

Grundimmunisierung gegen Equine Influenza bei Fohlen: wann, wie und womit? – Übersicht über den aktuellen wissenschaftlichen Stand

Alexandra Allkofer¹ und Monica Venner²

¹ Pferdeklinik Bieberstein Altano GmbH, Thierstein 5, 93413 Cham

² Pferdeklinik Destedt GmbH, Trift 4, 38162 Destedt

Zusammenfassung: Das Equine Influenza Virus (EIV) ist hochgradig ansteckend und verursacht fast weltweit Ausbrüche von Atemwegserkrankungen bei Pferden. Besonders gefährdet für eine Infektion mit EIV sind vor allem „naive“ Pferde, die bisher noch keinen Kontakt zu EIV hatten oder die keine oder nur eine unvollständige Grundimmunisierung erhalten haben. Diese Literaturübersicht soll unter anderem einen Überblick über die bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnisse zur Immunantwort von Fohlen auf eine Impfung geben, die sich aufgrund von zahlreichen Einflussfaktoren von der unterscheidet, die erwachsene Pferde zeigen. Es wird auf die Inhaltsstoffe des Kolostrums (Antikörper, Zytokine und andere maternale Zellen) und deren Einfluss bei der Immunantwort von Fohlen eingegangen. Auch die Fragen in welchem Alter ein Fohlen die erste Impfung der Grundimmunisierung gegen EIV bekommen sollte, sowie welches Impfschema dabei zu empfehlen ist, werden durch die Zusammenfassung der Ergebnisse zahlreicher wissenschaftlicher Studien diskutiert. Dieser Übersichtsartikel soll es den Tierärzten und Tierärztinnen erleichtern, ihre Kunden bzgl. Zeitpunkt und Impfschema für die Grundimmunisierung gegen das Equine Influenzavirus bei Fohlen anhand der individuellen Situation (Impfstatus der Stute vor der Geburt, Alter des Fohlens bei der Erstimpfung, Infektionsdruck, Verfügbarkeit der Impfstoffe und Praktikabilität) auf wissenschaftlicher Basis zu beraten. Aufgrund neuer Erkenntnisse in Bezug auf die Grundimmunisierung von Fohlen gegen Influenza ist zusammenfassend zu sagen, dass das Verkürzen der Impfintervalle zu einer geringeren humoralen Immunantwort gegen EI führt, dass das Wechseln der Impfstoff-Typen zu einer höheren humoralen Immunantwort gegen EI führt und eine Simultan-Impfung gegen Influenza, Herpes und Tetanus sich nicht nachteilig auf die humorale Immunantwort gegen EI auswirkt.

Schlüsselwörter: Grundimmunisierung, Impfung, Antikörper, Equine Influenza, Equines Influenzavirus, Fohlen, Pferd, Übersicht

Primary vaccination against equine influenza in foals: when, how and with what? – Overview of the current scientific status

Equine influenza virus (EIV) is highly contagious and causes outbreaks of respiratory disease in horses almost worldwide. Particularly at risk for infection with EIV are "naive" horses that have had no previous contact with EIV or that have received no or only incomplete primary vaccination. This article is intended, among other things, to give an overview of the scientific findings to date on the immune response of foals to vaccination, which differs from that shown by adult horses due to numerous influencing factors. It will discuss the components of the colostrum (antibodies, cytokines and other maternal cells) and their influence on the immune response of foals. The questions at which age a foal should receive the first vaccination of the primary vaccination against EIV, as well as which vaccination scheme is recommended, are also discussed by summarising the results of numerous scientific studies. This review article is intended to help veterinarians advise their clients on the timing and schedule of primary vaccination against equine influenza in foals based on the individual situation (mare's prepartum vaccination status, foal's age at first vaccination, infection pressure, vaccine availability and practicality) on a scientific basis. Based on new study results regarding the primary vaccination of foals against influenza, it can be summarised that shortening the vaccination intervals leads to a lower humoral immune response against EI, that switching vaccine types leads to a higher humoral immune response against EI and that simultaneous vaccination against influenza, herpes and tetanus does not have a detrimental effect on the humoral immune response against EI.

Keywords: primary vaccination, vaccination, antibodies, equine influenza, equine influenza virus, foal, horse, review

Zitation: Allkofer A, Venner M (2023) Grundimmunisierung gegen Equine Influenza bei Fohlen: wann, wie und womit? – Übersicht über den aktuellen wissenschaftlichen Stand. *Pferdehkl Equine Med* 40, 18–26; DOI 10.21836/PEM20240103

Korrespondenz: Monica Venner, Pferdeklinik Destedt GmbH, Trift 4, 38162 Destedt; mvenner@gmx.de

Eingereicht: 23. Juli 2023 | **Angenommen:** 23. September 2023

Einleitung

Das Equine Influenza Virus (EIV) ist hochgradig ansteckend und verursacht fast weltweit Ausbrüche von Atemwegserkrankungen bei Pferden. Der Equine Influenza-Subtyp H3N8 teilt sich in zwei Gruppen auf: Florida Clade 1 (FC 1) und Florida Clade 2 (FC 2). Über die letzten zwei Jahrzehnte wurde in

Europa fast ausschließlich FC 2 nachgewiesen, was sich mit zahlreichen Influenza-Ausbrüchen in Europa im Jahr 2019 änderte, als erstmals seit vielen Jahren wieder eine Zirkulation von FC 1 EIV festgestellt wurde.

Besonders gefährdet für eine Infektion mit EIV sind vor allem „naive“ Pferde, die bisher noch keinen Kontakt zu EIV hatten

oder die keine oder nur eine unvollständige Grundimmunisierung erhalten haben.

Das Pferdeinfluenzavirus ist sehr kontagiös und kann aufgrund der schnellen Ausbreitung der Infektion in Pferdepopulationen zu großen wirtschaftlichen Verlusten führen [1–3]. Obwohl die Erkrankung, die durch Symptome wie Fieber, Nasenausfluss, Apathie und trockenen Husten gekennzeichnet ist [4], meist selbstlimitierend ist, kann die Verbringung von infizierten Pferden in empfängliche Populationen zu bedeutenden Ausbrüchen führen. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis fünf Tage und kann, besonders bei geimpften Pferden, auch subklinisch ablaufen.

Positiv ist, dass die Impfung gegen die Equine Influenza (EI) nach wie vor eine der effektivsten Methoden zur Kontrolle der Krankheit ist [5, 6] und dass sie die Zahl der Neuinfektionen, die klinischen Symptome sowie die Virusausscheidung signifikant reduziert [1, 6]. Es besteht nach erfolgter Impfung eine positive Korrelation zwischen SRH (Single Radial Haemolysis) Antikörper-Titern und dem Schutz vor EI (85 mm² = Schwellenwert für klinischen Schutz und 154 mm² = Schwellenwert für virologischen Schutz) [7]. Die SRH Antikörperkonzentrationen sollten laut einer Studie von Thein et al. aber nicht als absolutes bzw. alleiniges Maß hinsichtlich des Immunschutzes des individuellen Pferdes angesehen werden, da die Laborergebnisse von vielen technischen und immunologischen Faktoren abhängig sind und die zelluläre Immunität bzw. das immunologische Gedächtnis (z.B. hervorgerufen durch eine Infektion mit EIV) durch die gängigen Labortests (HAH- und SRH-Test) nicht erfasst werden [8]. Der SRH Test ist allerdings derzeit das von der ehemals OIE (nun WOAH) empfohlene Testverfahren zur Bestimmung der Anti-Influenzazititer [9, 10]. Die Kinetik der humoralen Immunantwort auf eine Influenzaimpfung wurde auf Basis des SRH Test in diversen Studien dargestellt [11–13].

Laut den Herstellerangaben von Influenza-Impfstoffen besteht die Grundimmunisierung aus zwei Impfungen (V1 und V2), die mit einem Abstand von vier bis sechs Wochen geimpft werden sollen [6], gefolgt von einer dritten Impfung (V3), die fünf bis sechs Monate nach der zweiten Impfung V2 appliziert wird (Übersicht über verschiedene Herstellerangaben siehe Tabelle 1). Anschließend sollten halbjährliche (oder jährliche) Booster-Impfungen durchgeführt werden, je nach aktuellem Infektionsrisiko [14, 15].

