von ein bis sechs Monate alten Fohlen. Die Erkrankung ist vornehmlich durch eitrige Bronchopneumonien mit ausgedehnter Abszessbildung und Lymphadenitis charakterisiert. *Rhodococcus equi* ist ein ubiquitär vorkommender Bodensaprophyt, der sowohl aus dem Kot von Herbivoren wie auch aus dem Kot von Omnivoren isoliert werden kann (Rao et al. 1982, Roberts 1957). Ein Auftreten dieses Erregers wird zunehmend bei immunsuppressiven Menschen beschrieben (Magnani et al. 1992, Scott et al. 1995). Als Hauptübertragungswege gelten die Inhalation und die Aufnahme des Erregers über den Verdauungstrakt (Johnsen et al. 1983, Martens et al. 1982), wie sekundär auch der omphalogene und intrauterine Weg und die Übertragung durch wandernde Parasitenlarven (Barton

und Hughes 1980). *Rhodococcus equi* bedingte Erkrankungen verlaufen in einigen Pferdebetrieben endemisch in anderen wiederum nur sporadisch, abhängig von den unterschiedlichen Umweltbedingungen und der vorliegenden Virulenz des Erregers, wobei von einer Morbidität von 80% und von einer Mortalität von 5-17% berichtet wird (Prescott 1987, Takai et al. 1991). Der Nachweis dieses koprophilen Erregers erfolgt vermehrt in heißen, trockenen und windigen Sommermonaten (Hughes und Sulaiman 1987, Prescott et al. 1984, Prescott 1987). *Rhodococcus equi* ist ein fakultativ intrazellulärer Erreger, der die Fähigkeit besitzt in Makrophagen (Alveolarmakrophagen) zu persistieren. Ergebnisse früher Untersuchungen zeigten, dass der Schutz der Fohlen durch die humorale Immunität eher geringfügig ausgeprägt ist. Daraus wird geschlossen, dass die Immunität primär auf zellvermittelten Mechanismen beruht (Woolcock et al. 1987). Die Rhodokokkose ist charakterisiert durch Fieber bis zu 41,5°C, Tachypnoe und Dyspnoe mit verstärkter Bauchatmung, Rasseln bei der Auskultation der Trachea und der Lunge, eitrig-granulomatösen Bronchopneumonien mit starker Abszessbildung und Lymphadenitiden (Zink et al. 1986). Ca. 50% der an Pneumonie erkrankten Fohlen weisen auch eine intestinale Infektion auf, die jedoch selten mit klinischen Symptomen wie Kolik, Aszites oder Diarrhoe einhergeht. Desweiteren sind nicht-septische Polysynovitiden bevorzugt im Tibiotarsal und den steifen Gelenken, septische Arthritiden und Osteomyelitiden durchaus diagnostizierbar. Erkrankungen erwachsener Pferde sind jedoch äußerst selten.

Um die klinische Verdachtsdiagnose der Rhodokokkose zu untermauern, wird häufig die bakteriologische Untersuchung kombiniert mit der zytologischen Untersuchung des Tracheobronchialsekretes zur Klärung einer Infektion als sogenannter „Goldstandard“ eingesetzt (Giguère und Prescott 1997, Prescott 1991). Da jedoch *Rhodococcus equi* fakultativ intrazellulär lebt und nur periodisch ausgeschieden wird, ist dieser Keim nur bedingt kulturell nachweisbar (Martens et al. 1982). Weitere empfohlene diagnostische Tests sind Blutuntersuchungen, Fibrinogenmessung, röntgenologische und sonographische Untersuchungen (Althaus 2004, Giguère und Prescott 1997). Bei über 3 Monate alten Fohlen muss bei knotigen Veränderungen und Lymphadenopathien *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus* in der röntgenologischen Untersuchung als Differentialdiagnose berücksichtigt werden (Lavie et al. 1994). Bei Fohlen mit einer durch *Rhodococcus equi* verursachten Pneumonie liegt meist eine Hyperfibrinogenämie, wie auch eine neutrophile Leukozytose und Monozytose vor (Sweeney et al. 1987). Ein weiteres Charakteristikum für eine *Rhodococcus equi*-Infektion ist der erhöhte Gehalt an Thrombozyten (Leadon et al. 1988).

