

Ausbruch der Equinen Infektiösen Anämie in Sachsen – Fallbericht, Epidemiologie und mögliche neue Bekämpfungsstrategien

Katharina Ehlers¹, Albrecht Uhlig¹, Corinna Arnold¹, Nicole Graneß¹, Stephan Recknagel¹, Gabor Köller¹, Jörg Walraph², Hagen Simon³, Uwe Hörügel⁴ und Gerald Fritz Schusser¹

¹ Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

² Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Chemnitz

³ Tierarztpraxis Hagen Simon, Frankenberg

⁴ Sächsische Tierseuchenkasse, Dresden

Zusammenfassung: Die Equine Infektiöse Anämie (EIA) ist in den letzten vierzig Jahren sporadisch in Deutschland aufgetreten. Seit 2006 ist die Zahl der Ausbrüche und betroffenen Pferde deutlich gestiegen, wobei auffällt, dass einige Regionen häufiger betroffen sind und oft mehrere Jahre zwischen den Ausbrüchen liegen. Der Eintrag des EIA-Virus (EIAV) erfolgte meist durch illegal aus Osteuropa importierte Pferde. Die Übertragung erfolgt vorwiegend über blutsaugende Insekten oder iatrogen über kontaminierte Blut- und Plasmaprodukte. Im November 2014 wurde EIA bei einer 2 ½-jährigen Stute diagnostiziert, die rekurrendes therapieresistentes Fieber seit acht Wochen zeigte. Bei Vorstellung hatte die Stute moderates Fieber (39,4 °C) und geringgradig anämische Mundschleimhäute. Auf der Unterzungenfläche waren keine Petechien festzustellen. Hämatologisch fielen mittelgradige Thrombozytopenie (68 G/l), milde Anämie (5,30 T/l) und geringgradige Leukopenie (5,8 G/l) auf. Fieber und Thrombozytopenie führten zur Veranlassung der sofortigen Isolation des Pferdes. Die Verdachtsdiagnose EIA wurde serologisch mittels ELISA und die Diagnose mittels Coggins-Test zwei Tage nach Aufnahme bestätigt. Unter Berücksichtigung des Vorberichtes spiegelt dieser Fall den für die EIA typischen Verlauf mit Wechsel von langen klinisch inapparenten Phasen mit rekurrenden, akuten, fieberhaften Phasen wider. In der Nachverfolgung wurden fünf weitere seropositive Pferde identifiziert, die alle klinisch symptomlos waren, also in die inapparente Form der EIA einzuordnen sind. Ursprung der Infektkette war vermutlich die Mutterstute eines der in der Nachverfolgung identifizierten Wallache, die vor 1997 aus Polen importiert wurde und bereits 2013 im Alter von 25 Jahren verstorben war. Aufgrund der geringen Kontagiosität und Tenazität des EIAV ist die Eradikation der EIA ein erreichbares Ziel. Da die inapparente Form der EIA immer häufiger auftritt, ist ein serologisches Monitoring dafür unverzichtbar. Wir empfehlen einen kombinierten Ansatz mit verpflichtender Testung aller pathologisch-anatomisch untersuchten Equiden, aller Importpferde aus Osteuropa und Regionen mit häufigem Auftreten der EIA sowie aller Pferde unbekannter Herkunft. Außerdem sollte eine verpflichtende, jährliche, serologische Kontrolluntersuchung für Turnierpferde eingeführt werden.

Schlüsselwörter: Equine Infektiöse Anämie / EIA / inapparente Form / Pferd / Epidemiologie / Thrombozytopenie

Outbreak of Equine Infectious Anaemia in Saxony – Case report, epidemiology and possible new eradication strategies

Equine Infectious Anaemia (EIA) has occurred sporadically in Germany over the last forty years with an increasing number of outbreaks and affected equids since 2006. It is conspicuous that outbreaks accumulate in some regions with a few years lying between different outbreaks. Mostly being introduced by horses imported illegally from Eastern Europe the EIA-Virus (EIAV) is mainly transmitted via interrupted feeding of bloodsucking insects and iatrogenic via contaminated blood or plasma products. In late November 2014 EIA was diagnosed in a 2 ½-year old Oldenburger-mare which showed episodes of recurrent fever not responding to anti-inflammatory and antibiotic treatment for eight weeks. At presentation the mare was in mild poor body condition, had a moderate fever of 39.4 °C and oral mucous membranes were mildly anaemic, but without any petechiae on the ventral side of the tongue. Haematology revealed moderate thrombocytopenia (68 G/l), mild anaemia (5.30 T/l) and mild leucopenia (5.8 G/l) and the clinical chemical blood examination showed moderate hyperbilirubinaemia (83.1 µmol/l), mild hypoalbuminaemia (22.8 g/l) and severe iron deficiency (4.6 µmol/l). Enzyme activities were not altered. Based on fever and thrombocytopenia the horse was isolated. First differential diagnoses in addition to EIA were equine anaplasmosis, piroplasmiasis and lymphosarcoma, but no stages of Anaplasma or Babesia spp. were found microscopically in blood smears and rectal palpation of the mesenteric lymph nodes, thoracic and abdominal ultrasonography and electrophoresis showed no abnormalities. Definitive diagnosis of EIA was made by serological tests using ELISA and Coggins test. The mare was euthanised according to the law and gross pathology showed swollen spleen and liver with histopathological finding of macrophages containing haemosiderin. Considering the anamnesis this case reflects the typical course of EIA with long clinically inapparent phases and recurring acute febrile episodes. All contact horses were tested for EIA. Investigations lead to identification of another five seropositive horses, with none of them showing any clinical signs consistent to EIA, so that they are classified as cases of inapparent EIA. Presumably the dam of one of the geldings identified within these investigations, which had been imported from Poland before 1997 and died in 2013 at the age of 25, had been the origin of the infectious chain. With the EIAV being relatively hard to transmit and sensitive to common disinfectants, eradication seems to be an achievable goal. With EIA proceeding more and more frequently as the inapparent form, serological monitoring is necessary for successful eradication. With optional testing being rarely used by the owners, the introduction of obligatory testing of equids seems to be necessary. We propose a combined approach of testing all horses undergoing pathological examination, all horses imported from Eastern Europe or other regions where EIA occurs regularly and all horses without breeding certificate and of unknown origin. Additionally horses should be allowed to participate in equestrian events only, if they are tested negative for EIA serologically once a year. Federal states with recurring outbreaks of EIA over the last years should think about the introduction of obligatory testing of all equids, either in regions where outbreaks have accumulated over the last years or by using a rotational system with annual change of the tested counties to keep complete monitoring affordable.