Eine Impfpflicht gegen EI wird auch von vielen Behörden im Pferdesport, sowie für Importe von Pferden, vorgeschrieben [16]. Die nationalen und internationalen Pferdesportverbände (z.B. FN, FEI, International Federation of Horseracing Authorities, Deutscher Galopp e.V.) haben alle eine eigene Regelung zur Impfung von Pferden gegen EIV und auch die Ständige Impfkommision (StlKo Vet) formuliert und aktualisiert regelmäßig diesbezüglich Empfehlungen (siehe Tabelle 2).

Diese Literaturübersicht soll einen Überblick über die bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnisse zur Immunantwort von Fohlen und zur Grundimmunisierung gegen das Equine Influenzavirus bei Fohlen geben. Ein weiteres Ziel war es, die aktuellsten Ergebnisse von wissenschaftlichen Studien zusammenzufassen und es somit Tierärzten und Tierärztinnen zu erleichtern, ihre Kunden bzgl. Zeitpunkt der Erstimpfung (V1), sowie bzgl. des Impfschemas für die Grundimmunisierung gegen das Equine Influenzavirus auf wissenschaftlicher Basis zu beraten.

Wissenswertes zur Immunantwort bei Fohlen

Die Entwicklung der Immunität vom Zeitpunkt der Geburt bis zum Erwachsenenalter des Pferdes ist komplex und ist nach wie vor nicht vollständig erforscht bzw. verstanden. Die Im-

Tab. 1 Alter der Fohlen bei der Grundimmunisierung: Herstellerangaben verschiedener Influenzaimpfstoffe für Pferde. | *Age of the foals at primary vaccination: Manufacturers' instructions of different influenza vaccines for horses.*

Influenza Impfung	Equilis Prequenza®	Equip F®	ProteqFlu®	Duvaxyn IE Plus®
V 1	mit 6 Monaten	mit 5 Monaten	mit 5–6 Monaten	mit 5 Monaten
V 2	4 Wochen nach V1	6 Wochen nach V1	4–6 Wochen nach V1	4–6 Wochen nach V1
V 3/1. Booster Impfung	5 Monate nach V2	5 Monate nach V2	5 Monate nach V2	6 Monate nach V2

Tab. 2 Impfpfehlungen gegen Pferdeinfluenza verschiedener Pferdesportverbände. | *Vaccination recommendations against equine influenza from various equestrian associations.*

Influenza Impfung	StlKo Vet (D)	FN (D) (Stand 2022)	Deutscher Galopp e.V. (Stand 2022)	FEI (International) (Stand 2022)
V 1	mit 6 Monaten*			
V 2	28–42 Tage nach V1	28–70 Tage nach V1**	21–92 Tage nach V1***	21–92 Tage nach V1***
V 3/1. Booster Impfung	5–6 Monate nach V2	max. 6 Monate + 21 Tage nach V2***	150–215 Tage nach V2	max. 6 Monate + 21 Tage nach V2***
Weitere Booster Impfungen	alle 6 Monate	max. 6 Monate + 21 Tage nach der letzten Booster Impfung***	max. 9 Monate (275 Tage)	max. 6 Monate + 21 Tage nach der letzten Booster Impfung***

* Fohlen ungeimpfter Mutterstuten oder mit fehlender/unzureichender Kolostrumaufnahme à V1 bereits mit 4 Monaten
 ** Teilnahme am Wettkampf erlaubt, wenn V2 vor mindestens 14 Tagen oder mehr vor der Ankunft am Turnierplatz erfolgt ist
 *** Teilnahme am Wettkampf erlaubt, wenn Impfung vor mindestens 7 Tagen oder mehr vor der Ankunft am Turnierplatz erfolgt ist

munantwort von neonaten und jungen Fohlen unterscheidet sich aufgrund von zahlreichen Einflussfaktoren deutlich von der Immunantwort der erwachsenen Pferde. Die Fohlen zeigen z.B. eine verminderte Antikörper-Antwort [17–19] und T-Zellen-Antwort [20], andere Zytokin-Profile auf die meisten Pathogene, usw. [20–23]. Die angeborene (natürliche, unspezifische) Immunität scheint bereits von Geburt an voll funktionsfähig zu sein, wohingegen die Entstehung der adaptiven (erworbenen, spezifischen) Immunität verzögert abläuft.

Es treten erhebliche Probleme dabei auf junge Fohlen vor infektiösen Krankheiten zu schützen, da sie schlecht auf die für erwachsene Pferde entwickelten, verfügbaren Impfstoffe reagieren. Dies zeigt sich durch eine verzögerte oder schwache adaptive Immunantwort nach der Impfung gegen verschiedene Pathogene [24–27].

Direkt nach der Geburt sind Fohlen also auf den passiven Transfer von Immunglobulinen (IGs) über die Aufnahme von Kolostrum angewiesen, da eine Übertragung in utero auf den Fötus über die Plazenta, wie bei vielen anderen Spezies, nicht möglich ist. Eine schnellstmögliche Aufnahme des Kolostrums ist wichtig, da das Kolostrum zum Zeitpunkt des Abfohlens durchschnittlich 70g/L IgG enthält. Diese Konzentrationen sinken jedoch bereits nach zwei bis drei Stunden deutlich und fallen auf Konzentrationen unter 5g/L nach 24 Stunden [28]. Es ist jedoch nicht nur wichtig, dass neugeborene Fohlen schnellstmöglich eine ausreichende Menge Kolostrum aufnehmen, sondern auch dessen Qualität („sehr gute Qualität“ → IgG-Konzentration > 80g/L, „gute Qualität“ → IgG-Konzentration zwischen 50 und 80g/L, „mittelmäßige Qualität“ → IgG-Konzentration zwischen 28 und 50g/L, „schlechte Qualität“ → IgG-Konzentration < 28g/L) spielt eine entscheidende Rolle [29]. Es gibt eine aktuelle Studie dazu, wie die Qualität von Kolostrum mittels optischem oder digitalem Refraktometer schnell, einfach und kostengünstig beurteilt werden kann [30].

Ein Fohlen, das in ausreichender Menge Kolostrum von guter Qualität getrunken hat, sollte Serum-IgG-Konzentrationen von > 8g/L aufweisen [31].

Wenn das Fohlen keine ausreichende Menge an kolostralem IgG aufnimmt bzw. absorbiert, kommt es zu einem vollständigen „failure of passive transfer“ (FPT, Serum-IgG-Konzentration < 4g/L) oder teilweisem „failure of passive transfer“ (PFPT, Serum-IgG-Konzentration zwischen 4 und 8g/L) [31, 32]. Die passive Immunität ist essenziell, um das Neugeborene vom Zeitpunkt der Geburt bis zur Entwicklung der „eigenen“ Immunabwehr vor Pathogenen der Umwelt zu schützen. Fohlen mit „FPT“ sind sehr anfällig für Infektionskrankheiten, haben ein erhöhtes Risiko eine Sepsis zu entwickeln und sind dementsprechend potenziell lebensbedrohlichen Folgen ausgesetzt [33, 34]. Die Messung von Gesamtprotein im Blut von zwölf Stunden alten, gesunden Fohlen mittels Refraktometer kann bei der Bewertung von „FPT“ helfen, da sie eine hohe Sensitivität aufweist und zudem kostengünstig, schnell und einfach durchzuführen ist [35, 36].

Mit dem Kolostrum werden aber auch noch andere maternale Immunkomponenten wie Immunzellen und Zytokine auf das Neugeborene übertragen. Diese spielen wahrscheinlich ebenfalls eine Rolle in der neonatalen Entwicklung des Immunsystems und beim Schutz gegen Pathogene [28].