Als häufig eingesetzter direkter Erregernachweis gilt nach wie vor, gemeinsam mit der zytologischen, die bakteriologische Untersuchung von Tracheobronchialsekret (TBS), jedoch variieren die Ergebnisse hinsichtlich der Sensitivität der Kultur stark. Die im Untersuchungsmaterial vorherrschenden inhibitorischen Stoffe und die vorliegende Begleitflora können das Wachstum der Rhodokokken hemmen und somit zu falsch negativen Ergebnissen führen (Meyer-Hamme 2004).

Mit Hilfe der PCR kann der Nachweis von *Rhodococcus equi*-DNA aus Blut, Kot, Nasentupfern und Tracheobronchialsekret (TBS) erfolgen, wobei sich mediumhaltige Nasentupfer gegen-

über trockenen Nasentupfern als geeigneteres Material erweisen (Lorenz 2005). Studien zeigten jedoch, dass die Sensitivität der PCR und auch der kulturellen Untersuchung aus TBS deutlich höher als aus Nasentupfern ist (Meyer-Hamme 2004) und ferner auch hinsichtlich der klinischen Bedeutung der Erregernachweis aus TBS eine stärkere Aussagekraft besitzt. Neben dem geringen Zeit- und Kostenaufwand vermag die PCR *Rhodococcus equi*-spezifische DNA zu amplifizieren, die durch den Nachweis von auf dem Virulenz assoziierten Plasmid lokalisierten Sequenzen (z.B. das *vapA*) zugleich Auskunft über die Virulenzeigenschaft des Erregers gibt (Haïtes et al. 1997, Sellon et al. 1997, Takai et al. 1995). Aufgrund des möglichen Verlustes des Plasmids sind verschiedene PCRs auf chromosomaler Ebene für den routinediagnostischen Einsatz etabliert worden, die zusammen mit einer PCR zum Nachweis des Virusplasmids (Sellon et al. 1997) in Form einer Multiplex-PCR zum Nachweis von *Rhodococcus equi*-spezifischer DNA Anwendung finden (Lorenz 2005).

Zu den indirekten Testmethoden, *Rhodococcus equi*-spezifische Antikörper aus Blutserum nachzuweisen, zählen zum einen die Agar-Gel-Immundiffusion (AGID) (Hietala et al. 1985, Nakazawa 1987) und die synergistische Hämolysehemmung (SHI) (Skalka 1987), wobei Antikörper gegen die von *Rhodococcus equi* gebildeten membranolytischen Exoenzyme detektiert werden (Prescott et al. 1982, 1984).

Die in der Routinediagnostik gebräuchlichste und aussagekräftigste serologische Nachweismethode ist jedoch der ELISA. Verschiedene auf unterschiedlichen Antigenen basierende ELISA-Tests, wurden zur Bestimmung der humoralen Immunantwort in Serum- wie auch in Milchproben entwickelt (Hietala et al. 1985, Prescott et al. 1996, Takai et al. 1985, Tri-skatis 2004).

Im Zusammenhang mit den zuvor genannten Fohlenerkrankungen werden auch ELISA zur quantitativen Analyse von IgG im Blutserum und im Kolostrum von Pferden (Luft 2000, Markus 2005) wie auch ein kommerziell erhältlicher semiquantitativer IgG-Schnelltest auf ELISA-Basis zur Anwendung in Serum-, Plasma- oder Vollblut mittlerweile routinediagnostisch eingesetzt und erlauben zugleich eine Quantifizierung der im Blut bzw. im Kolostrum vorliegenden IgGs.

Actinobacillus equuli

Actinobacillus equuli ist ein gramnegatives Stäbchen und gehört zu der Familie der *Pasteurellaceae*. Phänotypisch zeigt diese Art eine hohe Variabilität hinsichtlich der hämolysierenden Eigenschaft auf. Hämolysierende Stämme von *Actinobacillus equuli*, auch als *Actinobacillus equuli* subsp. *hämolyticus* bezeichnet, gehören zwar zur Normalflora der Pferdemaullöhle, doch können sie häufig auch aus Tracheaspülproben oder anderen respiratorischen Sekreten isoliert werden, was eine deutliche Präferenz zum Respirationstrakt erkennen lässt (Jang et al. 1987). *Actinobacillus equuli* subsp. *hämolyticus* stellt einen opportunistischen Krankheitserreger dar. Bei Infektionen des Respirationstraktes, Septikämien, Metritiden, Mastitiden, Arthritiden, Endokarditiden, Meningitiden und Totgeburten konnte der Keim nachgewiesen werden (Bisgaard 1993, Sternberg et al. 1999). Nicht hämolysierende Stämme von *Actinobacillus equuli*, auch als *Actinobacillus*

