

# Virusinfektionen der Atemwege des Pferdes – Ätiologie, Epidemiologie, Klinik und Immunpräventive – Teil 1: Equine Influenzaviren und Equine Herpesviren

Peter Thein

## Zusammenfassung

Im Komplex der Atemwegserkrankungen spielen infektiöse wie nicht infektiöse Faktoren eine ursächliche Rolle, daher spricht man von Faktorenkrankheiten. Innerhalb der infektiösen Ursachen spielen die primär pathogenen Influenzaviren die dominierende Rolle, da sie, mit Ausnahme weniger Inseln, weltweit verbreitet sind und trotz Schutzimpfprogrammen immer wieder zu wirtschaftlich bedeutenden Infektionszügen unter Pferden verschiedener Kontinente beitragen. Die Influenza A2-Viren (H3/N8) ändern durch Antigendrift unkalkulierbar ihre immunogenen Oberflächenproteine, insbesondere das Hämagglutinin, und können sich so der bestehenden Immunlage entziehen. Permanente Überwachung der Epidemiologie und daraus resultierende Anpassung der Impfantigene sind daher erforderlich. Die Immunantwort der Pferde nach Impfung mit inaktiviertem Influenzavirus ist eine humorale gegen das jeweilige Hämagglutinin gerichtete, die nach der natürlichen Infektion bezieht weitere, auch zellvermittelte Immunmechanismen in einen belastbaren Immunschutz ein. Die Immunreaktion junger Pferde ist schwächer ausgeprägt als die älterer Pferde mit unterschiedlicher Infektions- wie Impfanamnese. Nationale, wie internationale Impfprogramme, die besprochen werden, haben sich daran zu orientieren und müssen begleitet sein von internationaler Koordination, Kontrolle und epidemiologischer Überwachung. Nicht vergleichbar bezüglich klinischer wie wirtschaftlicher Bedeutung sind die Infektionen der Atemwege mit den obligat persistenten (latenten) Equinen Herpesviren (EHV). Diese verlaufen in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle klinisch inapparent, spielen bei erwachsenen Pferden keine Rolle und können in der Regel bei Fohlen und Pferden im Jährlingsalter klinisch manifest verlaufen. An diesen Infektionen der oberen Atemwege sind Vertreter von EHV4, weniger EHV1 und immer wieder auch EHV2 und EHV5 beteiligt. Alle diese Viren können zu Doppel- und Mehrfachinfektionen führen und werden vorwiegend auch aus klinisch unauffälligen Pferden nachgewiesen. Ätiopathogenetisch bewiesen ist die Infektion des Auges durch EHV2 mit der Folge der Konjunktivitis bis Keratokonjunktivitis spf.. Die Beteiligung von EHV2 und EHV5 an manifesten Infektionen der oberen Atemwege junger Pferde, oft in Gemeinschaft mit Bakterieninfektionen, ist bezüglich ihrer Kausalität noch unklar, die mögliche Beteiligung von EHV5 an der multinodularen Lungenfibrose bei erwachsenen Pferden wird diskutiert. Durch Schutzimpfungen, die z. B. in der Vollblutzucht seit Jahrzehnten obligat gegen EHV1/4 durchgeführt werden, ist weder eine epidemiologische noch klinische Verbesserung der ubiquitären Infektionen der Pferdebestände mit EHV1 und EHV4 – gegen die Impfstoffe existieren – eingetreten. Gegen EHV2 und EHV5 kann nicht geimpft werden. Impfprogramme in bis zu 80% persistent infizierten Pferdepopulationen sind aus verschiedenen Gründen nur als Hilfsmittel innerhalb eines Hygienemanagements in den Beständen anzusehen. Sie erfüllen nicht die an klassische Impfstoffe zu stellenden Ansprüche.

**Schlüsselwörter:** Atemwegsinfektionen / Influenza A-Viren (H7/N7, H3/N8) / Equine Herpesviren (EHV) – EHV1, EHV2, EHV4, EHV5, Epidemiologie / Pathogenese / klinische Manifestation / Diagnostik / Schutzimpfungen / nationale und internationale Kontroll- und Präventionsprogramme

---

## Virusinfections of the respiratory tract in horses – etiology, epidemiology, clinical manifestation, vaccination and defense – Part 1: Equine Influenza and Equine Herpesviruses

Within the respiratory diseases of horses infectious and non infectious factors are of etiological evidence. Within the infectious agents viruses with special affinity to the epithelium of the respiratory tract are of epidemiological importance. Equine influenza A viruses (H7/N7, H3/N8) remain a major cause of respiratory diseases in horses worldwide. The influenza H3/N8 subtypes continue to change their hemagglutinin through antigenic drift. This and the increased international transport of horses resulted in repeated worldwide outbreaks of the H3/N8 disease. Virus shedding even from vaccinated horses spreads the viruses rapidly within susceptible horse populations. This is of significant financial impact. The H3/N8 viruses are endemic in Europe and U.S.A., disease control relies mainly on mandatory vaccination of sport horses. The success however of those programmes is largely dependent on commercially available vaccines, their relevant virus antigens and efficacy in providing clinical and/or virological protection and the correctness and intensity of vaccination programmes. These different situations and programmes, also especially in different horse populations are presented and discussed. Another group of viruses with relevance to the equine respiratory tract are the Equine Herpesviruses (EHV). The equine alphaherpesviruses EHV4 and EHV1 as well as the gammaherpesviruses EHV2 and EHV5 are causative for obligat persistent (latent) infections in upto 80% of the investigated horses worldwide. All together foals and young horses are the target animals for clinical manifest infections of the upper respiratory tract with the participation of one or more members of the a.m. EHV's at the same time in the same organism. The clinical as well financial impact of these infections is not comparable to those following Flu infections. In elder horses the clinically inapparent infections are dominant. Existing vaccines against EHV1 and/or EHV4 and mandatory vaccination programmes can not interrupt the latent stage of these infections and they didn't contribute to significant epidemiological and/or clinical improvement in the vaccinated horses. The etiological importance of EHV2 and EHV5 for clinical manifestations at the respiratory tract is uncertain. EHV2 infections of the horse' eye followed by ceratoconjunctivitis spf. has been confirmed, upper and lower respiratory tract EHV2 and EHV5 infections, often together with bacterial infections are described, the multinodular pulmonary fibrosis, caused by EHV5, is under suspicion. The reduced ability of the present EHV1/EHV4-vaccines requires more patent vaccines. Strict hygienic measurements and management strategies are necessary in controlling these infections.

**Keywords:** Respiratory tract infections / Equine Influenza A- Viruses (H7/N7, H3/N8) / Equine Herpesviruses (EHV) – EHV1, EHV2, EHV4, EHV5 / epidemiology / clinical manifestation / pathogenesis / diagnostic / vaccinations / national/international programmes of control and prevention

## Einleitung

Die Atemwegserkrankungen zählen neben den Erkrankungen des Intestinums weltweit zu den häufigsten, internistischen Problemen des Pferdes. Auf Grund ihrer komplexen Ätiologie, die aus einer Kombination von Missmanagement moderner Pferdehaltung und -nutzung, Stress, Atemwegsbelastung durch biologisch aktive Stäube und Infektionen primär wie sekundär pathogener Mikroorganismen besteht, zählen sie zu den klassischen Faktorenerkrankungen (*Thein 2006a*).

Innerhalb der Palette ursächlich an den Atemwegsinfektionen beteiligter Viren wird in erster Linie denen Aufmerksamkeit geschenkt, die zu epidemischen Infektionskrankheiten wie -verläufen führen, innerhalb derer es zu wirtschaftlichen Ausfällen in Zucht und Pferdesport kommen kann, die über Schutzimpfungen und dazu existierende Vorschriften, wiederum in Zucht und Sport, nur begrenzt verhindert und somit diskutiert werden und die letztlich überhaupt zur abgesicherten, virologischen Diagnose kommen. Zum Komplex dieser Infektionserreger zählen weltweit, also auch in Deutschland, die Influenzaviren und die Equinen Herpesviren. Von den Equinen Influenzaviren der Typen Influenza A1 (H7/N7) und Influenza A2 (H3/N8) sind derzeit nur noch die H3/N8-Subtypen von praktischer Relevanz, da H7/N7-Viren seit ca. 40 Jahren nicht mehr am Infektionsgeschehen beteiligt waren. Trotz langjähriger Schutzimpfprogramme zählen die Influenzavirusinfektionen nach wie vor zu den wichtigsten Erregern von Atemwegsinfektionen des Pferdes. Dies wird begünstigt durch die kontinuierliche Evolution der H3/N8-Viren über deren antigene Drift mit daraus entstehenden Varianten bezüglich der Immunogenität, dem zunehmenden internationalen Handel, Sport und Transport von Pferden sowie der mangelnden Infektionskontrolle und begrenzten Schutzwirkung der existenten Impfstoffe und Impfprogramme.

Ähnliche Verhältnisse finden wir bei den Equinen Herpesviren EHV1 (Abortvirus) und EHV4 (Rhinoepneumonitisvirus). Auch diese Viren sind weltweit ubiquitär verbreitet und führen – im Gegensatz zu den Influenzaviren – zu obligat latenten Infektionen. Daraus resultieren extrem hohe Infektionsraten in den Pferdepopulationen, die auch durch Jahrzehnte langen Einsatz sehr begrenzt wirksamer Impfstoffe, ebenso wie die klinische Manifestation der Atemwegsinfektion, des EHV-Abortes und der Myelopathie nicht wirklich reduziert werden konnten. Die Atemwegsinfektionen, insbesondere die nach EHV4-, gelegentlich EHV1-Infektionen der Fohlen und Jährlinge, verlaufen vor allem klinisch inapparent und sind weder klinisch noch wirtschaftlich von den Influenzainfektionen vergleichbarer Bedeutung.

Neben EHV1 und EHV4, den Alphaherpesviren der Equiden, spielen die Gammaherpesviren EHV2 und EHV5 eine bislang nicht eindeutig geklärte, ätiopathogenetische Rolle im Infektionsgeschehen des Pferdes. Klinische Manifestationen mit Erkrankungen der Atemwege und des Auges, vorwiegend bei Pferden im Saugfohlen- und Absetzalter, sind beschrieben. Ihre Rolle als Promotor der Reaktivierung latenter EHV1- und EHV4-Infektionen darf ebenfalls nicht unterschätzt werden. Auch diese ubiquitär verbreiteten Viren bewirken im einmal infizierten Pferd eine Jahre lange Latenz und sie werden immer wieder in Verbindung mit EHV1 und/oder EHV4 aus Geweben des Atemweges beim Pferd diagnostiziert. Doppel-

oder Mehrfachinfektionen mit allen genannten Erregern sind bei Pferden nachgewiesen, die komplexe Ätiologie erschwert die klinische Zuordnung ebenso wie die abgesicherte, virologische Diagnose.

Erst national wie international koordinierte Melde- und Überwachungsprogramme, die Entwicklung und der Einsatz verbesserter Impfstoffe ebenso wie international koordinierte und entsprechend kontrollierte Schutzimpfprogramme, begleitet von entsprechendem Bestandsmanagement, könnten in Zukunft eine Verbesserung der epidemiologischen Situation herbeiführen. Dies betrifft in erster Linie die Infektionen mit Influenzaviren. Bei den Herpesviren und ihrem besonderen biologischen Verhalten werden Maßnahmen wie diese keine spürbare Verbesserung der gegenwärtigen Situation bewirken können.

## Equine Influenzaviren

### Ätiologie

Die Pferdeinfluenzaviren der Familie Orthomyxoviridae gehören zum Genus Influenza A auf Basis der antigenen Eigenschaften des internen Nukleoproteins (NP) und des Matrixproteins (M). Diese Influenza-A-Viren infizieren im Gegensatz zu den Influenza B-Viren ein weites Wirtsspektrum, zu dem neben den Equiden der Mensch, das Schwein, Vögel – vor allem Wassergeflügel – Caniden und andere Spezies gehören. Damit nehmen sie Zoonosecharakter an (*Thein und Benetele 1973, Thein 2006b, Lange 2007, O.I.E. 2008, Jirjis et al. 2010, Gildea 2011*). Auf Grund der unterschiedlichen antigenen Eigenschaften der Oberflächenproteine Hämagglutinin (H) und Neuraminidase (N) teilt man die Equinen Influenzaviren in die Subtypen A1 (H7/N7) und A2 (H3/N8) ein. Influenzavirus A1 wurde international seit den 1970er Jahren nicht mehr nachgewiesen, das vermutlich letzte deutsche A1-Virus wurde 1976 in Bayern isoliert und typisiert (*Thein und Härtl 1976, Thein 1978a*).

Die H3/N8-Subtypen neigen vermehrt zu Mutationen an den für H und N-codierenden Genen, so dass daraus über die sog. Antigendrift Varianten dieser beiden Oberflächenantigene – besonders des Hämagglutinins – entstehen. Daraus können, immunologisch relevant, so weitgehende Veränderungen entstehen, dass die Immunität in der Pferdepopulation, die durch vorherige Feldinfektionen oder Vakzinationen aufgebaut wurde, unterlaufen werden kann und es z.B. trotz ausreichender Schutzimpfungen mit „alten“ Impfstoffen zur Influenzaepidemie kommen kann (*Daly et al. 1996, Lange 2007, Thein 2006b, 2008, Gildea 2011*).

In einer Pferdepopulation, die gegenüber früheren Infektionen oder über Impfungen eine spezifische Immunität besitzt, haben diese gedrifteten Erreger Wachstumsvorteile, wenn sie sich so weit von dem Vorläufervirus entfernt haben, dass die vorgefundene Immunität sie nicht mehr neutralisiert. Dies trifft bei den neuen Isolaten des H3/N8-Subtyps zu. Sie haben sich durch Antigendrift sehr weit von dem Prototypen A/Equi2/Miami/1/63 entfernt, so dass keine serologische Kreuzreaktion zwischen den alten Prototypen und den gedrifteten, neuen Varianten nachweisbar ist. Diese Drifts verlaufen langsamer als bei humanen Influenzastämmen, da das

Hämagglutinin des A/Equi2- Virus stärker konserviert ist (Daly et al. 2003).

Infektionsausbrüche, Enzootien und Epizootien sind präventiv nur dann anzugehen, wenn die neu gedrifteten H3/N8-Varianten jeweils aktuell zur Impfstoffherstellung eingesetzt werden. Mutationen im Sinne der antigenen Drift kommen überall dort vor, wo sich Inflenzaviren vermehren. Die der Drift zugrunde liegende Selektion der Mutanten, die von der infizierten Spezies nicht neutralisiert werden, erfolgt durch die Immunlage der lokalen Pferdepopulation. Auf Grund der Nukleotidsequenzen des Hämagglutinins (HA1) der Subtyp 2-Inflenzaviren des Pferdes teilt man diese in eine Eurasische und eine Amerikanische Linie ein. Letztere weist Varianten der Virusisolate auf, die eine weitere Unterteilung in die Linien Florida 1 und Florida 2 erlauben. Alle Viren zirkulieren unabhängig von einander in den internationalen Pferdepopulationen (Daly et al. 1996, Bryant et al. 2009). Dieser phylogenetische Stammbaum der A2-Subtypen stellt auch dar, dass es nicht nur zur internationalen Verschleppung der Varianten kommt, sondern dass die Mutation gleicher Virusausgangsstämme in der gleichen Richtung erfolgt und die in unterschiedlichen Pferdepopulationen verschiedener Länder entstehenden Subtypenvarianten sich entweder gleichen oder zumindest sehr ähnlich sind. Selbstverständlich können diese Viren durch reisende Pferde, Sportveranstaltungen usw. verbreitet werden.

#### Epizootiologie

Die Pferdeinfluenza ist nach wie vor – trotz erfolgreicher Vakzinationsprogramme in einzelnen Kontinenten/Ländern – wirtschaftlich gesehen die wichtigste Atemwegsinfektion des Pferdes. Die Ursache dafür ist in der hohen Kontagiosität der infizierenden H3/N8-Subtypen zu sehen, ihrer Virulenz und Pathogenität, der geschilderten allgemeinen Flexibilität der Subtyp 2-Viren und den daraus resultierenden Morbiditätsraten. Dies betrifft speziell Gegenden, in denen diese Viren auf eine ungeimpfte oder ungenügend durch Impfungen geschützte Pferdepopulation treffen. Hier kann es dadurch schlagartig zum Erliegen z.B. aller pferdesportlichen Aktivitäten kommen (Callinan 2008, Garner et al. 2011, Gildea 2011).