Inhaltsstoffe des Kolostrums – Antikörper, Zytokine und andere maternale Zellen

IgG ist in großer Menge im equinen Kolostrum enthalten (bis zu 70g/L). Man unterscheidet 7 verschiedene IgG-Isotypen (IgG1–IgG7) mit unterschiedlichen immunologischen Funktionen [37, 38]. Auch IgA und IgE sind Bestandteile des Kolostrums [17]. Die Impfung von trächtigen Stuten gegen verschiedene Pathogene, u.a. Influenza und Tetanus, erhöht die Übertragung von antigen-spezifischen IgG's über das Kolostrum auf Fohlen [26].

Zytokine sind potente Modulatoren der Immunantwort. Vor der Aufnahme von Kolostrum enthält das Serum von gesunden neonatalen Fohlen keine nachweisbaren Mengen der Zytokine Interleukin-6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor-α (TNF-α), jedoch sind sie im Kolostrum und im Fohlenserum nach dem Säugen messbar [39, 40]. Ungeachtet dessen wurde IL-10 weder im Serum noch im Kolostrum der Stuten zum Zeitpunkt des Abfohlens nachgewiesen [40]. Dies ist hinweisend darauf, dass der Transfer von Zytokinen auf das Fohlen über das Kolostrum selektiv ist und eine Entzündungsreaktion auslöst, da IL-6 und TNF-α beides Entzündungsmediatoren sind. Es wird angenommen, dass das die allgemeine „Wachsamkeit“ des Immunsystems direkt nach der Geburt steigern soll. Das Verständnis für die Rolle von maternalen, passiv übertragenen Zytokinen bei der Entwicklung des neonatalen Immunsystems ist aktuell noch sehr unvollständig.

Equines Kolostrum enthält zudem viele CD4+ Lymphozyten (= T-Helferzellen) und CD8+ Lymphozyten (= zytotoxische T-Zellen), sowie einige B-Zellen. Die Unterschiede der Menge bzw. des Vorkommens von Immunzellen im peripheren Blut der Stuten und im Kolostrum weisen darauf hin, dass zytotoxische T-Zellen, Interferon-γ (IFN-γ) und IL-17 produzierende T-Helferzellen in einem selektiven Vorgang auf das Kolostrum übertragen werden [41]. Diese Erkenntnisse rechtfertigen weitere Untersuchungen bzgl. der potentiellen Rolle von maternalen T-Zellen bei der „Bereitstellung“ von passiver zellulärer Immunität und des Einflusses auf die Aktivierung, Modulation und Entwicklung des Immunsystems von neonaten Fohlen.

In welchem Alter sollte ein Fohlen die erste Impfung der Grundimmunisierung gegen EIV bekommen?

Für neugeborene Fohlen stellt das Kolostrum und damit verbunden die Aufnahme von maternalen Antikörpern (maternally derived antibodies = MDA) die erste und initial einzige „Immunabwehr“ dar [5]. Dabei ist entscheidend, dass die Stute selbst eine ausreichende Immunisierung durch Impfungen

Tab. 3	Impfung trächtiger Stuten.	Vaccination of pregnant mares.
	Impfung trächtiger Stuten im 4. bis 5. und 8. Monat	EHV-1 (Lebendvakzine)
	oder im 5. und 7. sowie 9. Monat der Trächtigkeit (vorzugsweise sollte für die Wiederholungsimpfungen innerhalb einer Trächtigkeit der gleiche Impfstoff verwendet werden)	EHV-1 (inaktivierte Vakzine)
	im 4. bis 5. und 10. bis 11. Monat der Trächtigkeit	EIV

vor und während der Trächtigkeit erhalten hat (siehe dazu die Impfpfehlungen für trüchtige Stuten der Ständigen Impfkommission Veterinärmedizin (StIKo Vet), Tabelle 3).

Viral ausgelöste Pneumonien bei Fohlen treten am häufigsten im Alter von zwei bis drei Monaten auf. Dies liegt zum einen daran, dass zu diesem Zeitpunkt die maternalen Antikörper (MDA) abnehmen, zum anderen an der noch unzureichenden eigenen Immunantwort der Fohlen bis zum Alter von vier Monaten. Des Weiteren wird ein negativer Einfluss von Umwelt- und Haltungsfaktoren auf die Effektivität der respiratorischen Immunabwehr vermutet [42]. Beispielsweise kann eine Infektion mit EIV bei naiven Neugeborenen (ohne maternale Antikörper) zu einer fatalen und tödlich verlaufenden Pneumonie führen, wie nach dem erstmaligen Influenza Ausbruch in Australien 2007 berichtet wurde [43].

Auf die Frage welcher Zeitpunkt für die Grundimmunisierung von Fohlen gegen EIV optimal ist gibt es keine pauschal gültige Antwort, da dieser von zahlreichen Faktoren wie maternalen Antikörpern, aktuellem Infektionsdruck, verfügbaren Impfstoffen usw. abhängig ist. Grundsätzlich wird bei Fohlen aus geimpften Mutterstuten von verschiedenen Pferdesportverbänden sowie von den Impfstoffherstellern die Impfung V1 meist im Alter von (fünf bis) sechs Monaten empfohlen (siehe Tabelle 1 und 2).

Bei Fohlen, deren Mutterstuten in den letzten zwei Monaten der Trächtigkeit Booster-Impfungen erhalten haben, können im Serum die über das Kolostrum aufgenommenen maternalen Antikörper (IgG_a und IgG_b Sub-Isotypen) nachgewiesen werden [26]. Die Konzentration dieser spezifischen maternalen Antikörper sinken (ähnlich wie nach einer Impfung) schnell ab, sind aber bis zu einem Alter von ca. sechs Monaten nachweisbar. Die Immunantwort von IgG_a und IgG_b auf die ersten beiden Impfungen der Grundimmunisierung von sechs Monate alten Fohlen war ähnlich zu der von erstmals geimpften Jährlingen, aber die Höhe der Antikörper-Titer war etwas niedriger [26]. Schaut man sich im Gegensatz dazu den Titerverlauf von Fohlen an, die ihre Erstimpfung mit drei Monaten erhalten haben, zeigt sich, dass kein deutlicher Anstieg der IgG Sub-Isotypen auf V1 und V2 stattfindet. Diese zum Zeitpunkt V1 drei Monate alten Fohlen benötigen eine bis drei zusätzliche Booster-Impfungen, um auf ähnliche Titer wie die mit nur zwei Dosen geimpften Jährlinge zu kommen. In der eben in Kurzform beschriebenen Studie zeigte sich beim Fohlen ein hemmender Effekt von maternalen Antikörpern (MDA) auf die humorale Antwort auf inaktivierte Influenza-Antigene [26]. Passiv aufgenommene maternale Antikörper haben also das Potential, die Immunantwort von Fohlen auf inaktivierte Impfstoffe zu beeinflussen [44]. Auch einige ältere Studien stellten die Theorie auf, dass Fohlen < 6 Monaten keine ausreichende serologische Immunantwort auf inaktivierte Influenza Impfstoffe zeigen [24, 25, 44]. Die Ergebnisse müssen aber mit Vorsicht interpretiert werden, da nur die humorale Immunantwort gemessen und bewertet wird. Die zelluläre Immunantwort oder lokale „Abwehrmechanismen“ des Respirationstrakt werden dabei außer Acht gelassen.

Etwas anders sieht es beim Einsatz des modifizierten Kanarienvirus-impfstoffs ProteqFlu[®] (Boehringer Ingelheim) aus, der wie von der World Organisation for Animal

Health (WOAH – ehemals OIE) empfohlen, sowohl FC1 (A/eq/Ohio/03) als auch FC 2 (A/eq/Richmond/1/07) enthält. Nach der Impfung exprimieren die Viren die für den Impfschutz verantwortlichen Proteine, ohne sich selbst im Pferd zu vermehren. Bei diesem Impfstoff gibt es widersprüchliche Ansichten und Studien dazu, ob maternale Antikörper bzw. das Alter der Fohlen bei der Erstimpfung V1 langfristig einen negativen Effekt auf die Antikörpertiter haben [45–48].