equuli subsp. *equuli* bezeichnet, können aus der Maulhöhle und dem Verdauungstrakt gesunder Pferde isoliert werden. Insbesondere bei jungen Fohlen gelten diese Erreger als fakultativ pathogen. *Actinobacillus equuli* ist ein besonders in großen Zuchtbeständen weit verbreiteter Infektionserreger bei jungen Fohlen. Nach *Streptococcus equi* subsp. *zooeidemicus* ist er der zweithäufigste potentiell pathogene Erreger der bei Atemwegsinfektionen des unteren Respirationstraktes isoliert wird (Gerber et al. 1995). Der Erreger wird primär omphalogen, intrauterin oder p.p. auf das Fohlen übertragen, demzufolge lebensschwache Fohlen oder Fohlen mit septikämischen Krankheitserscheinungen wie Polyarthritiden und Glomerulonephritis, der sogenannten Fohlenfrühlähme geboren werden. Die Fohlen versterben in den ersten 24 Stunden. Bei einem langsamen Verlauf zeigen die Tiere neben einer Körpertemperatur von über 40°C, Apathie, Durchfälle, Koliken, Schläfrigkeit bis hin zu komatösen Zuständen („sleepy foal disease“). Bei älteren Fohlen werden gelegentlich Pneumonien und Polyarthritiden beobachtet. Schwere eitrige Pneumonien bei Saugfohlen lassen sich meist auf eine Mischinfektion mit *Streptococcus equi* subsp. *zooeidemicus* zurückführen. Ohne antibiotische Behandlung verläuft die durch *Actinobacillus equuli* hervorgerufene Erkrankung bei Saugfohlen meist tödlich. Auch die Prognose bei älteren an Pneumonie erkrankten Fohlen ist abhängig vom Zeitpunkt der therapeutischen Behandlung. Der routinediagnostische Nachweis erfolgt mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchung und weiterführender biochemischer Differenzierung der beiden Stämme. Das Untersuchungsmaterial ist abhängig vom Krankheitsgeschehen. Bei respiratorischen Symptomen eignen sich insbesondere in Transportmedium aufgenommene respiratorische Sekrete wie auch Nasopharyngealtupfer zum direkten Erregernachweis. Bei der „sleepy foal disease“ sichert die bakteriologische Untersuchung des Harns die klinische Verdachtsdiagnose ab.

Die PCR als direkte Nachweismethode ermöglicht eine schnelle Differenzierung der beiden Stämme. Der für den hämolysierenden Phänotyp des *Actinobacillus equuli*-verantwortliche Faktor wird als Aqx-Protein, ein Mitglied der RTX („repeats in toxin“) -Toxin-Familie, beschrieben (Berthoud et al. 2002, Kuhnert et al. 2003). Das für das Aqx-Protein kodierende axq-Gen ist spezifisch für *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*. Mittels PCR kann auf Basis des axq-Gens so eine Differenzierung von *Actinobacillus equuli* erzielt werden.

Abschließende Bemerkung

Eine Erreger bestimmende Diagnose ist bei den zuvor beschriebenen Infektionskrankheiten und ihren mannigfaltigen Ausprägungen allein durch die klinischen Untersuchungen nur schwer oder nicht zu erreichen. Eine gezielte Therapie ist jedoch nur anhand des ursächlich infektiösen Agens auszurichten, und der unnötige Einsatz von Antiinfektiva sollte im Hinblick auf die Resistenzentwicklung unbedingt vermieden werden. Daher sollten vermehrt die zur Verfügung stehenden labor diagnostischen Methoden genutzt werden. Auch wenn jede Methode für sich nicht 100%ige Sicherheit gewährt, können viele Untersuchungsergebnisse letztendlich zu einer umfassenden und verlässlichen Diagnose führen und damit ihren Beitrag zur Pferdegesundheit beitragen.