Die natürlichen Wirte für Pferdeinflenzaviren sind Equiden (Pferd, Esel, Maultier, Maulesel, Zebra). Die Erreger sind unter diesen Tierarten ubiquitär verbreitet, Virusaufnahme und -ausscheidung erfolgen über die Atemwege. Die schnelle Verbreitung der Infektion unter Pferden geschlossener Populationen geschieht über, mit dem sofort nach der Infektion einsetzenden Husten, ausgeschiedenes, virushaltiges Sekret. Die Aerosolform dieser Sekrete erlaubt die Weiterverbreitung der Erreger im Umfeld des hustenden Pferdes bis zu 35m (Miller 1965). Die Kürze der Inkubationszeit begünstigt diese schnelle Verbreitung, deren Dauer hängt von der infizierenden Virusdosis ab. Je höher diese ist, umso kürzer sind die Inkubationszeiten (Mumford et al. 1990). Die Virusausscheidung erfolgt bis zum Ende der akuten Hustenphase. Die Virusübertragung über tote und lebende Vektoren (Staub, Futtermittel, Putzzeug, kontaminierte Weiden, Transportfahrzeuge, Kontaktpersonen) ist dem gegenüber von untergeordneter Bedeutung. Eine jahreszeitliche Häufung existiert nur inso-

fern, als die Influenzaausbrüche größeren Umfangs zu Zeiten intensiven Pferdekontaktes vor allem im Spätsommer und Herbst öfter auftreten. Infolge von Turnierveranstaltungen jeder Art besteht – vor allem bei der dort gegebenen Präsenz einer hohen Anzahl unter Stress stehender Pferde – die Gefahr für eine schnelle Manifestation und Weiterverbreitung der Infektion. Seuchenzüge werden unter natürlichen Bedingungen nur von der Immunitätslage der Pferdepopulationen gesteuert. Stress infolge körperlicher Leistung, Transport etc. mit der daraus resultierenden, vorübergehenden Immundefizienz begünstigt das Ausmünden der Infektion in die klinisch manifeste Form (Folson et al. 2001).

Speziell in diesem Zusammenhang spricht man auch von der Aktivierung einer möglichen subklinischen Influenzainfektion. Derartige Infektionen kommen vor und bilden vor allem auch in immunisierten Pferden die potentielle Gefahr der Virusausscheidung ohne klinische Anzeichen. Durch diese Pferde wurden in der Vergangenheit wiederholt Influenzaausbrüche in verschiedenen Kontinenten verursacht (Daly et al. 2006, Gildea 2011).

Welchen wirtschaftlichen Schaden ein Influenzaseuchenzug in einer immunologisch ungeschützten Pferdepopulation anrichten kann, vergegenwärtigt die 2007 nach Australien eingeschleppte H3/N8-Infektion mit subklinisch infizierten, vakzinierten Importpferden (Callinan 2008). Infolge dieses Influenzazuges kam es zu einem 72-tägigen Stillstand aller Pferdebewegungen in diesem Kontinent und einem Aufwand von geschätzt 1 Milliarde Australischer Dollar, investiert in die erforderlichen Bekämpfungsmaßnahmen (Garner et al. 2011).

Die Pferdeinfluenza ist in Amerika und Europa als endemisch einzustufen, Japan, Indien, Südafrika berichten immer wieder über Ausbrüche, während Neu Seeland und Island bislang noch frei von dieser Infektion sind.

#### Virusübertragung, Pathogenese und Klinik

Über hustende und infizierte Pferde wird das Influenzavirus in aerosolierter Form ausgeschieden und von anderen Pferden eingeatmet. Nach dieser Tröpfcheninfektion setzen sich die Erreger in der Nüsternschleimhaut ab, wo die Virusneuramidase die oberen Zellschichten des Epithels öffnet, so dass die Erreger in die tieferen Schichten des Epithels eindringen können. Hier übernimmt das Hämagglutinin durch Anheftung an die N-acetylneuraminsäure Rezeptoren seine Funktion. Die Folge ist, dass die Viruspartikel über Endocytose in die Zellen eindringen und sich dort vermehren. Daran anschließend kommt es zur Virämie und Absiedelung im Epithel der unteren Atemwege.

Die klinischen Folgen bestehen bei Subtyp 2-Infektionen nach sehr kurzer Inkubationszeit von 12 bis 24 Stunden zunächst in Fieber, das bis zu 42°C erreichen kann und undulierend verläuft, gefolgt von schnell einsetzendem Husten aus dem oberen und dem unteren Atemweg, Die mucoziliäre Clearance des Atemweges ist infolge der Zerstörung des Epithels bis zu 32 Tagen p. i. gestört (Willoughby et al. 1992). In Abhängigkeit vom Immunstatus der betroffenen Pferde in den Beständen kann die Morbidität bis zu 100% betragen. Sowohl die

Inkubationszeiten als auch die inhalierte Virusmenge in Verbindung mit dem Immunstatus des betroffenen Pferdes variieren die Schwere des klinischen Verlaufs (Thein 1978a, Cullinane 2009). Das gleiche gilt dann auch für die Menge des exhalierten Virus, wie experimentell bewiesen wurde (Mumford et al. 1990). Je stärker der Husten – besonders zu Beginn der manifesten Infektion – umso größer die Menge der mit jedem Hustenstoß ausgeschiedenen Viren. Diese können durch den starken Druck mit dem explosionsartigen Husten bis zu 35m weit in Aerosolform transportiert werden und so auch über größere Strecken Pferde infizieren und/oder Oberflächen kontaminieren (Miller 1965, Thein 2006b).

Im Gegensatz zu den akut erkrankten Pferden, die durch den sofort einsetzenden Husten aus oberem und unterem Atemweg, das hohe, undulierende Fieber mit fieberfreien Intervallen von einigen Tagen und die hohe Morbidität im betroffenen Bestand relativ leicht als an Influenza erkrankt anzusprechen sind, ist die subklinische Infektion mit transients Virusausscheidung auch aus geimpften Pferden sehr schwer festzustellen (Daly et al. 2004).

Stressfaktoren können auch diese Infektion in die manifeste Form überführen. Auch im Infektionsexperiment mit H3/N8-Virus erkrankten nur die postinfektionell gearbeiteten Pferde und schieden das Virus über den Atemweg aus, während die Pferde, die nicht gearbeitet wurden, keine Symptome der manifesten Influenzainfektion zeigten und auch kein Virus ausschieden (Gross et al. 1998, Folsom et al. 2001). Dies ist vergleichbar der experimentellen Infektion von Pferden mit Säugerreovirus Serotyp3 beschrieben (Thein 1979).

Körperliche Belastung kann also die Konversion von der Infektion in die Infektionskrankheit mit Einfluss auf die Immunreaktion bewirken. Dies kann dann auch bei den klinisch inapparent/ subklinisch erkrankten Virusträgern der Fall sein, gefolgt von Virusausscheidung und der damit verbundenen Möglichkeit der Infektion weiterer empfänglicher Pferde.

Neben der direkten Tröpfcheninfektion von virusausscheidendem zu empfänglichem Pferd besteht in begrenztem Maß noch die Möglichkeit der indirekten Übertragung durch viruskontaminierte Oberflächen, Stallgeräte, Fahrzeuge, Personen usw.. Die Überlebenszeit von Influenzaviren unter diesen Umständen wird mit bis zu 48 Stunden angegeben (Bean et al. 1982, Guthrie et al. 1999). In Fällen subklinisch infizierter und/oder teilimmuner Pferde kann die Infektion mit und ohne die beschriebenen klassischen Symptome verlaufen, so dass es sehr schwer ist, die Verdachtsdiagnose Influenza zu stellen. Dies wird dadurch kompliziert, dass Influenzainfektionen häufig von bakteriellen Sekundärinfektionen gefolgt sind, die das klinische Bild dominieren können, ohne dass dann an die zu Grunde liegende Infektion mit Influenzavirus gedacht wird.

### Immunität und Schutzimpfung

Die postinfektionelle Immunität ist komplexer aufgebaut als die postvakzinale nach Impfung mit den meisten der im Handel befindlichen Impfstoffe auf Basis inaktivierter Influenzaviren. Während bei dem Aufbau der belastbaren Immunität nach nasaler Infektion und/oder Impfung mit attenuierten, vermehrungsfähigen Viren sekretorische Antikörper des Typs

IgA auf der Schleimhaut und die cytotoxische, zelluläre Abwehr offenbar den Schutz übernehmen, tun dies bei allen anderen im Handel befindlichen Impfstoffen die p. vacc. gegen das Hämagglutinin gerichteten Serumantikörper (Lange 2007, O.I.E. 2008, Gildea 2011). Daraus resultiert eine rein humorale Immunität, die sich quantitativ zur Menge der gebildeten SRH- und HAH- Antikörper korrelieren lässt. Es gilt als bewiesen, dass Antikörper in einer Menge, die, in der einfachen radialen Hämolyse (SRH) gemessen, Hemmhöfe mit einem Durchmesser von >85 mm<sup>2</sup> bewirken, einen Schutz vor klinischer Manifestation bedingen und Antikörperspiegel >150mm<sup>2</sup> einen Schutz vor klinischer Manifestation und Virusausscheidung. Dies wurde experimentell in Infektionsversuchen bestätigt (Newton et al. 2000, Mumford 2001) und gilt nur für homologe Infektionen. Weicht der infizierende/ immunisierende Virusstamm ab, z.B. infolge beschriebener Antigendrift oder dem Einsatz nicht mehr aktueller Impfstoffe, so verändern sich diese Parameter. In diesem Fall werden zum Schutz höhere Antikörpermengen erforderlich (Newton et al. 1999, Daly et al. 2004). Die von der WHO und der Europäischen Pharmakopoe für längere Zeit vorgegebenen HAH-Titer von 1:40 als Indikator zum Immunschutz korrelieren zwar zu den homologen SRH-Titern in der angeführten Schutzhöhe (Lange 2005), werden aber heute in der Regel nur noch als Indiz für die Wirksamkeit innerhalb der Chargenprüfung im sog. Potencytest bei der Impfstoffherstellung verwendet (O.I.E. 2008).

Bevor auf die momentan möglichen Impfungen sowie existierenden Impfvorschriften und -empfehlungen eingegangen wird, sollen noch einmal die Impfziele, die in jedem Fall anzustreben sind, in das Gedächtnis gerufen werden. Diese sind:

- Verhinderung der klinischen Manifestation.
- Verhinderung postvakzinaler Virusausscheidung.
- Induktion eines soliden immunologischen Gedächtnisses.
- Erzielung einer komplexen, belastbaren Impfmunität.
- Erzielung eines immunologischen Kreuzschutzes.

Zur Erreichung dieser Ziele benötigen wir sowohl potentere Impfstoffe als auch effektivere Impfprogramme als sie derzeit üblich sind. Man muss davon ausgehen, dass erst ein belastbarer postvakzinaler, homologer Schutz von 70-80 % einer geimpften Pferdepopulation die Infektionskette effektiv unterbrechen kann. Weltweit registrierte Influenzaausbrüche, auch bei geimpften Pferden, sind nicht immer die Folge der beschriebenen Antigendrift, sondern ursächlich auch bedingt durch den inkonsequenten Einsatz durchaus wirksamer Vakzinen sowie die Verwendung antigenmäßig überholter Influenzaimpfstoffe. Da nach Impfung, auch bei bestehendem Immunschutz, Virus inapparent im Impfling anwesend sein und insbesondere unter Stresssituationen (z.B. Transport, Turnier etc.) ausgeschieden werden kann, ist auch hierin eine Möglichkeit der Virusausbreitung zu sehen. Dies auch deswegen, da der postvakzinale Immunschutz lediglich auf den gegen das Oberflächenprotein HA gerichteten Antikörpern beruht, stark dosisabhängig ist und bei den im Allgemeinen eingesetzten Adjuvantien nur einen stammspezifischen Schutz bewirken kann (Lange 2007).

Darüber hinaus ist der postvakzinal erreichte Schutz – auch mit homologem Virus – nur kurzfristig belastbar. Diese Phase beträgt 3 bis 6 Monate (Paillot et al. 2008, 2010, Gildea

2011). Im Fall heterologer Infektion kommt es zu einer weiteren Reduzierung dieser Frist bis hin zum sog. Impfdurchbruch. Der immunologische Kreuzschutz hängt beim Pferd mit dessen Lebensalter und den darin mitgemachten Influenzaexpositionen ab, den unterschiedlichen Influenzaantigenen, mit denen es in dieser Zeit per Impfung Kontakt hatte und der daraus resultierenden Form der Immunität. Es ist bekannt, dass Pferde auch mit geringen SRH-Titern gegenüber Reinfektionen unempfindlich waren, was wahrscheinlich auf der erworbenen, komplexen, zellassozierten Immunität in Folge natürlich durchgemachter Infektionen beruht (*Hannant et al. 1988, Paillot et al. 2006a, 2006, 2008*). Das gleiche wird berichtet nach intranasaler Anwendung des in den USA und Kanada eingesetzten Lebendimpfstoffes (FLU Avert IN) auf Basis einer temperatursensitiven (Ts) Virusmutante. Hier war ein 6-monatiger, postvakzinaler Schutz ohne hohe Titer humoraler Antikörper gegeben (*Townsend et al. 2001*). Allerdings waren auch 20% der im Infektionsbelastungsversuch postvakzinal getesteten Pferde zu Virusausscheidern geworden (*Paillot et al. 2006*). Prinzipiell bergen attenuierte, ebenso wie adaptierte Lebendimpfstoffe die Gefahr hoher Mutationsraten und des potentiellen Reassortments mit der Entstehung neuer Subtypen/ Typen in sich.

Ein weiterer Lebendimpfstoff der sog. 2. Generation ist eine Vektorvakzine, bei der ein replikatives Kanarienvirus als Vektor dient, um ein inkorporiertes H3/N8-HA-Gen in den Zellen der geimpften Pferd zu exprimieren. Diese Art Vakzinen sollen eine Immunantwort stimulieren, die über eine Induktion der B- und T- Zellantwort näher an die natürliche Infektionsabwehr heranreicht (*Toulemonde et al. 2005*). Dies ist bislang jedoch nicht direkt bewiesen, sondern lediglich über die Induktion eines Markers auf Interferonbasis für die mögliche, zellvermittelte Immunität. Außerdem beinhaltet der Vektor dieses Impfstoffes (Proteq Flu) nur ein HA-Gen, von dem bekannt ist, dass es nicht als Zielprotein für CTL-Zellen dient, dies bewirken mehr konservierte Antigene wie das Nukleoprotein und das Matrixprotein (*Paillot et al. 2006, O.I.E. 2008*). Auch hier ist also die Grundlage der Wirkung die Induktion von Antikörpern gegen das Hämagglutinin, wie es auch der Fall bei den Impfstoffen auf Basis inaktivierten Virus ist. Dazu zählen auch Vakzinen, bei denen über Integration der Virusmembrantigene in eine Kombination von Quil A (Saponin), Phospholipiden und Cholesterol sog. immunstimulierende Komplexe (ISCOM) entstehen. Dieser Komplex soll zur Selbstadjuvierung der Membrantigene und deren sterischer Präsentation an das Immunsystem ähnlich dem Feldvirus führen. Davon wird eine bessere und breitere Immunstimulierung erwartet (*Mumford et al. 1994, Paillot et al. 2008*).

Last not least haben aber alle internationalen, vergleichenden Untersuchungen, immer an limitierten Pferdezahlen, dazu geführt, dass allen genannten Vakzinen eine vergleichbare Induktion von Antikörpern mit vergleichbarer Persistenz bescheinigt werden konnte (*Newton 2000, Lange 2005, Gildea 2011*).

Alle diese Versuche berechtigen nicht dazu, daraus auch eine belastbare Immunität und zeitlich aussagekräftige Dauer dieser Belastbarkeit abzuleiten. Sie dienen insgesamt nur einer vergleichenden Aussage über die Potenz der untersuchten Impfstoffe bezüglich Bildung, Höhe und Persistenz der impfbedingten Antikörpertiter.

Zusammenfassend dazu ist festzustellen, dass speziell die durch den Einsatz aller geprüften Vakzinearten induzierten SRH-Antikörper gut zum Schutz gegenüber homologer Infektion bei zum optimalen Zeitpunkt im Challengeversuch infizierten Pferde korrelierten (Mumford and Wood 1993, O.I.E. 2008, Gildea 2011). Dennoch kann nicht generell davon ausgegangen werden, dass daraus eine Analogie für die vollkommen anderen Infektionsverhältnisse, Virulenz der Feldvirusstämme versus der der Challengestämme, Immunitätslagen und -reaktionen, Stresskonditionen, Hygienefaktoren etc. unter Feld- und Populationsbedingungen abzuleiten wäre (Cullinane et al. 2001, Thein 2006b, Gildea 2011).

Hinreichend bewiesen ist, dass obligate Präventionsimpfungen in der Pferdezucht sowie bei Sportpferden zu einem signifikanten Rückgang manifester Influenza führten. Dies ist ein Erfolg, der z. B. durch Jahrzehnte lange, obligate EHV-Impfungen nicht erreicht werden konnte und auch nie erreicht werden kann. Trotz dieser Erfolge und trotz verpflichtender Impfungen z.B. in Irland und England, sind seit 2003 in geimpften Pferdepopulationen immer wieder Ausbrüche von Influenza beschrieben (Newton et al. 2006, Barquero et al., 2007, Cullinane 2009, Gildea et al. 2011). Dies ist ein Hinweis auf die begrenzte Schutzwirkung aller eingesetzten Impfstoffe und mögliche Punktmutationen der im Feld vorhandenen Virusstämme. Diese stellen die größte Gefahr für einen ausreichenden Impferfolg dar.

