

# Infektion des Pferdes mit Equinem Coronavirus (ECoV)

Peter Thein

Altomünster

**Zusammenfassung:** Coronaviren begleiten Mensch und Tier schon seit jeher. Ihre unterschiedlichen biologischen Eigenschaften und ihre Plastizität sind Teil ihrer evolutionären Anpassungsstrategien. Dazu zählen Wirtswechsel, Pathogenese, Organotropismus, Immunogenität. Unsere Haustiere und in unserer Umwelt existierende weitere Tiere wie Ratte, Maus, Fledermaus sind Wirte für Coronaviren mit unterschiedlichem Potential für haftende Infektionen und daraus resultierende Infektionskrankheiten. Auf Grund ihrer unterschiedlichen Antigenbeziehungen wurden sie in Viren der Gruppe 1 und 2 eingeteilt, sie gehören nun der aktuellen Taxonomie zufolge zum Genus Alpha- und Betacoronaviren, dazu kommen die Gammacoronaviren von Haus- und Wildgeflügel. Das Coronavirus des Pferdes ist ein Betavirus wie die meisten der Coronaviren der Haustiere (Tab.1). Coronaviren von Pferden wurden 1973 erstmals aus Faeces erkrankter Saugfohlen mit profusem, wässrig-blutigem Durchfall in Kentucky, U.S.A., von Bass und Sharpee (1974) isoliert und charakterisiert. Diese Viren weisen serologisch eine Antigengemeinschaft mit dem bereits charakterisierten Kälbercoronavirus auf, das ebenfalls profuse Diarrhoe verursachte. Auch in späteren Untersuchungen von Durham et al. (1979) wiesen die daraufhin untersuchten Seren der betroffenen Pferde Antikörper gegenüber dem Kälbercoronavirus auf. Weitere Isolate aus Fohlen wurden in den Folgejahren aus den U.S.A. sowie Japan beschrieben. Eugster und Jones berichten 1980 von einem isolierten Coronavirus aus einem abortierten Fohlen. Das japanische Virusisolat wurde ebenfalls auf Antigengemeinschaft geprüft, die Seren der von der Infektion betroffenen Pferde wiesen ebenfalls humorale Antikörper gegenüber dem Coronavirus auf. Erstmals liegen Berichte von Huang et al. 1983 vor, die erwachsene Pferde mit offenbar enzootisch auftretenden Enteritiden in Maryland/U.S.A. auf deren Ätiologie virologisch untersuchten. Hierbei wurden wiederum Coronaviren isoliert, diesmal nicht nur aus den Faeces der Erkrankten, sondern auch aus deren Plasmaproben. Die Seren von Pferden der insgesamt untersuchten 113 klinischen Fälle wurden auf Antikörper gegenüber anderen enteropathogenen Coronaviren von Rind und Schwein sowie zusätzlich gegen Gammacoronaviren des Geflügels mit negativem Resultat untersucht. Im gleichen Jahr liegt eine weitere Untersuchung mit Virusisolation von Ward et al. diesmal wiederum bei Fohlen aus den U.S.A. vor. In den folgenden Jahren konzentrieren sich die Berichte über klinisch manifeste Infektionen mehr auf erwachsene Pferde, fast ausschließlich wiederum aus den U.S.A.. Bis 1990 etwa wurden diagnostisch die klassischen virologischen Methoden von Virusisolation über Anzucht und Typisierung in sensitiven Gewebekulturen, elektronenoptischen Techniken und Immunelektronenoptik usw. eingesetzt, ab diesem Zeitpunkt auf molekularer Technik. Mit Hilfe der quantitativen PCR (qPCR) werden positive Virusbefunde nun nahezu ausschließlich aus Kotproben erkrankter erwachsener Pferde von amerikanischen Untersuchungsgruppen gemeldet. Diesen Ergebnissen zufolge besteht das klinische Bild der ECoV-Infektion in spontan auftretendem Fieber bis 40,5°C, Anorexie, Apathie, gelegentlichen enteritischen Symptomen, auch mit Kolik und/oder geringem Kotabsatz. Über Leukopenie, Proteinmangel, Hyperammonämie bei Untersuchung des Blutes wird berichtet. Letztere wird für eine selten auftretende Encephalopathie verantwortlich gemacht. Die klinisch manifeste Infektion sei selbstlimitierend, milde Verläufe dominieren, die Prognose sei positiv. Die Manifestationsrate könne bis zu 85 % betragen. Eine Prävalenz von 11 % bis 93 % asymptomatischer Verläufe mit Virusausscheidung aus gesunden Fohlen und erwachsenen Pferden wird angegeben. Diese Pferde, insbesondere Fohlen, werden als Virusreservoir eingestuft. Bei diesen hohen Zahlen klinisch inapparenter Verläufe, einem dadurch gegebenen ständigen Infektionsdruck in den Beständen, wird empfohlen, alle Pferde mit spontanem Fieber ohne Symptome der Atemwege per qPCR auf Virus im Kot untersuchen zu lassen. Ein serologischer Test in Form eines ELISA gegenüber S1-Protein des Virus hilft ab 2017 zur seroepizootiologischen Untersuchung. Mit Hilfe dieses Tests konnte 2019 bei erkrankten, amerikanischen Pferden eine Serokonversion nachgewiesen werden. In dieser Untersuchung wurden auch 1084 Seren gesunder Pferde aus Holland und Island untersucht. Junge Pferde aus Holland reagierten zu 25,90% positiv, > 2 Jahre alte Pferde dagegen zu 82,80%. Die isländischen Seren reagierten zu 62% positiv. Inzwischen wird die Infektion als weltweit verbreitet angesehen, obgleich nur wenige außeramerikanische Berichte, z.B. aus Japan, Neuseeland, England/Irland und Frankreich vorliegen. Die geschilderten serologischen Resultate lassen auf eine sehr viel weitere Verbreitung schließen. Der Infektionsweg wird über orale Aufnahme virushaltigen Kotes beschrieben. Virusnachweise aus Plasma, Blut, Nüsternsekret sowie die hohe Prozentzahl von IgG im Serum untersuchter Pferde deuten jedoch weiter Infektionsmöglichkeiten an. Die empfohlenen Präventivmaßnahmen der AAEP (2017) beruhen ausschließlich auf der fäkalen Erregerübertragung. Mit Kot kontaminierte Boxen, Gegenstände usw. seien zu desinfizieren, positiv beprobte Tiere gesondert zu halten und zu versorgen. Quarantäne von 3 Wochen soll auch für Pferde gelten, die zwar virusfrei sind, aber aus einem positiven Bestand stammen. Neu eingestellte Pferde sollen erst nach 3 Wochen Quarantäne aufgenommen werden.