Keywords: equine infectious anaemia / horse / epidemiology / thrombocytopenia / inapparent

Zitation: Ehlers K., Uhlig A., Arnold C., Graneß N., Recknagel S., Köller G., Walraph J., Simon H., Hörügel U., Schusser G. F. (2015) Ausbruch der Equinen Infektiösen Anämie in Sachsen – Fallbericht, Epidemiologie und mögliche neue Bekämpfungsstrategien. *Pferdeheilkunde* 31, 378-385

Korrespondenz: Prof. Dr. Gerald Fritz Schusser, Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät Universität Leipzig, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig, Germany, E-Mail: schusser@vetmed.uni-leipzig.de

Einleitung

Die Equine Infektiöse Anämie (EIA), die 1843 erstmals in Frankreich beschrieben wurde (*Ligné* 1843) ist eine weltweit verbreitete Infektionskrankheit der Equiden, die durch das Equine Infektiöse Anämie Virus (EIAV) verursacht wird. Das EIAV gehört dem Genus Lentivirus der Familie der Retroviridae an. Das einzelsträngige RNA-Genom codiert für mehrere Proteine, wobei das Capsid-Protein p26, das Transmembran-Glykoprotein gp45 und das Oberflächen-Glykoprotein gp90 als Antigene für serologische Testverfahren von besonderem Interesse für die Diagnostik sind (*Issel et al.* 2014). Übertragen wird das EIAV vornehmlich über blutsaugende Insekten wie Bremsen (*Tabanus* spp., *Chrysops* spp.) und Wadenstecher (*Stomoxys calcitrans*) als mechanische Vektoren (*Foil et al.* 1983), wenn diese während ihrer Blutmahlzeit unterbrochen werden, sog. "interrupted feeding" (*Issel und Foil* 1984).

Immer wieder wird das Virus auch iatrogen verbreitet, z.B. über kontaminierte Blut- und Plasmaprodukte, und hat so 2006 in Irland (*More et al.* 2008) und 2012 in Deutschland (LANUV NRW 2012) zu verlustreichen Ausbrüchen geführt. Im Zusammenhang mit dem Ausbruch in Irland wurde außerdem eine mögliche Ansteckung über Aerosol in einem gemeinsamen Luftraum diskutiert, wobei dieser Übertragungsweg durch den Nachweis von EIAV in Lungenepithelzellen gestützt werden konnte (*Bolfa et al.* 2013). Im tierärztlichen Alltag sind insbesondere Nasenschlundsonden, Nasenbremsen, Endoskope und weitere Instrumente mit Blutkontakt als potenzielle Übertragungswege von Relevanz. EIA-positive Stuten können ihre Fohlen intrauterin über Kolostrum und Milch infizieren (*Tashjian* 1984). Die Übertragung über kontaminiertes Sperma (*Metcalf* 2001) oder Einschleppung mittels kontaminierter, klonierter Embryonen in eine EIA-freie Population (*Asseged et al.* 2012) gilt als sehr unwahrscheinlich.

Die Zielzellen des EIAV sind Makrophagen (*Sellon et al.* 1994), die über die Cytokine TNF- α , TGF- β und IFN- γ (*Tornquist et al.* 1997) sowie IL-6 (*Sellon et al.* 1999) eine wichtige Rolle in der Pathogenese zu spielen scheinen. Über eine Aktivierung der B-Lymphozyten sind außerdem antikörpervermittelte Prozesse für die Entstehung der typischen Thrombozytopenie verantwortlich (*Clabough et al.* 1991). In einer Studie von *Crawford et al.* (1996) konnte allerdings mittels experimenteller Infektion von Fohlen mit dem EIAV eine Thrombozytopenie auch bei immundefizienten Fohlen ausgelöst werden, sodass die Autoren als Ursache von einer reduzierten Thrombozytenproduktion über nicht näher charakterisierte hemmende Effekte auf die Megakarozyten und einer verkürzten Lebensdauer der Thrombozyten ausgingen. Nach der Infektion kann die Krankheit unterschiedliche Verlaufsformen nehmen, die ineinander übergehen können (*Issel et al.* 2014) und zu einem sehr variablen klinischen Bild führen.

Es wird zwischen akuter Form mit Fieber und Thrombozytopenie, chronischem Verlauf mit Ödemen, Gewichtsverlust und

Anämie und der in den letzten Jahren zunehmend aufgetretenen, inapparenten Form ohne offensichtlichen, klinischen Symptomen unterschieden (*Schusser et al.* 2008). Auch können erhöhte Enzymaktivitäten insbesondere von CK und LDH, aber auch von GLDH, GGT und AST, Hyperbilirubinämie, Hypoalbuminämie, Hypergammaglobulinämie, Leukopenie, Linksverschiebung und selten Petechien auftreten (*Schusser et al.* 2008, *More et al.* 2008). Als frühester und beständigster Hinweis hat sich das Vorliegen einer Thrombozytopenie in Kombination mit Fieber, insbesondere bei rekurrendem Verlauf und Therapieresistenz, herauskristallisiert (*Leroux et al.* 2004).