Das Risiko eines Impfdurchbruchs verhält sich proportional zur antigenen Differenz zwischen infizierenden Feldviren und Impfantigenen. Dies ist mathematisch-statistisch belegt (Park et al. 2004). Epidemien sind sehr viel wahrscheinlicher, wenn verwendete Impfstoffe nicht an die jeweils aktuell kursierenden Virusvarianten angepasst wurden.

Im Vollzug der O.I.E.-Richtlinien von 2004 müssten eingesetzte Vakzinen demzufolge über einen Repräsentanten des H3/N8 Stammes A/eq/South Africa/4/03, den Richtlinien von 2010 folgend, einen des Stammes A/eq/Richmond/07 verfügen. Das Problem ist, dass die Herstellung aktueller Influenzaimpfstoffe für das Pferd sowie deren zeitgemäße Registrierung durch das Paul Ehrlich Institut in Deutschland zwar genauso rasch möglich sein müsste, wie das bei Humaninfluenzaimpfstoffen der Fall ist, dies sich aber aus nicht nachvollziehbaren Gründen anders verhält. Um diesen Anspruch zu erfüllen, ist Voraussetzung, dass bei klinisch für Influenza verdächtigen Pferden nicht nur die erhältlichen „horse side tests“ zur Diagnosefindung eingesetzt werden, da diese lediglich über „Influenza A ja/nein“ informieren (Chambers et al. 1999), sondern dass repräsentative Proben aus dem Atemweg vorzugsweise zu Beginn des Hustens und des einsetzenden Fiebers zum direkten Virusnachweis genommen und an dafür geeignete, virologische Untersuchungsinstitute eingesandt werden. Nur über Virusanzucht, -isolierung, antigene und genetische Typisierung (RNA-Sequenz des HA) ist es möglich, diese Virusvarianten zu entdecken und sie als Grundlage aktualisierter Impfstoffe zu verwenden.

Diskussionspunkte innerhalb vorgeschriebener Impfungen gibt es in erster Linie wegen technischer Fragen wie Qualität der einzelnen Impfstoffe, Erstimpfzeitpunkt der Grundimmunisierung, Immunantwort der jungen Pferde, zeitlichem Abstand zwischen den Impfungen, Zeitpunkt der erforderlichen Auffri-

schungsimpfungen sowie Dauer des belastbaren Impfschutzes. Darüber hinaus wird international immer wieder die Diskussion über ein angebliches „immunologisches Loch“ zwischen der 2. und 3. Vakzination (V2, V3) der erforderlichen Grundimmunisierung geführt.

Bezüglich der Potenz im Markt befindlicher Impfstoffe liegt eine Reihe von Untersuchungen vor. Die Mehrzahl dieser Untersuchungen an Pferden unterschiedlichen Alters und unterschiedlicher Rassen bezieht sich auf den Nachweis postvakzinal erzielter HAH- resp. SRH-Titer in den Impfungen sowie den Zeitpunkt ihres Nachweises p. vacc.. Es geht damit also um die Antikörper induzierende Potenz der geprüften Produkte. Wenige dieser Untersuchungen schließen eine postvakzinale, experimentelle Belastungsinfektion ein, um auch die Schutzwirkung der nachgewiesenen Antikörper sowie eine mögliche Korrelation zu deren Titerhöhe zu ermitteln. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass zur experimentellen Infektion eingesetzte Virusstämme bezüglich ihrer Virulenz nicht analog den infizierenden Feldviren gleichgesetzt werden können, da Laborstämme durch Passagen etc. relativ schnell zu Virulenzminderung neigen (Lange 2007) und Feldviren, im Gegensatz auch zu den Vakzinen der 2. Generation, wie Vektorimpfstoff, eine lokale wie systemische Immunreaktion und z. B. auch Antikörper gegen das Nukleoprotein des jeweiligen Virusstammes im Pferd induzieren (Sergant et al. 2009). Insgesamt liegen zu Prüfungen der gleichen Produkte durch unterschiedliche Untersucher durchaus konträre Resultate vor (Mumford et al. 1994, Cullinane et al. 2001, Minke et al. 2007, Heldens et al. 2009, 2010, Bryant et al. 2010, Gildea 2011).

Die Feldsituation der üblichen Revakzinationen wurde z. B. von Gildea (2011) serologisch an 44 Hüntern mit unterschiedlicher Impfanamnese im Alter von 3 bis 11 Jahren überprüft. Zum Einsatz kamen alle verfügbaren Influenzavakzinen. Die erhaltenen Resultate in der SRH ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den 6 geprüften Impfstoffen, lediglich bei Proteq Flu<sup>®</sup> war der Höhepunkt, der in der SRH gemessenen Antikörper erst 4 Wochen p. vacc. erreicht, bei den anderen Vakzinen 2 Wochen p. vacc.. Der individuelle SRH-Titer zum Zeitpunkt der Vakzination beeinflusste die Antikörperbildung signifikant. Im Mittel der durch die Wiederholungsimpfungen induzierten Seroreaktion scheinen die geimpften Pferde zumindest gegenüber der klinischen Manifestation geschützt. Individuell gesehen ist allerdings die Wahrscheinlichkeit eines Impfdurchbruchs durchaus gegeben: 41% der geimpften Pferde zeigten p. vacc. keinen signifikanten Anstieg ihrer SRH-Titer. Die Autorin zieht daraus den Schluss, dass öfter vorzunehmende (3, 6 Monate) Revakzinationen von Pferden mit geringen Ausgangstitern eine definitiv höhere Schutzwirkung induzieren können als die jährlich ein Mal vorgenommene Revakzination von Pferden mit hohen Ausgangstitern. Sie leitet daraus eine „strategische Impfung“ unter Einbeziehung entsprechender, serologischer Voruntersuchungen ab. Der Hinweis darauf, dass die Industrie den für ihre Produkte propagierten, jährlichen Schutz unter diesem Aspekt kritisch zu überprüfen habe, wird von ihr daraus abgeleitet.

Von der gleichen Autorin liegt eine weitere Untersuchung zur Erstimpfung von Fohlen vor, innerhalb derer die Antigenität der folgenden Produkte untersucht wurde: Duvaxyn IET plus<sup>®</sup>,

Equilis Resequin<sup>®</sup>, Equip FT<sup>®</sup>, Equilis Frequenza Te<sup>®</sup> und Proteq Flu Te<sup>®</sup>. Es handelt sich also durchweg um Kombinationsimpfstoffe, die Mehrzahl mit Tetanusanteil. Die Auswahl dieser Influenza/Tetanusimpfstoffe folgt ganz offensichtlich den Impfpraktiken irischer Tierärzte denn, wo im Falle von Resequin<sup>®</sup>, kein Tetanuskombinationsimpfstoff zur Verfügung stand, wurden die Pferde gleichzeitig, separat mit Tetanustoxoid geimpft. Geprüft wurde an Vollblutfohlen im Absetzalter von 159 bis 297, im Durchschnitt im Alter von 235 Tagen.

Bis zur 26. Woche nach abgeschlossener Grundimmunisierung (V3) wurde der Impferfolg serologisch überprüft (SRH). Bezüglich der Verlaufskurve von Antikörperauf- und -abbau entsprachen sich die Vakzinen, bezüglich der erreichten Titermaxima dominierte Duvaxyn IET<sup>®</sup> die anderen Impfstoffe. 5 der untersuchten Jährlinge wiesen zum Zeitpunkt der Primovakzination noch maternale Antikörper auf, sie reagierten seronegativ auf diese Impfung, die 2. Impfung induzierte jedoch auch bei ihnen zufriedenstellende SRH-Titer, was auf ein durch die erste Impfung induziertes Priming schließen lässt. Überraschenderweise hatten insgesamt über 43 % aller Impflinge die Erstimpfung serologisch nicht beantwortet, lediglich die Pferde der Duvaxyn-Gruppe hatten nachweisbar reagiert. Nach der 2. Impfung reduzierte sich der Anteil der Seronegativen auf immerhin noch 7%, erst nach V3, 6 Monate nach V2, verfügten alle Pferde über nachweisbare Antikörpertiter. Interessant wäre zu wissen, wie dieser Versuch ohne die Tetanuskomponente in den geprüften Impfstoffen ausgegangen wäre.

*Gildea* (2011) zieht aus ihren Untersuchungen den Schluss, dass doch erhebliche Unterschiede zwischen ihren Untersuchungsergebnissen sowie industrie- und zulassungsrelevanten, veröffentlichten Daten der geprüften Impfstoffe bestehen. Des Weiteren weist sie auch in diesem Versuch bezüglich der von manchen Impfstoffherstellern vorgelegten Daten zu Belastbarkeit und Dauer einer postvakzinalen Immunität ihrer Produkte darauf hin, dass dies doch noch einmal sehr kritisch zu überprüfen sei.

Der Impfstoff Proteq Flu<sup>®</sup> ohne Tetanusanteil wurde von *Lange* (2005) an einer Gruppe von 64 antikörperfreien (HAH < 1:8) Jährlingen im Alter von 12 bis 16 Monaten geprüft. Die Pferde stammten alle aus seit Jahrzehnten ab ihrem 9. Lebensmonat mit Resequin<sup>®</sup> in halbjährlichem Abstand geimpften Mutterstuten (*Thein* et al. 2005). Der Impfstoff wurde unter folgenden Gesichtspunkten geprüft: 1. Anbildung und Verlauf postvakzinaler Antikörper, getestet in HAH und SRH incl. statistischer Korrelation zwischen beiden Tests und beiden eingesetzten H3/N8-Antigenen. 2. Ermittlung der protektiven Titer, deren Verlauf und Persistenz. 3. Einfluss der Revakzinationszeitpunkte (6 Wochen versus 8 Wochen zwischen V1 und V2) auf den Immunisierungserfolg. 4. Kreuzreaktion der H3/N8- Stämme der Europäischen und der Amerikanischen Linie. Die erhaltenen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen: Mit Ausnahme von 3 Pferden beantworteten alle die Erstimpfung 2 Wochen p. vacc. mit der Bildung von Antikörpern, die in der HAH Titer zwischen 1:8 und 1:4096, in der SRH von 43,15 mm<sup>2</sup> bis 328,93 mm<sup>2</sup> bewirkten. Es überwogen in beiden Tests die Pferde mit den höheren Antikörpertitern. Diese dominierten gegenüber dem Amerikanischen Stamm A/Equi2/Kentucky/94. Tendenziell, und das bestätigte sich auch insbesondere bei den Revakzinationen,

zeigten die Pferde, die nach 8 Wochen der 2. Vakzination unterzogen worden waren, die bessere Antikörperantwort als die nach 6 Wochen revakzinierten. Durchgängig in beiden untersuchten Tests erwies sich der Vertreter der amerikanischen H3/N8-Linie als der immunogenere. Sog. „Non responder“ konnten in der Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Die hohe Zahl seronegativer Pferde, die von *Gildea* (2011) in ihren Untersuchungen 14 Tage nach Primovakzination mit Resequin<sup>®</sup> und Proteq Flu<sup>®</sup> nachgewiesen werden konnte, kann hier nicht nachvollzogen werden. Die geimpften Pferde entsprachen sich altersmäßig, technische Unterschiede können auch ausgeschlossen werden, da die serologischen Untersuchungen beider Versuche im gleichen Institut vorgenommen worden waren.

Zwischen SRH- und HAH-Ergebnissen ergab sich in den Untersuchungen von *Lange* eine abgesicherte Beziehung insofern, als konstant Hämolysehofdurchmesser von >249,14 mm<sup>2</sup> (Europäischer Typ als Antigen) bei keinem Pferd HAH-Titer <1:64 entsprachen. Für den Amerikanischen Typ ist dies für Durchmesser von 129,92 mm<sup>2</sup> der Fall. Hämolysehofdurchmesser von >328,93mm<sup>2</sup> entsprachen hier einem HAH-Titer von 1:1024.

In diesem Versuch war V3 aus technischen Gründen bereits 4 Monate nach V2 erfolgt. Dennoch deutet auch hier der zu beobachtende Titerrückgang bei allen Impfungen auf das zitierte „immunologische Loch“ hin. Diese Ergebnisse sind deckungsgleich mit den von *Newton* et al. (2006) bei Vollblutjährlingen beobachteten. 6 Monate sollen auch nach den vorliegenden Untersuchungen zur Durchführung von V3 nicht überschritten werden.

Von einem wirklichen „immunologischen Loch“ kann nicht die Rede sein, eher von einem serologischen, da alle Pferde auf Grund ihrer Titerverläufe und den gut ausgeprägten Boosterreaktionen ein ordentliches Priming durch die Primovakzination erhalten hatten. Dies dürfte auch im Fall der homologen Feldinfektion vor der klinischen Manifestation der Infektion schützen. Möglicherweise ist auch die nachgewiesene, unterschiedliche Potenz der getesteten Impfstoffe, nach Erstimpfung ein Priming zu induzieren, an diesem Phänomen beteiligt.

Bei jüngeren als in diesem Versuch eingesetzten Pferden muss auch daran gedacht werden, dass Titerrückgänge nicht nur durch die Halbwertszeit der Immunglobuline bedingt sind, sondern auch durch das zunehmende Plasmavolumen der stark wachsenden jungen Pferde (*Thein* 2003). Wiederholungsimpfungen müssen kontinuierlich in 6-monatigem Abstand nicht nur bei jungen, sondern auch bei alten Pferden durchgeführt werden (*Newton* et al. 2000, *Paillot* et al. 2006a, *Thein* 2007, 2008, *Cullinane* et al. 2010, *Gildea* 2011).

Bezüglich des verlängerten Impfintervalls zwischen V1 und V2 und den daraus resultierenden serologischen Ergebnissen sei daran erinnert, dass das Ziel der Erstimpfung generell das des „Priming“ ist. Dadurch wird bei Zweitkontakt zum gleichen Antigen eine schnellere Immunantwort mit der Ausbildung höherer, humoraler Antikörpertiter = Boosterreaktion bewirkt. Um diesen Sensibilisierungsvorgang, der an den antikörperproduzierenden B-Zellen stattfindet, zu ermöglichen, benötigt

der geimpfte Organismus Zeit. In zu kurzem Abstand nach der Erstimpfung vorgenommene Zweitimpfungen können diesen Prozess stören oder unterbinden. Auch die Bildung von Antikörpern nach Antigenkontakt ist zeitabhängig. Es vergehen Wochen, bis humorale Titer nach Induktion der Primärreaktion höchstmögliche Werte erreichen. Zu früh vorgenommene Zweit- oder Wiederholungsimpfungen stören diesen Vorgang, da sie nur zu wiederholten Primärreaktionen mit ausbleibendem, Titer steigerndem und Immunschutz verlängerndem Boostereffekt führen. Darüber hinaus sollte die Impfung nicht in Gegenwart maternalen Antikörper vorgenommen werden, da diese den Immunisierungseffekt stören oder verhindern können, wie diesbezügliche Untersuchungen zeigen (*van Oirschot et al. 1991, Cullinane et al. 1994, Wilson et al. 2001, Thein 2003, Lange 2005, O.I.E. 2008, Gildea 2011, Vahlenkamp 2011*).

Dass die Interferenz maternalen Antikörper mit homologem Impfantigen im Fohlen nicht titerabhängig verläuft, ist ebenfalls beschrieben (*Lange 2005, Paillot et al. 2006a*). Dies spricht dafür, dass weitere funktionelle Mechanismen der postportalen Entwicklung und Reifung des immunkompetenten, juvenilen Zellsystems beim Fohlen hierbei eine Rolle spielen. *Tizard (1981)* spricht in diesem Zusammenhang von einer zentralen Suppression als auch Maskierung des Antigens durch maternale Antikörper. Ob es sich hierbei um eine wirkliche Immuntoleranz handelt (*Cullinane et al. 1994, 2001, van Oirschot et al. 1991*) oder lediglich dieser vergleichbarer, biologischer Phänomene, ist nicht geklärt (*Wilson et al. 2001*).

Parenteral vorgenommene Erstimpfungen mit inaktivierten Antigenen, speziell bei Fohlen, deren Mutterstuten die gleichen Impfungen erhalten hatten, sollten daher erst im Bereich des 6. Lebensmonats erfolgen. Persistenz maternalen Antikörper ist allerdings auch über diesen Zeitpunkt hinaus nachgewiesen worden (*Lange 2005*), so dass die Verschiebung des Erstimpfzeitpunktes jenseits des 7. Lebensmonats die bessere Immunantwort erwarten lässt (*Wilson et al. 2001, Paillot et al., 2006a*). Dies hat sich mit Tetanus- sowie Influenza- und EHV1/4-Antigenimpfstoffen in der Praxis seit Jahrzehnten bewährt (*Thein et al. 1983, 2005, Thein 2003, 2007*). Die Zweitimpfungen sollten aus den angeführten, immunologisch relevanten Gründen im Bereich von 8 Wochen nach den Erstimpfungen durchgeführt werden (*Bürki et al. 1991, Lange 2005, Thein 2006b*).