**Schlüsselwörter:** Historie des Coronavirus der Fohlen, serologische Beziehungen zu Kälbercoronavirus, Equines Coronavirus (ECoV) bei erwachsenen Pferden, Krankheit, Diagnostik, qPCR, Virusausscheidung, Prozentsatz inapparenter Verläufe, Carrierstatus, Epizootiologie, Seroprevalenz, Vorkommen, regionale Verbreitung, Präventivmaßnahmen.

## Infection of horses with Equine Coronavirus (ECoV)

Coronaviruses have always been part of our biozooenosis. Different biological properties are part of their evolutionary strategies, such as the change of host systems, pathogenicity, organotropism, antigenicity and immunogenicity. In addition to humans and domesticated animals, a wide range of susceptible animal host systems exists. Coronaviruses have been divided into former group 1 and group 2 based on the different antigenic relationships. The new taxonomy now divides these viruses into the genera alpha-, beta- (man and animals) and gammacoronaviruses (poultry). The first isolation of typical coronavirus particles was found by electron microscopy in faecal samples from foals in Kentucky. They died or were killed in the acute stages of gastroenteritis, described by Bass and Sharpee (1974). Neutralizing antibodies against calf diarrhoea coronavirus were identified in equine sera. Durham et al. (1979) investigated foals in New Zealand with profuse watery diarrhoea and detected coronavirus in their faeces. They described a wide range of ages of the animals infected and serological cross-reaction with calf coronavirus.

More virus-positive cases of enteric foal disease were reported in the following years. *Eugster and Jones (1988)* reported on coronavirus in an aborted equine foetus and *Ward et al. (1983)* described the presence of coronavirus in foals with diarrhoea. *Sato et al. (1981)* demonstrated neutralizing antibodies to calf diarrhoea coronavirus also in horses in Japan. All these reports deal with cases of severe gastroenteritis and foal diarrhoea. The first coronavirus-associated diarrhoea in mature horses was documented by *Huang et al. (1983)*. There were 113 clinical cases of an acute form of diarrhoea in Maryland, USA, in the summer of 1982. The isolated virus was not related to bovine coronavirus, swine transmissible gastroenteritis or avian infectious bronchitis based on fluorescent antibody tests. Coronavirus could be isolated not only from faeces but also from plasma samples of the sick horses. The classic virological diagnostic techniques have been now replaced by molecular tests using qPCR. Reports on disease associated with equine coronavirus (ECoV) infections mainly in mature horses in the U.S.A. have been based on qPCR positive faeces since about 1990. The description of the clinical signs, virus transmission and diagnosis of the ECoV disease could be summarized as follows. It is spread via oral investigation of qPCR positive faeces and faecal-oral transmission can also occur when horses make oral contact with surfaces or objects that have been contaminated with infected faeces. The disease is diagnosed most commonly in winter. Subclinically infected horses (11–93%) can spread ECoV depending on their carrier status. This pertains to foals and adult horses. Incubation is two to four days and the clinical signs are fever up to 40.5°C, anorexia, depression, sometimes colic, diarrhoea may or may not be present, and frequent lying down. Low white blood cell count (leucopenia, lymphopenia), hyperammonemia could be responsible, with signs of encephalopathic disease. The faecal virus load (ECoV genome equivalents per gram of faeces) might be of prognostic value in the horses affected. Prognosis is good in most cases. Exposure to the virus can result in up to 85% infection rate, however, most horses do not show clinical signs. A horse with fever and no respiratory clinical signs may have ECoV in the faeces. Therefore, the qPCR of their faeces is recommended. Epidemiological studies of ECoV infections are still limited. The seroprevalence has been investigated by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) utilizing ECoV spike S1 protein since 2017. Using this test, *Zhao et al. (2019)* demonstrated seroconversion by analysing 27 paired sera from horses involved in an ECoV outbreak. Seropositivity was carried by 25.9% (young horses) to 82.8% (adult horses) from 1084 sera from healthy Dutch horses. Sera of Icelandic horses reacted positive in 62%. This ELISA demonstrated the surprisingly high percentage of seropositive European horses. Seroprevalence in 9.6% of 5247 sera of healthy horses from different geographic regions of the U.S.A. was demonstrated by *Kooijman et al. (2017)*. Summarizing the results available, ECoV could be demonstrated in high percentages in faecal material and nasal secretions (*Pusterla et al., 2019*) and plasma and blood (*Huang et al. 1982, Goodrich et al. 2020*) from healthy and/or diseased horses. Therefore, it seems to be questionable whether faecal-oral transmission is the only infection chain. Further investigations are necessary. This is also part of the recommended methods of prevention. The latter are based on the following: high standards of sanitation in all equine facilities; disinfection methods; isolation of horses for three weeks, especially those with fever and no evidence of respiratory illness and horses moving to new facilities, especially in cases where they moved from a facility with ECoV; and positive faeces test are recommended.

**Keywords:** history of foal coronavirus, serologic relationship, ECoV in mature horses, disease, diagnostic, faecal qPCR, virus shedding percentage of inapparent infections, carrier, epizootiology, seroprevalence, regional incidence of infection, preventive measurements

**Zitation:** Thein P. (2020) Infektion des Pferdes mit Equinem Coronavirus (ECoV). *Pferdeheilkunde* 36, 438–444; DOI 10.21836/PEM20200507

**Korrespondenz:** Prof. Dr. Dr. habil. Peter Thein, Lindenstraße 2, 85250 Altomünster

**Eingereicht:** 29. Juni 2020 | **Akzeptiert:** 30. Juli 2020

## Historie

Coronaviren begleiten Mensch und Tier schon seit jeher. Ihre unterschiedlichen biologischen Eigenschaften und ihre Plastizität sind Teil ihrer evolutionären Anpassungsstrategien. Dazu zählen Wirtswechsel, Pathogenese, Organotropismus, Immunogenität. Unsere Haustiere und in unserer Umwelt existierende weitere Tiere wie Ratte, Maus, Fledermaus sind Wirte für Coronaviren mit unterschiedlichem Potential für haftende Infektionen und daraus resultierende Infektionskrankheiten. Auf Grund ihrer unterschiedlichen Antigenbeziehungen wurden sie in Viren der Gruppe 1 und 2 eingeteilt, sie gehören nun der aktuellen Taxonomie zufolge zum Genus Alpha- und Betacoronaviren, dazu kommen die Gammacoronaviren von Haus- und Wildgeflügel. Das Coronavirus des Pferdes ist ein Betavirus wie die meisten der Coronaviren der Haustiere (Tab.1).