In einer Studie aus 2007 zeigte sich, dass eine Impfung mit ProteqFlu[®] von Fohlen im Alter von 10 bis 20 Wochen unter Anwesenheit von maternalen Antikörpern das Immunsystem effektiv und positiv beeinflusst hat [46]. Die Impfung führte nach V1 zwar nicht zur Synthese von EI-spezifischen Antikörpern unter der Anwesenheit der MDA, aber nach erneutem Kontakt (V2) wurde ein schneller und deutlicher Anstieg von Antikörpern nachgewiesen, der typisch für eine sekundäre Impfantwort ist. Die nach der Impfung ausgelöste T-Zellen Immunantwort wurde nicht negativ durch die MDA beeinflusst.

Während des großen Influenza Ausbruchs in Australien 2007, ein Land in dem die Influenza-Impfung beim Pferd bis zu diesem Zeitpunkt untersagt war, wurden „beschleunigte Impfprotokolle“ mit kürzeren Intervallen zwischen den Impfungen sowie eine Impfung von Fohlen < 4 Monaten mit ProteqFlu[®] als Strategie zur Ausbruchseindämmung angewendet [45]. Dabei zeigte sich, dass alle Pferde in allen Altersgruppen – Fohlen (< 3 Monate), Jährlinge und adulte Rennpferde, sowie Ponys – nach der Grundimmunisierung (V1 + V2) Antikörpertiter entwickelt hatten, die ausreichend wären um vor einer Infektion zu schützen und die deutlich durch die Drittimpfung V3 geboostert wurden. Es gab auch in dieser Studie [45] keine Unterschiede in der serologischen Immunantwort nach der Grundimmunisierung mit ProteqFlu[®] zwischen Fohlen < 3 Monaten und Jährlingen. Hierbei ist allerdings zu vermerken, dass die australischen Fohlen keine maternalen Antikörper gegen EIV hatten und deshalb deren vermutete hemmende Wirkung auf die eigene Antikörper-Synthese nicht zu tragen kam.

Eine andere Studie [47], die an insgesamt 66 ungeimpften Vollblut-Absetzern durchgeführt wurde, welche mit fünf unterschiedlichen Impfstoffen (Duvaxyn IE-T Plus[®] (Fort Dodge), Equilis Resequin[®] (Intervet), Equip FT[®] (Schering Plough), Equilis Prequenza Te[®] (Intervet) und ProteqFlu-Te[®] (Merial)) grundimmunisiert wurden, zeigte andere Ergebnisse: Bei fünf der 66 Absetzer waren zum Zeitpunkt der Erstimpfung V1 SRH Antikörper messbar, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit maternalen Ursprungs (MDA) waren. „Absetzer 1“ wurde mit Duvaxyn IE-T Plus[®] geimpft, er zeigte keine humorale Immunantwort auf V1, aber reagierte gut auf V2 und V3. „Absetzer 2 und 3“ wurden mit Equilis Resequin[®] geimpft, beide sprachen weder auf V1 noch auf V2 an, zeigten aber eine gute Immunantwort auf die Drittimpfung V3. Bei „Absetzer 4“ wurde Equilis Prequenza Te[®] genutzt, auch er zeigte keine humorale Immunantwort auf V1, aber reagierte gut auf V2 und V3. Zuletzt wurde noch „Absetzer 5“ mit ProteqFlu Te[®] geimpft. Analog zu „Absetzer 2 und 3“ sprach er weder auf V1 noch auf V2 an, zeigte aber eine gute Immunantwort auf die Drittimpfung V3. Dementsprechend wurden bei „Absetzer 5“ (n = 1), der mit dem Kanarienvirus-basierten EI Impfstoff unter der Anwesenheit von MDA grundimmunisiert wurde, keine bzw.

nicht schützende SRH Antikörpertiter zwischen V2 und V3 + 3 Monate gemessen [47].

Eine etwas größer angelegte Studie aus 2016 [48] konnte dieses Ergebnis untermauern. Nur 9 von 26 Fohlen (34,6%), die bei Vorliegen von maternalen Antikörpern mit ProteqFlu-Te® (Merial) grundimmunisiert wurden, zeigten messbare SRH Antikörpertiter zwei Wochen nach V2. Des Weiteren hatten die MDA einen signifikanten Einfluss auf die drei Monate nach V3 gemessenen SRH Antikörpertiter. Dem zugrunde liegen komplexe immunologische Prozesse, die eine weitere Erforschung nötig machen.

Zusammenfassend ist aber zu sagen, dass die Beeinträchtigung der Immunantwort durch maternale Antikörper mehrfach beschrieben wurde [24, 44], aber die Auswirkung dieser Interaktion vom Impfstoff-Typ abhängig ist. Des Weiteren sind fast alle zugelassenen Impfstoffe dahingehend optimiert, eine Immunität in adulten Pferden auszulösen und berücksichtigen dabei nicht die spezifischen Eigenschaften des neonatalen Immunsystems.

Von inaktivierten und/oder Sub-Unit Impfstoffen ist bekannt, dass sie von maternalen Antikörpern neutralisiert werden [49]. Das Fehlen einer direkten Interaktion zwischen MDA und dem Kanarienvogelbakterien-basierten EI Impfstoff ProteqFlu® könnte erklären, warum ein signifikanter Anstieg erst relativ spät (V3 + 3 Monate) nachweisbar wird. Zu diesem Zeitpunkt sind die Unterschiede in der Immunogenität möglicherweise besser nachweisbar als zum Zeitpunkt des Peaks der Immunität (z.B. V2 + 2 Wochen) [48].

Die Grundimmunisierung von Fohlen unter vier Monaten scheint wie eben ausgeführt nicht den „Optimalschutz“ in Bezug auf die humorale Immunantwort zu bieten. In Einzelfällen kann eine solche Impfstrategie jedoch nötig sein, z.B. angesichts eines akuten Influenza-Ausbruchs oder eines erhöhten Kontakttrisikos mit EIV, um die Zeitspanne der Empfänglichkeit für eine EI-Infektion zu reduzieren. Auch bei Fohlen, deren Mutterstuten nicht geimpft sind, sollte die Grundimmunisierung gegen EIV nach aktuellen Empfehlungen der StIKo Vet bereits mit vier Monaten erfolgen, unabhängig von der Art des Impfstoffes.

Welches Impfschema ist bei der Grundimmunisierung gegen EIV zu empfehlen?

Es ist eine komplexe Aufgabe, die Pferdepopulation ausreichend vor EIV zu schützen. Es gibt erhebliche individuelle Unterschiede in der Immunantwort bei Fohlen nach der Impfung, weshalb vermutet wird, dass sowohl das angeborene Immunsystem, als auch das Alter der Fohlen und „Stress“ (Training, Futterwechsel, Transport usw.) einen Einfluss auf die Immunantwort haben können [50]. Insgesamt bleibt die Immunisierung eines möglichst großen Anteils der Population die effektivste Methode vor EI (und anderen Pathogenen) zu schützen.

Auch bei der Frage welches Impfschema bei der Grundimmunisierung gegen EIV zu empfehlen ist gibt es verschiedene Ansätze, unterschiedliche Vorgaben der Pferdesportverbände und der Impfstoffhersteller (siehe Tabelle 1 und 2), und na-

türlich zahlreiche Studien bzw. wissenschaftliche Erkenntnisse, die im Folgenden dargestellt werden sollen.

Nach dem „Erstschutz“ vor EI durch aufgenommene maternale Antikörper von geimpften Mutterstuten direkt nach der Geburt stellt die Grundimmunisierung, bestehend aus drei Impfungen, durch die Bildung von spezifischen Antikörpern die nächste Schutzmaßnahme gegen EIV dar. Ob ein klinischer (Werte von $\geq 85 \text{ mm}^2$) oder sogar virologischer (Werte von $\geq 154 \text{ mm}^2$) Schutz vor EI besteht hängt von den durch die Impfung ausgelösten SRH Antikörper-Titern zum Zeitpunkt der Infektion ab [7, 51, 52], sofern das zirkulierende Virus („Wildtyp“) dem im Impfstoff enthaltenen Virusstamm ähnelt. Es ist zu beachten, dass nach der Applikation einer einmaligen Impfdosis (Erstimpfung V1) noch keine ausreichenden Antikörpermengen gebildet werden, um Fohlen einen Schutz vor EI zu bieten [13, 48]. In den ersten zwei bis vier Wochen nach der zweiten Impfung (V2) steigen die EIV Antikörper-Titer (normalerweise – ausgenommen bei sog. „Impfversagern“) deutlich an und sinken dann zwischen V2 und V3 wieder [13, 53]. Innerhalb von drei Monaten nach V2 reduzieren sich die Antikörper von Konzentrationen mit virologischem Schutz auf Konzentrationen, die nur noch einen klinischen Schutz bieten [44, 51, 53–56]. Daraus ergibt sich ein Zeitfenster für eine mögliche Empfänglichkeit für EI bzw. Infektion mit EIV, die sog. „Immunity Gap“ (= SRH Antikörperkonzentrationen $< 85 \text{ mm}^2$) [53, 57].

In mehreren Studien wurde untersucht, was der optimale zeitliche Abstand zwischen den ersten drei Impfungen ist, um einen bestmöglichen Schutz zu gewährleisten. Cullinane et al. (2014) haben drei verschiedene Protokolle für die Grundimmunisierung bei 55 seronegativen, ungeimpften Pferden verschiedener Rassen in Bezug auf ihre Effektivität miteinander verglichen: Gruppe 1 erhielt die Impfungen mit dem geringsten zeitlichen Abstand, die der Pferderennsport-Verband erlaubt (V1, 3 Wochen später V2 und 5 Monate später V3), wohingegen Gruppe 3 mit dem größtmöglichen erlaubten Abstand (V1, 13 Wochen später V2 und 7 Monate später V3) geimpft wurde. Gruppe 2 wurde analog der Herstellerangaben geimpft (V1, 6 Wochen später V2 und 5 Monate später V3). Alle Pferde wurden mit Equip FT® (Zoetis) geimpft. Die Kinetik der humoralen Immunantwort auf die Impfungen war bei allen drei Gruppen gleich. Alle drei Gruppen erreichten drei Wochen nach V1 ähnlich hohe Antikörper-Titer (Gruppe 1: $85 \pm 19,7 \text{ mm}^2$, Gruppe 2: $77 \pm 19,7$ und Gruppe 3: $91 \pm 19,6 \text{ mm}^2$). Gruppe 1 erhielt zu diesem Zeitpunkt (3 Wochen nach V1) direkt die Zweitimpfung V2. Das kurze Impfindervall von drei Wochen zwischen V1 und V2 in Gruppe 1 rief keine unerwünschten Nebenwirkungen hervor. In Gruppe 2 und 3 sanken die Antikörper-Konzentrationen aufgrund des längeren Zeitraums bis zur Zweitimpfung (Gruppe 2: 6 Wochen und Gruppe 3: 13 Wochen bis V2) langsam wieder ab auf Werte, die unterhalb des Schwellenwertes für klinischen Schutz lagen (Gruppe 2: $59 \pm 15,1$ und Gruppe 3: $37 \pm 9,1 \text{ mm}^2$). Der niedrigste gemessene Wert zum Zeitpunkt von V2 bei Gruppe 3 ergibt sich aus der Verlängerung des Impfindervalls zwischen V1 und V2 auf 13 Wochen. Nach der Zweitimpfung V2 zeigten erneut alle drei Gruppen eine deutliche Immunantwort. Dabei wurden (unabhängig von der Gruppe) drei Wochen nach V2 Konzentrationen erreicht, die mit virologischem Schutz einhergehen (Gruppe 1: $189 \pm 12,8 \text{ mm}^2$, Gruppe 2: $191 \pm 5,9$ und Gruppe 3:

192 ± 6,4 mm²). Der normalen Kinetik folgend sanken die Antikörper-Titer innerhalb von vier Monaten nach V2 dann wieder auf Werte, die nur noch klinischen Schutz boten. Da in Gruppe 3 die letzte Impfung der Grundimmunisierung V3 erst nach sieben Monaten erfolgte, nicht wie bei den anderen beiden Gruppen bereits nach fünf Monaten, war die Zeitspanne einer möglichen Empfänglichkeit für EIV zwischen V2 und V3 (aufgrund des längeren Zeitraums mit niedrigen Antikörpern) signifikant länger. Alle drei Gruppen zeigten aber unabhängig vom Impfintervall eine starke Immunantwort nach V3 und erreichten erneut Konzentrationen, die oberhalb des Schwellenwertes für virologischen Schutz lagen [54].

Paillot et al. (2015) untersuchten ebenfalls die Auswirkungen eines verkürzten Impfintervalls von drei Wochen zwischen V1 und V2 bei der Grundimmunisierung mit Equip FT® (Zoetis). Zwei Wochen nach V2 (Tag 56) und zwei Wochen nach V3 (Tag 209) wurden die EIV-spezifischen Antikörper-Konzentrationen gemessen und die beiden Gruppen miteinander verglichen, um den Einfluss eines verkürzten Protokolls der Grundimmunisierung in Bezug auf die humorale Immunantwort zu evaluieren. An Tag 56 (V2 + 2 Wochen) und an Tag 209 (V3 + 2 Wochen) hatten ca. 50% bzw. 80% der geimpften Pferde aus beiden Gruppen eine SRH Antikörper-Konzentration von > 150 mm². Das verkürzte Drei-Wochen-Intervall bei der Grundimmunisierung gegen EIV wurde gut toleriert, bewirkte während des Studienzeitraums eine gute humorale Immunantwort und eröffnet eine Möglichkeit, den ISCOM-basierten Impfstoff dazu zu nutzen den Zeitraum der Grundimmunisierung gegen EIV zu verkürzen [58].

In einer neueren Studie von Dilai et al. (2021) wurde der Impfstoff Equilis Prequenza-TE® (MSD) an Vollblutfohlen eingesetzt. Es wurden ebenfalls verschiedene Zeitintervalle (ein, zwei oder drei Monate) zwischen V1 und V2 miteinander verglichen und alle 21 Fohlen erhielten V3 dann sechs Monate nach V2, unabhängig von ihrer Gruppe. Die Antikörper-Antwort wurde regelmäßig mittels SRH-Test bis ein Jahr nach V3 gemessen. Alle Fohlen serokonvertierten und überschritten den Grenzwert für klinischen Schutz zwei Wochen nach V2 bzw. einen Monat nach V3. Es gab aber dennoch signifikante Unterschiede bzgl. des „Peaks“ der Immunität (= höchste gemessene Antikörper-Konzentration) nach V2, sowie für den Zeitraum der „Immunitätslücke“ zwischen V2 und V3. Die Gruppe, die nach einem Monat V2 erhielt, zeigte die niedrigsten maximalen Antikörper-Konzentrationen (158,05 ± 6,63 mm²) nach V2 und hatte dementsprechend auch ein längeres Zeitintervall (18 Wochen) für eine mögliche Empfänglichkeit für EIV zwischen V2 und V3, verglichen mit den anderen beiden Gruppen (Maximalwerte von 174,72 ± 6,86 mm² und 16 Wochen „Immunitätslücke“ zwischen V2 und V3 bei einem zweimonatigem Intervall und Maximalwerte von 221,45 ± 14,48 mm² und 12 Wochen „Immunitätslücke“ zwischen V2 und V3 bei einem dreimonatigem Intervall). Je kürzer das Impfintervall zwischen V1 und V2 ist, desto niedriger ist also der Peak der Antikörperkonzentration. Der Vorteil eines kurzen Impfintervalls von einem Monat ist aber, dass eine frühere schützende Immunität geboten wird. Dies bedeutet jedoch auch, dass sich die „Immunitätslücke“ nach V2 im Vergleich zu Fohlen, die mit einem zwei- oder dreimonatigen Intervall geimpft wurden, entsprechend verlängert. Dieser „Nachteil“ relativiert sich aber vier Wochen nach V3

wieder, da die Gruppe mit dem kürzesten Impfintervall (von einem Monat zwischen V1 und V2) in dieser Studie die höchsten Antikörper-Konzentrationen (193,1 ± 9,8 mm²) erreichte. Die Gruppe mit dem zwei-monatigen Intervall erreichte Werte von 139,5 ± 14,7 mm² und die Gruppe mit dem drei-monatigen Intervall von 166,5 ± 11,3 mm². Danach begannen die Titer in allen Gruppen wieder zu sinken, aber blieben bis ein Jahr nach V3 bei Gruppe 1 (Ein-Monats-Intervall), für 11 Monate nach V3 bei Gruppe 2 (Zwei-Monats-Intervall) und für 10 Monate nach V3 bei Gruppe 3 (Drei-Monats-Intervall) oberhalb des Grenzwertes für klinischen Schutz (85 mm²) [59].

Trotz der eben bereits mehrfach erwähnten „Immunitätslücke“ sind Fohlen in den Lebensmonaten drei bis sechs nicht vollständig ungeschützt. In zahlreichen Studien wurde die Effektivität verschiedener Impfstoffe durch experimentelle Infektion mit EIV zu verschiedenen Zeitpunkten der Grundimmunisierung getestet und stets wurde ein guter oder zumindest partieller Schutz vor EI nachgewiesen [53, 56, 58, 60–65].

Zusammenfassend gilt also, dass ein verkürztes Intervall zwischen V1 und V2 keinerlei negative Effekte verursacht [54, 58, 66], aber der Versuch den Zeitraum der sog. „Immunity Gap“ zwischen V2 und V3 (z.B. auf nur zwei Monate) zu reduzieren eher kontraproduktiv ist und mit einer geringeren humoralen Immunantwort auf die folgenden Booster-Impfungen einhergeht [67]. Es wird angenommen, dass vorhandene (noch hohe) EIV-spezifische Antikörper-Titer zum Zeitpunkt der Impfung signifikant mit einer verringerten oder fehlenden Immunantwort auf die Booster-Impfung korrelieren [13, 67].

Studien belegen wiederum auch, dass ein höheres Infektionsrisiko für EI besteht, wenn Booster-Impfungen länger als sechs Monate her sind, unabhängig vom genutzten Impfstoff [15, 68, 69].

Neben dem Zeitpunkt der Impfungen (V1, V2 und V3) spielen auch noch andere Faktoren während der Grundimmunisierung eine Rolle, z.B. welcher Impfstoff aktuell lieferbar ist und ob die Immunisierung gegen EIV simultan mit der Impfung gegen Equines Herpesvirus (EHV) erfolgen soll. Aufgrund von immer wieder vorkommenden Lieferengpässen des von der World Organisation for Animal Health (WOAH – ehemals OIE) empfohlenen Influenza-Impfstoffs ProteqFlu®, wie zuletzt 2022/23 [14], ist es wichtig zu wissen, dass ein Wechsel des Impfstoffs im Zuge der Grundimmunisierung keinen nachteiligen Einfluss auf den Schutz vor einer EIV-Infektion sondern viel mehr einen positiven Effekt auf den SRH Antikörper-Titer hat [11].

Auch die Frage, ob eine Simultanimpfung gegen Influenza, Herpes und Tetanus einen negativen Einfluss auf die humorale Immunantwort hat, wurde in einer Studie aus 2021 untersucht. Dafür wurden 71 weibliche Warmblut Absetzer zeitgleich oder mit einem zweiwöchigen Abstand (analog der Empfehlung der StIKoVet) gegen Tetanus, EIV und EHV mit Equip FT® (Zoetis) und Equip EHV 1,4® (Zoetis) geimpft. Der Anstieg der EIV spezifischen SRH-Antikörper war in beiden Protokollen gleich und es gab keine unerwünschten Reaktionen in der simultan geimpften Gruppe. Aufgrund dieser Studienergebnisse kann die Simultan-Impfung gegen Influenza, Herpes und Tetanus bei der Grundimmunisierung von Fohlen empfohlen werden [70].

Fazit

Um Züchter und Pferdebesitzer optimal beraten zu können bzgl. der Frage „Grundimmunisierung gegen Equine Influenza bei Fohlen: wann, wie und womit?“ müssen viele Gegebenheiten bedacht werden. Es ist immer eine individuelle Entscheidung abhängig vom Impfstatus der Stute vor der Geburt, vom geplanten Alter des Fohlens bei der Erstimpfung (V1), vom aktuellen Infektionsdruck und natürlich zu guter Letzt von der Verfügbarkeit der Impfstoffe und der Praktikabilität. Es lässt sich dementsprechend kein allgemein gültiges „Standardschema“ für die Grundimmunisierung gegen EI festlegen. Allerdings lassen sich neue nützliche Erkenntnisse in Bezug auf die Grundimmunisierung von Fohlen gegen Influenza zusammenfassen:

- das Verkürzen der Impfintervalle V2 – V3 führt zu einer geringeren humoralen Immunantwort gegen EI
- das Wechseln der Impfstoff-Typen führt zu einer höheren humoralen Immunantwort gegen EI
- eine Simultan-Impfung gegen Influenza, Herpes und Tetanus wirkt sich nicht nachteilig auf die humorale Immunantwort gegen EI aus

Erklärung zum Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass zu genannten Herstellern der Impfstoffe kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- Cullinane A, Newton JR (2013) Equine influenza – A global perspective. *Vet Microbiol* 167 (1–2), 205–14, DOI 10.1016/j.vetmic.2013.03.029
- Cullinane A, Elton D, Mumford J (2010) Equine influenza - surveillance and control. *Influenza Other Respir Virus* 4, 339–344, DOI 10.1111/j.1750-2659.2010.00176.x
- Glass K, Wood JL, Mumford JA, Jesset D, Grenfell BT (2002) Modelling Equine Influenza 1: A Stochastic Model of Within-Yard Epidemics. *Epidemiol Infect* 128, 491–502, DOI 10.1017/S0950268802006829
- van Maanen C, Cullinane A (2002) Equine influenza virus infections: an update. *Vet Q* 24, 79–94, DOI 10.1080/01652176.2002.9695127
- Paillot R, Hannant D, Kydd JH, Daly JM (2006) Review: Vaccination against equine influenza: Quid novi? *Vaccine* 24, 4047–4061, DOI 10.1016/j.vaccine.2006.02.030
- Paillot R (2014) A Systematic Review of Recent Advances in Equine Influenza Vaccination. *Vaccines* 2, 797–831, DOI 10.3390/vaccines2040797
- Mumford JA, Wood J (1992) Establishing an acceptability threshold for equine influenza vaccines. *Dev Biol Stand* 79, 137–146, PMID 1286748
- Thein P, Düe M, Röhm A, Lagershausen H (2017) Equine Influenza – Vergleichende Untersuchungen zu Impfungen und serologischen Ergebnissen an 636 Pferden im Zeitraum 2013–2017. *Pferdeheilkunde* 33, 597–611, DOI 10.21836/PEM20170608
- OIE (2019) Equine influenza (infection with equine influenza virus) - Chapter 3.6.7. In: *Terrestrial Manual*
- OIE (2010) Expert Surveillance Panel on Equine Influenza Vaccine Composition - Conclusions and Recommendations. *Off Int Epizoot Bull* 2, 44–45
- Dilai M, Piro M, El Harrak M, Fougerolle S, Dehhaoui M, Dikralah A, Legrand L, Paillot R, Fassi Fihri O (2018) Impact of Mixed Equine Influenza Vaccination on Correlate of Protection in Horses. *Vaccines* 6, 71, DOI 10.3390/vaccines6040071
- Gildea S, Quinlivan M, Murphy BA, Cullinane A (2013) Humoral response and antiviral cytokine expression following vaccination of thoroughbred weanlings--a blinded comparison of commercially available vaccines. *Vaccine* 31, 5216–5222, DOI 10.1016/j.vaccine.2013.08.083
- Gildea S, Arkins S, Walsh C, Cullinane A (2011) A comparison of antibody responses to commercial equine influenza vaccines following annual booster vaccination of National Hunt Horses – a randomised blind study. *Vaccine* 29, 3917–3922, DOI 10.1016/j.vaccine.2011.03.003
- Newton JR, Rendle DI, Mountford DR, Marr CM (2023) Equine influenza vaccination catches an autumn cold! But must get over it as soon as it can. *Equine Vet J* 55, 142, DOI 10.1111/evj.13885
- Colgate VA, Newton JR (2023) Equine influenza bi-annual boosters: What does the evidence tell us? *Equine Vet J* 55, 147–152, DOI 10.1111/evj.13898
- Cullinane A, Gahan J, Walsh C, Nemoto M, Entenfeller J, Olguin-Perglione C, Garvey M, Huang Fu TQ, Venner M, Yamanka T et al. (2020) Evaluation of Current Equine Influenza Vaccination Protocols Prior to Shipment, Guided by OIE Standards. *Vaccines* 8, 107, DOI 10.3390/vaccines8010107
- Sheoran AS, Timoney JF, Holmes MA, Karzenski SS, Crisman MV (2000) Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses. *Am J Vet Res* 61, 1099–1105, DOI 10.2460/ajvr.2000.61.1099
- Holznagel DL, Hussey S, Mihalyi JE, Wilson WD, Lunn DP (2003) Onset of immunoglobulin production in foals. *Equine Vet J* 35, 620–622, DOI 10.2746/042516403775467153
- Wagner B, Flaminio JBF, Hillegas J, Leibold W, Erb HN, Antczak DF (2006) Occurrence of IgE in foals: Evidence for transfer of maternal IgE by the colostrum and late onset of endogenous IgE production in the horse. *Vet Immunol Immunopathol* 110, 269–278, DOI 10.1016/j.vetimm.2005.10.007
- Wagner B, Burton A, Ainsworth D (2010) Interferon-gamma, interleukin-4 and interleukin-10 production by T helper cells reveals intact Th1 and regulatory TR1 cell activation and a delay of the Th2 cell response in equine neonates and foals. *Vet Res* 41, 47, DOI 10.1051/vetres/2010019
- Boyd NK, Cohen ND, Lim WS, Martens RJ, Chaffin MK, Ball JM (2003) Temporal changes in cytokine expression of foals during the first month of life. *Vet Immunol Immunopathol* 92, 75–85, DOI 10.1016/S0165-2427(03)00021-7
- Breathnach CC, Sturgill-Wright T, Stiltner JL, Adams AA, Lunn DP, Horohov DW (2006) Foals are interferon gamma-deficient at birth. *Vet Immunol Immunopathol* 112, 199–209, DOI 10.1016/j.vetimm.2006.02.010
- Wagner B, Stokol T, Ainsworth DM (2010) Induction of interleukin-4 production in neonatal IgE + cells after crosslinking of maternal IgE. *Dev Comp Immunol* 34, 436–444, DOI 10.1016/j.dci.2009.12.002
- van Maanen C, Bruin G, de Boer-Luijtz E, Smolders G, de Boer GF (1992) Interference of maternal antibodies with the immune response of foals after vaccination against equine influenza. *Vet Q* 14, 13–17, DOI 10.1080/01652176.1992.9694319
- Oirschot JT, Bruin G, Boer-Luytze E, Smolders G (1991) Maternal Antibodies against Equine Influenza Virus in Foals and their Interference with Vaccination. *J Vet Med (Series B)* 38, 391–396, DOI 10.1111/j.1439-0450.1991.tb00887.x
- Wilson WD, Mihalyi JE, Hussey S, Lunn DP (2001) Passive transfer of maternal immunoglobulin isotype antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals to vaccination. *Equine Vet J* 33, 644–650, DOI 10.2746/042516401776249435
- Bresgen C, Lammer M, Wagner B, Osterrieder N, Damiani AM (2012) Serological responses and clinical outcome after vaccination of mares and foals with equine herpesvirus type 1 and

- 4 (EHV-1 and EHV-4) vaccines. *Vet Microbiol* 160, 9–16, DOI 10.1016/j.vetmic.2012.04.042
- 28 Perkins GA, Wagner B (2015) The development of equine immunity: Current knowledge on immunology in the young horse. *Equine Vet J* 47, 267–74, DOI 10.1111/evj.12387
- 29 McCue PM (2014) Colostrum Banking. In: *Equine Reproductive Procedures*. United States, North America, John Wiley & Sons Inc., 299–301
- 30 Rampacci E, Mazzola K, Beccati F, Passamonti F (2022) Diagnostic characteristics of refractometry cut-off points for the estimation of immunoglobulin G concentration in mare colostrum. *Equine Vet J* 55, 102–110, DOI 10.1111/evj.13568
- 31 Liepman RS, Dembek KA, Slovis NM, Reed SM, Toribio RE (2015) Validation of IgG cut-off values and their association with survival in neonatal foals. *Equine Vet J* 47, 526–530, DOI 10.1111/evj.12428
- 32 Ujvari S, Schwarzwald CC, Fouché N, Howard J, Schoster A (2017) Validation of a point-of-care quantitative equine IgG turbidimetric immunoassay and comparison of IgG concentrations measured with radial immunodiffusion and a point-of-care IgG ELISA. *J Vet Intern Med* 31, 1170–1177, DOI 10.1111/jvim.14770
- 33 Abraham M, Bauquier J (2021) Causes of equine perinatal mortality. *Vet J* 273, 105675, DOI 10.1016/j.tvjl.2021.105675
- 34 Davis R, Giguere S (2005) Evaluation of five commercially available assays and measurement of serum total protein concentration via refractometry for the diagnosis of failure of passive transfer of immunity in foals. *J Am Vet Med Assoc* 227, 1640–1645, DOI 10.2460/javma.2005.227.1640
- 35 de Sobral GG, Gonçalves Neto OCG, da Silva AM, Carneiro GF (2021) Evaluation of Optical Refractometer for Assessing Failure of Transfer of Passive Immunity in Foals. *J Equine Vet Sci* 106, 103758, DOI 10.1016/j.jevs.2021.103758
- 36 Elsohaby I, Riley CB, McClure JT (2019) Usefulness of digital and optical refractometers for the diagnosis of failure of transfer of passive immunity in neonatal foals. *Equine Vet J* 51, 451–457, DOI 10.1111/evj.13040
- 37 Wagner B (2006) Development of immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse. *Dev Comp Immunol* 30, 155–164, DOI 10.1016/j.dci.2005.06.008
- 38 Walther S, Rusitzka TV, Diesterbeck US, Czerny C-P (2015) Equine immunoglobulins and organization of immunoglobulin genes. *Dev Comp Immunol* 53, 303–319, DOI 10.1016/j.dci.2015.07.017
- 39 Secor EJ, Matychak MB, Felipe MJB (2012) Transfer of tumour necrosis factor- α via colostrum to foals. *Vet Rec* 170, 51, DOI 10.1136/vr.100220
- 40 Burton AB, Wagner B, Erb HN, Ainsworth DM (2009) Serum interleukin-6 (IL-6) and IL-10 concentrations in normal and septic neonatal foals. *Vet Immunol Immunopathol* 132, 122–128, DOI 10.1016/j.vetimm.2009.05.006
- 41 Perkins GA, Goodman LB, Wimer C, Freer H, Babasyan S, Wagner B (2014) Maternal T-lymphocytes in equine colostrum express a primarily inflammatory phenotype. *Vet Immunol Immunopathol* 161, 141–150, DOI 10.1016/j.vetimm.2014.07.009
- 42 Rush B, Mair T (2004) Juvenile Pneumonia. In: *Equine Respiratory Diseases*, Blackwell Science Ltd., 251–70
- 43 Patterson-Kane JC, Carrick JB, Axon JE, Wilkie I, Begg AP (2008) The pathology of bronchointerstitial pneumonia in young foals associated with the first outbreak of equine influenza in Australia. *Equine Vet J* 40, 199, DOI 10.2746/042516408X292214
- 44 Cullinane A, Weld J, Osborne M, Nelly M, McBride C, Walsh C (2001) Field studies on equine influenza vaccination regimes in thoroughbred foals and yearlings. *Vet J* 161, 174–185, DOI 10.1053/tvjl.2000.0546
- 45 Minke JM, El-Hage CM, Tazawa P, Homer D, Lemaitre L, Cozette V, Gilkerson JR, Kirkland PD (2011) Evaluation of the response to an accelerated immunisation schedule using a canarypox-vectored equine influenza vaccine, shortened interdose intervals and vaccination of young foals. *Aust Vet J* 89, 137–139, DOI 10.1111/j.1751-0813.2011.00767.x
- 46 Minke JM, Toulemonde CE, Dinic S, Cozette V, Cullinane A, Audonnet JC (2007) Effective Priming of Foals Born to Immune Dams against Influenza by a Canarypox-Vectored Recombinant Influenza H3N8 Vaccine. *J Comp Pathol* 137 (Suppl. 1), 76–80, DOI 10.1016/j.jcpa.2007.04.016
- 47 Gildea S, Arkins S, Walsh C, Cullinane A (2011) A comparison of antibody responses to commercial equine influenza vaccines following primary vaccination of Thoroughbred weanlings – A randomised blind study. *Vaccine* 29, 9214–9223, DOI 10.1016/j.vaccine.2011.09.101
- 48 Fougere S, Legrand L, Garrett D, Birand I, Foursin M, D'Ablon X, Baysat P, Newton RJ, Pronost S, Paillet R (2016) Influential factors inducing suboptimal humoral response to vector-based influenza immunisation in Thoroughbred foals. *Vaccine* 34, 3787–3795, DOI 10.1016/j.vaccine.2016.05.068
- 49 Niewiesk S (2014) Maternal antibodies: clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies. *Front Immunol* 5, 446, DOI 10.3389/fimmu.2014.00446
- 50 Slater J, Borchers K, Chambers T, Cullinane A, Duggan V, Elton D, Legrand L, Paillet R, Fortier G (2014) Report of the International Equine Influenza Roundtable Expert Meeting at Le Touquet, Normandy, February 2013. *Equine Vet J* 46, 645–650, DOI 10.1111/evj.12302
- 51 Mumford JA, Jessett D, Dunleavy U, Wood J, Hannant D, Sundquist B, Cook RF (1994) Antigenicity and immunogenicity of experimental equine influenza ISCOM vaccines. *Vaccine* 12, 857–863, DOI 10.1016/0264-410x(94)90297-6
- 52 Newton JR, Townsend HGG, Wood JLN, Sinclair R, Hannant D, Mumford JA (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 (H3N8). *Equine Vet J* 32, 65–74, DOI 10.2746/042516400777612116
- 53 Paillet R, Garrett D, Lopez-Alvarez MR, Birand I, Montesso F, Horspool L (2018) The Immunity Gap Challenge: Protection against a Recent Florida Clade 2 Equine Influenza Strain. *Vaccines* 6, 38, DOI 10.3390/vaccines6030038
- 54 Cullinane A, Gildea S, Weldon E (2014) Comparison of primary vaccination regimes for equine influenza: Working towards an evidence-based regime. *Equine Vet J* 46, 669–673, DOI 10.1111/evj.12214
- 55 Mumford JA, Wilson H, Hannant D, Jessett DM (1994) Antigenicity and Immunogenicity of Equine Influenza Vaccines Containing a Carbomer Adjuvant. *Epidemiol Infect* 112, 421, DOI 10.1017/s0950268800057848
- 56 Paillet R, Prowse L, Montesso F, Stewart B, Jordon L, Newton JR, Gilkerson JR (2013) Duration of equine influenza virus shedding and infectivity in immunised horses after experimental infection with EIV A/eq2/Richmond/1/07. *Vet Microbiol* 166, 22–34, DOI 10.1016/j.vetmic.2013.04.027
- 57 Wood JL, Mumford JA, Mair TS, Slater J (2007) Boosting in equine influenza vaccination schedules: Timing and time for a re-evaluation of requirements of national and international authorities. *Vet J* 174, 449–450, DOI 10.1016/j.tvjl.2007.06.012
- 58 Paillet R, Fraser S, Prowse-Davis L, Rash N, Montesso F, Slootmans N, Thomas A, Besognet B, Meinert T, Ons E et al. (2015) ISCOM-based equine influenza vaccine: Duration of immunity and randomised clinical trials to assess an accelerated schedule of immunisation and efficacy. *Trials Vaccinol* 4, 61–70, DOI 10.1016/j.trivac.2015.07.002

- 59 Dilai M, Fassi Fihri O, El Harrak M, Bouchiba A, Dehhaoui M, Mahir W, Dikrallah A, Legrand L, Paillot R, Piro M (2021) An Evaluation of Three Different Primary Equine Influenza Vaccination Intervals in Foads. *J Equine Vet Sci* 99, 103397, DOI 10.1016/j.jevs.2021.103397
- 60 Heldens JG, Pouwels HG, Derks CG, Van de Zande SM, Hoelijmakers MJ (2009) The first safe inactivated equine influenza vaccine formulation adjuvanted with ISCOM-Matrix that closes the immunity gap. *Vaccine* 27, 5530–5537, DOI 10.1016/j.vaccine.2009.06.085
- 61 Soboll G, Hussey SB, Minke JM, Landolt GA, Hunter JS, Jagannatha S, Lunn DP (2010) Onset and duration of immunity to equine influenza virus resulting from canarypox-vectored (ALVAC®) vaccination. *Vet Immunol Immunopathol* 135, 100–107, DOI 10.1016/j.vetimm.2009.11.007
- 62 Minke JM, Toulemonde CE, Coupier H, Guigal PM, Dinic S, Sindle T, Jessett D, Black L, Bublot M, Pardo MC (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, DOI 10.2460/ajvr.68.2.213
- 63 Paillot R, Rash NL, Garrett D, Prowse-Davis L, Montesso F, Cullinane A, Lemaitre L, Thibault J-C, Wittreck S, Dancer A (2016) How to Meet the Last OIE Expert Surveillance Panel Recommendations on Equine Influenza (EI) Vaccine Composition: A Review of the Process Required for the Recombinant Canarypox-Based EI Vaccine. *Pathogens* 5, 64, DOI 10.3390/pathogens5040064
- 64 Paillot R, Prowse L, Montesso F, Huang CM, Barnes H, Escala J (2013) Whole inactivated equine influenza vaccine: Efficacy against a representative clade 2 equine influenza virus, IFN-gamma synthesis and duration of humoral immunity. *Vet Microbiol* 162, 396, DOI 10.1016/j.vetmic.2012.10.019
- 65 Paillot R, Prowse L, Donald C, Medcalf E, Montesso F, Bryant N, Watson J, Jeggo M, Elton D, Newton R et al. (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, DOI 10.1016/j.vetimm.2010.03.019
- 66 El-Hage CM, Savage CJ, Minke JM, Ficorilli NP, Watson J, Gilkerson JR (2013) Accelerated vaccination schedule provides protective levels of antibody and complete herd immunity to equine influenza. *Equine Vet J* 45, 235–239, DOI 10.1111/j.2042-3306.2012.00605.x
- 67 Heldens JGM, van Loon AAWM, van de Zande S (2007) Is there a benefit from an early booster vaccination in the control of equine influenza? *Vet J* 174, 592–598, DOI 10.1016/j.tvjl.2007.03.004
- 68 Barquero N, Daly JM, Newton JR (2007) Risk factors for influenza infection in vaccinated racehorses: lessons from an outbreak in Newmarket, UK in 2003. *Vaccine* 25, 7520–7529, DOI 10.1016/j.vaccine.2007.08.038
- 69 Gildea S, Arkins S, Cullinane A (2011) Management and environmental factors involved in equine influenza outbreaks in Ireland 2007–2010. *Equine Vet J* 43, 608–617, DOI 10.1111/j.2042-3306.2010.00333.x
- 70 Allkofer A, Garvey M, Ryan E, Lyons R, Ryan M, Lukaseviciute G, Walsh C, Venner M, Cullinane A (2021) Primary vaccination in foals: a comparison of the serological response to equine influenza and equine herpesvirus vaccines administered concurrently or 2 weeks apart. *Arch Virol* 166, 571–579, DOI 10.1007/s00705-020-04846-6