Literatur

- Alber J., A. El-Sayed, C. Lämmler, A. A. Hassan, R. Weiss und M. Zschöck (2004): Multiplex Polymerase Chain Reaction for Identification and Differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *zooeidemicus* and *Streptococcus equi* subsp. *equi*. J. Vet. Med. 51, 455-458
- Allen G. P. und J. T. Bryans (1986): Molecular epizootiology, pathogenesis and prophylaxis of Equine Herpesvirus-1 infections. In: Progress in Vet. Microbiol. and Immunol. Ed.: R. Pandey, Karger, Basel, 78-144
- Althaus O. P. (2004): Früherkennung von *Rhodococcus equi*-Pneumonie bei Fohlen. Vet.Med.Diss. Hannover
- Bailey G. D. und D. N. Love (1991): Oral associated bacterial infection in horses: studies on the normal anaerobic flora from the pharyngeal tonsillar surface and its association with lower respiratory tract and paraoral infections. Vet. Microbiol. 15, 367-379
- Barton M. D. und K. L. Hughes (1980): *Corynebacterium equi*: a review. Vet. Bull. 50, 65-80
- Berthoud H., J. Frey und P. Kuhnert (2002): Characterization of Aqx and its operon: the haemolytic RTX determinant of *Actinobacillus equuli*. Vet. Microbiol. 87, 159-174
- Birch-Machin I., A. Rowan, J. Pick, J. Mumford und M. Binns (1997): Expression of the nonstructural protein NS1 of equine influenza A virus: detection of Anti-NS1 antibody in post infection equine sera. J. Virol. Methods 65, 255-263
- Bisgaard M. (1993): Ecology and significance of Pasteurellaceae in animals. Zentralbl. Bakteriol. 279, 7-26
- Bostedt H. (1999): Erkrankungen des Bewegungsapparates – Fohlenseptikämie (Fohlenlähme). in: Dietz O. und B. Huskamp (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, 172-173
- Chambers T. M., K. F. Shortridge, D. G. Powell und K. L. Watkins (1994): Rapid diagnosis of equine influenza by the Directigen FLU-A enzyme immunoassay. Vet. Rec. 135, 275-279
- Chambers T. M., R. E. Holland und A. C. K. Lai (1995a): Equine influenza-current veterinary perspectives, part 1. Equine Pract. 17, 19-23
- Chambers T. M., R. E. Holland und A. C. K. Lai (1995b): Equine influenza-current veterinary perspectives, part 2. Equine Pract. 17, 26-30
- Chanter N., J. R. Newton und J. L. N. Wood (1998): Detection of strangles carriers. Vet. Rec. 142, 496
- Crabb B. S. und M. J. Studdert (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. J. Virol. 67, 6332-6338
- Crabb B. S., C. M. Macpherson, G. H. Reubel, G. F. Browning, M. J. Studdert und H. E. Drummer (1995): A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesviruses 4 and 1. Archives of Virology 140, 245-258
- Daly J. M., J. R. Newton und J. A. Mumford (2004): Current perspectives on control of equine influenza. Vet. Res. 35, 411-423
- Donofrio J. C., J. D. Coonrod und T. M. Chambers (1994): Diagnosis of equine influenza by the polymerase chain reaction. J. Vet. Diag. Invest. 6, 39-43
- Edington N., H. M. Welch und L. Griffiths (1994a): The prevalence of latent Equid herpesviruses in the tissues of 40 abattoir horses. Equine Vet. J. 26, 140-142
- Edington N., P. Chester, S. Azam, H. Welcha, J. McGladdery und A. S. Purewal (1994b): Profiles of herpesviruses in circulating leucocytes from Thoroughbred mares and foals using PCR and co-cultivation. Equine Inf. Diseases VII, 251
- Fouchier, R.A., T. M. Bestebroer, S. Herfst, L. Van Der Kemp, G.F. Rimmelzwaan und A. D. Osterhaus (2000): Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. J. Clin. Microbiol. 38, 4096-4101
- Galán, J. E., J. F. Timoney und F. W. Lengemann (1986): Passive transfer of mucosal antibody to *Streptococcus equi*. Infect. Immun. 54, 202-206
- Gerber H., C. Herholz, C. Kleiber, J. Nicolet, R. Straub und V. Gerber (1995): Bakterielle Infektionen der Atemwege. Swiss. Vet. 11, 71-74