Der erste Bericht über den Nachweis von Coronavirus bei Pferden stammt von *Bass und Sharpee (1974)*. Sie wurden zur Klärung einer erstmals in Kentuckys Vollblutzucht endemisch auftretenden Infektion bei ca. 40 Fohlen mit profusem Durchfall gerufen. Drei Fohlen, die starben, wurden untersucht. In ih-

rem Kot wurden elektronenmikroskopisch Coronaviruspartikel nachgewiesen. Die Klinik der Saugfohlen, die bei Ausschluss anderer Infektionen den Coronaviren zugeordnet wurde, war charakterisiert durch spontan auftretenden, fieberhaften, profusen, wässrigen, therapieresistenten Durchfall. Das Blutbild zeigte Abweichungen im Sinne einer Leukopenie, die Mortalitätsrate wird als hoch beschrieben. Das Geschehen war nur virologisch von der schon damals beschriebenen Rotavirusinfektion der Fohlen zu differenzieren. Die Autoren, die auch die Corona-Virusinfektion beim Kalb mit vergleichbarer Symptomatik erstmals ätiologisch klären konnten, untersuchten im Rahmen der beschriebenen Endemie 65 Pferdeseren auf virusneutralisierende Antikörper gegen das Kälber-Coronavirus. Ein Großteil der Pferdeseren wies Antikörper gegen dieses Virus mit Titern bis > 1:180 auf. Die Autoren sehen darin eine Antigengemeinschaft zwischen Pferde- und Kälbercoronaviren (*Bass, 1978*). Von *Durham et al. (1979)* wurde dann über den Nachweis von Coronaviren in den Faeces von an Durchfall erkrankten Fohlen im Alter von bis zu 6 Monaten aus Neuseeland berichtet. Auch hier ist der klinische Verlauf dominiert von profusen, wässrigen, spontan auftretenden und fieberhaft verlaufenden Enteritiden. Am häufigsten wird über postnatal auftretende enterale Symptomatik, vergleichbar der Rotavirus-

infektion, berichtet. Allerdings ist das Altersspektrum bei den Coronavirus bedingten Enteritiden diesen Berichten folgend weiter als das bei der Rotavirusinfektion. Im Rahmen seiner Untersuchung zur Pathophysiologie der Durchfallerkrankungen des Fohlens berichtet Merrit (1980) über den Nachweis von Coronavirus im Kot von Fohlen sowie über bakterielle Sekundärinfektionen. Im gleichen Jahr weisen Eugster und Jones (1980) Coronaviren in einem abortierten Fohlenfetus nach. Aus Japan berichten Sato et al. (1981) über ihre epidemiologischen, serologischen Untersuchungen verschiedener Tierarten zum Vorkommen von Antikörpern gegen das Coronavirus der Kälber. Sie bestätigen die Ergebnisse von Bass und Sharpee (1974) durch den Nachweis virusneutralisierender Antikörper in Pferdeseren. Erstmals berichten Huang et al. (1983) über den Nachweis von Coronaviren bei erwachsenen Pferden. Im Rahmen ihrer Untersuchungen in Maryland/ U.S.A. zur ätiologischen Klärung von in den Sommermonaten von 1979 bis 1982 mit wachsender Ausbreitung auftretender Durchfälle erwachsener Pferde isolierten sie sowohl aus Plasma als auch Faeces der erkrankten Pferde Coronaviren. In 1982 betraf dies 113 klinische Fälle. Die Untersuchungen auf fluoreszierende Antikörper ergaben keine Beziehung zu dem Rinder coronavirus, der TGE des Schweines oder der Infektösen Bronchitis des Geflügels. Einen weiteren Nachweis des ECoV aus Fohlendurchfall beschrieben Ward et al. (1983) aus den U.S.A.. Untersuchungen deutscher Fohlen im gleichen Jahr (Thein et al., 1983, Mayr und Thein, 1984) blieben ohne Virusnachweis. Jedoch berichtet Käppeler (1983) daraufhin erstmals über den Nachweis von Coronaviren aus der Kotprobe eines an Durchfall erkrankten Fohlens aus einem Arabergestüt im Schwarzwald. Hier traten laut seiner Information Durchfälle auf, die denen bei „Rota-Corona-Durchfällen bei Kälbern ähnlich waren“. Diese Enteritiden verliefen in der Regel ohne größere Komplikationen. Ebenfalls vom Nachweis eines Coronavirus aus einem Araberfohlen berichten Mair et al. (1990) aus England. In diesem Fall handelt es sich um ein vier Wochen altes Hengstfohlen mit chronischem Durchfall,

mucopurulenter Entzündung der Atemwege und schweren Allgemeinstörungen. Die Ursache für letztere werden als Folge manifester Infektion mit Cryptosporidien und Coronavirus auf Grundlage einer nachgewiesenen, kombinierten Immundefizienz (CID) beschrieben. Neben dem Coronavirus konnten zahlreiche Oocysten von Cryptosporidien, E. coli, Str. zooepidemicus und Proteusspezies im Kot nachgewiesen werden. Ein Virusisolationsversuch aus Nasenspülproben dieses Fohlens verlief negativ. Das isolierte Coronavirus vermehrte sich mit cytopathischem Effekt in Kulturen equiner Hautzellen, wie auch schon von Huang et al. (1983) beschrieben. Bei der patho-histologischen Untersuchung des Fohlens konnte weder aus Lunge, Pankreas oder Intestinumgeweben Coronavirus nachgewiesen werden.

**Diagnostik und Klinik**

Die bisher und bis 1990 beschriebenen Nachweise von Equinen Coronaviren bei Fohlen und erwachsenen Pferden basieren auf den klassischen Methoden des direkten Erregernachweises wie Elektronenmikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie, Virusisolierung über Anzucht in sensiblen Gewebekulturen und Viruscharakterisierung. Das Coronavirus des Pferdes ist taxonomisch dem Genus der Betacoronaviren, frühere Gruppe 2, zugeordnet (ICTV 9<sup>th</sup> Report, 2019, GMBI, 2020). In neueren Untersuchungen aus den U.S.A. wird überraschenderweise berichtet, der erstmalige Nachweis eines Coronavirus (ECoV) beim Pferd sei erst 1999 bei einem Fohlen mit Enterokolitis gelungen (Goodrich et al. 2020). Die derzeitigen Nachweisverfahren beruhen auf molekularer Basis der quantitativen PCR (qPCR). Die klinisch manifeste Infektion und Erkrankung trete nun in erster Linie bei adulten Pferden auf (Pusterla et al., 2016, Berryhill et al., 2019). Sie sei erst kürzlich beschrieben und hätte eine weltweite Verbreitung (Berryhill et al., 2019). Entgegen den dargestellten, wiederholten Nachweisen von Coronavirus als Ursache für die z.T. sehr schweren Verläufe

**Tab. 1** Coronaviren und ihre klinische Manifestation bei Mensch und Tier. Coronaviren des Geflügels, Gammagruppe, sind nicht berücksichtigt. | Coronaviruses of men and animals and their clinical manifestation. Coronaviruses of birds, group Gamma, have been not regarded.