Ebenfalls von *Lange (2005)* wurden in einem 2. Versuch die Impfstoffe Proteq<sup>®</sup> Flu und Resequin<sup>®</sup> NN plus an 31 Jährlingen, ebenfalls aus geimpften Mutterstuten der gleichen Herde wie im Versuch 1 stammend, vergleichend untersucht. Diese Pferde wiesen im Bereich ihres 2. Lebensmonats zu 100% maternale Antikörper auf, bei 95% der Probanden konnten HAH-Titer von 1:64, bei einem Fohlen sogar von 1:2048 nachgewiesen werden. Die Rückläufigkeit der Antikörpertiter und damit deren biologische Halbwertszeit von 39 Tagen (*van Maanen et al. 1992, van Oirschot et al. 1991*) für Influenza H7/N7 ist während dieses Versuchsverlaufs erkennbar, im 11. bis 12. Lebensmonat sind alle Fohlen seronegativ. Der Abbau der maternalen Antikörper geschieht annähernd linear, die Höhe der Ausgangstiters scheint nicht die entscheidende Rolle zu spielen. Die längste Persistenz im Versuch beträgt bis zu 7 Monate p.n., unabhängig vom im HAH-Test verwendeten

Influenzastamm bei den A2-Subtypen. Damit bestätigen sich die Aussagen von *van Oirschot et al. (1991)* und *Thein (2003)*. Entsprechend diesen Untersuchungen persistieren maternale Antikörper bis in den 7. Lebensmonat und zum Teil auch darüber hinaus. Antikörpersistenz von nur 2 Wochen gegen A/Equi2- bzw. 4 Wochen von Antikörpern gegen A/Equi1 Virus, wie von *Liu et al. (1995)* beschrieben, kann nicht bestätigt werden. Auch 3 Monate p.n. liegen die passiv erworbenen Antikörpertiter der Fohlen dieses Versuchs im Mittel höher als die von *Cullinane et al. (2001)* beschriebenen. Alle Jährlinge wurden im 13. bis 16. Lebensmonat zu je 50% mit einer der im Test befindlichen Vakzinen geimpft. 2 Wochen nach Primovakzination wiesen 100% der Pferde HAH-Titer auf, die laut Europäischer Pharmakopoe im Schutzbereich lagen. Die niedrigsten, zu diesem Zeitpunkt nachgewiesenen Titer betragen in der HAH 1:64, die höchsten 1:4096. Zwischen beiden getesteten Impfstoffen konnte diesbezüglich kein Unterschied nachgewiesen werden. Deutlich wird auch, wie schon im ersten Versuch von *Lange* beschrieben, dass wiederum der Amerikanische H3/N8-Typ (Newmarket/1/93) immunogener ist als der ebenfalls getestete Europäische Stamm (Newmarket/2/93). Daraus ist auch abzuleiten, dass bei serologischen Titrationen tunlichst das jeweils homologe Antigen zum Einsatz kommen sollte, da nur dadurch die Ermittlung der real vorhandenen Titer gegeben scheint. Die statistischen Mittelwerte der Antikörperbefunde nach Impfung mit Proteq<sup>®</sup> Flu und Resequin<sup>®</sup> entsprechen sich mit 9,53 und 9,15 (Amerikanischer Typ) sowie 7,47 und 7,46 (Europäischer Typ).

Alle aufgezeigten Fakten zu Vorkommen, Verbreitung, Epizootiologie, Immunogenität-Immunität und Kapazität verfügbarer Impfstoffe lassen erkennen, dass die Influenzainfektionen auf Basis der H3/N8-Subtypen die wirtschaftlich wichtigsten und international am weitesten verbreiteten Infektionskrankheiten der Pferde sind. Existente Impfprogramme, inklusive in manchen europäischen Ländern, wie auch in Deutschland, verpflichtender Influenzaimpfungen der Sportpferde (Turniersport, Vollblut- wie Trabrennsport) haben zwar zur Reduktion der nachgewiesenen, klinischen Manifestationen geführt, nicht jedoch zu einer Verbesserung der epizootiologischen Situation. International nachgewiesene Ausbrüche z. B. in Afrika, Australien, Indien, Hongkong usw., wurden nachweislich alle von vorzugsweise aus Europa importierten, geimpften, jedoch subklinisch infizierten Pferden verursacht (*Gildea 2011*). Meist waren diese Impfungen mit nicht den aktuellen H3/N8-Antigentypen entsprechenden Vakzinen erfolgt. Daraus ergab sich wohl ein Schutz vor klinischer Manifestation bei den Impfungen, jedoch kein Schutz vor Virusausscheidung, speziell nach immunsupprimierendem Stress, wie z. B. langem Transport und sportlicher Leistung.

Die Industrie beweist gern den einjährigen Schutz ihrer jeweiligen Impfstoffe mit sog. Kreuzschutzuntersuchungen (*Daly et al. 2007, Bryant et al. 2010, Paillot et al. 2010*). Diese sind jedoch bezüglich der geschilderten Situation wenig aussagekräftig, worauf alle dazu angestellten Untersuchungen im Pferd hinweisen (*Newton et al. 1999, Daly et al. 2003, Park et al. 2004*).

Die derzeitigen Vakzinationsprogramme sind summa summarum nicht genügend intensiv, um in endemisch infizierten Län-



dem, zu denen ganz Europa und die USA zählen, dadurch eine hinreichende Infektionskontrolle zu erhalten. Aus dieser Situation resultieren partiell geschützte wie ungeschützte Pferde, aus diesen können jederzeit neue Infektionsquellen entstehen.

Die derzeit befolgten Impfvorschriften (national wie international) zielen auf die Impfungen und die Immunität der Sportpferde ab. Dies in erster Linie, um möglichst nicht durch manifeste Infektionen gestörte Sportveranstaltungen zu gewährleisten. Sie können so, wie derzeit praktiziert, nicht auf den erforderlichen Populationsschutz, aus 70% belastbarem Individualschutz bestehend, reflektieren. Dies wäre erforderlich, um neue Epidemien zu vermeiden (Baker et al. 1996, Thein 2006b). Dazu kommt, dass z. B. die internationalen Vorschriften der FEI und die nationalen der FN in Deutschland differieren, wie andere Vorschriften auch.

Es hat sich international seit Jahren in einer Vielzahl entsprechender Versuche bestätigt, dass Influenzarevaxinationen maximal im Abstand von 6 Monaten durchzuführen sind. Die FEI sieht, trotz genügend Gegenwissens, für nicht am Sport teilnehmende Pferde ein einjähriges Intervall vor. Ein weiterer Punkt sind die besprochenen Abstände zwischen den Impfungen der Grundimmunisierung und das Problem der Erst- und Wiederholungsimpfungen der jungen Pferde. Hier müsste realisiert werden, dass die Erstimpfungen einen größeren zeitlichen Abstand zwischen V1 und V2 erfordern, als manche Vorschrift, entsprechend Produktinformation, vorgibt.

Die FEI dehnt – entsprechend den Vorgaben des englischen Jockeyclubs – diese Frist zwischen 3 Wochen und 3 Monaten, was an Beliebigkeit grenzt. So bleibt es wieder jedem überlassen, wie er impft. Besser wäre ein Abstand nicht unter 6 bis 10 Wochen zwischen V1 und V2. Das Alter der Erstimpflinge sollte  $\geq 6$  Monate sein, ältere Fohlen der Erstimpfung zu unterziehen, wurde immer wieder gefordert und ist hinreichend als den Impferfolg verbessernd auch hier beschrieben. Auch das zitierte „immunologische Loch“ könnte dadurch verringert werden, da das anzustrebende Priming durch die Erstimpfung unter den genannten Voraussetzungen besser erreicht wird. Daraus resultiert eine gute Boosterreaktion durch V2 und V3 (Lange 2005).

Sowohl bei jungen wie bei erwachsenen Pferden unterschiedlicher Altersklassen sind in den vorgestellten Untersuchungen die SRH- Impftiter 6 Monate p. vacc. signifikant abgefallen. Auch dies weist auf den Widerspruch zu den Beipackzetteln der Hersteller hin, denn es wurden in diesen Tests alle auch in Deutschland erhältlichen Impfstoffe geprüft (Gildea 2011, Lange 2005). Diese Situation in der Population geimpfter Sportpferde genügt, um die mögliche Ursache von Impfdurchbrüchen – zwar klinisch geschützter, jedoch inapparent infizierter Pferde – zu werden.

Ein weiterer Punkt in diesem Zusammenhang ist der Hinweis darauf, dass die vorzunehmenden Wiederholungsimpfungen mit verschiedenen Impfstoffen unterschiedlich lange Zeit benötigten, um p. vacc. einen belastbaren Impftiter zu erzielen. Daraus könnten sich Konsequenzen bezüglich der Fristen zwischen letzter Impfung und Starterlaubnis ergeben, die z. B. laut LPO 2012 14 Tage nach Grundimmunisierung und 7 Tage nach Wiederholungsimpfung betragen. Nach Impfung

mit Proteq<sup>®</sup> Flu waren diese Titer beispielsweise erst 4 Wochen p. vacc nachweisbar (Gildea 2011). Bei so geimpften Pferden besteht die besondere Gefahr, dass sie ungenügend geschützt eine stressbelastete, sportliche Leistung zu erbringen haben. Aus dieser Kombination ergibt sich die Gefahr der Ausscheider und/oder klinisch manifester Infektionen.

Bezüglich der angestrebten Verbesserung der epizootologischen Situation hat sich auch ergeben, dass die vorzunehmenden Wiederholungsimpfungen ab V4 nach den 3 Impfungen (V1, 2, 3) der Grundimmunisierung serologisch bei untersuchten, erwachsenen Pferden ganz unterschiedlich ausfallen. Zum einen ist in den vorgestellten Vakzineprüfungen (Gildea 2011) einheitlich schon ein starker Titerabfall nach V3 festzustellen. Zum anderen erreicht immer wieder nur ein begrenzter Teil der Pferde nach den Wiederholungsimpfungen die erforderlichen Schutztiter. Dieser Vorgang scheint in Abhängigkeit von den SRH-Titern zum Zeitpunkt der vorgenommenen Impfung zu sein, Pferde mit hohen Titern reagieren hierbei schlechter als Pferde mit niedrigen Titern. Damit ergibt sich eine Situation, die eine begleitende serologische Überwachung der Impflinge erforderlich macht. In diesem Zusammenhang muss auch bei der Influenza wie bei den Herpesviren der Pferde darauf hingewiesen werden, dass Überwachungsprogramme, epizootologische Kontrollprogramme nationaler wie internationaler Art, Managementmaßnahmen, wie serologisch kontrollierte Quarantäne, Isolation, getrennte Haltung junger Pferde, Maßnahmen zur Reduktion der Gefahr der Virusverschleppung durch Kontaminationen usw. unumgänglich sind, um neben der zu optimierenden Immunpräventive erfolgreich bei der Zurückdrängung der Influenzavirusinfektionen des Pferdes sein zu können (Thein 2008).

Von allen bisher genannten Fakten unabhängige, weitere Faktoren mit Einfluss auf den Impferfolg sind mehr allgemeiner Natur und betreffen die Durchführung der Impfungen, wie:

- Impfstoffe innerhalb der angegebenen Laufzeit und vorgeschriebenen Lagerung anwenden.
- Immer nur die Impfstoffe mit den aktuellen Influenzaantigenen verwenden.
- Möglichst heterologe Impfungen zeitlich getrennt (ca. 14 Tage) von einander durchführen.
- Pferde vor Impfung entwurmen.
- Nur gesunde Pferde impfen.
- Pferde nicht unmittelbar vor zu erwartendem Stress (Transport, körperliche Leistung usw.) impfen.
- Spezielles Impfmanagement den Altersklassen der jungen, speziell aber auch der alten Pferde (Immunseneszenz) entsprechend.

In diesem Zusammenhang sei auch darauf hingewiesen, dass unsere Pferde zu hohen Prozentsätzen mit EHV (s. dort) latent infiziert sind. Es ist bekannt, dass Doppel- wie Mehrfachinfektionen beim Pferd mit diesen Erregern häufig vorkommen und dass diese die Immunantwort gegen heterologe Antigene stören können. Auch diese im Feld präsente Situation ist im Versuch nicht ohne weiteres zu imitieren, kann sich jedoch beim Aufbau einer Populationsimmunität unkalkulierbar störend auswirken.

## Equine Herpesviren

### *EHV1 und EHV4*

#### Ätiologie, Epizootiologie

Von den fünf derzeit klassifizierten Equinen Herpesviren (EHV) haben in erster Linie EHV4 (Rhinopneumonitisvirus) und EHV1 (Abortvirus) als Vertreter der viscerotropen EHV abgesicherte Relevanz zum hier besprochenen Thema. Neben diesen beiden Serotypen der Alpha-Herpesviren des Pferdes spielen die beiden Vertreter der Gamma-Herpesvirinae EHV2 und EHV5 eine wahrscheinliche Rolle im Infektionsgeschehen, das sich auch an den Atemwegen des Pferdes manifestieren kann. Diese Rolle ist, im Gegensatz zu EHV4 und EHV1, jedoch ätiopathogenetisch nicht abgesichert. Alle EHV sind ubiquitär unter Pferden aller Kontinente verbreitet und können sowohl als Mono- wie auch Doppel- und Mehrfachinfektionen nachgewiesen werden.

Von EHV2 und EHV5 sind EHV1 und EHV4 genetisch, immunologisch wie pathogenetisch deutlich trennbar. Allen Viren gemeinsam ist ihre geringe Tenazität, d.h., sie sind unter normalen Raumbedingungen, außerhalb des infizierten Pferdes, nur wenige Tage überlebensfähig, in angetrocknetem Zustand unter Proteinschutz kann diese Überlebensfähigkeit jedoch ca. 1 Monat betragen. Sie sind sensibel gegenüber den gebräuchlichen Oberflächendesinfektionsmitteln, die zur Stalldesinfektion routinemäßig eingesetzt werden sollten (Thein 1996).

Die überwiegende Mehrzahl der Infektionen verläuft klinisch inapparent, alle genannten EHV verursachen latente Infektionen mit der möglichen langjährigen Etablierung in einer nicht replikativen Form in unterschiedlichen Geweben, vorzugsweise Neuralganglien und Lymphgewebe, der infizierten Pferde. Daraus entstehen potente, biologische Virusreservoirs, da einmal infizierte Pferde, vor allem unter exo- wie endogenem Stresseinfluss, diese latenten Infektionen jederzeit reaktivieren können. Innerhalb der Reaktivierung entsteht replikatives Virus, das vorzugsweise über den Atemweg – meist ohne klinische Symptomatik – ausgeschieden wird. Daraus bilden sich fortlaufend neue Infektionsherde. Aerosolisiertes Virus wird bis zu 40m weit über das hustende Pferd ausgeschieden, so dass jeder Zeit aus einer Reaktivierung neue manifeste wie inapparente, in jedem Fall aber wieder latente Infektionen innerhalb dieser Pferd zu Pferd-Infektionskette entstehen (Thein 1996, Borchers 1998, Allen 2002, Allen et al. 2004). Innerhalb der Infektionsketten von EHV 1 sind auch heterologe Wirtswechsel beschrieben (Ludwig et al. 1988, Thein 1996, Borchers 1998).

Mit Bezug zur Atemwegsinfektion durch EHV4 und EHV1 muss davon ausgegangen werden, dass bei der überwiegenden Mehrzahl der erwachsenen Pferde diese Viren latent im Lymphgewebe des Atemweges nachweisbar sind. So konnten Edington et al. (1994) über Kokultivierung nachweisen, dass bei 60% entsprechend untersuchter Schlachtpferde EHV1 und EHV4 in diesen Epithelien nachweisbar waren. Bezüglich der Organverteilung befand sich 10x mehr Virus in Bronchial-Retropharyngeal- und Submandibularlymphknoten als z. B. in der Milz. Zusätzlich war mittels PCR bei 97% aller untersuchten Pferde EHV1 oder EHV4 in Bronchiallymphknoten nachgewiesen worden, die Majorität betraf EHV4. 97% der unter-

suchten Pferde beherbergten darüber hinaus EHV2 in Lymphgeweben. Von besonderem pathogenetischen und epizootiologischen Interesse hierbei ist, dass EHV1 und/oder EHV4 nur in Verbindung mit EHV2 nachgewiesen werden konnte.

Matsumura et al. (1991) kommen in ihren Untersuchungen zum Nachweis von EHV1 und EHV4 an 4 506 Atemwegsproben von Vollblütern zu dem Ergebnis, dass EHV1 lediglich aus Proben erwachsener Pferde >2 Jahre isoliert werden konnte. Bei Pferden <1 Jahr gelang dieser Nachweis nicht. EHV4 dagegen wurde in der überwiegenden Mehrzahl bei Fohlen oder Jährlingen nachgewiesen und war ohne signifikante Schwankungen über das Jahr verteilt nachweisbar, EHV1 dagegen nur im Winter.