Die ätiologische Diagnose kann nur labordiagnostisch gestellt werden, wobei serologische Methoden gegenüber dem direkten Erregernachweis zu bevorzugen sind. Seit Jahrzehnten etabliert und rechtlich vorgeschrieben ist der Agargel-Immuno-diffusions-Test (AGIDT), auch bekannt als Coggins-Test, der eine hohe Spezifität aufweist, jedoch im Vergleich zu neueren Verfahren wie dem ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) zu bis zu 17% falsch-negativen Resultaten führen kann (*Issel et al.* 2013). Empfohlen wird deshalb ein 3-stufiges Testschema, das die hohe Sensitivität des ELISA mit der Spezifität des AGIDT und der Power zur Präzisierung des Ergebnisses des Immunoblots kombiniert (*Issel et al.* 1999, *Issel et al.* 2013, *Sciicluna et al.* 2013).

PCR-Verfahren zum direkten Erregernachweis können zwar Pferde in einem früheren Infektionsstadium detektieren, bevor 45 Tage nach Infektion eine Serokonversion stattgefunden hat (*Sellon et al.* 1994), sind jedoch zum Ausschluss einer EIAV-Infektion aufgrund der hohen genetischen Varianz des EIAV und der niedrigen Viruskonzentrationen im peripheren Blut bei latent infizierten, inapparenten Trägertieren für die Routinediagnostik zu unsicher (*Sciicluna et al.* 2013).

Eine wirksam vor Infektion und Erkrankung schützende Impfung ist nicht verfügbar und gemäß der Verordnung zum Schutz gegen die Ansteckende Blutarmut der Einhufer (Einhufer-Blutarmut-Verordnung) in Deutschland außerdem verboten. Die Entwicklung gestaltet sich aufgrund der hohen genetischen Varianz schwierig und nur attenuierte Lebendvakzinen wurden mit gewissem Erfolg eingesetzt, bergen jedoch wegen der Integration des Virusgenoms in die DNA der Wirtszelle Risiken (*Issel et al.* 2014). Neuste Studien von *Craigo et al.* (2015) zur Einbeziehung von Hüllprotein-Antigenen für eine Vakzine verliefen jedoch vielversprechend.

Da es sich um ein Retrovirus handelt, bleiben infizierte Pferde lebenslang Träger des Virus. Insbesondere Pferde mit inapparenter Form stellen somit ein Erregerreservoir und potenzielle Ansteckungsgefahr dar (*Issel und Coggins* 1979). Ein flächendeckendes serologisches Monitoring aller Equiden auf EIA stellt die Grundlage für die Eradikation der Tierseuche dar und wird in Italien, Frankreich und Rumänien praktiziert (*Issel et al.* 2013). Aufgrund des Hauptübertragungsweges

über Blut, der Instabilität des behüllten EIAV in der Umwelt und der Equiden als einzige empfängliche Tiergruppe, ist eine Ausrottung der EIA bei entsprechenden Überwachungsprogrammen nach Erfahrungen aus den USA ein durchaus realistisches Ziel (Maanen 2013).

Epidemiologische Situation in Deutschland

In Europa gilt die EIA in Rumänien als endemisch, sodass aufgrund des nahezu freien Tierverkehrs innerhalb der EU eine Einschleppung in andere Länder jederzeit möglich ist (Herholz et al. 2013). In Deutschland tritt EIA in den letzten 40 Jahren sporadisch auf (Tab. 1), wobei seit 2006 ein deutlicher Anstieg der Ausbruchszahlen zu erkennen ist. Seit 2006 trat die EIA nur in der Südhälfte Deutschlands in Bayern, Baden-Württemberg, Hessen, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz, Thüringen und Sachsen auf. Dabei ist eine lokale Häufung der Ausbrüche in einigen Regionen erkennbar, wobei zwischen den Ausbrüchen teilweise mehrere Jahre lagen (Abb. 1). Die Mehrzahl der letzten Ausbrüche war direkt oder indirekt auf Importpferde aus Rumänien zurückzuführen (Gethmann et al. 2012, Schusser et al. 2008). Dabei stellen als Schlachtpferde gekennzeichnete Pferde, die vor der Einfuhr keiner serologischen Untersuchung unterzogen werden müssen, und dann nicht geschlachtet sondern illegal als Freizeitpferde verkauft werden, ein besonderes Risiko dar (Probst et al. 2010). In einzelnen Fällen konnten außerdem importierte Pferde aus Brasilien und Argentinien via Italien als Einschleppungsquellen ermittelt werden (Probst et al. 2010). Der bisher letzte Ausbruch in Sachsen wurde 2006 registriert.

Fallbericht

Anamnese

Ende November 2014 wurde im Wochenenddienst eine 2 1/2-jährige Oldenburger-Springpferd-Stute aufgrund rezidivierenden Fiebers in der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig vorgestellt. Vorberichtlich war das Pferd acht Wochen zuvor erstmals mit Fieber über drei Tage aufgefallen. Es erfolgte eine symptomatische antibiotische und antiphlogistische Therapie. Vier Wochen vor Einweisung zeigte die Stute erneut Fieber über zehn Tage und wurde wiederum symptomatisch mit Antibiotika und Antiphlogistika behandelt. Seit dem Vortag der Einweisung waren erneut Fieber (bis

>41,0°C), Mattigkeit, reduzierte Futteraufnahme, erhöhte Bauchdeckenspannung und ein steifer, unkoordinierter, teils schwankender Gang aufgefallen, sodass die Stute am 30.11.2014 in die Klinik überwiesen wurde. Die Stute wurde privat in einem Bestand mit insgesamt zehn Pferden gehalten und hatte diesen Bestand noch nie verlassen.