Wirt	Coronaviren, n		Virusstämme/klinische Manifestation				Impfstoffe Stand PEI, 3.7.2020
	Alpha	Beta	Alpha		Beta		
Mensch	2	6	St. 229 E St. NL 63	Atemwege	St. OL 43 Intestinum Atemwege	MERS, SARS, SARS-2, (Covid-19)	/
Hund	1	1	o.N.	Intestinum	o.N.	Atemwege	/
Katze	2	/	FIP-1 FIP-2	Bauch-Rippenfell ZNS, Intestinum	/	/	1 Produkt seit 2006 *
Pferd	/	1	/	/	ECoV	Intestinum	/
Rind	/	1	/	/	BCoV	Intestinum	4 kombinierte Mutter- tierimpfstoffe 2 Immunsereen
Schwein	3	1	o.N. TGE EVD	Intestinum	HEV	ZNS	/
Maus/Ratte	/	4	/	/	Hepatitisvirus Maus Atemwegsvirus Ratte	Leber Atemwege	/
Fledermaus	10	16	?	?	?	?	/

\* Impfung nur für Corona-negative Katzen

fe von Enteritiden bei Saugfohlen schreiben *Pusterla et al.* (2016): „Es würde schon lange angenommen, dass ECoV bei Fohlen eine Enteritis auslöst, doch nachgewiesen wurde dies bisher nur bei einem Fohlen“. Es müsse davon ausgegangen werden, dass sowohl gesunde als auch kranke Fohlen das Virus ausscheiden und dass diese in der Regel subklinisch erkranken. Es bestehe auch die Möglichkeit, dass das Virus nur prädisponierend für andere opportunistische Sekundärkeime wirke und/oder Kolostrantikörper die Entwicklung einer Enteritis verhindern. *Kooijman et al.* (2017) und *Zhao et al.* (2019) dagegen halten das Equine Coronavirus generell für die Ursache von enteritischen Fohlenerkrankungen und machen es für nur gelegentlich beobachtete Fälle von manifesten Infektionen erwachsener Pferde in den U.S.A., Frankreich und Japan verantwortlich. Bezüglich Diagnostik setzt man seit Jahren auf den molekularen Nachweis von ECoV-Genomanteilen in den Faeces der untersuchten Pferde. Die hierfür verwendete qPCR mit ihren in beliebiger Menge vermehrbaren Gensequenzen ist bezüglich ihrer diagnostischen Aussagen limitiert. Über den Infektionszeitpunkt, Ausscheidung virulenter Virus, dessen Persistenz, denkbaren Kreuzreaktionen usw. sind nur bedingte Rückschlüsse möglich. Dies betrifft z.B. auch die postulierte Prävalenz von 11 % bis 93 % asymptomatischer Verläufe, begleitet von Virusausscheidung durch gesunde Fohlen und erwachsene Pferde (*Pusterla et al.*, 2016). Unter Verwendung dieser Daten teilt die Amerikanische Gesellschaft der Pferdeterärzte (AAEP, 2017) bezüglich Infektiologie, Klinik und Präventivmaßnahmen der ECoV-Erkrankung Folgendes mit: Die Übertragung des Virus geschieht auf faeco-oralem Wege, d.h. ein Pferd muss Kot eines anderen Pferdes mit virulentem Coronavirus aufnehmen. Es könne aber auch zu manifesten Infektionen kommen, wenn oraler Kontakt mit virushaltigen Gegenständen, die wiederum vorher Kontakt zu virushaltigem Kot hatten, geschieht. Als Gegenstände werden angeführt: Wände, Tränke, Mistgabeln, Fieberthermometer, Handschuhe usw.. Ein Beweis für diese Infektionswege ließ sich in der präsenten Literatur ebenso wenig finden wie Untersuchungen zur Ausscheidung von vermehrungsfähigem Virus, der Infektionsdosis, Tenazität an den geschilderten Gegenständen, experimentelle, beweisende Untersuchungen, usw.. In diesem Zusammenhang schreibt die AAEP des Weiteren, betrage die Inkubationszeit 2 bis 4 Tage. Danach folge die Krankheit, charakterisiert durch Anstieg der inneren Körpertemperatur bis 40,5 °C, Anorexie, Depression, Kolik, häufiges Niederlegen, gelegentlich Diarrhoe. Das Blutbild zeigte eine Leukopenie mit Neutro- und Lymphopenie. In seltenen Fällen kann es zu Abweichungen im Elektrolyt- und Proteinhaushalt, Dehydration kommen. Neurologische Symptome wie Lethargie, Depression, Ataxie, die in Ausnahmefällen beobachtet werden, stehen im Zusammenhang mit dem Nachweis erhöhter Ammoniumwerte im Blut (Hyperammonämie). Die AAEP bescheinigt den infizierten Pferden allgemein eine gute Prognose. Viruskontakt könne eine Infektionsrate bis zu 85 % der Pferde zur Folge haben, die meisten dieser Tiere zeigen jedoch keine klinischen Symptome. Die Mortalität sei gering und nur in komplizierten Fällen zu beobachten.

Im Gegensatz zu den berichteten Fällen der manifesten Coronavirusinfektion der Saugfohlen, bei denen wässrige, profuse Durchfälle mit relativ hoher Mortalität das klinische Bild dominieren, ist der geschilderte klinische Verlauf beim erwachsenen Pferd eher der einer systemischen Infektion beglei-

tet von gelegentlich auftretenden enteralen Symptomen. So berichten *Berryhill et al.* (2019) über eine retrospektive Untersuchung von 33 Pferden im Alter von 2 bis 3 Jahren im Zeitraum 2012 bis 2018, die in der qPCR CoV-positiv (Faeces) waren. Deren klinische Symptome bestanden aus signifikanter Lympo-Leukopenie, Fieber bis 40 °C, Anorexie und Kolik sowie Veränderung im Elektrolythaushalt. Diese Autoren sehen die ECoV-Infektion lediglich bezüglich der Veränderungen im weißen Blutbild sowie der metabolischen Veränderungen als behandlungsbedürftig an. Bei Pferden mit den geschilderten Befunden sollte differentialdiagnostisch im Grunde immer an die Beteiligung von Coronavirus gedacht werden. Die Coronavirus bedingten profus-wässrigen, therapieresistenten Durchfälle der Saugfohlen gleichen klinisch sowohl der Coronavirusinfektion des Kalbes als auch der Rotavirusinfektion beim Saugfohlen (*Higgins et al.*, 1990) und Saugkalb. Ihre Ursache ist eine Affinität beider Viren zu den Epithelien der Spitzen der Mikrovilli vorwiegend des Jejunums und Ileums gefolgt von deren kompletter Zerstörung und dem Bild der nekrotisierenden Enteritis (*Gianitti et al.*, 2015, *Pusterla et al.*, 2016, *Goodrich et al.* 2020).