Die hohen Prozentsätze der virologisch nachgewiesenen Virusträger von EHV1 decken sich mit entsprechenden serologischen Untersuchungen in deutschen Pferdebeständen (Thein 1976, 1996, Goerlich 1988, Wissing 1993). Im Durchschnitt aller internationalen Untersuchungen kann man von etwa 80% EHV1-positiver und 40% EHV4-positiver Pferde ausgehen. Die Altersverteilung ist auch hier tendenziell die, dass junge Pferde vermehrt Primärinfektionen mit EHV4 durchmachen, die auch häufig klinisch inapparent verlaufen, höhere Infektionsprozentsätze mit diesem Virus aufweisen als ältere Pferde und erst später, bei Pferden von >3 Jahren, die hohe EHV1-Rate zu verzeichnen ist (Allen 2002, Matsumura et al. 1991, Wissing 1993).

Diese latenten Infektionen sind jeder Zeit reaktivierbar und durch keine der möglichen Impfungen präventiv zu beeinflussen. Endo- wie exogener Stress, temporäre Immundysfunktionen, Medikationen, die diese verursachen und weitere Faktoren, wie Doppel-, Super- und Sekundärinfektionen etc. können die Auslöser dafür sein (Edington et al. 1994). Jeder dieser Reaktivierungsprozesse, der irregulär induziert und relevant wird, ist gefolgt von einer Virusreplikation mit Virämie, Virusausscheidung vorzugsweise über den Atemweg und klinisch inapparenten, gelegentlich manifesten Verläufen. Heterologe wie homologe Reinfektionen, z.B. auch mit dem gleichen EHV1-Stamm, der die initiale Infektion verursachte, resultieren wiederum in einer Virämie, also einer manifesten Infektion mit begleitender Virusausscheidung über den Atemweg. Das heißt, auch die natürlich vorkommenden Feldinfektionen schützen nicht vor wiederholten Reinfektionen, auch wenn es sich immunogenetisch um den gleichen Virusstamm handelt. Diese Vorgänge sind durch eine Impfung noch weniger zu beeinflussen.

Bei dem ohnehin hoch signifikant latent EHV1-infizierten Anteil unserer Pferdepopulation mit höchster Seroprävalenz können zusätzlich durch Schutzimpfung induzierte Antikörper weder die Pathogenese noch die Etablierung weiterer, latenter Infektionen und deren jederzeit mögliche Reaktivierung verhindern. Auch das geimpfte Pferd stellt, gleich dem ungeimpften, somit ein Virusreservoir dar, aus dem neue Infektionsketten starten können.

#### Übertragung, Pathogenese und Klinik

Die Infektionsketten der Übertragung von EHV1/4 sind sog. „stille“, die zwischen den Pferden ablaufen. „Still“ deswegen,

da die allermeisten Infektionen, vor allem bei erwachsenen Pferden klinisch inapparent verlaufen und diese Pferde so zu Virusträgern werden, ohne dass dies klinisch bemerkt werden würde. Nur in Ausnahmefällen kommt es zu klinischen, wegen ihrer i. d. R. geringen Ausprägung meist übersehenen Reaktionen des Atemweges mit seröser Rhinitis über wenige Tage.

In erster Linie sind Absetzfohlen und junge Pferde bis zum Alter von 1 bis 2 Jahren von Infektionen betroffen, die häufiger durch EHV4 als durch EHV1 verursacht werden. Nur gelegentlich – und dies vor allem unter Einfluss endo- wie exogener Stressfaktoren, wie sie z. B. das Absetzen von der Mutterstute, das Verbringen in neue Herdenverbände oder die Aufnahme des Trainings mit sich bringt – kann es bei einer Mehrzahl der betroffenen, jungen Pferde zur Haftung der Infektion kommen, die zur Reaktion an den Epithelien des oberen Atemweges mit der Folge einer virusbedingten, gefäßbezogenen Entzündung führt. Klinisch äußert sich dies zunächst in seröser, später seromuköser Rhinitis, Fieber um 39°C und Husten aus dem oberen Atemweg. Der obere Atemweg, speziell die Nüsterschleimhaut, stellt die Eintrittspforte der Inhalationsinfektionen sowie den Ort der ersten Virusreplikation dar. Nach 2 bis 5 Tagen Inkubation kommt es zur Zytolyse des nasopharyngealen Epithels und Infektion der Kopflymphknoten. Die Klinik bleibt beim ungestressten, jungen Pferd mild, die Infektion der unteren Atemwege stellt die Ausnahme dar. Bakterielle Sekundärinfektionen können das klinische Bild komplizieren und den Selbstheilungsverlauf verzögern. Die Virusausscheidung in der klinisch manifesten Phase geschieht über die Rhinitis sowie über mit dem Hustenaerosol weitergegebene Viruspartikel – dies jedoch quantitativ deutlich geringer als dies z.B. bei der Influenza der Fall ist (Thein 1974, 1996, Borchers 1998, Breathnach et al. 2001, Allen 2002, O.I.E. 2008).

Die Infektion der mononukleären Leukozyten in den Lymphknoten des oberen Atemweges resultiert in einer leukozytenassoziierten Virämie, welche über längere Zeit nachweisbar ist. Dies betrifft in erster Linie die Infektion mit EHV1, Virämienachweise infolge EHV4-Infektion sind die Ausnahme (Chester et al., 1997, Edinton et al. 1994, Kydd et al. 1994). Dominiert wird das klinische Bild beim jungen Pferd von einer akuten Rhinitis und Pharyngitis, sekundär gefolgt von Husten. Die Symptomatik wird stark beeinflusst von der Immunkompetenz des infizierten Pferdes sowie die Krankheit verschlechternder und komplizierender Begleitfaktoren. Der Verlauf der reinen Virusinfektion ist i.d.R. unkompliziert, die Spontanheilung im Verlauf von 2 Wochen p.i. die Regel.

Wiederholte Infektionen mit dem gleichen Virusstamm sind jederzeit möglich, führen dann aber in den meisten Fällen nicht mehr zur klinisch erkennbaren Symptomatik. Daher ist die klinisch manifeste Form der EHV1/4-Infektion des erwachsenen Pferdes die Ausnahme und spielt bei diesen keine wirkliche Rolle (Wissing 1993, Thein 1996, Allen 2002). Der immer wieder behauptete, ätiopathogenetische Zusammenhang zwischen der weit verbreiteten follikulären Hyperplasie der Lymphfollikel im oberen Atemweg erwachsener Pferde als Ursache einer „Rhinopneumonitisinfektion“ ist seit Jahrzehnten widerlegt. Hierfür kommen eine ganze Palette anderer infektiöser, wie nicht infektiöser Ursachen in Betracht (Thein 1974, 1979, 1996, Floer et al. 1972, 1973).

Die beschriebenen Symptome der primären Infektion der oberen Atemwege des jungen Pferdes nach EHV4- und EHV1-Infektion sind klinisch nicht von Infektionen mit anderen Viren – wie Equinen Rhinoviren, Säugerreoviren, Equinen Adenoviren usw. zu trennen. Eine Diagnose – die in der Praxis häufig auf falschen Parametern beruht – kann nur im kompetenten virologischen Labor an geeigneten Materialien des Patienten abgesichert, resp. bestätigt oder verworfen werden. Wirklich beweisend ist hierbei nur die Isolation des vermehrungsfähigen Virus aus Material des Atemweges. Die PCR allein ist nicht beweiskräftig, da bei dem hohen Prozentsatz (>80%) latent infizierter Pferde Nukleinsäureanteile über PCR auch dann nachgewiesen werden können, wenn das Pferd an einer anderen Infektion primär erkrankt ist (Cathcart and Murcia 2012). Der indirekte Erregernachweis über Serokonversion (Titeranstieg im 2. Serum um mindestens 400%, tunlichst im Neutralisationstest) ist auch nur beim akut erkrankten, jungen Pferd ein Hinweis auf die primäre Infektion. Bei erwachsenen Pferden mit den häufigen EHV-Reinfektionen oder reaktivierten Infektionen, die klinisch inapparent verlaufen, kann es ebenfalls zur Serokonversion kommen.

### Immunität und Schutzimpfung

Dass die Impfungen mit monovalentem EHV1-Lebendimpfstoff oder bivalenten EHV1/4-Impfstoffen auf inaktivierter Basis den individuellen EHV-Abort und die damit verbundene Ausscheidung hoher Virusquantitäten ebenso wie die EHV1/EHV4-bedingte Myelopathie nicht verhindern können, ist hinlänglich beschrieben worden (bei Thein 2012). Der Einsatz existenter Impfstoffe gegen EHV1 und/oder EHV4 kann weder die Etablierung von Feldvirus oder attenuiertem Impfvirus noch deren Latenz oder klinische Manifestation verhindern. Gegenüber allen anderen EHV existieren keine Impfstoffe (Allen 2002, Allen et al. 2004, Thein 2012). EHV1 und EHV4 sind sich zwar ähnlich, jedoch genetisch wie immunologisch und pathogenetisch different, besonders bei EHV4 existieren viele unterschiedliche Virusstämme (Borchers 1998, Thein und Huselstein 2000, Allen 2002). Es besteht kein immunologischer Kreuzschutz zwischen diesen Viren (Eddington and Bridges 1990).

Des Weiteren ist bis heute kein quantitativer Mechanismus, weder auf humoraler noch zellulärer Ebene, bekannt, der für einen Immunschutz verantwortlich gemacht werden und den Prozess der Infektion, Latenz und Reaktivierung mit Virusausscheidung effektiv verhindern könnte (Allen et al. 2004, Thein 2012). Die Herpesviren, speziell EHV1, können sich in immunkompetenten Zellen vermehren und so post infectionem generell für eine reduzierte Abwehr im infizierten Pferd sorgen. Darüber hinaus konnte nach experimenteller EHV1-Infektion von antikörperfreien Pferden nachgewiesen werden, dass die Infektion zwar zu einer postinfektionellen, antigenspezifischen T-Zellreaktion führte, jedoch auch eine signifikante Unterdrückung der nicht EHV1-antigenspezifischen T-Zellreaktion zur Folge hatte. Diese bestand über 74 Tage p.i.. Die Beeinflussung der zellvermittelten Immunreaktion kann die Ursache für eine reduzierte oder aufgehobene T-Zellvermittelte Immunreaktion gegenüber heterologen Antigenen (Infektion, Impfstoff) sein (Hannant et al. 1996).

Insgesamt verfügen alle EHV über eine ganze Palette unterschiedlicher Mechanismen, um die antiviralen Abwehrmög-

lichkeiten des infizierten Pferdes zu umgehen (Borchers et al. 1997, 2006, Kershaw 2001, Allen 2002, Allen et al. 2004). Interaktionen von EHV1/4 z. B. mit EHV2 können eine abwehrschwächende Funktion bewirken mit der Folge kreuzweiser Infektionsbegünstigung. Eine spezielle Rolle kommt hierbei möglicherweise den EHV2-Vertretern zu, da sie innerhalb der Trans- sowie Reaktivierung latenter EHV1- und EHV4-Infektionen eine induzierende Rolle spielen können (Welch et al. 1992, Edington et al. 1994, Kershaw 2001, Borchers et al. 2006).

Pferde-Gruppe	Prevaccinol® EHV- 1	Resequin F konz.® EHV-1, Influenza, Reoviren
Zuchstuten (n=195)	89,7% (n=175)	10,3 % (n=20)
Deckhengste (n=18)	61,1% (n=11)	38,9% (n=7)
Fohlen (n=144)	43,8% (n=63)	31,6% (n=52)
Jährlinge (n=86)	45,3% (n=39)	8,1% (n=7)
Rennpferde (n=157)	15,3% (n=24)	5,7% (n=9)

Wie aus experimentellen Infektionen von SPF-Pferden bekannt (Lunn et al. 1991), konnte nach intranasaler EHV1-Infektion dieses Virus über 2 Wochen p.i. in der Nüsternschleimhaut der Pferde nachgewiesen werden, von wo es auch wieder ausgeschieden wurde. Ob, wie beschrieben (Heldens et al. 2001), die Impfung mit einem EHV1/4-Impfstoff auf inaktivierter Basis diesen Zustand und die Virusausscheidung unter differenten Feldbedingungen soweit beeinflussen kann, dass daraus eine epizootologisch spürbare Reduktion der Virusmengen im Bestand dauerhaft entstehen könnte, ist bislang unbewiesen. Ungeklärt ist hierbei auch die Rolle von EHV2, das bis zu 80/90% bei untersuchten Pferden nachgewiesen wird und seiner sowohl die Immunantwort als auch die Reaktivierung und Transaktivierung von EHV1 und EHV4 beeinflussenden Rolle. Des weiteren gibt es keine wissenschaftlich fundierten Daten über das biologische Verhalten der unterschiedlichen EHV1- und EHV4-Stämme bezüglich Manifestation, Reaktivierung und Ausscheidung sowie – bei nicht vorhandener Kreuzimmunität – den Einfluss von Impfungen darauf. Man kann die erhoffte Reduzierung der Virusmengen aus dem Atemweg konsequent und regelmäßig, dann aber nur mit einem bivalenten EHV1-EHV4-Impfstoff auf inaktivierter Basis geimpfter Pferde, somit lediglich als Bestandteil eines Hygienemanagements des gesamten Bestandes – wie z.B. auch regelmäßige Desinfektion in den Ställen usw. – ansehen und sollte dies nicht mit der Aussage verbinden, die Impfung würde die schon angeführten, klassischen Anforderungen an einen Impfstoff erfüllen und vor weiteren Infektionen schützen.

Die Gründe dafür liegen generell in der Situation der latenten/persistenten Infektion mit der permanenten Anwesenheit des homologen Antigens und dem daraus resultierenden mangelnden Schutz auf B-Zell-Basis (Vahlenkamp 2011), der mangelnden Induktion anderer, z. B. zellvermittelter, wie antigenunspezifischer Abwehrmechanismen durch die Impfstoffe sowie auch deren geringer Immunogenität und der nicht quantifizierbaren Immunabwehr nach EHV-Infektionen und -Impfungen. Über Antikörper und zellvermittelte Immunität hinaus (Allen et al. 2004, Thein 2012) übernehmen zwischen der notwendigen, unspezifischen sowie antigenspezifischen Abwehr z.B. nach EHV1-Infektionen, dendritische Zellen eine

wichtige Rolle. Diese können das infizierende Virus an dessen primärem Replikationsort (oberer Atemweg) aufnehmen, in die regionalen Lymphknoten einschleusen, dort das aufgenommene Antigen ruhenden T-Zellen präsentieren und damit deren Aktivierung bewirken (Steinbach et al. 1998). Auch dieser Prozess ist durch keine Impfung induzierbar.

Da die genannten, klassischen Impfziele mit derzeit verfügbaren EHV-Impfstoffen nicht erreicht werden können, bleibt der altruistische Effekt der erhofften Reduzierung der freien Virusmengen in konsequent durchgeimpften Beständen, verbunden mit der Hoffnung einer daraus resultierenden Reduktion der Infektions- und Manifestationsquoten. Dem widerspricht jedoch die über Jahrzehnte gleichgebliebene, epizootologische Situation, vor allem auch in Beständen, wie z. B. im Deutschen Vollblut, mit seit über 30 Jahren vorgeschriebener EHV-Pflichtimpfung der Zuchtpferde.

Einer Statistik von Wissing (1993) folgend, wurden hier beispielsweise im Untersuchungszeitraum 1990-1991 folgende Impfstoffe bei den in ihre seroepizootologischen Untersuchungen einbezogenen Pferdegruppen angewendet:

Wie ersichtlich, wurden 100% der Zuchstuten und Deckhengste gegen EHV1, vorzugsweise mit dem zunächst erhältlichen, attenuierten EHV1-Lebendimpfstoff geimpft, in der Absicht, den EHV-Abort zu verhindern – mit einem Impfstoff, der nicht über eine Abortindikation verfügt. Dies reflektiert in etwa die Gesamtschau der letzten 40 Jahre im Deutschen Vollblut, wo wir gleich bleibende Abortraten haben (Thein 2012), die in manchen Jahren mit steigender Tendenz dazu führten, dass in dieser Zucht immer wieder über den Sinn dieser Impfungen, die Kapazität des eingesetzten Impfstoffs und die Wahl anderer, inzwischen auf dem Markt befindlicher, z. B. Vakzinen mit EHV1/EHV4-Anteil, diskutiert wurde und wird (Thein 1996, 2002, 2006). Allein an dieser Situation lässt sich ablesen, dass auch in durchgeimpften Pferdepopulationen – namentlich mit dem verfügbaren EHV1-Lebendimpfstoff – keine tatsächliche Verbesserung der epizootologischen, wie daraus ableitend auch der klinischen Verhältnisse erreicht werden konnte.

Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass Schutzimpfungen derzeit nicht in der Lage sind, die EHV1/4-Infektionen mit den hohen Prozentsätzen latent infizierter Carrier und Virusausscheider soweit zu beeinflussen, dass dadurch die Erreger aus den Beständen eliminiert und die möglichen, klinischen Folgen der Infektionen verhindert werden könnten.

Als „Impfziel“ wird immer wieder die Verminderung der Symptomatik, speziell der Atemwegsinfektionen junger Pferde genannt, die allerdings signifikant häufiger durch EHV4-Stämme als durch EHV1 verursacht werden. Dies wäre dann nur durch den Einsatz eines Impfstoffes auf Basis inaktivierter EHV1/4 anzustreben. Zur Relativität dieses Vorgehens äußert sich u.a. Allen (2002), indem auch er schreibt, dass die Impfungen junger Pferde die EHV1/4-Atemwegsinfektionen nicht verhindern können, sondern, dass sie bestenfalls die Schwere der klinischen Symptome mildern und die Dauer und Menge der Virusausscheidung reduzieren helfen können. Die Entwicklung des Carrierstatus ist durch die Impfung nicht zu verhindern. Die gleichzeitig von diesem Autor empfohlenen Wiederholungsimpfungen sogar im Abstand von 3 Monaten

sind ein Indiz für den mangelnden Immunschutz der verfügbaren EHV- Impfstoffe und bergen die Gefahr der Überimpfung in sich.

Von 16, in den USA registrierten Impfstoffen mit EHV- Komponenten, sind z.B. 14 auf inaktivierter Basis (mono- und bivalent) und nur zwei Impfstoffe des gleichen Herstellers auf der Basis des attenuierten EHV1-Lebendvirus (Stamm RACH). Hierbei handelt es sich um den gleichen Impfstamm, dem *Breathnach* et al. 2001 in ihren vergleichenden Immunisierungsversuchen mit inaktiviertem EHV1-Impfstoff sowohl die Induktion einer lokalen Schleimhautimmunität als auch systemischen Immunantwort absprechen mussten im Gegensatz zu dem mitgetesteten Impfstoff auf Basis inaktivierter Viren. Der Lebendimpfstoff, vor 40 Jahren in Deutschland entwickelt, entspricht nicht den an einen Impfstoff zu stellenden Anforderungen. Von *Doll* und *Bryans* (1963) wurde der Einsatz des EHV1-Lebendimpfstoffes als „geplantes Infektionsprogramm“ angesehen. Durch seinen Einsatz wollte man die Feldviren in den Impfbeständen durch das Impfvirus ersetzen und dieses dann in einem 2. Strategieschritt durch flächendeckenden Einsatz von Impfstoffen auf inaktivierter Basis immunologisch eliminieren. Nichts davon konnte dadurch gelingen. Das geschilderte Konzept wurde zu einer Zeit entwickelt, als noch nicht bekannt war, dass EHV1 und EHV4 getrennte Viren sind und dass beide in langjährige, obligate Latenz im einmal infizierten Pferd gehen, die durch keine Art von Impfung zu unterbinden ist.

Von *Studdert* (1974) liegen Berichte vor, dass der Lebendimpfstoff sowohl zu Abort wie Paralyse bei geimpften Pferden führte, *Allen* et al. (1998) vermuten über molekularbiologische Untersuchungen eine Beteiligung des attenuierten EHV1-Lebendvirus am Infektionsgeschehen.

Die mangelnde epizootiologische wie klinische Wirksamkeit der erhältlichen Impfstoffe führte international seit Jahrzehnten zu der Forderung, tatsächlich wirksame Impfstoffe mit Priorität zu entwickeln (*Bürki* 1987, *Ludwig* et al. 1988, *Thein* 1974, 1996, *Allen* 2002). Die Prüfung der Antigenität, unter anderem auch in den USA erhältlicher, kommerzieller, monovalenter EHV1-Impfstoffe und Kombinationsimpfstoffe mit EHV1-Anteil ergab sehr unterschiedliche Resultate bezüglich der p.vacc. gemessenen Parameter, wie Antikörper und IFN-Gamma-m-RNA. Betont wird hierbei, dass es kaum gelingt, einen Impfstoff zu identifizieren, der gegenüber der respiratorischen Verlaufsform von EHV1 schützen würde (*Holmes* et al. 2006). *Kydd* et al. (2006) weisen in ihren Untersuchungen darauf hin, dass der Entwicklung effektiver Impfstoffe mit der postvakzinalen Induktion protektiver, humoraler wie zellulärer Immunmechanismen höhere Priorität eingeräumt werden müsse. Es sei zwar durch den Einsatz von Impfstoffen auf inaktivierter Basis eine Beeinflussung der „abortion-storms“ zu beobachten, die geimpften Individuen blieben jedoch empfänglich für die Infektionen.

Trotz Ansätzen, wie DNA-Vakzinen und Vektorimpfstoffen auf Basis von Kanarienvirus/Vacciniavirus-Konstrukten zur Vakzination gegen EHV1 konnten bisher nur Teilerfolge bezüglich der Induktion einer Teilimmunität erzielt werden, nicht jedoch bezüglich der Verhinderung postinfektioneller Virämie und manifester Belastungsinfektion (*Minke* et al. 2006, *Paillot* et al. 2006b).

Auch die Herpesviren des Pferdes werden, wie die Influenza, nicht innerhalb des Deutschen Tierseuchengesetzes geregelt. Impfpfehlungen werden – wenn überhaupt – von Sportorganisationen, Zuchtverbänden usw. gegeben. Dies ist in erster Linie mit dem Ziel verbunden, Sportveranstaltungen ungestört von auftretenden manifesten Erkrankungen durchzuführen oder – wie im Deutschen Vollblut – die EHV-Aborte präventiv anzugehen. Werden unter dieser Prämisse in Deutschland EHV-Impfpfehlungen mit zum Teil verpflichtendem Charakter ausgesprochen, so muss der Anwender (Impfrierer, Pferdebesitzer) über die genannten, realen Fakten, speziell die beschriebene, limitierte Potenz des eingesetzten Impfstoffes, aufgeklärt werden, da er sonst unter falschen Voraussetzungen zu einer Impfung greift. In diesem Zusammenhang kommt der Impfstoff herstellenden und vertreibenden Industrie Verantwortung zu, die aber ganz offensichtlich hinter Marketingargumenten zurückzustehen hat. Beispielsweise kann nicht nachvollzogen werden, wie in einer Produktwerbung (*Mager* 2012) dem Impfstoff „Prevaccinol“, diametral entgegengesetzt seiner Produktinformation, infektiionsverhindernde Eigenschaften zugeschrieben werden, über die weltweit kein EHV-Impfstoff verfügt. Ein solches Vorgehen kann nur als bewusste Irreführung der Anwender verstanden werden und dürfte nicht ohne Folgen bleiben.

Auf Basis der Epizootiologie, der hohen Prozentsätze obligat latent infizierter Pferde, der damit verbundenen Durchseuchungsprozentsätze mit klinisch inapparent verlaufenden Infektionen, der Manifestation vor allem der EHV4-Infektion am Atemweg von Fohlen und jungen Pferden sowie der mangelnden Potenz insgesamt verfügbarer EHV-Impfstoffe ist die Diskussion einer Pflichtimpfung gegen EHV (EHV1-EHV4?) der Turnierpferde, analog der Influenzaimpfung, unverständlich. Maßnahmen wie diese, die darauf abzielen, speziell Pferde, die an Sportveranstaltungen teilnehmen, einer verpflichtenden Impfung zu unterziehen, gehen aus infektiionsmedizinischen wie biologischen Gründen an der geschilderten EHV1/4-Problematik vorbei. Erwachsene Sportpferde sind nicht die Zielgruppe der EHV 4- und EHV1-Infektionen, dies sind Fohlen und junge Pferde. Speziell auf diese zielen z. B. auch die entsprechenden US-amerikanischen Aktivitäten ab, die in erster Linie auf strikten Kontroll- und Hygienemaßnahmen sowie entsprechendem Betriebsmanagement beruhen (*Allen* 2002). Die Empfehlung einer EHV-Impfung der deutschen Turnierpferde analog den Impfungen gegen Influenza kann wissenschaftlich nicht begründet werden.

## EHV2 und EHV5

### Ätiologie und Epizootiologie

Beide Gammaherpesviren der Equiden können in allen untersuchten Pferdepopulationen weltweit ubiquitär nachgewiesen werden. Auf Grund der Ähnlichkeit von EHV2 und EHV5 wurde bis 1987 von nur einem Virus (EHV2) mit hoher genetischer und antigenetischer Varianz ausgegangen. Inzwischen sind beide Viren auf Grund ihrer DNA- wie Proteindifferenzen eindeutig trennbar, weisen untereinander jedoch Sequenzhomologien auf (*Agius* and *Studdert* 1992, 1994, *Telford* et al. 1995). Bezüglich ihrer Epidemiologie und Weiterverbreitung erscheint es von Bedeutung, dass sich EHV2 und EHV5 immer wieder aus unterschiedlichen Proben verschiedener Segmen-

te des Atemweges vorzugsweise von jungen Pferden im Bereich des Absetzalters nachweisen lassen. Somit scheint auch hier die horizontale Übertragung im Sinne der Tröpfcheninfektion epidemiologisch die Hauptrolle zu spielen.

Die Nachweisraten von EHV2 über Kokultivierung aus peripheren Blutmonozyten (PBMC), speziell Lymphozyten, liegen in unterschiedlichen Kontinenten (USA, Australien) und Ländern Europas zwischen 31% und 89% der untersuchten Pferde (Agius and Studdert 1994, Kershaw 2001). Auf Grund immer wieder gelungener Nachweise von EHV2 werden die Lymphozyten, speziell die B-Zellen, als Latenzorgan angesehen (Drummer et al. 1996). Darüber hinaus gelang der Nachweis aus einer Vielzahl weiterer, auch nicht lymphoretikulärer Gewebe (Edington et al. 1994, Borchers 1998, Kershaw 2001).

Vermehrungsfähige EHV2 konnten wiederholt aus Material des oberen und unteren Atemweges, vorzugsweise von Fohlen (Thein und Härtl 1976, Palfi et al. 1978, Thein 1978) isoliert und typisiert werden. In diesen Untersuchungen waren die Fohlen an einer mit Husten einhergehenden, fieberhaften Infektion der oberen Atemwege bis zur Trachea erkrankt, innerhalb derer auch Serokonversion gegenüber dem isolierten Virus verzeichnet werden konnte. Die Mehrzahl der über PCR oder Kokultivierung nachgewiesenen Infektionen mit EHV2 müssen als Ausdruck der Latenz dieser Viren in den PBMC angesehen werden; die betroffenen Pferde zeigten in der Regel keine Serokonversion.

In epizootiologischen Untersuchungen weist ein sehr hoher Prozentsatz untersuchter Pferde EHV2-Antikörper auf (Bagust et al. 1972, Thein 1978, Borchers et al. 1997, Wolfinger 1998). Wie bei EHV1 und EHV4 können auch hohe Titer mit virusneutralisierender Kapazität die EHV2 Infektion nicht verhindern, möglicherweise jedoch die klinische Manifestation (Belak et al. 1980, Nordengrahn et al. 1996, Varga et al. 1997).

#### Immunreaktion und Klinik

Die Immunreaktion nach EHV2-Infektion wird von einigen, die Immunantwort reduzierenden Eigenschaften dieser Viren geprägt (Kershaw 2001, Rode et al. 1993). In der Konsequenz bedeutet dies, dass es über Bindung zellulärer, immunstimulierender Chemokine an virale Rezeptoren und Sekretion eines EHV2-spezifischen, immunsupprimierenden Zytokins zur Reduzierung der postinfektionellen Immunantwort und dadurch zum besseren Überleben von EHV2 in den infizierten Zellen kommt (Kershaw 2001). Möglicherweise ist in dieser biologischen Fähigkeit der EHV2-Stämme, bei den häufigen Mehrfachinfektionen von EHV1, EHV4 und EHV2 (Edington et al. 1994) die Ursache der dann gehäuft erfolgenden Reaktivierungen von EHV1 und EHV4 durch EHV2 zu suchen.

Die klinischen Bilder, die EHV2 gesichert zugeordnet werden können, beziehen sich mehr auf die Infektion des Auges mit der Folge der Konjunktivitis/Keratitis/Keratokonjunktivitis superficialis (Thein und Böhm 1976, Thein 1976, 1978, Matthews and Handcombe 1983, Miller et al. 1990, Agius and Studdert 1992, Kershaw et al. 2001) als auf andere klinische Manifestationen. EHV2-Nachweise aus Pferden mit Sympto-

men seitens des Respirationstraktes sind vergleichbar den bei klinisch unauffälligen Pferden (Borchers et al. 1997, Kershaw 2001). Die beschriebenen Atemwegssymptome sind meist die einer Rhinitis, Pharyngitis-Laryngitis, milden Fiebers, gelegentlich kurzzeitiger Teilnahmslosigkeit. Meist handelt es sich bei den Patienten um Fohlen im Absetzalter (Palfi et al. 1978, Plummer and Waterson 1963, Studdert et al. 1970, Thein 1978, 1996, Thein und Härtl 1976).

Ein signifikanter Unterschied in der Nachweishäufigkeit von EHV2 aus Trachealsekret ist von Murray et al. (1996) beschrieben. Hier gelang in einem Vergleich von 30 respiratorisch erkrankten und 20 klinisch unauffälligen Fohlen der Virusnachweis bei 20 der 30 kranken und nur bei 1 der 20 gesunden Fohlen aus Atemwegsproben. Im Gegensatz dazu gelang in allen 50 Pferden der EHV2-Nachweis aus PBMC, was wiederum für die latente, eventuell reaktivierte und dann manifeste Infektion spricht. Bakterielle Sekundärinfektionen als Folge primärer EHV2-Infektionen werden immer wieder beschrieben, speziell Infektionen mit *Rhodococcus equi* (Nordengrahn et al. 1996, Varga et al. 1997) scheinen hierbei eine Rolle zu spielen.

Neben der möglichen Manifestation am gesamten Atemweg mit den klinischen Folgen wird auch diskutiert, ob EHV2 ätiopathogenetisch an dem Leistungsschwäche (poor performance)-Syndrom beteiligt ist. Zu diesem Syndrom bei jungen Rennpferden, einhergehend mit Fieber, Konditionsverlust, Pharyngitis/Laryngitis, wurden von Jensen-Waern et al. (1998) mikrobiologische sowie serologische Untersuchungen angestellt. Es gelang zwar kein Erregernachweis, jedoch der Nachweis einer Serokonversion gegen EHV2 und Equines Rhinovirus. Letzteres ist allerdings auch allein befähigt, die beschriebenen klinischen Symptome, speziell bei jungen sowie bei gestressten Pferden hervorzurufen, so dass die kausale Beteiligung von EHV2 in diesem Zusammenhang eher vorsichtig zu beurteilen ist.

Die beschriebene Epidemiologie und Weiterverbreitung der Infektion vor allem unter jungen Pferden trifft für EHV2 und EHV5 gleichermaßen zu. Insgesamt ist vom EHV5-Nachweis seltener berichtet worden als von EHV2. 1974 isolierten z. B. Wilks und Studdert ein EHV5 in Australien aus den Lymphozyten von 2 Pferden, bei 2 weiteren gelang die Anzucht aus Nasentupfern (Turner and Studdert 1970). Auch hier stammten die isolierten Viren aus respiratorisch erkrankten Tieren. 1999 wurde von Dunowska et al. in Neuseeland beschrieben, dass aus 38 von 114 untersuchten Pferden EHV5 wiederum aus Lymphozyten, aber auch Nasentupferproben nachgewiesen werden konnte. Mit Ausnahme eines einzigen Pferdes lagen Doppelinfektionen von EHV2 und EHV5 vor. Es ist wie bei EHV2 davon auszugehen, dass die Erstinfektionen früh im Fohlenalter stattfinden; der Infektionsweg Stute – Fohlen in diesem Alter konnte von Thein (1976, 1978) bei der EHV2-Infektion des Auges nachgewiesen werden. Zur Virusausscheidung kommt es vermutlich erst nach dem Abklingen der maternalen Immunität. Auch wie EHV2 wird EHV5 immer wieder aus peripheren Lymphozyten und/ oder Nasentupfern nachgewiesen, ohne dass daraus eine Sicherheit für Pathogenität, Pathogenese und Klinik abzuleiten wäre.

Zu dieser Frage wurden von Fortier et al. (2009) 785 Tracheal- und Bronchoalveolarspülproben aus erwachsenen, gesun-

den Pferden in Frankreich mittels Sequenzanalyse auf EHV5 untersucht. In 20 der untersuchten Proben wurde EHV5 nachgewiesen, ohne dass hierbei eine Korrelation zu den zytologischen Befunden an den untersuchten Proben bestand.

Auf die deutlich höhere Prävalenz von EHV5 bei Fohlen im Absetzalter weisen auch *Marenzoni et al.* (2010) hin. Diese Autoren untersuchten das Vorkommen von EHV5 bei 55 klinisch unauffälligen Pferden (Hengsten und Stuten) eines Gestütes im Alter von 1 bis 17 Jahren. Nasentupfer und PBMC wurden zu diesem Zweck in der PCR geprüft, die Ergebnisse der gemittelten Altersgruppen der Pferde von 2 und 7 Jahren wurden statistisch errechnet. Insgesamt erwiesen sich 60% der Nasentupfer und 53 % der insgesamt untersuchten peripheren Leukozyten in der PCR EHV5-positiv. Die Ergebnisse in der Gruppe der jungen Pferde lagen mit 73% in Nasentupfern und 80% in PBMC statistisch signifikant höher als in der Gruppe der älteren Pferde mit 40% und 30%. Auch diese Autoren schließen aus ihren Ergebnissen, dass junge Pferde häufiger akut und ältere Pferde eher latent infiziert sind. Sie stellen, mit Bezug auf die Arbeit von *Williams et al.* (2007), eine Beziehung zu der wahrscheinlich durch EHV5 verursachten, multinodularen, pulmonären Lungenfibrose des Pferdes her. Diese schwere Erkrankung der Lunge wurde diesen Aussagen zufolge immer bei Pferden ab einem Alter von 4 Jahren diagnostiziert. Das Alter, einhergehend mit prädisponierenden Faktoren, wird als mögliche Erklärung für das Zustandekommen dieser manifesten Infektion herangezogen.

Zu ähnlichen Aussagen gelangen die Untersuchungen von *Poth et al.* (2009). Hier wurde bei 5 Pferden in Deutschland, die im Alter von 10 bis 25 Jahren von der chronischen, fibrosierenden, interstitiellen Entzündung der Lunge betroffen waren, in 4 von 5 Fällen EHV5 mittels PCR im Lungengewebe nachgewiesen. Pathohistologisch waren neben den Mustern der chronischen Pneumonie mit multiplen, großen Knoten in allen Lungenlappen auch intranukleäre Einschlusskörper in den Alveolarmakrophagen nachzuweisen. Dies ist bei Gammaherpesviren nicht nur des Pferdes ein häufiger auftretendes, virusbedingtes Substrat. Bakteriologisch wie mykologisch konnte in den veränderten Lungengewebe kein Befund erhoben werden, bei 3 von 5 Pferden gelang zusätzlich der Nachweis von EHV2. Andere Ursachen für die erhobenen Befunde konnten ausgeschlossen werden. Dennoch stellt sich die Frage nach der kausalen Ätiopathogenese und deren möglichem Zusammenhang mit dem molekularbiologischen Nachweis von EHV5 und EHV2 im gleichen Gewebe.

Dass sowohl EHV2 als auch EHV5 pferdepathogen sind, ist unstrittig und wurde auch experimentell nachgewiesen (*Borchers et al.* 1998). Wie schon bei EHV1 und EHV4 beschrieben, kann die Häufigkeit nachgewiesener Mehrfachinfektionen in ein und demselben Pferd, ebenso wie der Nachweis unterschiedlicher Biotypen von z. B. EHV2, eine eindeutige Aussage bezüglich klinischer wie mikrobiologischer Diagnose erschweren. Werden nicht alle an diesen Infektionen beteiligten Viren, auch mit ihren unterschiedlichen, die Immunantwort des derart infizierten Pferdes beeinflussenden Möglichkeiten in die jeweilige Diagnose mit spezifischen, validen Methoden einbezogen, bleiben getroffene Aussagen zur Ätiologie des jeweils beobachteten klinischen Bildes zweifelhaft.

Molekularbiologische Methoden allein, wie z. B. die verschiedenen Arten der PCR, genügen vor allem bei den obligat latenten EHV-Infektionen mit ihrer sehr hohen Prävalenz dann dazu nicht (*Cathcar and Murcia* 2012).

## Immunpräventive

Von einer real existierenden Immunpräventive auf Basis verfügbarer EHV2/5 Impfstoffe kann nicht gesprochen werden.

Zur Immuntherapie einer mit Husten einhergehenden EHV2-Infektion der Atemwege liegen Ergebnisse von *Belak et al.* (1980), unter Einsatz von EHV2-Hyperimmunserum an 10 Tage alten Fohlen vor. Demzufolge soll die parenterale Applikation dieses Serums die therapierten Fohlen vor respiratorischen Symptomen und Virusausscheidung über 8 Wochen geschützt haben. Danach traten die respiratorischen Symptome in Verbindung mit Virusausscheidung wieder auf. Dass EHV2-Infektionen bei Fohlen prädisponierend für bakterielle Folgeinfektionen sein können, ist mehrfach beschrieben (*Thein* 1978, 1994, 1996, *Varga et al.* 1991). Wie schon erwähnt, scheint in diesem Zusammenhang *Rhodococcus equi* eine besondere Rolle zu spielen. Zur Immunpräventive dieses dann multifaktoriellen Infektionsgeschehens wurde von *Nordengrahn et al.* (1996) eine experimentell hergestellte ISCOM-Vakzine mit verschiedenen EHV2-Hüllproteinen in Fohlen geprüft. Die damit wiederholt immunisierten Fohlen wiesen demzufolge deutlich weniger Fälle verlustreicher Infektionen auf wie die nicht oder nur einmal immunisierten Tiere. Ähnliche Berichte liegen von *Varga et al.* (1997) vor. Hier waren experimentelle, inaktivierte Kombinationsimpfstoffe gegen *Rhodococcus equi* und EHV2 erfolgreicher als die vergleichsweise getesteten monovalenten Vakzinen.

Bezüglich tatsächlich präventiver Wirksamkeit bei definitiv durch die genannten Erreger verursachten klinischen Manifestationen lassen all diese vorläufigen Ergebnisse keine stichhaltigen Bewertungen zu.

## Literatur

- Agius C. T., Nagesha H. S. and Studdert M. J.* (1992) Equine herpesvirus 5: comparison with EHV2 (equine cytomegalovirus), cloning, and mapping of a new equine herpesvirus with novel genome structure. *Virology* 191, 176-186
- Agius C. T. und Studdert M. J.* (1994) Equine herpesvirus 2 and 5: comparison with other members of the subfamily gammaherpesvirinae. *Adv. Virus Res.* 44, 357-379
- Allen G. P., Yeragen M. R., Turtinen W., Bryans L. T. und McCollum W. H.* (1983) Molecular epizootiologic studies of equine herpesvirus 1 infections by restriction endonuclease fingerprinting of viral DNA. *Am. J. Vet. Med. Res.* 44, 263-271
- Allen G. P.* (2002) Respiratory infections by Equine Herpesvirus Types 1 and 4 Equine Respiratory Diseases, Intern. Vet. Info. Service, Ithaca, New York
- Allen G. P., Kydd J. H., Slater J. D. und Smith K. C.* (2004) Equid herpesvirus 1 and equid herpesvirus 4 infections *Inf. Dis. Livest., Oxford Press*, Chapter 76, 829- 859
- Ataseven V. S., Bilge-Dagai S., Oguzoglu P. T. C., Karapinar Z., Güzel M. und Tan M. T.* (2010) Detection and sequence analysis of equine gammaherpesvirus from horses with respiratory disease in Turkey. *Transbound. Emerg. Dis.* 57, 271-276
- Bagust T. J., Pascoe R. R. und Harden T. J.* (1972) Studies of equine herpesviruses. 3. The incidence in Queensland of three different equine herpesvirus infections. *Aust. Vet. J.* 48, 47-53

- Barquero N., Daly J. M. und Newton J. R. (2007) Risk factors for influenza infection in vaccinated racehorses: lessons from an outbreak in Newmarket, UK in 2003. *Vaccine* 25, 7520-7529
- Bean B., Moore B. M., Sterner B., Peterson L. R., Gerding D. N. und Balfour H. H. Jr. (1982) Survival of influenza viruses on environmental surface. *J. Infect. Dis.* 14, 47-51
- Belak S., Palfi V., Tuboly S. und Bartha L. (1980) Passive immunization of foals to prevent respiratory disease caused by equine herpesvirus type 2. *Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B* 27, 826-830
- Borchers K., Wolfinger U., Goltz M., Broll H. und Ludwig H. (1997) Distribution and relevance of equine herpesvirus type 2 (EHV-2) infections. *Arch. Virol.* 142, 917-928
- Borchers K., Wolfinger U., Ludwig H., Thein P., Baxi S., Field H. J. und Slater J. D. (1998) Virological and molecular biological investigations into equine herpesvirus type 2 (EHV-2) experimental infections. *Virus Res.* 55, 10-16
- Borchers K. (1998) Infektionen mit Equinen Herpesviren des Typs 1, 2, und 5: Verbreitung, Pathogenese, Immunantwort und Latenz. Virologische, molekularbiologische, histologische und immunologische Studien an experimentell und natürlich infizierten Tieren. *Vet. Med. Habilitationsschrift, Fachbereich Virologie, FU Berlin.*
- Borchers K., Thein P. und Sterner-Kock A. (2006) Pathogenesis of equine herpesvirus – associated neurological disease: a revised explanation. *Equine Vet. J.* 38, 283-287
- Breathnath C. C., Yeargan M. R., Shoran A. S. und Allen G. P. (2001) The mucosal humoral immune response of the horse challenge and vaccination with Equine- herpesvirus- 1 antigens. *Equine Vet. J.* 33, 651-657
- Bryant N. A., Rush A. S., Russell C. A., Ross J., Cooke A., Bowman S., MacRae S., Lewis N. S., Paillot R., Zanoni R., Meier H., Griffith L. A., Daly J. M., Tiwari A., Chambers T. M., Newton J. R. und Elton D. M. (2009) Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 to 2007. *Vet Microbiol.* 138, 41-52
- Bryant N. A., Paillot R., Rash A. S., Medcalf E., Montesso F., Ross J., Watson J., Jeggo M., Lewis N. S., Newton J. R. und Elton D. M. (2010) Comparison of two modern vaccines and previous influenza infection against challenge with an equine influenza virus from the Australian 2007 outbreak. *Vet. Res.* 41, 19
- Bürki F. (1987) Rhinopneumonitis vaccination – an unsettled problem. XIII World Vet. Conf., Montreal, Canada, Section XI
- Bürki F., Skenec J., Nowotny N., Reichler R., Ruso O. und Lussy H. (1991) Zur Ätiologie der epidemischen Pferdeinfluenza von 1989/90 – Schutzwert von Marktimpfstoffen und geübte Impfpraxis. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 78, 237-246
- Callinan I. (2008) The August 2007 Outbreak in Australia. Commonwealth of Australia. Available from: <www.quineinfluenzainquiry.gov.au>
- Cathcart M.P. und Murcia P. R. (2012) Hide and seek. Diagnosing equine viral diseases using molecular biological techniques. *Equine Vet. J.* 44, 379-381
- Chambers T. M., Shortrige K. F., Li. P. H., Powell D. G. und Watkins K.W. (1994) Rapid diagnosis of equine influenza by Directgen FLU-A enzyme immunoassay *Vet. Rec.* 135, 275-279
- Chester P. M., Allsop R., Purewal A. und Edington N. (1997) Detection of latency- associated transcripts of equid herpesvirus 1 in equine leucocytes but not in trigeminal ganglia. *J. Virol.* 71, 3437-3443
- Cullinane A., Weld J., Osborne M., Nelly M. und McBride C. (1994) The interference of maternal antibodies with the immune response of thoroughbred foals and yearlings to vaccination against equine influenza. *Equine Inf. Dis.* VII, 240-244
- Cullinane A., Weld J., Osborne M., Nelly M., McBride C. und Walsh C. (2001) Field studies on equine influenza vaccination regimes in thoroughbred foals and yearlings. *Vet. J.* 161, 174-185
- Cullinane A. (2009) Equine Influenza – A constantly evolving challenge. *Equine Vet. Educ.* 8, 1-7
- Cullinane A., Elton D. und Mumford J. (2010) Equine influenza – surveillance and control. *Influenza Resp. Virus.* 4, 339-344
- Daly J. M., Lai A. C., Binns M. M., Chambers T. M., Barrandeguy M. und Mumford J. A. (1996) Antigenic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses. *J. Gen. Virol.* 77, 661-671
- Daly J. M., Yates R. J., Browse G., Swann Z., Newton J. R., Jessett D., Davis-Poynter N. und Mumford J. A. (2003) Comparison of hamster and pony challenge models for evaluation of effect of antigenic drift on cross protection afforded by equine influenza vaccines. *Equine Vet. J.* 35, 458-462
- Daly J. M., Newton J. R. und Mumford J. A. (2004) Current perspectives on control of equine influenza. *Vet. Res.* 35, 411-423
- Daly J. M., Newton J. R., Smith K. C. und Mumford J. A. (2006) Epidemiology of equine influenza viruses: pathogenicity and transmissibility. *Rad. Med. Sci.* 30, 87-94
- Daly J., Daas A. und Behr-Gross M. E. (2007) Collaborative study for the establishment of a candidate equine influenza subtype 2 American-like strain A/EQ/South Africa/4/03 horse antiserum biological reference preparation. *Pharmaeuropa Bio.*, 7-14
- Doll E. und Bryans J. (1963) A planned infection programme for immunizing mares against viral rhinopneumonitis. *Cornell Vet.* 53, 249-253
- Drummer H. E., Reubel G. H. und Studdert M. J. (1996) Equine gammaherpesvirus 2 (EHV2) is latent in B lymphocytes. *Arch. Virol.* 141, 495-504
- Dunowska M., Meers J. und Wilks C. R. (1999) Isolation of equine herpesvirus type 5 in New Zealand. *N Z Vet. J.*, 47 (2), 44-46
- Edington N. und Bridges C. (1990) One way protection between equid herpesvirus 1 and 4 in vivo. *Res. Vet. Sci.* 48, 235-239
- Edington N., Welch H. M. und Griffiths L. (1994) The prevalence of latent Equid herpesvirus in the tissues of 40 abattoir horses. *Equine Vet. J.* 26, 140-142
- Floer W., von Lepel J. D., Merkt H. und Petzold K. (1972) Exantheme bei herpesvirusinfizierten Pferden. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 79, 97-101
- Floer W., Schmidt R. und Petzold K. (1973) Mikrobiologische Untersuchungen zur Frage der Herpesvirusinfektion des oberen Respirationstraktes des Pferdes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 80, 49-53
- Folson R. W., Littlefield-Chobaud M. A., French D. D. und Purcian S. S. (2001) Exercise alters the immune response to equine influenza virus and increased susceptibility to infection. *Equine Vet. J.* 33, 664-669
- Fortier G., Pronost S., Miszczak F., Fortier C., Léon A., Richard E., Van Erck E., Thiry E. und Lekeux P. (2009) Identification of equid herpesvirus –5 in respiratory liquids: a retrospective study of 785 samples taken in 2006-2007. *Vet. J.* 182, 346-348
- Garner M. G., Cowled B., East I. J., Moloney B. J. und Kung N. Y. (2011) Evaluating the effectiveness of early vaccination in the control and eradication of equine influenza – a modelling approach. *Prev. Vet. Med.* 99, 15-27
- Gildea S. (2011) Equine influenza virus: Characterisation, epidemiology and vaccination. PHD-Thesis, University of Limerick, Ireland
- Goerlich P. (1988) Serologische Untersuchungen auf Virus- Antikörper bei Atemwegserkrankungen des Pferdes. *Vet. Med. Diss. Gießen*
- Gross D. K., Hinchcliff K. W., French P. S., Goclan S. A., Lahmers K. K., Lauderdale M., Ellis J. A., Haines D. M., Slemmons R. D. und Morley P. S. (1998) Effect of moderate exercise on the severity of clinical signs associated with influenza virus infection in horses. *Equine Vet. J.* 30, 489-497
- Guthrie A. J., Stevens K. B. und Bosman P. P. (1999) The circumstances surrounding the outbreak and spread of equine influenza in South Africa. *Rev. Sci. Tech.* 18, 179-185
- Hannant D., Mumford J. A. und Jessett D. M. (1988) Duration of circulating antibody and immunity following infection with equine influenza virus. *Vet. Rec.* 122, 125-128
- Hannant D., O'Neill T., Ostlund E. N., Kydd J. H., Hopkin P. J. und Mumford J. A. (1996) Equid herpesvirus induced immunosuppression is associated with lymphoid cells and not circulating antigen/immune complexes. 35th British Equ. Vet. Conf., University of Warwick, 48
- Heldens J., Hannant D., Cullinane A., Predergast M. J., Mumford J. A., Nelly N., Kydd J. H., Westrate M. W. und von den Hoven R. (2001) 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, 4307-4317



- Heldens J. G., Pouwels H. G., Derks C. G., Van de Zande S. M. und Hoelijmakers M. J. (2009) The first safe inactivated equine influenza vaccine formulation adjuvanted with ISCOM-Matrix that closes the immunity gap. *Vaccine*, 27, 5530-5537
- Heldens J. G., Pouwels H. G., Derks C. G., Van de Zande S. M. und Hoelijmakers M. J. (2010) Duration of immunity induced by an equine influenza and tetanus combination vaccine formulation adjuvanted with ISCOM- Matrix. *Vaccine*, 28, 6989-6996
- Holmes M. A., Townsend H. G., Kohler A. K., Hussey S. *Breathnach C., Barnett C., Holland R. und Lunn D. P.* (2006) Immune response to commercial equine vaccine against herpesvirus-1, equine influenza virus, eastern equine encephalomyelitis, and tetanus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15, 111, 67-80
- Jensen-Waem M., Persson S. G., Nordengrahn A., Merza M. und Fossum C. (1998) Temporary suppression of cell-mediated immunity in standardbred horses with decreased athletic capacity. *Acta. Vet. Scand.* 39, 25-33
- Jirjis F. F., Deshpande M. S., Tubbs A.L., Jayappa H., Lakshmanan A. und Wasmoen T. L. (2010) Transmission of canine influenza virus (H3/N8) among susceptible dogs. *Vet. Microbiol.* 144, 303-309
- Kershaw O. (2001) Das equine Herpesvirus Typ 2: Pathogenese-, Gewebetropismus- und Latenzstudien unter besonderer Berücksichtigung der Keratokonjunktivitis beim Pferd. *Med. Vet. Diss. Berlin*
- Kershaw O., von Oppen T., Glitz F., Deegen E., Ludwig H. und Borchers B. (2001) Detection of equine herpesvirus type 2 (EHV-2) in horses with keratoconjunctivitis. *Virus Research* 80, 93-99
- Kydd J. H., Smith K. C., Hannat D., Livesay G. und Mumford J. A. (1994) Distribution of Equid herpesvirus-1 (EHV-1) in respiratory tract associated lymphoid tissue implications for cellular immunity. *Equine Vet. J.* 26, 470-473
- Kydd J. H., Townsend H. G. und Hannant D. (2006) The equine immune response to equine herpesvirus-1: the virus and its vaccines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15, 111, 15-30
- Lange C. (2005) Prüfung von Influenzaimpfstoffen an jungen Pferden. *Vet. Med. Diss. Bern*
- Lange W. (2007) Pferde- Influenza, Virologie, Epidemiologie, Klinik, Therapie und Prophylaxe 2. Aufl., W. Lange Hrsgb., MVS- Medizinverlag Stuttgart
- Liu K., Pascoe D. R., Chang L. W. und Zee Y. C. (1995) Duration of maternally derived antibodies against influenza in newborn foals. *Am. J. Vet. Res.* 46, 2078-2080
- Ludwig H., Thein P. und Chowdury S. J. (1988) Herpesvirus infections of equine animals. *Virus Dis. In Lab. And Capt. Animals*, Ed. G. Darai, Martinus Nijhoff Publishers, Boston
- Lunn D. P., Holmers M. A., Kydd J. H., Gibson J. S. und Field H. J. (1991) Haematological and lymphocyte subset changes during primary EHV1-infection in specific pathogen free foals. *Sixth Int. Conf. Equ. Inf. Dis.*, 7-11-July 1991, 95
- Van Maanen C., Bruin G. De Boer- Lutzte G., Smolders G. und De Boer G. F. (1992) Interference of maternal antibodies with the immuneresponse of foals after vaccination against equine influenza. *Vet.* 14, 13-17
- Mager F. (2012) Der Lebendimpfstoff gegen Herpes. *Prakt. Tierarzt*, 93, 758
- Marenzoni M. L., Coppola G., Maranesi M., Passamonti F., Coppelli K., Capomaccio S., Verini Supplizi A., Thiry E. und Coletti M. (2010) Age-dependent prevalence of equid herpesvirus 5 infection. *Vet. Res. Com.* 34, 703-708
- Matsumara T., Sugiura T., Imagana H., Fukunasa Y. und Kamada M. (1991) Differences in age and seasonal distribution between equine herpesvirus 1- and 4-infection among horse populations in Japan. *Sixth Int. Conf. Equ. Inf. Dis.*, 7-11 July 1991, 100
- Matthews A. G. und Handscombe M. C. (1983) Superficial keratitis in the horse: treatment with the antiviral drug idoxuridine. *Equine Vet. J. Suppl.* 2, 138-140
- Miller W. C. (1965) Equine Influenza. Further Observations on the „Coughing“ Outbreak 1965. *Vet. Rec.* 77, 455-456
- Miller T. R., Gaskin J. M., Whitley R. D. und Wittcoff M. L. (1990) Herpetic keratitis in a horse. *Equine Vet. J. Suppl.* 15-17
- Minke J. M., Fischer L., Baudu P., Guigal P. M., Sindle T., Mumford J. A. und Audonnet J. C. (2006) Use of DNA and recombinant canarypox viral (ALVAC) vectors for equine herpes virus vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15, 111, 47-57
- Minke J. M., Toulemonde C. E., Coupier H., Guigal P. M., Di S., Sindle T., Jessett D., Black L., Bublot M., Pardo M. C. und Audonnet J. C. (2007) Efficacy of a canarypox- vectored recombinant vaccine expressing the hemagglutinin gene of equine influenza H3N8 virus in the protection of ponies from viral challenge. *Am. J. Vet. Res.* 68, 213-219
- Mumford J. A., Hannant D. und Jesset D. M. (1990) Experimental infection of ponies with equine influenza (H3N8) viruses by intranasal inoculation or exposure to aerosols. *Equine Vet. J.* 22, 93-98
- Mumford J. A. und Wood J. (1992) Establishing an acceptability threshold for equine influenza vaccines. *Dev. Biol. Stand.* 79, 137-146
- Mumford J. A., Jessett D., Dunleavy U., Wood J., Hannant D., Sundquist B. und Cook R. F. (1994) Antigenicity and immunogenicity of experimental equine influenza ISCOM vaccines. *Vaccine*, 12, 857-863
- Mumford J. A. (2001) Biology, epidemiology and vaccinology of equine influenza. *Proceedings of the International Symposium, Budapest*, 10-11 Dezember 2001
- Murray J. R., Eichhorn E. S., Dubovi E. J., Ley W. B. und Cavey D. M. (1996) Equine herpesvirus type 2: prevalence and seroepidemiology in foals. *Equine Vet. J.* 28, 432-443
- Newton J. R., Verheyen K., Wood J. L., Yates P. J. und Mumford J. A. (1999) Equine influenza in the United Kingdom in 1998. *Vet. Rec.* 145, 449-452
- Newton J. R., Townsend H. G., Wood J. L., Sinclair R., Hannat D. und Mumford J. A. (2000) Immunity to equine influenza: relationship of vaccine-induced antibody in young thoroughbred racehorses to protection against field infection with influenza A/equine-2 viruses (H3/N8). *Equine Vet. J.* 32, 65-74
- Newton J. R., Daly J. M., Spencer L. und Mumford J. A. (2006) Description of the outbreak of equine influenza (H3/N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory diseases. *Vet. Rec.* 158, 185-192
- Nordengrahn A., Rusval M., Merza M., Ekstrom J., Morein B. und Belak S. (1996) Equine herpesvirus type 2 as a predisposing factor for Rhodococcus equi pneumonia in foals: prevention of the bifactorial disease with EHV-2 immunostimulating complexes. *Vet. Microbiol.* 51, 56-68
- O.I.E. (2008) Equine Influenza. O.I.E. Terrestrial Manual, Chapter 2.5.7., 871-883
- O.I.E. (2008) Equine Rhinopneumonitis. O.I.E. Terrestrial Manual, Chapter 2.5.9., 894-903
- Van Oirschot J. T., Bruin G., de Boer L. und Smolders (1991) Maternal antibodies against equine influenza virus in foals and their interference with vaccination. *J. Vet. Med. Series B*, 38, 391-396
- Paillet R., Kydd J. H., Sindle T., Hannat D., Edlund Toulemonde C., Audonnet J., Minke J. M. und Daly J. M. (2006) Antibody and IFN-gamma responses induced by a recombinant canarypox vaccine and challenge infections with equine influenza virus. *Vet Immunol Immunopathol* 112, 225-233
- Paillet R., Hannant D., Kydd J. H. und Daly J. M. (2006a) Vaccination against equine influenza: Quid novi? *Vaccine* 24, 4047-4061
- Paillet R., Ellis S. A., Daly J. M., Audonnet J. C., Minke J. M., Davis-Poynter N., Hannant D. und Kydd J. H. (2006) 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* 6, 1490-500
- Paillet R., Grimmet H., Elton D. und Daly J. M. (2008) Protection, systemic IFN-gamma, and antibody responses induced by an ISOM- based vaccine against a recent equine influenza virus in its natural host. *Vet. Res.* 39, 21-26
- Paillet R., Prowse L., Donald C., Medcalf E., Montesso F., Bryant N., Watson J., Jeggo M., Elton D., Newton R., Trail P. und Barnes H. (2010) Efficacy of a whole inactivated EI vaccine against a recent EIV outbreak isolate and comparative detection of virus shedding. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 136, 272-283
- Palfi V., Belak S. und Molnar T. (1978) Isolation of equine herpesvirus type 2 from foals, showing respiratory symptoms. *Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B* 25, 165-167
- Park A. W., Woog J. L., Daly J. M., Newton J. R., Glass K., Henley W., Mumford J. A. und Grenfell B. T. (2004) The effect of strain heterogeneity on the epidemiology of equine influenza in a vaccinated population. *Proc. Biol. Sci.* 271, 1547-55

- Poth T., Niedermaier G. und Hermanns (2009) Equine multinodular pulmonary fibrosis in association with an EHV-5 infection in horses. *Wien. Tierärztl. Monatsschr.* 96, 203-208
- Rode H. J., Janssen W., Rosen W. A., Bugert J. J., Thein P., Becker Y. und Darai G. (1993) The genome of equine herpesvirus type 2 harbors an interleukin 10 /IL10-like gene. *Virus Genes* 7, 111-116
- Sergeant E. S. G., Kirkland P. D. und Cowled B. D. (2009) Field evaluation of an equine influenza ELISA used in New South Wales during the 2007 Australian outbreak response. *Prev. Vet. Med.* 92, 382-385
- Steinbach F., Bocher K., Ricciardi-Castagnoli P., Ludwig H., Stingl G. und Elbe-Burger A. (1998) Dendritic cells presenting equine herpesvirus- antigens induce protective anti-viral immunity. *J. Gen. Virol.* 79, 3005-3014
- Studdert M. J. (1974) Comparative aspects of equine herpesviruses. *Cornell Vet.* 64, 94-122
- Telford E. A., Watson M. S., Aird H. C., Perry J. und Davison (1995) The DNA sequence of equine herpesviruses-2 J. *Mol. Biol.* 249, 520-528
- Thein P. und Bentele B. (1973) Seroepizootiologische Untersuchungen über die Verbreitung von Influenza A/Hongkong/1/68 und A/equi2/ Miami 63-Infektionen in deutschen Pferdebeständen. *Zentralbl. Vet. Med. B.* 20, 85-93
- Thein P. (1974) Herpesvirus bedingte Infektionen des Respirationsstraktes beim Pferd. *Gli Herpesvirus Degli Equini. Soc. Ital. De Sc. Vet., Vol XXVIII*, 50.55
- Thein P. (1974a) Schutzimpfung gegen Rhinopneumonitis unter besonderer Berücksichtigung der Virusausscheidung. *Tierärztliche Umsch.* 7, 363-372
- Thein P. (1976) Virusbedingte Keratitis beim Pferd. *Fortschritte der Veterinärmedizin* 25, 235-239
- Thein P. und Böhm D. (1976) Ätiologie und Klinik einer virusbedingten Keratokonjunktivitis beim Fohlen. *Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B* 23, 507-519
- Thein P. und Härtl G. (1976) Untersuchungen zur Virusätiologie respiratorischer Erkrankungen des Pferdes. *Praktischer Tierarzt Colleg. Vet.* 57, 24-29
- Thein P. (1978) The association of EHV-2 infection with keratitis and research on the occurrence of equine coital exanthema (EHV-3) of horses in Germany. In: *Equine Infectious Disease IV*, J. T. Bryans and H. Gerber (Eds), Veterinary Publications, Princeton, New Jersey, USA, pp.33-41
- Thein P. (1978a) Infektionen der Atemwege des Pferdes und Möglichkeiten ihrer Bekämpfung. *Der prakt. Tierarzt* 59, 733-740
- Thein P. (1979) Experimentelle Untersuchungen über Reoviren beim Pferd. Vorkommen, Verbreitung, Klinik, Pathogenese, Infektketten, Schutzimpfung. *Vet. Med. Habil. München*
- Thein P., EBich G. und Schulze Hockenbeck W. (1983) Zur Ätiologie von Fohlenerkrankungen. *Tierärztl. Umsch.* 38, 239-250
- Thein P. (1994) Therapieansätze bei Infektionen mit Pferdeherpesviren. *Der prakt. Tierarzt* 9, 786-792
- Thein P. (1996) Herpesvirusinfektionen des Pferdes. In: *Handlexikon der tierärztlichen Praxis*, Enke Verlag, pp. 349-349ze
- Thein P. und Huselstein P. (2000) Untersuchungen zur Stammvariabilität von Pferdeherpesviren des Typs EHV-4. *Pferdeheilkunde* 16, 5, 579-486
- Thein P. (2002) Vaccination and vaccination strategies against Equine Herpes Viruses. *Intervet Symp. On Resp. Dis. In Horses* 15-17 Oct., Sweden
- Thein P. (2003) Wie impft man Fohlen richtig? *Tierärztl. Praxis* 31 (G), 231-236
- Thein P., EBich G. und Röhm A. (2005) Fohlenerkrankungen und Fohlenverluste. Ein Beitrag zur Ursache von Aborten im Zeitraum von 1972 bis 2002 im Haupt- und Landgestüt Marbach an der Lauter. *Tierärztl. Umsch.* 60, 115-127
- Thein P. (2006) Zur Infektion des Pferdes mit Herpesviren. *Vollblut*, 2, 64-68
- Thein P. (2006a) Infektionen der Atemwege. *Pferdehustenkomplex. Handbuch der Pferdepraxis*, Hrgb. Dietz, O. ubnd B. Huskamp. 3. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 349-352
- Thein P. (2006b) Infektionskrankheiten der Atemwege. *Pferdeinfluenza. Handbuch der Pferdepraxis*, Hrgb. Dietz, O. und B. Huskamp. 3. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 363-371
- Thein P. (2007) Schutzimpfungen beim Pferd. *Der prakt. Tierarzt, ATF-Supplement*, 3,88, 3-24
- Thein P. (2008) Die Influenza des Pferdes: Aktuelle Übersicht. *Duvalyn Impfstoffsymposium*, Fort Dodge, Travemünde, 24.07.2008
- Thein P. (2012) Infektiöse Aborte der Stuten-Ätiologie, Immunpräventive und Bekämpfung. *Pferdeheilkunde* 28, 171-186
- Tizard J. R. (1981) Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie. *Pareys Studentexte* 30, Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg
- Townsend H. G., Penner S. J., Watts T. C., Cook J., Haines D. M., Griffin S., Chambers T., Holland R. E., Whitaker-Dowling P., Younger J. S. und Sebring R. W. (2001) Efficacy of a cold-adapted, intranasal, equine influenza vaccine: challenge trials. *Equine Vet. J.* 33, 637-643
- Toulemonde C., Daly J., Sindle T., Guigal P. M., Audonnet J. C. und Minke J. M. (2005) Efficacy of a recombinant equine influenza vaccine against challenge with American lineage H3N8 influenza virus responsible for the 2003 outbreak in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 156, 367-371
- Turner A. J. und Studdert M. J. (1970) Equine herpesviruses. 3. Isolation and epizootiology of slowly cytopathic viruses and the serological incidence of equine rhinopneumonitis. *Aust. Vet. J.* 46, 581-586
- Vahlenkamp T. W. (2011) *Immunologie Hund Katze Pferd* 01. 7-10
- Varga H.M., Bridges C.G., Lyon A.M., Griffith L. und Edington N. (1992) Latent herpesvirus 1 and 4 detection and distinction using the polymerase chain reaction and co-cultivation from lymphoid tissue. *J. Gen. Virol.* 73, 261-268
- Wilks C. R. und Studdert M. J. (1974) Equine herpesviruses. 5. Epizootiology of slowly cytopathic viruses in foals. *Aust. Vet. J.* 52, 199-203
- Williams K. J., Maes R., Del Piero F., Wise A., Bolin D. C., Caswell J., Jackson C., Robinson N. E., Derksen F., Scott M. A., Uhal B. D., Li X., Youssef S. A. und Bolin S. R. (2007) Equine multinodular pulmonary fibrosis: a newly recognized herpesvirus-associated fibrotic lung disease. *Vet. Pathol.* 44, 849-862
- Willough R., Ecker G., McKee S., Roddolls L., Vernailen C., Dubovi E., Lein D., Mahony J. B., Chernesky M. und Nagy E. (1992) The effects of equine rhinovirus, influenza virus and herpesvirus infection on tracheal clearance rate in horses. *Can. J. Vet. Res.* 56, 115-121
- Wilson W. D., Mihalyi J. E., Hussey S. und Lunn P. D. (2001) Passive transfer of maternal antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals. *Equine Vet. J.* 33, 644-665
- Wissing E. (1993) Vorkommen von Antikörpern gegen Equine Herpesviren, Influenzaviren, Reoviren, Equines Rhinovirus, Equines Arteritisvirus und Streptococcus equi in der deutschen Vollblutpopulation. *Diss. Agr. Landw. Fakultät Rhein. Friedr. Wilh. Univ. Bonn*
- Wolfinger U. (1998) Verbreitung und Bedeutung von Infektionen mit equinen Herpesviren vom Typ 1,2 und 4 (EHV-1-2-4) beim Pferd. *Diss. Med. Vet. Berlin*

Prof. Dr. Dr. med. vet. habil. Peter Thein  
 Fachtierarzt für Pferde  
 Fachtierarzt für Mikrobiologie  
 Lindenstraße 2  
 85250 Altomünster