- Giguère S. und J. F. Prescott (1997): Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals. *J. Vet. Microbiol.* 53, 313-334
- Giles R. C., Donahue J. M., C. B. Hong, P. A. Tuttle, M. B. Petrites-Murphy, K. B. Poonacha, A. W. Roberts, R. R. Tramontin, B. Smith und T. W. Swerczek (1993): Causes of abortion, stillbirth and perinatal death in horses: 3527 cases (1986-1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203, 1170-1175
- Haites R., G. Muscatello, A. P. Begg und G. F. Browning (1997): Prevalence of the virulence-associated gene of *Rhodococcus equi* in isolates from infected foals. *J. Clin. Microbiol.* 1642-1644
- Hartley C. A., C. R. Wilks, M. J. Studdert und J. R. Gilkerson (2005): Comparison of antibody detection assays for the diagnosis of equine herpesvirus 1 and 4 infections in horses. *Am. J. Vet. Rec.* 66, 5
- Hietala S. K., A. A. Ardans und A. Sansome (1985): Detection of *Corynebacterium equi*-specific antibody in horses by enzyme-linked-immunosorbent assay. *Am. J. Vet. Res.* 46, 13-15
- Hirsh D. W. und S. S. Jang (1987): Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens from horses. *Vet. Clin. North Am.* 3, 181-190
- Hughes K. L. und I. Sulaiman (1987): The ecology of *Rhodococcus equi* and physicochemical influences on growth. *Vet. Microbiol.* 14, 241-250
- Jang S. S., E. L. Biberstein und D. C. Hirsh (1987): *Actinobacillus suis*-like organisms in horses. *Am. J. Vet. Res.* 48, 1036-1038
- Johnson J. A., J. F. Prescott und R. J. F. Markham (1983): The pathology of experimental *Corynebacterium equi* infection in foals following intragastric challenge. *Vet. Pathol.* 20, 450-459
- Jorm L. R. (1991): Laboratory studies on the survival of *Streptococcus equi* subsp. *equi* on surfaces. *Equine Inf. Dis.* VI, 39-44
- Kuhnert P., H. Berthoud, H. Christensen, M. Bisgaard und J. Frey (2003): Phylogenetic relationship of equine *Actinobacillus* species and distribution of RTX toxin genes among clusters. *Vet. Res.* 34, 353-359
- Lavoie J. P., L. Fiset und S. Laverty (1994): Review of 40 cases of lung abscesses in foals and adult horses. *Equine Vet. J.* 26, 348-352
- Lawrence G. L., J. Gilkerson, D. N. Love, M. Sabine und J. M. Whalley (1994): Rapid single step differentiation of equid herpesviruses 1 and 4 from clinical material using the polymerase chain reaction and virus-specific primers. *J. Virol. Methods* 47, 59-72
- Leadon D., B. Farrelly, U. Fogarty und T. Buckley (1994): Platelet counting in diagnosis of *Rhodococcus equi*. *Vet. Rec.* 123, 279
- Livesay G. J., T. O'Neill, D. Hannant, M. P. Yadav und J. A. Mumford (1993): The outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 1989; diagnostic use of an antigen capture ELISA. *Vet. Rec.* 133, 515-519
- Lorenz N. (2005): Etablierung und Validierung einer PCR in der Routinediagnostik zum Nachweis von *Rhodococcus equi* in Untersuchungsmaterial aus dem Atemtrakt von Fohlen. *Vet. Med. Diss. Hannover*
- Luft C. S. (2000): Untersuchungen zur systemischen Verfügbarkeit von Immunglobulin G beim neugeborenen Fohlen. *Vet. Med. Diss. München*
- Madic J., S. Martinovic, T. Naglic, D. Hajsig und S. Cvetnic (1996): Serological evidence of the presence of A/equine-1 influenza virus in unvaccinated horses in Croatia. *Vet. Rec.* 138, 68
- Magnani G., G. F. Elia, M. M. McNeil, J. M. Brown, C. Chezzi, M. Gabrielli und F. Fanti (1992): *Rhodococcus equi* cavitory pneumonia in HIV-infected patients: an unsuspected opportunistic pathogen. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 5, 1059-1064
- Markus R. G. (2005): Bestimmung der Immunglobulin G-Konzentration mittels Refraktometrie, Kolostrometrie und ELISA-Technik sowie Untersuchung weiterer Inhaltsstoffe im Stutenkolostrum. *Vet. Med. Diss. Hannover*
- Martens R. J., R. A. Fiske und H. W. Renshaw (1982): Experimental subacute foal pneumonia induced by aerosol administration of *Corynebacterium equi*. *Equine Vet. J.* 14, 111-116
- Matsumura T., T. Sugiura, H. Imagawa, Y. Fukunaga und M. Kamada (1992): Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 207-211