Die geschilderte Assoziation des Virus zum Epithel der Vili vorwiegend des Dünndarms, gefolgt von nekrotisierender Enteritis und profusem Durchfall gehört laut *Pusterla et al.* (2015) und *Gianitti et al.* (2015) auch zur Pathogenität und Organmanifestation der Coronavirusinfektion des erwachsenen Pferdes. Warum dies hier jedoch nicht zu profusen Durchfällen führt, bleibt ungeklärt. *Goodrich et al.* (2020) sehen beim erwachsenen Pferd nur geringe klinische Symptome einer Gastroenteritis und halten das Virus für weniger pathogen für das Epithel des Dünndarms, da es nur sehr selten die beschriebene nekrotisierende Enteritis auslösen würde. Ebenso bleiben Fragen zu den berichteten neurologischen Symptomen der Infektion offen. Diese gleichen den von der Bornavirusinfektion bekannten, wie Kreisbewegung, Kopfpresen, Ataxie, propriozeptive Defizite, Festliegen und sollen bei bis zu 3 % der Fälle auftreten. Die dafür angegebenen Ursachen seien die erhöhten Ammoniumwerte der betroffenen Pferde als Folge der Einschränkung der Darmschranke und/oder einer erhöhten Produktion in Folge der Infektion an sich (*Pusterla et al.*, 2016). Sowohl in der Stellungnahme der AAEP (2017) als auch in den Untersuchungen von *Fielding et al.* (2015) wird berichtet, besonders bei Kleinpferden seien bevorzugt schwere klinische Verläufe zu diagnostizieren. Letztere Autoren berichten von zwei Ausbrüchen in U.S. amerikanischen Miniaturpferdehaltungen mit hoher Rate klinisch schwerer Fälle. Von 14 Pferden (27 %) wird vor allem über eine signifikante Hyperammonämie (677 µmol/l) als Ursache der Encephalopathie berichtet. Mit Hilfe der qPCR wurde die Viruslast in den Faeces der Pferde ermittelt. Diese lag bei den schwer erkrankten „nonsurvivors“ signifikant über der der genesenen Pferde. Dieser Befund wird als prognostisches Hilfsmittel eingestuft. Bezüglich einer Verdachtsdiagnose seien Pferde mit spontan einsetzendem Fieber ohne respiratorische Symptome bevorzugte Kandidaten für die vorzunehmende Untersuchung. Von den diskutierten, asymptomatisch infizierten erwachsenen Pferden, die als Virusreservoir in Frage kommen, soll 3 bis 4 Tage p. i. Virus über die Dauer von 3 bis 25 Tagen im Kot ausgeschieden werden. Bei einer zu frühen Beprobung seien falsch negative Ergebnisse möglich. Weitere Untersuchungen in der PCR 24 bis 48 Stunden später

werden empfohlen. *Pusterla et al. (2019)* hatten Nasentupfer von 277 erwachsenen Pferden dieser Kategorie auf ECoV und atemwegsrelevante Viren mittels PCR untersucht sowie Kotproben auf Coronavirus. 72% der untersuchten Pferde waren ECoV positiv im Kot, 4 dieser Pferde auch im Nüsternsekret. Interessant sind auch die Ergebnisse der anderen Viren. Hier waren 6,1% positiv für Influenza, 9,0% EHV4, 0,7% EHV1, 3,2 Rhinitisvirus und 4,3% für *Streptococcus equi* ss.equi. Fehlender Ausfluss der Nüstern, akutes Fieber, Rassespezifität der Pferde, Management und Haltungsfaktoren seien laut den Autoren prädestinierende Faktoren bei hoher Infektiosität des Virus für das ECoV-Ergebnis gewesen. Es wird auf die Wichtigkeit einer Untersuchung der Kotproben auf ECoV bei Pferden ohne Atemwegssymptome, jedoch mit akutem Fieber und Anzeichen von Anorexie hingewiesen. Ähnlich den Coronaviren des Menschen, die zu den saisonalen Erkältungskrankheiten beitragen, ist von *Pusterla et al. (2016)* eine Manifestation der Infektion mit ECoV der Pferde in den Wintermonaten beschrieben. Die Krankheit verlaufe in der Regel selbstlimitierend.

### Epizootologie

Die Berichte über die Verbreitung des equinen Coronavirus differieren sowohl zwischen der geographischen wie regionalen Verbreitung als auch der klinischen Manifestation bei Pferden unterschiedlichen Alters. Wie angeführt, stammen nahezu alle derzeitigen Untersuchungen aus den U.S.A.. Einerseits wird berichtet, dass die Infektion selten in Zuchtbetrieben auftritt, andererseits werden vorwiegend Fohlen als Virusreservoir angegeben (*Pusterla et al., 2016*).

Einen wesentlichen Beitrag für Untersuchungen zur Epizootologie und der serologischen Diagnostik der Infektion kann ein 2017 entwickelter ELISA auf Basis Spike S1 Proteins des Virus zum Nachweis humoraler IgG-Antikörper leisten. Unter Verwendung dieses Tests berichten *Kooijman et al. (2017)* über die Untersuchung von 5247 gesunden Pferden aus unterschiedlichen Regionen der U.S.A.. Von diesen wurden 9,6% (n = 504) positiv befundet. Ab welchem Titer in diesem Test ein Ergebnis als positiv bewertet wird, wird nicht dargelegt. Die Autoren sehen auf Grund der Verteilung der seropositiven Pferde in dieser Untersuchung Risikofaktoren für ECoV in bestimmten Gebieten der U.S.A. (mittlerer Westen), Verwendung und Management der Pferde (Arbeit in 'Ranch und Farm') sowie – im Gegensatz zu *Pusterla et al. (2016)* – auch in Zuchtbetrieben. Von *Zhao et al. (2019)* wird wiederum, wie auch in der o.a. Untersuchung, auf die Dominanz der Infektion bei Fohlen hingewiesen. In beiden Arbeiten wird im Weiteren jedoch nur auf Untersuchungen an erwachsenen Pferden eingegangen mit Bezug auf einige Ausbrüche der Krankheit in den U.S.A.. Der genannte ELISA wurde hier zur Untersuchung von 27 erkrankten Pferden zur Ermittlung von deren Seroconversion sowie an 1084 Seren holländischer und isländischer Pferde zur seroepizootologischen Prüfung eingesetzt. Gleichzeitig wurde der Test mit positivem Ergebnis bezüglich Sensibilität und Spezifität im Vergleich zum Virusneutralisationstest (VNT) geprüft. Die erkrankten Pferde zeigten in 70,40% der Fälle eine diagnostisch verwertbare Seroconversion. Die jungen Pferde aus Holland reagierten in den epizootologischen Tests zu 25,90% positiv, die älteren zu 82,80%. Auch in den

isländischen Pferdeseren wurden in 62% ECoV-spezifische IgG nachgewiesen.