Klinische und labormedizinische Untersuchungen sowie Diagnose

Bei der klinischen Untersuchung bei Aufnahme konnten unter anderem folgende pathologische Befunde erhoben werden: Mäßiger Ernährungszustand bei einem Body Condition Score



Abb. 1 Geographische Verteilung der Ausbrüche der EIA in Deutschland von 2006 bis März 2015. Unter Verwendung von Kartenmaterial von „d-maps.com/carte.php?num_car=4690&lang=de“ und Daten aus den Tierseuchennachrichten. Geographical distribution of outbreaks of EIA in Germany from 2006 to March 2015. Using geographical material of “d-maps.com/carte.php?num_car=4690&lang=de” and data out of the animal infectious disease information system of Germany.

Tabelle 1 Zahl der Ausbrüche der Equinen Infektiösen Anämie von 1976 bis März 2015 und der infizierten Equiden von 2006 bis März 2015 in Deutschland (Quelle: modifiziert aus TSN) | Number of outbreaks of Equine Infectious Anaemia from 1976 to March 2015 and of equids identified as infected from 2006 to March 2015 in Germany (modified out of TSN)

Jahr	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006
Ausbruchsbestände	1	2	-	12	5	27	5	9	2	7
Infizierte Equide	1	5	-	19	12	29	11	12	2	24
Jahr	2005	2004	2003	2002	2001	2000	1999	1998	1997	1996
Ausbruchsbestände	-	-	-	1	-	-	1	3	-	-
Jahr	1995	1994	1993	1992	1991	1990	1989	1988	1987	1986
Ausbruchsbestände	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Jahr	1985	1984	1983	1982	1981	1980	1979	1978	1977	1976
Ausbruchsbestände	-	4	1	3	2	1	2	1	2	-

(BCS) von 4 von 9 nach Henneke et al. 1983 (Abb. 2), innere Körpertemperatur 39,4°C, Tachykardie (60 Schläge/min), geringgradig blasse Kopfschleimhäute ohne Petechien (Abb. 3), geringgradig verzögertes und vermindertes Blutangebot, mittelgradig erhöhte Bauchdeckenspannung und mittelgradig reduzierte Darmgeräusche in allen vier Quadranten. Auf-



Abb. 2 Die Stute mit EIA hat einen Body Condition Score von 4/9 nach Henneke et al. (1983). | *The body condition score of the mare with EIA is 4/9 according to Henneke et al. (1983).*



Abb. 3 Die Mundschleimhaut ist geringgradig anämisch und ohne Petechien an der Unterzungenfläche. | *The oral mucous membranes are mildly anaemic. There are no petechiae on the ventral side of the tongue.*

grund des Fiebers wurde am Einlieferungstag einmalig Metamizol (25 mg/kg KM i.v.) appliziert.

Die hämatologische Untersuchung (Tab. 2) ergab eine geringgradige Anämie sowie eine mittelgradige Thrombozytopenie. Die Gesamtleukozytenzahl war geringgradig erniedrigt. Der Säure-Basen-Status war ausgeglichen, die venöse Blutgasanalyse zeigte jedoch einen erniedrigten Sauerstoffpartialdruck von 2,9 kPa (Referenzbereich 4,7–6,0 kPa). Die sonographische Untersuchung von Brust- und Bauchhöhle lieferte keine Hinweise auf freie Flüssigkeit in den Körperhöhlen und die parenchymatösen Organe stellten sich homogen dar. Die rektale Untersuchung war ohne besonderen Befund.

Aufgrund der Symptomkombination aus rezidivierendem, therapieresistenten Fieber mit milder Anämie und deutlicher Thrombozytopenie, wurde das Pferd von Beginn an isoliert in der Infektionsabteilung der Klinik aufgestellt und es wurden Hygienemaßnahmen gemäß des Schwarz-Weiß-Prinzips angewendet. Am Einlieferungstag wurden die Differenzialdiagnosen Anaplasmoze, Equine Infektiöse Anämie und Lymphosarkom formuliert. Im Blutausstrich konnten keine intrazellulären Morulastadien von *Anaplasma phagocytophilum* oder Merozoiten von *Babesia caballi* gefunden werden. Es wurde unverzüglich eine serologische Untersuchung auf EIA mittels ELISA eingeleitet, die positiv ausfiel (drei Tage post hospitium). Daraufhin wurde auf amtstierärztliche Anordnung zur Bestätigung ein AGIDT durchgeführt, der ebenfalls positiv war und somit am vierten Tag nach Einlieferung die EIA als ätiologische Diagnose gestellt werden konnte.

Im weiteren Verlauf des Klinikaufenthaltes sanken die innere Körpertemperatur und die Herzfrequenz, sodass die Vitalparameter sich ab dem vierten Tag im Referenzbereich befanden. Im weiteren Verlauf trat eine transiente deutliche Leukopenie (bis 4,2 G/l) mit lymphozytärem Differenzialblutbild auf. Die Thrombozytenzahl lag ab dem neunten Tag des Klinikaufenthaltes und somit fünf Tage nach Erreichen der Fieberfreiheit wieder im Normalbereich. Die klinisch-chemische Untersuchung am zweiten Tag des Klinikaufenthaltes (Tab. 2) ergab eine mittelgradige Hyperbilirubinämie, eine geringgradige Hypoalbuminämie sowie einen hochgradigen Eisenmangel. Es waren keine gesteigerten Enzymaktivitäten von LDH, AST, CK, GGT oder GLDH im Plasma nachweisbar. Die Thromboplastin- und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit waren nicht verändert. Die Serumelektrophorese wies keine Abweichungen auf.