- McCartan C. G., M. M. Russell, J. L. N. Wood und J. A. Mumford (1995): Clinical, serological and virological characteristics of an outbreak of paresis and neonatal foal disease due to equine herpesvirus-1 on a stud farm. *Vet. Rec.* 136, 7-12
- Meyer-Hamme B. M. (2004): *Rhodococcus equi* und *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* aus Nasentupfern und Tracheobronchialsekret von lungenkranken Fohlen. *Vet. Med. Diss. Hannover*
- Morley P. S., J. R. Bogdan, H. G. Townsend und D. M. Haines (1995): Evaluation of Directigen Flu A assay for detection of influenza antigen in nasal secretions of horses. *J. Equine Vet.* 27, 131-134
- Morley P. S., H. G. Townsend, J. R. Bogdan und D. M. Haines (1999): Efficacy of a commercial vaccine for preventing disease caused by influenza virus infection in horses. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 215, 61-66
- Mumford J. A. (1990): The diagnosis and control of equine influenza. *Proc. Am. Ass. Equine Pract.* 36, 377-385
- Mumford J. A., D. M. Jessett, E. A. Rollinson, D. Hannant und M. E. Draper (1994a): Duration of protective efficacy of equine influenza immunostimulating complex/tetanus vaccines. *Vet. Rec.* 134, 158-162
- Mumford J. A., H. Wilson, D. Hannant und D. M. Jessett (1994b): Antigenicity and immunogenicity of equine influenza vaccines containing a Carbomer adjuvant. *Epid. and Inf.* 112, 421-437
- Nakazawa M., Y. Isayama und M. Kashiwazaki (1987): Diagnosis of *Rhodococcus equi* infection in foals by the agar gel diffusion test with protein antigen. *Vet. Microbiol.* 15, 105-113
- Newton J. R., J. L. Wood, K. A. Dunn, M.N. De Brauwere und N. Chanter (1997): Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. *Vet. Rec.* 140, 84-90
- Newton J. R., K. Vorheyen, N. C. Talbot, J. F. Timoney, J. L. Wood, K. H. Lakhani und N. Chanter (2000): Control of strangles outbreaks by isolation of guttural pouch carriers identified using PCR and culture of *Streptococcus equi*. *Equine Vet. J.* 32, 515-526
- Oie-Manual (2004): OIE-Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines.
- Oikawa M., M. Kamada, Y. Yoshikawa und T. Yoshikawa (1994): Pathology of equine pneumonia associated with transport and isolation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *J. Comp. Pathol.* 111, 205-221
- Osterrieder N., P. H. Hubert, C. Brandmüller und O. R. Kaaden (1994): A touchdown PCR for the differentiation of equine herpesvirus type 1 (EHV-1) field strains from the modified live vaccine strain RacH. *J. Virol. Methods.* 50, 129-136
- Ostlund E. N. (1993): The equine herpesviruses. *Vet. Clin. of North Am.: Equine Practice* 9
- Oxburg L. und A. Hagstrom (1999): A PCR based method for the identification of equine influenza virus from clinical samples. *Vet. Microbiol.* 67, 161-174
- Ozaki H., T. Sugiura, S. Sugita, H. Imagawa und H. Kida (2001): Detection of antibodies to the nonstructural protein (NS1) of influenza A virus allows distinction between vaccinated and infected horses. *Vet. Microbiol.* 82, 111-119
- Patel J. R. und J. Heldens (2005): Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)-epidemiology, disease and immunoprophylaxis: A brief review. *Vet. J.* 170, 14-23
- Plateau E. und C. Cruciere (1983): Study on radial haemolysis method for the detection of anti influenza equi antibodies in equine sera: reliability and expression of the results. *Zentralbl. Veterinärmed (B)* 30, 512-520
- Prescott J.F., M. Lastra und L. Barksdale (1982): Equi factors in the identification of *Corynebacterium equi* Magnusson. *J. Clin. Microbiol.* 16, 988-990
- Prescott J. F., R. Coshan-Gauthier und L. Barksdale (1984): Antibody to equi factor(s) in the diagnosis of *Corynebacterium equi* pneumonia of foals. *Can. J. Comp. Med.* 48, 370-373
- Prescott J. F. (1987): Epidemiology of *Rhodococcus equi* infection in horses. *Vet. Microbiol.* 14, 211-214
- Prescott J. F. (1991): *Rhodococcus equi*: An animal and human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 4, 20-34