Bisher ist die Seroprävalenz von ECoV in weiteren europäischen Ländern und Pferden unbekannt. Die geschilderten, diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse weisen auf eine überraschend weite Verbreitung des Virus hin mit deutlicher Dominanz bei den älteren Pferden (> 2 Jahre). Dies spricht für eine hohe Präsenz des Virus in der Biozönose bei einer geringen Manifestationsrate. Wahrscheinlich erliegen Fohlen ohne oder bei abgeklungener Kolostrallimmunität der Erstinfektion, andererseits wäre bei diesen hohen Infektionsraten mit inapparenten Verläufen auch ein hoher Anteil von Mutterstuten mit kolostralen Antikörpern zu erwarten. Prädestinierende Faktoren – wie dargestellt – dürften beim erwachsenen Pferd zum Switch von Infektion zu Infektionskrankheit erforderlich sein. Die sehr hohen Prozentsätze seropositiver Pferde sind sicher nicht nur durch den beschriebenen Viruskontakt der Pferde durch Kotfressen zustande gekommen. Die Inhalationsinfektion dürfte hierbei die alternative und/oder additive Ursache sein. *Huang et al. (2020)* und *Goodrich et al. (2020)* hatten in ihren Untersuchungen infizierter und erkrankter erwachsener Pferde das Virus auch im Blut/Plasma nachweisen können und somit einen Hinweis auf den virämischen Infektionsverlauf geliefert. ECoV wurde – wie dargelegt – auch aus Atemwegssekret nachgewiesen. Die Prävalenz von asymptomatischen Fällen zwischen 11–93% (*Pusterla et al., 2016*), die symptomlos verlaufende Infektionsrate bis zu 85% (*AAEP, 2017*) beruhen lediglich auf Ergebnissen der fäkalen PCR. Diese sagt allerdings nichts darüber aus ob und wieviel Virus das betroffene Pferd in welchem Zellsystem beherbergt und auf welchem Weg eine Infektionskette zustande kommt. Dazu müsste bekannt sein, mit welchen Se- und Exkreten pathogenes, vermehrungsfähiges Virus in welcher Dosis (logarithmisch) über welche Zeitdauer, unter welchen Bedingungen ausgeschieden wird. Die PCR, die ja lediglich bestimmte Stücke des viralen Genoms aufspüren kann, ist hierfür nur sehr bedingt geeignet. Dazu müssen die beschriebenen klassischen virologischen Methoden des direkten Virusnachweises additiv beitragen.

### Pathogenese – Immunität

Über Untersuchungen zum direkten Virusnachweis des erkrankten und/oder persistent infizierten Pferdes, antigene/immunogene Charakteristik der Isolate, eventuelle Virusstammdifferenzen und/oder Verwandtschaften fehlen Untersuchungen. In wieweit die in den letzten Jahren erfassten, manifesten Infektionen durch Viren verursacht wurden, die dem ab 1973 aus Fohlen isolierten Virus entsprechen, genetisch identisch sind und die hohe Prävalenz bei inapparenten Verläufen bedingen, ist unklar. Ein Hinweis auf mögliche Differenzen zwischen „altem“ und „jungem“ ECoV besteht darin, dass *Bass und Sharpee (1974)* sowie *Ward (1983)* aus den U.S.A. und *Sato (1980)* aus Japan über serologische Kreuzreaktionen ihrer Isolate mit dem bovinen Coronavirus berichteten. *Huang et al. (1983)* dagegen finden bei serologischen Untersuchungen von erkrankten, viruspositiven, erwachsenen Pferden keine Kreuzreaktionen mit den Coronaviren von Rind, Schwein und Geflügel. Pferd und Rind verfügen bisher jeweils über ein einziges Coronavirus des Beta-Typs der früheren

Gruppe 2 der Virussystematik, von Subtypen ist nichts bekannt. Antigengemeinschaften der Beta-Coronaviren existieren zwischen dem Bovinen Coronavirus, dem Hemagglutinierenden-Encephalomyelitis-Virus (HEV) der Ferkel, dem Mäusehepatitisvirus, dem Coronavirus der Ratte und dem Atemwegsvirus CoVID-43 des Menschen. Letzteres wiederum hat genetische Beziehungen zu SarsCoV-2 und dieses zu CoVID-19 (Tab. 1). Coronaviren der Tiere und des Menschen sind nicht nur bezüglich ihrer Antigene und Antigenverwandtschaften sehr heterogen, sondern auch bezüglich ihrer Pathogenese und Immunogenität. Die ECoV-Infektionen beim Fohlen wie beim erwachsenen Pferd sind bislang als lokale Infektion der Epithelien des Dünndarms mit den daraus resultierenden unterschiedlich schweren, klinischen Verläufen anzusprechen. Die auf den Darmtrakt beschränkte Infektion ist über humorale IgG-Antikörper nicht zu verhindern, ein Immunschutz ist zu erwarten durch sekretorisches IgA (sIgA) und/oder durch eine lokale zelluläre Immunität. Letztere ist auch beim Schutz gegen Coronaviren weiterer klinischer Manifestation involviert. Impfstoffe mit einer selektiv die T-Zell assoziierte Immunität induzierenden Kapazität fehlen ebenso wie Produkte, die die S-IgA-Induktion z.B. im Fohlen aktiv induzieren könnten. Insgesamt fehlen Impfstoffe gegen Coronaviren mit ihren unterschiedlichen Pathogenesen in der Tier- wie in der Humanmedizin, wie in Tab.1 dargestellt. Die mit Enteritiden einhergehenden Neugeborenen-Virusinfektionen sind hypothetisch wie praktisch bisher nur dadurch anzugehen, dass man die trächtigen Muttertiere aktiv immunisiert (Vakzinen auf Basis inaktivierter Viren). Die damit verbundene Erwartung ist, dass postnatal mit dem Kolostrum wirksame Mengen antigepprägten S-IgA ausgeschieden und vom Neugeborenen oral aufgenommen werden. Entsprechende Rezeptoren am Dünndarm binden diese Antikörper und bilden einen mucingebundenen Immunschutz gegen an diesem Epithel haftendes Virus. Dieses Prinzip ist bisher erfolgreich mit Kombinationsvakzinen, die sowohl Corona- wie Rotavirus enthalten, gegen die Neugeborenenarrhoe des Kalbes eingesetzt worden (Tab.1). Die mit dem Kolostrum ausgeschiedenen Antikörper sollen nicht nur die klinische Manifestation beim Neonaten verhindern, sondern auch dessen faecale Virusausscheidung verringern. Damit würde der Infektionsdruck im Bestand reduziert. Ein analoges Vorgehen bei der Stute unter Einsatz von Coronavirus ist denkbar. Die Stute scheidet p. n. ab der 9. Stunde quantitativ zunehmend Antikörper des Typs IgA aus. Die Halbwertszeit des kolostral ausgeschiedenen IgA beträgt 6 Tage (Thein, 1983), so dass für einen hypothetischen Schutz gegen lokale Darminfektionen des Fohlens vorausgesetzt werden muss, dass die Stute postvazinal genügend Antikörper ausscheidet und das Fohlen möglichst kontrolliert frühzeitig, ca. 4 Stunden p. n. und über die folgenden Tage Kolostrum genügend aufnimmt. Der denkbare Einsatz der für Rinder zugelassenen Muttertierimpfstoffe für das Pferd wurde auch bisher in den U.S.A. nicht untersucht (Pusterla et al., 2016). Humorale Antikörper gegen ECoV sind – ebenso wie Virus – im Plasma erwachsener Pferde mit und ohne klinische Anzeichen einer Infektion nachgewiesen worden (Huang, 1983, Goodrich et al., 2020). Ob und in wieweit diese eine Rolle im Sinne einer Reduzierung der klinischen Manifestation der offenbar virämisch verlaufenden Coronavirusinfektion hierbei spielen, ist nicht bekannt. Dass die humoralen Antikörper, an die in der Regel die Erwartung eines Immunschutzes mit möglichst quantitativer Beziehung zu diesem geknüpft wird, speziell bei den Coronavirusinfek-