Tabelle 2 Hämatologische und klinisch-chemische Parameter der Stute mit EIA. Referenzbereiche nach Köller et al. (2014) | *Haematological and clinical chemistry data of the mare with EIA. Reference ranges according to Köller et al. (2014).*

Hämatologie		Referenzbereich	Befund am Einlieferungstag
Erythrozyten	(T/l)	7,4-10,2	5,30
Hämatokrit	(l/l)	0,24-0,34	0,21
Hämoglobin	(mmol/l)	6,2-9,1	4,4
Leukozyten	(G/l)	6,9-15,9	5,8
Thrombozyten	(G/l)	98-311	68
Klinische Chemie		Referenzbereich	Befund am 2. Tag des Klinikaufenthaltes
Bilirubin (gesamt)	(μ mol /l)	9,48-36,60	83,1
Albumin	(g/l)	24,8-32,7	22,8
Fe	(μ mol /l)	20,66-47,67	4,6

Weiteres Vorgehen

Der Seuchenverdacht wurde mit Erhalt des Ergebnisses des ELISA sofort beim zuständigen Veterinäramt angezeigt, das die weiteren seuchenrechtlichen Schritte einleitete und überwachte. Gemäß Einhufer-Blutarmut-Verordnung (vom 4.10.2010, BGBl. I S. 1326; Änderung durch Artikel 33 der Verordnung vom 17. April 2014, BGBl. I S. 388) ist die Therapie der EIA verboten (§ 2). Das genannte Pferd wurde aufgrund der tierseuchenrechtlichen Verfügung der Landesdirektion Sachsen am neunten Tag nach Aufnahme in Vollnarkose schmerzlos getötet. Im Anschluss erfolgte die pathologisch-anatomische und histologische Untersuchung in der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Standort Leipzig und ergab unter anderem eine geringgradige generalisierte Lymphknotenschwellung, eine Schwellung der Leber mit histopathologisch mittelgradig Berliner-Blau-positiven Zellen, eine hochgradige Stauung und Vergrößerung der Milz mit histopathologisch ebenfalls mittelgradig Berliner-Blau-positiven Zellen.

Epidemiologische Nachverfolgung und Maßnahmen gemäß Einhufer-Blutarmut-Verordnung

Im Zuge des EIA-Falles bei der in der Medizinischen Tierklinik vorgestellten Stute, wurde eine epidemiologische Aufarbeitung sämtlicher Kontaktpferde eingeleitet. Dabei wurden im Ursprungsbestand zwei weitere mit dem EIAV infizierte Pferde serologisch identifiziert. In einem Bestand mit 36 Pferden im Nachbarlandkreis, der mit dem Erstausbruchsbestand regen Tierverkehr pflegte, wurden zwei weitere Pferde serologisch positiv auf EIAV getestet. Als potentieller Virusüberträger konnte ein 5-jähriger Wallach ausgemacht werden, der im Jahr 2014 mehrmals zwischen den beiden Beständen wechselte und dabei auch mit den anderen Pferden auf der Weide gehalten wurde. Dieses Pferd wurde in einem sächsischen Pferdebestand geboren und nach dem Absetzen in den Erstausbruchsbestand verbracht, wo es bis 2014 ununterbrochen verblieb.

Da alle Kontaktpferde- und Umgebungsuntersuchungen in einem Radius von einem Kilometer nach zweimaliger Testung im Abstand von drei Monaten mit negativem Ergebnis verliefen, wurden die Mutterstuten der EIA-positiven Pferde serologisch untersucht. Auch diese Diagnostik verlief bis auf die Mutterstute des potentiellen Virusüberträgers mit negativem Ergebnis. Diese Mutterstute war 2013 im Alter von 25 Jahren plötzlich auf der Weide verstorben und stand deshalb für eine serologische Untersuchung nicht mehr zur Verfügung. Nach Angaben des Vorbesitzers und des Pferdezuchtverbandes Sachsen-Thüringen hatte diese Stute zwischen 2005 und 2011 insgesamt 4 Fohlen geboren, weitere Fohlen waren nicht bekannt.

Die Nachkommen wurden serologisch auf EIA untersucht, wobei ein weiterer Wallach mit positivem Ergebnis identifiziert wurde, während die beiden Stuten negativ reagierten. Zum Zeitpunkt des positiven Befundes befand sich der Wallach in einer Privathaltung mit insgesamt 24 Pferden im Landkreis des Erstausbruchsbestandes. Die Kontaktpferde- und Umgebungsuntersuchungen verliefen allesamt mit negativem Ergebnis.

Alle ansteckungsverdächtigen Pferdebestände wurden entsprechend der Einhufer-Blutarmut-Verordnung, vom 4.10.2010 (BGBl. I S. 1326; Änderung durch Artikel 33 der Verordnung vom 17. April 2014; BGBl. I S. 388) unter Schutzmaßnahmen gestellt (§ 8), drei Monate gesperrt (§ 10), die Boxen, Stallgänge und Geräte sowie der Dung wurden desinfiziert (§ 11) und es wurden zwei serologische Untersuchungen im Abstand von drei Monaten laut § 9 angeordnet. Da die durchgeführten zweiten serologischen Untersuchungen der ansteckungsverdächtigen Pferde negativ verliefen und die Abschlussdesinfektion erfolgte, wurden die angeordneten Schutzmaßnahmen (§ 12) aufgehoben und die Pferdebestände gelten als saniert. Höchstwahrscheinlich war die Mutterstute der beiden im Zuge der Nachverfolgung identifizierten EIA-positiven Wallache der Ursprung der Infektionskette. Sie wurde 1988 geboren und vor 1997 vermutlich aus Polen nach Sachsen importiert. Nach Angaben des Friedrich-Löffler-Institutes als nationales EIA-Referenzlabor zeigte die Sequenzierung der Isolate bei diesem Ausbruch eine nächste Verwandtschaft mit dem Isolat des Ausbruchs in Sachsen aus dem Jahr 2006, der in derselben Region aufgetreten war.

Diskussion

Die an der Medizinischen Tierklinik vorgestellte Stute zeigte kaum offensichtliche, klinische Erscheinungen einer EIA. Den wichtigsten Hinweis lieferte initial die Symptomkombination aus therapieresistentem, rekurrerendem Fieber mit Thrombozytopenie. Die Anämie war nur geringgradig ausgeprägt. Als erste Differenzialdiagnose ist dabei die equine granulozytäre Ehrlichiose (Anaplasmosen), ausgelöst durch *Anaplasma phagocytophilum*, zu bedenken. Jedoch konnten im Blutausstrich keine intrazellulären Morulastadien in neutrophilen Granulozyten gefunden werden und die Anaplasmosen manifestiert sich in der Regel mit akutem, nicht chronisch rekurrerendem Verlauf (Schusser et al. 2007).

Septikämien infolge von Peritonitis, Pleuritis oder Verletzungen gehen ebenfalls häufig mit therapieresistentem, jedoch meist akutem Fieber, Leukozytose oder Leukopenie und Thrombozytopenie einher (Bentz et al. 2002, Sellon et al. 1996). In dem geschilderten Fall gab es keinen Hinweis auf eine Verletzung, die Stute zeigte keine Koliksymptome und die sonographische Untersuchung zeigte keine vermehrte, freie Flüssigkeit in Brust- und Bauchhöhle.

Therapieresistentes, kontinuierliches Fieber in Verbindung mit schlechtem Ernährungszustand sind oft die einzigen Symptome eines Lymphosarkoms beim Pferd. Auch können im Zuge eines Lymphosarkoms hämolytische Anämie und Thrombozytopenie vorkommen (Reef et al. 1984, McGovern et al. 2011). Die rektale Untersuchung der mesenterialen Lymphknoten, die Ultraschalluntersuchung des Abdomens und die Serumelektrophorese lieferten keine weiteren zu einem Lymphosarkom passenden Befunde.

Die pathologisch-anatomisch und pathohistologisch festgestellten Veränderungen von Milz und Leber ermöglichen lediglich die Verdachtsdiagnose EIA, die Berliner-Blau-positiven Zellen sind als Hämosiderophagen zu interpretieren, die im Zuge der hämolytischen Anämie entstehen. Milz und Leber dienen

als Reservoir, in das sich die mit dem EIAV infizierten Makrophagen in fieberfreien Phasen zurückziehen (Thein 2006).

Die serologische Diagnostik mittels ELISA und AGIDT auf EIA gewinnt damit weiter an Bedeutung, wenn die klassischen klinischen Symptome fehlen. Diese mehr oder weniger inapparente Verlaufsform der EIA wird immer häufiger beobachtet (More et al. 2008). Die fünf im Zuge der Nachverfolgung identifizierten, infizierten Pferde zeigten allesamt keine klinischen Symptome einer EIA und auch bei der in der Klinik vorgestellten Stute waren Fieber und Thrombozytopenie nur transient festzustellen.

Dieser rekurrende Verlauf mit geringen klinischen Symptomen ist durch die retrovirustypischen, transienten Virämiephasen mit einer insgesamt eher niedrigen Viruslast zu erklären (Harrold et al. 2000). Damit lässt sich auch erklären, warum die als Ausgangspunkt des beschriebenen Ausbruchsgeschehens vermutete und bereits verstorbene Mutterstute und ihre infizierten männlichen Nachkommen über Jahre hinweg mit vielen verschiedenen Pferden in engem Kontakt gehalten wurden und dabei jedoch nur wenige Pferde infizierten. Für eine erfolgreiche natürliche Übertragung müssen demnach mehrere Faktoren erfüllt sein. Erstens muss das infizierte Pferd sich zum Zeitpunkt des Insektenstichs in einer Virämiephase befinden und somit eine ausreichend hohe Viruslast im peripheren Blut tragen. Zweitens müssen die Pferde engen Kontakt auf der Weide oder im Offenstall haben, sodass kurze Flugentfernungen der als Vektoren fungierenden Insekten eine Übertragung im Rahmen des "interrupted feeding" während der kurzen Lebensdauer des Virus außerhalb des Wirts ermöglichen und zuletzt muss ein hohes Insektenaufkommen herrschen, was in feuchter, schattiger und windgeschützter Umgebung besonders begünstigt wird.

Eine transplazentare oder laktogene Übertragung ist zwar zumindest von der Mutterstute auf ihre beiden Hengstfohlen theoretisch denkbar, jedoch eher unwahrscheinlich, da zwei weitere Stutfohlen seronegativ getestet wurden. In der Literatur werden EIAV-bedingte Abortusfälle beschrieben (Thein 2012). Ein Abortus wurde weder bei dieser Mutterstute anamnestisch erhoben noch vorher in der Medizinischen Tierklinik festgestellt (Schusser et al 2007). Hinweise für eine iatrogene Verbreitung über Blutprodukte sind den Autoren im vorliegenden Seuchengeschehen nicht bekannt. Angesichts dieser von vielen Faktoren abhängigen und schwierigen Übertragung und der geringen Stabilität des Virus in der Umwelt gilt eine Eradikation als durchaus möglich, wofür zunächst ein umfassendes Monitoring notwendig wäre (Jazbec 1996, Maanen 2013).

In Sachsen hat die Tierseuchenkasse dazu ein Untersuchungsprogramm auf freiwilliger Basis initiiert, was jedoch bisher von den Pferdebesitzern unzureichend angenommen wird, möglicherweise aus Angst vor positiven Testergebnissen und den damit verbundenen Sanierungsmaßnahmen, weshalb die Schaffung einer rechtsverbindlichen Grundlage durch den Gesetzgeber unumgänglich scheint. Denkbar wären verschiedene, miteinander kombinierbare Ansätze, um eine regelmäßige, flächendeckende Untersuchung aller Equiden zu gewährleisten. Sinnvoll wäre eine serologische Untersuchung aller Pferde, die zur Sektion kommen, sei es in privaten Tierarztpraxen mit Obduktionserlaubnis, Universitäten oder Landesuntersuchungsanstalten. Sämtliche Pferde, für die

ein Equidenpass vorhanden ist oder beantragt wird und deren Herkunft aufgrund eines fehlenden Abstammungsnachweises ungeklärt ist oder die nachweislich aus Osteuropa importiert wurden, sollten verpflichtend serologisch untersucht werden. Pferde, die neu aus Ländern und Regionen importiert werden, in denen die EIA häufiger vorkommt, sollten, auch wenn teilweise nicht rechtlich vorgeschrieben, bei Zukauf zweimal im Abstand von 40 Tagen serologisch untersucht werden und bis zum abschließenden Ergebnis in Quarantäne verbleiben.

Da der Tierverkehr ein besonderes Risiko für die Verbreitung der EIA darstellt (Herholz et al. 2013), sollten jährliche, serologische Untersuchungen für Turnierpferde verpflichtend eingeführt werden. Außerdem ist in Gebieten, in denen die EIA in den letzten Jahren gehäuft vorgekommen ist und offensichtlich nicht alle Trägertiere identifiziert werden konnten, wie lokal gehäufte Ausbrüche mit mehrjährigem Abstand vermuten lassen, ein flächendeckendes verpflichtendes Monitoring denkbar oder in den betroffenen Bundesländern ein Rotationssystem mit Pflichtuntersuchung aller Pferde eines Landkreises im jährlichem Wechsel in Erwägung zu ziehen.

Literatur

- Asseged B. D., Habtemariam T., Tameru B., Nganwa D. (2012) The risk of introduction of equine infectious anemia virus into USA via cloned horse embryos imported from Canada. *Theriogenology* 77, 445-458
- Bentz A. I., Wilkins P. A., MacGillivray K. C., Barr B. S., Palmer J. E. (2002) Severe thrombocytopenia in 2 thoroughbred foals with sepsis and neonatal encephalopathy. *J. Vet. Intern. Med.* 16, 494-497
- Bolfa P., Nolf M., Cadoré J. L., Catoi C., Archer F., Domazon C., Mor-nex J. F., Leroux C. (2013) Interstitial lung disease associated with Equine Infectious Anemia Virus infection in horses. *Vet. Res.* 44, 113
- Clabough D. L., Gebhard D., Flaherty M. T., Whetter L. E., Perry S. T., Coggins L., Fuller F. J. (1991) Immune-mediated thrombocytopenia in horses infected with equine infectious anemia virus. *J. Virol.* 65, 6241-6251
- Craigo J. K., Ezzelarab C., Cook S. J., Liu C., Horohow D., Issel C. J., Montelaro R. C. (2015) Protective efficacy of centralized and polyvalent envelope immunogens in an attenuated equine lentivirus vaccine. *PLoS Pathog* doi: 10.1371/journal.ppat.1004610
- Crawford T. B., Wardrop K. J., Tomquist S. J., Reilich E., Meyers K. M., McGuire T. C. (1996) A primary production deficit in the thrombocytopenia of equine infectious anemia. *J. Virol.* 70, 7842-7850
- Foil L. D., Meek C. L., Adams W. V., Issel C. J. (1983) Mechanical transmission of equine infectious anemia virus by deer flies (*Chrysops flavidus*) and stable flies (*Stomoxys calcitrans*). *Am. J. Vet. Res.* 44, 155-156
- Gethmann J., Zilow V., Conraths F. J., Probst C. (2012) Risk of equine infectious anaemia from horses imported in to Germany. *Vet. Rec.* 171, 381
- Harrold S. M., Cook S. J., Cook R. F., Rushlow K. E., Issel C. J., Montelaro R. C. (2000) Tissue sites of persistent infection and active replication of equine infectious anemia virus during acute disease and asymptomatic infection in experimentally infected equids. *J. Virol.* 74, 3112-3121
- Henneke D. R., Potter G. D., Kreider J. L., Yeates B. F. (1983) Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet. J.* 15, 371-372
- Herholz C., Schwermer H., Füssel A. E., Perler L., Binggeli M., Bürgi Tschan D., Kennel R., Wohlfender F. (2013) Internationale Pferdebewegungen und Weiterverbreitung von Pferdeseuchen am Beispiel von Ansteckender Blutarmut der Einhufer und Rotz. *Pferdeheilkunde* 29, 445-450
- Issel C. J., Foil L. D. (1984) Studies on equine infectious anemia virus transmission by insects. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184, 293-297

- Issel C. J., Cook F. R., Mealey R. H., Horohov D. W.* (2014) Equine Infectious Anemia in 2014: Live with It or Eradicate It? *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 30, 561-577
- Issel C. J., Cook S. J., Cook R. F., Cordes T. R.* (1999) Optimal Paradigms To Detect Reservoirs Of Equine Infectious Anemia Virus (EIAV) *J. Equine Vet. Sc.* 19, 728-732
- Issel C. J., Scicluna M. T., Cook S. J., Cook R. F., Caprioli A., Ricci I., Rosone F., Craigo J. K., Montelaro R. C., Autorino G. L.* (2013) Challenges and proposed solutions for more accurate serological diagnosis of equine infectious anaemia. *Vet. Rec.* 172, 210
- Issel C. J., Coggins L.* (1979) Equine infectious anemia: current knowledge. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174, 727-733
- Jazbec I.* (1996) Prevalence and eradication of equine infectious anemia (EIA) in slovenia. *Pferdeheilkunde* 12, 565-568
- Köller G., Gieseler T., Schusser G. F.* (2014) Hämatologische und blutchemische Referenzbereiche bei Pferden unterschiedlicher Rasse und Altersgruppen basierend auf neuesten labordiagnostischen Methoden. *Pferdeheilkunde* 30, 381-393
- Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) (2012) Infektiöse Anämie bei Pferden in NRW. Pressemitteilung vom 17. 8. 2012 www.lanuv.nrw.de/veroeffentlichungen/presse/2012/2012_08_17_pferde.htm
- Leroux C., Cadoré J. L., Montelaro R. C.* (2004) Equine Infectious Anemia Virus (EIAV): what has HIV's country cousin got to tell us? *Vet. Res.* 35, 485-512
- Ligné M.* (1843) Mémoire et observations sur une maladie de sang, connue sous le nom d'anémie hydrohémie, cachexie acquise du cheval. *Rec. Med. Vet. Ec. Alfort* 1843, 30-44
- Maanen C. v.* (2013) Progressive control of equine infectious anaemia through more accurate diagnosis. *Vet Rec* 172, 208-209
- McGovern K. F., Lascola K. M., Davis E., Fredrickson R. L., Tan R.* (2011) T-cell lymphoma with immune-mediated anemia and thrombocytopenia in a horse. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 1181-1185
- Metcalf E. S.* (2001) The role of international transport of equine semen on disease transmission. *Anim. Reprod. Sci.* 68, 229-237
- More S. J., Aznar I., Bailey D. C., Larkin J. F., Leadon D. P., Lenihan P., Flaherty U., Brangan P.* (2008) An outbreak of equine infectious anaemia in Ireland during 2006: Investigation methodology, initial source of infection, diagnosis and clinical presentation, modes of transmission and spread in the Meath cluster. *Equine Vet. J.* 40, 706-708
- Probst C., König P., Gethmann J., Höreth-Böntgen D., Staubach C., Conraths F. J., Kramer M.* (2010) Ansteckende Blutarmut der Einhufer – Status quo: Eine Übersicht über die aktuelle Situation in Deutschland und Europa. *Dtsch. Tierärztebl* 58, 1598-1605
- Reef V. B., Dyson S. S., Beech J.* (1984) Lymphosarcoma and associated immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184, 313-317
- Schusser G. F., Spallek A., Börner H., Hörügel U., Uhlig A., Ohnmar Kyaw W.* (2008) Klinische und labormedizinische Befunde bei Pferden mit akuter, chronischer oder inapparenter Form der infektiösen Anämie. *J. Verbr. Lebensm.* 3, 405-410
- Schusser G. F., Grosche A., Kyaw W. O., Kölbl M., Recknagel S., Uhlig A., Beelitz P.* (2007) Klinik und labormedizinische Befunde bei Pferden mit equiner granulozytärer Ehrlichiose. *Pferdeheilkunde* 23, 351-356
- Scicluna M. T., Issel C. J., Cook F. R., Manna G., Cersini A., Rosone F., Frontoso R., Caprioli A., Antonetti V., Autorino G. L.* (2013) Is a diagnostic system based exclusively on agar gel immunodiffusion adequate for controlling the spread of equine infectious anaemia? *Vet. Microbiol.* 165, 123-134
- Sellon D. C., Fuller F. J., McGuire T. C.* (1994) The immunopathogenesis of equine infectious anemia virus. *Virus Res.* 32, 111-138
- Sellon D. C., Russel K. E., Monroe V. L., Walker K. M.* (1999) Increased interleukin-6 activity in the serum of ponies acutely infected with equine infectious anaemia virus. *Res. Vet. Sci.* 66, 77-80
- Sellon D. C., Levine J., Millikin E., Palmer K., Grindem C., Covington P.* (1996) Thrombocytopenia in horses: 35 cases (1989-1994). *J. Vet. Intern. Med.* 10, 127-132
- Tashjian R. J.* (1984) Transmission and clinical evaluation of an equine infectious anemia herd and their offspring over a 13-year period. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184, 282-288
- Thein P.* (2006) Equine Infektiöse Anämie. In: Dietz O., Huskamp B. (ed.) *Handbuch Pferdepraxis*. Stuttgart, Enke Verlag, 690-693
- Thein P.* (2012) Infektiöse Aborte der Stute - Ätiologie, Immunpräventive und Bekämpfung. *Pferdeheilkunde* 28, 171-186
- Tornquist S. J., Oaks J. L., Crawford T. B.* (1997) Elevation of cytokines associated with the thrombocytopenia of equine infectious anemia. *J. Gen. Virol.* 78, 2541-2548