- Prescott J. F., A. S. Fernandez, V. M. Nicholson, M. C. Patterson, J. A. Yagier, L. Viel und G. Perkins (1996): Use of a virulence-associated protein based enzyme-linked immunosorbent assay for *Rhodococcus equi* serology in horses. *Equine Vet. J.* 28, 344-349
- Proctor D. L. (1969): Comments of streptococci infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 414-416
- Rao M. S., S. Zaki, B. S. Keshavamurthy und K. Chandrapal Singh (1982): An outbreak of an acute *Corynebacterium equi* infection in piglets. *Indian. Vet. J. Sci. Anim. Husb.* 59, 478-488
- Roberts D. S. (1957): *Corynebacterium equi* infection in a sheep. *Aust. Vet. J.* 33, 21
- Schild G. C., M. S. Pereira und P. Chakraverty (1975): Single radial haemolysis: a new method for the assay of antibody to influenza haemagglutinin. *Bull. WHO* 52, 43-50
- Scott M. A., B. S. Graham, R. Verall, R. Dixon, W. Schaffner und K. T. Tham (1995): *Rhodococcus equi* - an increasingly recognized opportunistic pathogen. Report of 12 cases and review of 65 cases in the literature. *Am. J. Clin. Pathol.* 103, 649-655
- Selbitz H. J. (1992): *Rhodococcus equi*. In: Selbitz H. J. (Hrsg.): *Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie*. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1. Auflage, 233-234
- Sellon D. C., K. Walker, M. Suyemoto und C. Altier (1997): Nucleic acid amplification for rapid detection of *Rhodococcus equi* in equine blood and tracheal wash fluids. *A. J. V. R.* 58, 11
- Sheoran A. S., B. T. Sponseller, M. A. Holmes und J. F. Timoney (1997): Serum and mucosal antibody isotype responses to M-like protein (SeM) of *Streptococcus equi* in convalescent and vaccinated horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 59, 239-251
- Sheoran A. S., S. Artiushin und J. F. Timoney (2002): Nasal mucosal immunogenicity for the horse of a SeM peptide of *Streptococcus equi* genetically coupled to cholera toxin. *Vaccine* 20, 1653-1659
- Skalka B. (1987): Dynamics of equi-factor antibodies in sera of foals kept on farms with differing histories of *Rhodococcus equi* pneumonia. *Vet. Microbiol.* 14, 269-276
- Sovinova O., B. Tumova, F. Pouska und J. Nemeš (1958): Isolation of a virus causing respiratory disease in horses. *Act. Virol.* 2, 52-61
- Sternberg S. und B. Brandstrom (1999): Biochemical fingerprinting and ribotyping of isolates of *Actinobacillus equuli* from healthy and diseased horses. *Vet. Microbiol.* 66, 53-65
- Sweeney C. R., R. W. Sweeney und T. J. Divers (1987): *Rhodococcus equi* pneumonia in 48 foals: response to antimicrobial agents. *Vet. Microbiol.* 14, 329-336
- Sweeney C. R., S. J. Holcombe, S. C. Barningham und J. Beech (1991): Aerobic and anaerobic bacterial isolates from horses with pneumonia or pleuropneumonia and antimicrobial susceptibility patterns of the aerobes. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 198, 839-842
- Sweeney C. R., J. F. Timoney, J. R. Newton und M. T. Hines (2005): *Streptococcus equi* infections in horses: Guidelines for treatment, control and prevention of strangles. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 123-134
- Takai S., S. Kawazu und S. Tsubaki (1985): Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* infection in foals. *Am. Vet. Med. Assoc.* 46, 2166-2170