tionen nicht immer zutreffen, ist in der Tiermedizin bekannt (Siddell et al., 1983). Die infektionsbegünstigende Rolle humoraler Antikörper z. B. bei der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) der Katze spielt innerhalb der meist mortal verlaufenden Pathogenese eine entscheidende Rolle. Im Falle dieser Coronavirusinfektion wirken humorale Antikörper krankheitsverstärkend, in dem sie vor allem im Zusammenhang mit Zweit- und Folgeinfektionen zur Immunkomplexbildung mit all deren pathogenen Effekten wie Cytokinaktivierung, Aktivierung der Komplementkaskade, Aktivierung vasoaktiver Amine, hämorrhagischer Diathese führen kann (Jakobs-Geels et al., 1982, Horzinek et al., 1982, Pedersen und Blach, 1983, Horzinek, 1984). Diese Immunkomplexe werden vorwiegend von Makrophagen aufgenommen, also von dadurch infizierten Zellen, die eine wichtige Rolle in der Immunabwehr übernehmen sollten. Möglicherweise existiert bezüglich Antigen-Antikörperkomplexbildung eine vergleichbare Pathogenese bei der EHV1-bedingten Herpes-Myelopathie bei mehrfach mit Lebend- oder Totimpfstoff geimpften Pferden (Wilson, 2001, Borchers et al., 2006, Thein und Röhm, 2016). Die angeführten Beispiele Corona-spezifischer Pathogenese sollen auf die Plastizität dieser Erreger hinweisen sowie die sich daraus ergebenden Schwierigkeiten der Entwicklung einer tatsächlich wirksamen Immunprophylaxe verdeutlichen. Humorale Antikörper führen also nicht immer zum Schutz, sie können auch zu einer Sensibilisierung gegenüber Infektionen beitragen. Über die Inzidenz virologisch und/oder klinisch nachgewiesener Coronavirusinfektionen des Pferdes in Deutschland fehlen bislang Berichte und wissenschaftliche Untersuchungen.

### Bestandsaufnahme

Unbekannt ist derzeit die eventuelle Persistenz des Virus in der Umwelt des Pferdes, nicht equine, animale Carrier, Kontamination diverser Oberflächen und Gegenstände, die damit verbundene Tenazität der mit dem Kot und/oder Atemweg ausgeschiedenen Viren, die notwendigen Infektionsdosen usw.. Auf Grund der manifesten Infektion eines von anderen Pferden separat gehaltenen und erkrankten Pferdes diskutieren Goodrich et al. (2020) die Möglichkeit der Übertragung durch Menschen. Bislang ist wenig von einer Viruspersistenz sowie den dafür notwendigen biologischen Konditionen in der Umgebung des Virus ausscheidender Pferde – gesund und/oder erkrankt – bekannt. Für Pferde in den USA sind die empfohlenen Präventivmaßnahmen demzufolge rein pragmatischer Natur im Sinne allgemeiner Hygiene- und Desinfektionsempfehlungen. Nachdem aber von gesunden, inapparent wie asymptomatisch infizierten Ausscheidern auszugehen ist, können diese Maßnahmen sich nur auf erkrankte Pferde mit PCR-positivem Nachweis im Kot beziehen. Es handelt sich hierbei um die Desinfektion aller mit viruspositivem Kot in Kontakt geratenen Gegenstände, Boxen, Stallabteilungen und bezieht sich laut AAEP im Weiteren auf alle Pferde mit einer fieberhaften Erkrankung ohne Atemwegssymptome. Der Kot dieser Pferde könnte PCR-positiv sein, daher wird deren Isolation vorgeschrieben. Theoretisch können vor allem Dauerausscheider den Infektionsdruck im Bestand erhöhen. Virusfreie Pferde aus einem ECoV-positiven Bestand mit bevorstehendem Stallwechsel, Reise etc. sollen über 3 Wochen ebenfalls isoliert gehalten und versorgt werden. Ihre Kotprobe sollte vor Transport auf Genomteile des Virus untersucht wer-

den. Neu eingestellte Pferde betrifft ebenfalls eine 3-wöchige Quarantäne. Auch das Tragen von Schutzkleidung wird empfohlen (Pusterla et al., 2016, AAEP, 2017). Die genannten Maßnahmen stellen das Paket der potentiellen, theoretischen Absicherung von Virusinfektionen in der Pferdehaltung dar, ohne dass die dazu erforderlichen unerlässlichen Fakten der epizootologisch relevanten Eigenschaften des jeweiligen Erregers im Detail bekannt sind. Jedes klinisch unauffällige Pferd kann, dem momentanen Stand des Wissens folgend, Coronavirus im Kot ausscheiden. Ob dies der einzige Weg ist, ebenso wie der der faeco-oralen Ergeraufnahme, das Verhalten des Virus in der Umwelt usw. muss geklärt werden. Ohne die Klärung dieser Grundlagen stellen die geschilderten Maßnahmen immer eine die Pferdezucht und -haltung unnötig belastende, die Pferdebesitzer verunsichernde Vorschrift dar. Wir kennen dies seit Jahrzehnten bei den latenten Infektionen der Equinen Herpesviren (Thein und Röhm, 2016).

## Literatur

- American Association of Equine Practitioners (2017) edcc@aaep.org. Coronavirus Disease
- Bass E. P. (1978) Nachweis von Coronavirus aus Vollblutfohlen in Kentucky. Neutralisierende Antikörper gegenüber Calcoronavirus. Persönliche Mitteilung
- Bass E. P., Sharpee R. L. (1974) Coronavirus and gastroenteritis in foals (1974) *The Lancet* 2, 822
- Borchers K., Thein P., Sterner-Kock A. (2006) Pathogenesis of equine herpesvirus-associated neurological disease: a revised explanation. *Equine Vet. J.* 38, 283–287
- Browning G. F., Chalmers R. M., Sale C. S. H., Fitzgerald T. A., Snodgrass D. R. (1991) Homotypic and heterotypic serum and milk antibody to rotavirus in normal, infected and vaccinated horses. *Vet. Microbiol.* 27, 231–244
- Durham P. J. K., Stevenson J. B., Farquharson B. C. (1979) Rotavirus and Coronavirus associated diarrhoea in domestic animals. *New Zealand Vet. J.* 27, 30–32
- Eugster A. K., Jones L. B. (1980) Coronacviruses in an aborted equine fetus. *Southern Veterinarian* 33, 12
- Fielding C. L., Higgins J. K., Higgins J. C., McIntosh S., Scott E., Giannitti F., Mete A., Pusterla N. (2015) Disease Associated with Equine Coronavirus Infection and High Case Fatality Rate. *J. Vet. Int. Med.* 29, 307–310
- Giannitti F. (2020) Necrotizing Enteritis and Hyperammonemic Encephalopathy associated with Equine Coronavirus Infection in Equids. *Vet. Pathol.* 52, 1148–1156
- Goodrich E. C., Mittel L. D., Glaser A., Ness S. L., Radcliff R. M., Divers T. J. (2020) Novel findings from a beta coronavirus outbreak on an American Miniature Horse breeding farm in upstate New York. *Equine Vet. Educ.* 32, 150–154
- Horzinek M. C. (1982) Viruskrankheiten der Katze. Report Dossier, Effem-Forschung für Heimtiernahrung, 38–45
- Horzinek M. C., Lutz H., Pedersen N. C. (1982) Antigenic relationships among homologous structural polypeptides of porcine, feline and canine coronaviruses. *Infect. Immun.* 37, 1148
- Huang J. C. M., Wright S. L., Shipley W. D. (1983) Isolation of coronavirus-like agent from horses suffering from acute equine diarrhoea syndrome. *Vet. Rec.* 113, 262–263
- Jacobs-Geels H. E. L., Dha M. R., Horzinek M. C. (1982) Antibody, Immune complexes and complement activity fluctuations in kittens with experimentally induced feline infectious peritonitis. *Vet. Res.* 43, 666
- International Committee on Taxonomy of viruses (2019)
- Käppeler O. (1983) Nachweis von Coronaviren aus Kotprobe eines Fohlens (ox) mit Durchfall. Persönliche Mitteilung, März 1983
- Kooijman L. J., James K., Mapes S. M., Theelen M. J. P., Pusterla N. (2017) Seroprevalence and risk factors for infection with equine coronavirus in healthy horses in the USA. *Vet. J.* 220, 91–94
- Mair T. S., Taylor G. R., Harbour D. A., Pearson G. R. (1990) Concurrent cryptosporidium and coronavirus infections in an Arabian foal with combined immunodeficiency syndrome. *Vet. Rec.* 10, 127–130
- Mayr A., Thein P. (1984) Aktuelle Viruskrankheiten des Pferdes. Fohlenkrankheiten und Atemwegsinfektionen. *Tierärztl. Praxis* 12, 481–488
- Merritt A. M. (1980) Pathophysiology of diarrhoea in the foal. *Proc. Ann. Conv. of the Am. Ass. Equine Pract.* 25, 197–203
- Pedersen N. C., Black J. W. (1983) Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis using avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus. *Am. J. Vet. Res.* 44, 229
- Pusterla N., Vin R., Leutenegger C., Mittel L. D., Divers T. J. (2016) Equine Coronavirus: An emerging enteric virus of adult horses. *Equine Vet. Educ.* 28, 216–233
- Pusterla N., James K., Mapes S., Bain F. (2019) Frequency of molecular detection of equine coronavirus in faeces and nasal secretions in 277 horses with acute onset of fever. *Vet. Rec.* 184, 385–390
- Sato K., Inaba Y., Mivra Y., Tokuhisa S., Akashi H., Shinizak T., Matsumoto M. (1981) Neutralizing antibody to calf diarrhoea Coronavirus in various animal species in Japan. *Microb. Immunol.* 25, 623–625
- Siddell S. G., Anderson R., Cavanagh D., Fujiwara K., Klenk H. D., Macnaughton M. R., Pensart M., Stoldman S. A., Sturman L., van der Zeust B. A. M. (1983) Coronaviridae. *Intervirology* 20, 181
- Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (2020) GMBI, April 2012, 15–20.6. Änderung, 14.4.2020, GMBI Nr. 14
- Thein P. (1983) Zur Muttertierschutzimpfung beim Pferd. *Tierärztl. Umsch.* 38, 783–790
- Thein P. (2003) Wie impft man Fohlen richtig? *Tierärztl. Praxis* 31, 231–236
- Thein P., Ebich G., Schulze Hockenbeck W. (1983) Zur Ätiologie von Fohlenerkrankungen. *Tierärztl. Umsch.* 4, 239–250
- Thein P., Röhm A. (2016) Bestandsimpfungen beim Pferd: 44 Jahre Impfungen im Haupt- und Landgestüt Marbach a. d. Lauter (1972–2015) – Infektionsmedizinische Aspekte. *Pferdeheilkunde* 3, 200–212; DOI 10.21836/PEM20160302
- Ward A. C. S., Evermann J. F., Reed S. M. (1983) Presence of coronavirus in diarrheic foals. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 78, 863–864
- Whitaker H. K., Alderson C. (1980) The use of negative contrast electron microscopy (NCEM) for diagnosis of viral infections in animals. *Proc. Ann. Meet. Am. Ass. Vet. Lab. Diagn.*, 23, 321–349
- Wilson W. D. (2001) Equine herpes 1 myeloencephalopathy. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 13, 53–72
- Zhao S., Smits C., Schuuman N., Barnum S., Pusterla N., van Kuppeveld F., Bosch B. J., van Maanen K., Egberink H. (2019) Development and validation of S1 protein-based ELISA for the specific detection of antibodies against equine coronavirus. *Viruses* 11, 1109–1112