- Takai S., S. Ohbushi, K. Koike, S. Tsubaki, H. Oishi und M. Kamada (1991): Prevalence of virulent *Rhodococcus equi* in isolates from soil and faeces of horses from horse-breeding farms with and without endemic infections. *J. Clin. Microbiol.* 29, 2887-2889
- Takai S., T. Ikeda und Y. Sasaki (1995): Identification of virulent *Rhodococcus equi* by amplification of gene coding for 15- to 17-kilodalton antigens. *J. Clin. Microbiol.* 33, 1624-1627
- Timoney J. F. und J. Trachmann (1985): Immunologically reactive proteins of *Streptococcus equi*. *Infect. Immun.* 48, 29-34
- Timoney J. F. (1987): Shedding and maintenance of *Streptococcus equi* in typical and atypical strangles. *Equine Inf. Dis.* V 28-33
- Timoney J. F. (1991): The role of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in lower respiratory tract infections of foals. *Equine Infect. Dis.* 4, 79
- Timoney J. F. (1993): Strangles. *Vet. Clin. of North Am.* 9, 2
- Timoney J. F. und S. C. Artushin (1997): Detection of *Streptococcus equi* in equine nasal swabs und washes by DNA amplification. *Vet. Rec.* 141, 446-447
- Timoney J. F. (2004): The pathogenic equine streptococci. *Vet. Res.* 35, 397-409
- Triskatis A.-L. (2004): Semiquantitative Bestimmung von Antikörpern gegen *Rhodococcus equi* in Serum und Kolostrum bei Stuten und Fohlen mittels ELISA und der Vergleich mit Befunden der Lungenuntersuchung. *Vet. Med. Diss. Hannover*
- Van Maanen C. (2002): Equine herpesvirus 1 und 4 infections: an update. *Vet. Q.* 24, 58-78
- Viel L. und A. M. Hoffmann (1995): Respiratory disorders in weanlings and yearlings. *Swiss Vet.* 11, 38-39
- Wadell G. H., M. B. Teigland und M. M. Sigel (1963): A new influenza virus associated with equine respiratory disease. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 143, 587
- Wagner W. N., J. Bogdan und H. Haines (1992): Detection of equine herpesvirus and differentiation of equine herpesvirus type 1 from 4 by the polymerase chain reaction. *Can. J. Microbiol.* 38, 1193-1196
- Welch H. M., C. G. Bridges, A. M. Lyon, L. Griffiths und N. Edington (1992): Latent equid herpesvirus 1 and 4: detection and distinction using the polymerase chain reaction and co-cultivation from lymphoid tissue. *J. Gen. Virol.* 73, 261-268
- Wilson W. D. (1993): Equine influenza. *Vet. Clin. North Am.: Equine Pract.* 9, 257-282
- Wood J. L., M. H. Burrell, C. A. Roberts, N. Chanter und Y. Shaw (1993): Streptococci and Pasteurella spp. associated with disease of the equine lower respiratory tract. *Equine Vet. J.* 25, 314-328
- Wood J. L. N., K. Dunn, N. Chanter und N. Brauwere (1993): Persistent infection with *Streptococcus equi* and the epidemiology of strangles. *Vet. Rec.* 133, 375
- Wood J. M., R. E. Gaines-Das, J. Taylor und P. Chakraverty (1994): Comparison of influenza serological techniques by international collaborative study. *Vaccine* 12, 167-174
- Woolcock J. B. (1975): Epidemiology of equine streptococci. *Res. Vet. Sci.* 18, 113-114
- Woolcock J. B., M. D. Mutimer und P. M. Bowles (1987): The immunological response of foals to *Rhodococcus equi*: A review. *Vet. Microbiol.* 14, 215-224
- Zink M. C., J. A. Yager und N. L. Smart (1986): *Corynebacterium equi* infections in horses, 1958-1984: A review of 131 cases. *Can. Vet. J.* 27, 213-217

Dr. Nicole Lorenz
Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH
Heisterbergallee 12
30453 Hannover
lorenz@ivd-gmbh.de

Pferdeheilkunde Curriculum Berlin

Kolik

18.-19. November 2006

Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften