

**Epidemiologische Untersuchung  
der Kontagiösen Equinen Metritis  
bei Islandpferdehengsten**

**von Markus Ralf Peter Grabatin**



**Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Epidemiologische Untersuchung  
der Kontagiösen Equinen Metritis  
bei Islandpferdehengsten**

von Markus Ralf Peter Grabatin  
aus München

München 2025



**Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Lehrstuhl für Pferdemedizin**

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Angelika Schoster

Mitbetreuung durch: Dr. med. vet. Tanja S. Witte



**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstattein: Univ.-Prof. Dr. Angelika Schoster

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. Beate K. Walter

Tag der Promotion: 8. Februar 2025





*Meiner Familie*



## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Literatur.....	5
2.1	Kontagiöse Equine Metritis .....	5
2.1.1	Erkrankung und Symptomatik.....	5
2.1.2	Taylorella equigenitalis.....	7
2.1.2.1	Taylorella asinigenitalis .....	9
2.1.3	Infektionswege .....	9
2.1.4	Erregernachweis.....	10
2.1.5	Epidemiologie.....	14
2.1.6	Behandlung.....	16
2.2	Untersuchte Pferderassen.....	18
2.2.1	Islandpferde.....	18
2.2.2	Haflingerpferd .....	19
2.2.3	Kaltblutpferd.....	20
3	Eigene Untersuchungen .....	23
3.1	Zielsetzung.....	23
3.2	Veröffentlichung.....	23
3.3	Ergänzende Informationen.....	33
4	Erweiterte Diskussion.....	37
5	Zusammenfassung.....	47
6	Summary.....	51
7	Literaturverzeichnis.....	55
8	Danksagung .....	63



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Tupferprobenentnahme beim Hengst aus der <i>Urethra</i> .....	10
Abbildung 2: Tupferprobenentnahme beim Hengst aus der <i>Fossa glandis</i> .....	10
Abbildung 3: Tupferprobenentnahme beim Hengst an der Umschlagstelle des Präputiums .....	11
Abbildung 4: Tupferprobenentnahme bei der Stute aus der <i>Fossa clitoridis</i> .....	11
Abbildung 5: Tupferprobenentnahme bei der Stute an dem <i>Sinus clitoridis medialis</i> .....	11
Abbildung 6: Tupferprobenentnahme bei der Stute an dem <i>Sinus clitoridis lateralis</i> .....	12
Abbildung 7: Tupferprobenentnahme bei der Stute an dem <i>Sinus clitoridis lateralis</i> .....	12
Abbildung 8: <i>Taylorella equigenitalis</i> Kultur angezüchtet auf Kochblutagar .....	13



## Verzeichnis der Abkürzungen, Akronyme und Einheiten

A.N.A.C.R.HA.I.	Associazione Nazionale Allevatori Cavallo Razza Haflinger Italia
CEM	Contagious Equine Metritis
EU	Europäische Union
HBLB	Horserace Betting Levy Board
IPVZ	Islandpferde- Reiter- und Züchterverband
LVBP	Landesverband Bayerischer Pferdezüchter
NGS	Next-Generation-Sequencing
OIE	Office International des Epizooties
PCR	Polymerase Chain Reaction
<i>T. asinigenitalis</i>	<i>Taylorella asinigenitalis</i>
<i>T. equigenitalis</i>	<i>Taylorella equigenitalis</i>
WOAH	World Organisation for Animal Health





## 1 Einleitung

Die Kontagiöse Equine Metritis (CEM, Contagious Equine Metritis) ist eine bei Pferden weit verbreitete Deckseuche, die durch das Bakterium *Taylorella equigenitalis* (*T. equigenitalis*) ausgelöst wird (Timoney 2011). Mit *T. equigenitalis* infizierte Hengste sind immer symptomlose Träger des Erregers und eine immunologische Reaktion konnte nicht nachgewiesen werden (Schlüter et al. 1991). Eine Infektion mit *T. equigenitalis* bei Stuten kann eine Entzündungsreaktion des Reproduktionstraktes in Form einer Vaginitis, Zervizitis, Endometritis und Salpingitis auslösen und vorübergehend die Fertilität reduzieren (Acland und Kenney 1983; Timoney 2011). Betroffene Stuten können Symptome wie vaginalen Ausfluss, intrauterine Flüssigkeitsansammlung oder einen verkürzten Diöstrus zeigen (Crowhurst 1977; Timoney et al. 1977; Timoney 2011). *Taylorella equigenitalis* ist auch als Abortauslöser beschrieben (Nakashiro et al. 1981). Eine Trächtigkeit von *T. equigenitalis*-positiven Stuten und die Geburt vitaler Fohlen sind aber ebenfalls möglich. Diese Fohlen können *T. equigenitalis*-positiv sein (Timoney et al. 1978c). Inapparente Verläufe sind auch bei Stuten möglich, ebenso wie das Auftreten von symptomlosen Trägerstuten nach einer Erkrankung (Timoney 2011).

Die Deckseuche wird durch *T. equigenitalis* ausgelöst, einem gram-negativen, mikroaerophilen Bakterium (Platt et al. 1977; Jacob 2022). Es besiedelt die Genitalschleimhäute und kann dort über Jahre bestehen bleiben (Timoney 1996). Unterschiede in der Pathogenität sind für verschiedene Stämme von *T. equigenitalis* bekannt (Bleumink-Pluym et al. 1996; Timoney 2011). Ein längeres Überleben von *T. equigenitalis* in der Umwelt ist derzeit nicht nachgewiesen (Timoney et al. 1978a; Jacob 2022). Der Erreger kann durch direkten Kontakt der Genitalschleimhäute übertragen werden und das Infektionsrisiko während des Geschlechtsaktes wird als hoch angesehen (Timoney 2011). Auch durch indirekten Kontakt zwischen den Genitalschleimhäuten ist eine Übertragung möglich (Timoney 2011). Mangelnde Hygiene bei der Zucht sowie eine Übertragung über kontaminierte Gegenstände wurden bereits sehr früh als Übertragungsweg beschrieben (Crowhurst 1977; Swerczek 1978a). Eine intrauterine oder peripartale Übertragung wird ebenfalls vermutet (Timoney und Powell 1982). Durch die asymptomatischen, *T. equigenitalis*-positiven Hengste und durch das Auftreten von asymptomatischen Stuten ist eine Identifizierung von *T. equigenitalis*-positiven Tieren erschwert und somit die Eindämmung des Erregers aufwendig (Timoney 2011). Dieser Zustand zusammen mit einem internationalen Austausch von Zuchttieren und Sperma begünstigen die Verbreitung des Erregers (Timoney 2011; Schulman et al. 2013). Eine Übertragung von *T. equigenitalis* über Sperma (Versand- oder Tiefkühlsperma) wird als möglich erachtet, auch wenn durch die häufige Verwendung von Antibiotika in Spermaverdünner das Risiko als geringer angesehen wird als eine Übertragung im Natursprung (Timoney 2011; Klein et al. 2012).

*Taylorella equigenitalis* wurde seit seiner Entdeckung im Jahr 1977 (Crowhurst 1977) in zahlreichen Ländern nachgewiesen (Timoney 2011). In Deutschland sind von 2018 bis 2022 zwischen 25 bis 61 Fälle (Mittelwert 41,4) pro Jahr gemeldet worden (FLI 2023). Es wird ebenfalls ein endemisches Auftreten in Teilen der deutschen Pferdepopulation vermutet (Sting et al. 2016). Aufgrund entgangener Decktaxen, der Reduktion der Fertilität und Bekämpfungsmaßnahmen haben Infektionen mit *T. equigenitalis* das Potential hohe finanzielle Einbußen zu bewirken (Timoney 2011). Diese Einbußen wurden für Ausbrüche in der Vollblutpferdezucht im Millionenbereich geschätzt (Holden 1978; Kristula und Smith 2004; Luddy und Kutzler 2010; Timoney 2011). Deshalb gelten in manchen Ländern und Zuchtverbänden strenge Regeln für den Erregernachweis, um eine Übertragung zu verhindern (Timoney 2011). So müssen in Europa und entsprechend in Deutschland Hengste vor der Frisch- und Tiefgefrier-Spermaherstellung auf CEM getestet werden. Die Delegierte Verordnung (Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter I) schreibt jedoch keine Testung von Hengsten vor, die im Natursprung decken. In der Vollblutzucht ist eine Untersuchung auf CEM verpflichtend für Pferde, die in der Zucht eingesetzt werden (HBLB 2023). Dadurch konnte in der Vollblutpferdezucht das erneute Auftreten von *T. equigenitalis* weitestgehend verhindert werden (Schulman et al. 2013). Demgegenüber wird die CEM in Zentraleuropa als endemisch in der Nicht-Vollblutpferdepopulation gesehen (Timoney 2011; Schulman et al. 2013). Die Bedeutung und die Auswirkungen der CEM auf die Pferdezucht werden unterschiedlich eingeschätzt. Neben den beschriebenen potentiell großen Gefahren für die Zucht vermuten Parlevliet et al. (1997) ein endemisches Auftreten von *T. equigenitalis* in der Pferdepopulation und das Auftreten von unterschiedlich pathogenen Stämmen.

Aufgrund vermehrter Anfragen von Islandpferdezüchtern und -besitzern hinsichtlich CEM-Erkrankungen, Übertragungswege und Therapiemethoden, erwuchs der Verdacht auf eine mögliche CEM-Problematik in der deutschen Islandpferdezucht. Aus einer derartigen Problematik mit *T. equigenitalis*-positiven Tieren würden sich weitergehende Fragen ergeben: Handelt es sich um ein zunehmendes Auftreten von *T. equigenitalis*? Welche Auswirkungen ergeben sich daraus für die Islandpferdezucht? Könnten positive Islandpferde eine potentielle Gefahr für die Zuchttiere anderer Pferderassen darstellen? Dieser Verdacht eines vermehrten Auftretens von *T. equigenitalis* war der Anlass die nachfolgende Studie durchzuführen, mit dem Ziel in einer ersten Untersuchung die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten im Vergleich zu Hengsten von Rassen, die ähnliche Zuchtmethoden anwenden, besser einschätzen zu können. Aus diesem Grund wurden für die Vergleichsgruppe Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengste ausgewählt. In der Zucht von Islandpferden, Haflingerpferden und Kaltblutpferden war der Natursprung, in den von uns untersuchten Beständen, weit verbreitet. Für Pferde, die im Natursprung decken, ist keine Testung auf CEM nach europäischem (Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter

l) oder nationalem deutschem Recht vorgeschrieben. In dieser Untersuchung wurde das Vorkommen von *T. equigenitalis* bei Islandpferde-, Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten in Süddeutschland und Österreich untersucht. Die Hypothese war, dass *T. equigenitalis* vermehrt bei Islandpferdehengsten im Vergleich zu Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten auftritt.



## 2 Literatur

### 2.1 Kontagiöse Equine Metritis

Die CEM ist eine ansteckende Deckseuche, die direkt aber auch indirekt zwischen Hengsten und Stuten übertragen wird (Timoney 2011). Hengste sind symptomlose Träger des Erregers (Schlüter et al. 1991), während bei Stuten eine Infektion zu einer Erkrankung des Reproduktionstraktes und einer vorübergehenden verringerten Fertilität führen kann (Timoney 2011). Ausgelöst wird die Erkrankung durch das Bakterium *T. equigenitalis* (Platt et al. 1977; Sugimoto et al. 1983). Der Erregernachweis erfolgt derzeit meist über Anzucht und Identifizierung einer Bakterienkultur oder über eine PCR-basierte Nachweismethode (OIE 2022). Die Erkrankung konnte weltweit in zahlreichen Ländern und Pferderassen nachgewiesen werden (Timoney 2011; OIE 2022). Eine Therapie ist möglich, jedoch mit einem relativ großen Aufwand verbunden und teilweise langwierig (Luddy und Kutzler 2010). In den nachfolgenden Kapiteln wird auf die einzelnen Punkte im Detail eingegangen.

#### 2.1.1 Erkrankung und Symptomatik

Bei Hengsten führt eine Infektion mit *T. equigenitalis* zu keiner Symptomatik (Schlüter et al. 1991; Timoney 2011). Eine Erkrankung konnte weder durch klinische Anzeichen noch durch eine immunologische Reaktion im Blutbild oder anhand von serologischen Untersuchungen gezeigt werden (Schlüter et al. 1991). Der Erreger besiedelt die Genitalschleimhäute und kann dort über Jahre bestehen bleiben (Timoney 1996). Bleumink-Pluym et al. (1996) konnte in der Zellkultur mit equinen Hautzellen zeigen, dass zwischen verschiedenen *T. equigenitalis* Stämmen Unterschiede bei der Invasions- und Replikationsfähigkeit bestehen. Ein Zusammenhang zwischen der Zellinvasion und der intrazellulären Replikation wurde nicht festgestellt. Zusammen mit dem relativ häufigen Vorkommen von *T. equigenitalis* auch bei gesunden Pferden (35% (68/191)) werden auch kommensale *T. equigenitalis* Stämme abhängig von der Virulenz vermutet (Bleumink-Pluym et al. 1994; Bleumink-Pluym et al. 1996). Dies stimmt mit Beobachtungen von Ausbrüchen überein, bei denen Unterschiede der auftretenden Symptome mit Unterschieden in den *T. equigenitalis* Stämmen begründet wurde (Timoney 2011). Eine Abweichung im Mikrobiom der Genitalschleimhaut bei einem *T. equigenitalis*-positiven Hengst wurde von Quiñones-Pérez et al. (2020) beschrieben. Ein vermehrtes Vorkommen von *Actinobacteria phylum* wurde durch Next-Generation-Sequencing (NGS) nachgewiesen und wird teilweise mit einer erhöhten Caspase-Aktivität in Verbindung gebracht. Dass prinzipiell eine Änderung der mikrobiellen Flora das Wachstum von Pathogenen begünstigen kann, wurde für den Gastrointestinaltrakt bei Pferden nachgewiesen und wird für den Genitaltrakt vermutet (Quiñones-

Pérez et al. 2020). Histopathologische Untersuchungen von Endometriumsbiopsien, durchgeführt von Ricketts et al. (1977), zeigten fokale, luminale Hyperplasien des Epithels und degenerative Veränderungen. Neben den üblichen Lokalisationen fanden Schlüter et al. (1991) *T. equigenitalis* verdächtige Kulturen bei der postmortalen, bakteriologischen Untersuchung eines infizierten Hengstes ebenfalls im Hoden, Nebenhoden und der Samenleiterampulle. Dabei handelt es sich um einen einzelnen Bericht, der allerdings bedeuten würde, dass *T. equigenitalis* zu einer aufsteigenden Infektion führen könnte (Timoney 2011).

Bei Stuten kann eine Infektion sowohl einen subklinischen Verlauf als auch eine geringgradige bis hochgradige Vaginitis, Zervizitis, Endometritis und Salpingitis zur Folge haben, führt aber für gewöhnlich zu keiner lebensbedrohlichen Erkrankung (Acland und Kenney 1983; Timoney 2011). Symptomatisch zeigt sich eine Erkrankung häufig durch unterschiedlich starken, mukopurulenten bis eitrigen, vaginalen Ausfluss und intrauterine Flüssigkeitsansammlung (Crowhurst 1977; Timoney et al. 1977; Timoney 2011). In Infektionsversuchen wurden 12 bis 48 Stunden nach der Infektion eine Symptomatik beobachtet (Platt et al. 1977; Ricketts et al. 1977). Bereits 12 Stunden nach der Infektion wurden von Ricketts et al. (1977) Entzündungsanzeichen (Vaginitis, Zervizitis) beobachtet und nach 36 Stunden zeigten die Stuten vaginalen Ausfluss. Des Weiteren wurde bei infizierten Stuten zudem ein verkürzter Diöstrus festgestellt. Timoney et al. (1977) beschreiben das Einsetzen der Rosse bereits nach drei bis 12 Tagen. In pathologischen Untersuchungen infizierter Stuten von Acland und Kenney (1983) werden mittelschwere, diffuse, akute Endometritiden beschrieben, welche bis Tag 14 zunehmen und danach wieder abnehmen. Milde Endometritiden bestanden bis zu 116 Tagen. Die Entfernung der Klitoris, die ein Reservoir für *T. equigenitalis* darstellt, hatte keinen Einfluss auf die Schwere oder Länge der Erkrankung (Acland und Kenney 1983). Auch eine milde, multifokale Salpingitis wurde in über 60% der untersuchten positiven Stuten diagnostiziert (Acland und Kenney 1983). In derselben Studie konnte in zwei Fällen (2/23) Veränderungen an den Ovarien festgestellt werden, wobei auch andere Ursachen für die Veränderungen als möglich erachtet wurden. Bei Stuten löst die CEM eine Reaktion des Immunsystems aus. Benson et al. (1978) zeigten eine serologische Immunreaktion durch *T. equigenitalis* mit Hilfe eines Agglutinations- und eines Antiglobulintests von bekannt erkrankten Stuten im Gegensatz zu Stuten mit unbekanntem Infektionsstatus. Des Weiteren konnten Croxton-Smith et al. (1978) mit Hilfe eines Komplementbindungstests ebenfalls *T. equigenitalis* nachweisen und zeigen, dass dies bis zu 6 Monate nach Infektion möglich ist.

Eine Reinfektion und erneute Erkrankung an CEM bei Stuten konnte in einem Infektionsversuch von Timoney et al. (1979b) nach 4 bis 5 und 12 bis 14 Monaten nachgewiesen werden. Dabei erkrankten alle Stuten erneut, hatten aber mildere Symptome als bei der Erstinfektion und nur wenige Stuten

wurden Trägerstuten. Eine natürliche Elimination von *T. equigenitalis* bei der Stute scheint möglich zu sein (Luddy und Kutzler 2010). Aber auch asymptomatische Träger-Stuten, in denen *T. equigenitalis* über Jahre persistiert, können entstehen (Timoney 1996). Unterschiede in der Empfänglichkeit für *T. equigenitalis* zwischen Großpferde- und Ponystuten sind nicht bekannt (Timoney 2011).

Eine Infektion mit der CEM schließt eine Trächtigkeit und die Geburt eines gesunden Fohlens nicht aus. Timoney et al. (1978c) berichten, dass bei einer Stute, die gerade ein gesundes Fohlen zur Welt gebracht hatte und vermutlich ein asymptomatischer Träger war, CEM nachgewiesen werden konnte. Vereinzelt kann *T. equigenitalis* aber wahrscheinlich auch Aborte auslösen. Nakashiro et al. (1981) identifizierten in einem Fall den Erreger als Abortursache.

### 2.1.2 *Taylorella equigenitalis*

Der auslösende Erreger der CEM ist das Bakterium *T. equigenitalis*, erstmal beschrieben von Platt et al. 1977 als ein gramnegatives, mikroaerophiles Bakterium. Dieses ist nicht motil, hat keine Flagellen und kommt häufig in kokkoider Form vor. Reaktionen mit Oxidase, Katalase und Phosphatase sind positiv (Platt et al. 1977; Sugimoto et al. 1983; Jacob 2022). Die Größe liegt in etwa bei 0,8x5-6µm, die Wandstruktur besteht aus Lipopolysacchariden sowie Proteinen und ist von einer Kapsel umgeben (Jacob 2022). Diese Proteine ähneln Porin-Proteinen von *Bordetella pertussi* und *Neisseria* Spezies (Jacob 2022).

Das Bakterium wurde von Taylor et al. (1978, zitiert nach Sugimoto et al. 1983) als *Haemophilus equigenitalis* bezeichnet und der Name in Veröffentlichungen verwendet. Unter Nutzung phänotypischer Charakterisierung, DNA Basen Komposition und DNA-DNA Hybridisierung wurde durch Sugimoto et al. (1983) eine taxonomische Neueinordnung vorgenommen. Das Bakterium wurde in *T. equigenitalis* umbenannt, die noch heute verwendete Bezeichnung. Taxonomisch eingeordnet wird das Bakterium wie folgt (Schoch et al. 2020):

Stamm: *Pseudomonadota*,

Klasse: *Betaproteobacteria*

Ordnung: *Burkholderiales*

Familie: *Alcaligenacea*

Gattung: *Taylorella*

Spezies: *Taylorella equigenitalis*

Eine vollständige Sequenzierung des Genoms erfolgte erstmals durch Hébert et al. (2011) für den Stamm MCE9 und kann in der Datenbank GenBank unter der Nummer CP002456 eingesehen werden.

*Taylorella equigenitalis* besiedelt die Genitalschleimhäute von Pferden, welche als die natürlichen Wirte und als Reservoir des Bakteriums gelten (Timoney 2011; Jacob 2022). Unterschiede der Invasions- und Replikationsfähigkeit in equinen Hautzellen konnten für unterschiedliche *T. equigenitalis*-Stämme in Zellkulturversuchen nachgewiesen werden (Bleumink-Pluym et al. 1996). Ein Bestehen des Bakteriums über Jahre konnte bei Hengsten und Stuten nachgewiesen werden (Timoney 1996). Das Bakterium wird durch gewöhnliche Desinfektionsmittel, UV Strahlung, hohe Temperaturen und reduzierte Feuchtigkeit abgetötet (Timoney 2011). Ein längeres Bestehen von *T. equigenitalis* in der Umwelt ist bis jetzt nicht beschrieben (Timoney et al. 1978a; Jacob 2022). Jedoch konnten Allombert et al. (2014) in der Zellkultur nachweisen, dass *T. equigenitalis* in Amöben (*Acanthamoeba castellanii*) 7 Tage überleben kann. Dies wurde von den Autoren als Möglichkeit für *T. equigenitalis* in Betracht gezogen in der Umwelt zu überleben.

Anhand der Sensibilität gegenüber Antibiotika erfolgt ebenfalls eine Unterscheidung in Streptomycin sensitive und resistente Varianten (Swerczek 1978a; Jacob 2022). Luddy und Kutzler (2010) schlussfolgerten zusammenfassend, dass *T. equigenitalis* gegen viele Antibiotika Sensibel ist. Bereits Platt et al. (1977) zeigten eine Sensibilität gegenüber Benzylpenicilin, Penicillin, Ampicillin, Trimethoprim, Sulphamethoxazole, Clindamycin, Streptomycin, Erythromycin Gentamicin, Tobramycin, Amikacin, Neomycin, Kanamycin, Chloramphenicol, Polymyxin B, Fusidic acid/Fusidinsäure jedoch eine Resistenz gegen Metronidazole. Eine Veränderung in der Empfindlichkeit von *T. equigenitalis* wurde, über die letzten Jahre, nicht beobachtet (Timoney 2011). Jedoch berichten Schlüter et al. (1991) bei der langen und aufwändigen Behandlung eines Hengstes mit verschiedenen Antibiotika (systemisch und lokal) von Resistenzbildungen gegen Penicillin, Streptomycin und Nitrofurantoin. Zu Beginn der Behandlung lagen keine derartigen Resistenzen vor.

Eine Infektion von Eselstuten mit *T. equigenitalis* (*Haemophilus equigenitalis*) war möglich und es zeigten sich ähnliche Symptome wie bei Pferdestuten (Timoney et al. 1985a). Alle Eselstuten zeigten eine spontane Genesung und das Bakterium konnte nicht mehr nachgewiesen werden. Bei Eseln konnte die Spezies *Taylorella asinigenitalis* (*T. asinigenitalis*), wie im nachfolgenden Kapitel näher beschrieben, nachgewiesen werden (Jang et al. 2001). Ebenfalls konnte von Timoney et al. (1985b) *T. equigenitalis* bei Infektionsversuchen auf Mäuse übertragen werden. Keine der Mäuse zeigte klinischen Anzeichen einer Erkrankung, allerdings konnte das Bakterium teilweise noch 19 Wochen nach Infektion nachgewiesen werden. Eine venerische Übertragung von positiven weiblichen auf männliche Tiere war nicht möglich (Timoney et al. 1985b). Bei Infektionsversuchen mit Rindern, Schafen und Schweinen von Timoney et al. (1978b) konnte durch das Übertragen des Erregers,



während der künstlichen Besamung, keine Symptomatik oder Erkrankung, die auf eine Infektion mit *T. equigenitalis* zurückzuführen war, beobachtet werden. Auch in anschließenden, bakteriologischen Untersuchungen war *T. equigenitalis* nicht nachweisbar. Für eine Übertragbarkeit von *T. equigenitalis* auf den Menschen gibt es keine Hinweise (Timoney 2011).

### **2.1.2.1 Taylorella asinigenitalis**

In der Gattung *Taylorella* gibt es neben der Spezies *T. equigenitalis* auch *T. asinigenitalis* (Jang et al. 2001). Dieses Bakterium wurde bei Eselhengsten nachgewiesen und zeigt ein langsames Wachstum bei der Anzucht verglichen mit *T. equigenitalis* (Katz et al. 2000; Jang et al. 2001). Bei infizierten Eselhengsten konnten keine klinischen Symptome beobachtet aber Antikörper nachgewiesen werden, die mit *T. equigenitalis* Antigenen reagierten (Katz et al. 2000; Jang et al. 2001). Anhand von phänotypischen Unterschieden und DNA-DNA Hybridisierungsunterschieden kamen Jang et al. (2001) zu dem Schluss, dass es sich bei diesen Isolaten von Eseln um eine neue Spezies handelt und benannten diese *T. asinigenitalis*. Katz et al. (2000) konnten bei Infektionsversuchen mit *T. asinigenitalis* zeigen, dass sich Pferdestuten mit dem *Kentucky-Stamm* infizieren können, nicht aber mit dem *California-Stamm*. Auch bei einem dreijährigen Pferdehengst konnte *T. asinigenitalis* bei der Routine CEM Diagnostik detektiert werden (Båverud et al. 2006).

### **2.1.3 Infektionswege**

Für das Bakterium *T. equigenitalis* ist sowohl eine direkte als auch eine indirekte Übertragung zwischen Hengsten und Stuten nachgewiesen (Timoney 2011). Die direkte Übertragung von *T. equigenitalis* während des Deckaktes ebenso wie die indirekte Übertragung aufgrund mangelnder Hygiene wurden bereits von Crowhurst (1977) beschrieben. Weitere Berichte (Swerczek 1978a) sowie die Übertragungen der Erkrankung durch das Verbringen vaginalen Ausflusses einer erkrankten Stute auf eine Maidenstute durch Ricketts et al. (1977) bestätigten diese Übertragungswege. Das Risiko einer Übertragung durch direkten Kontakt der Genitalschleimhäute und somit die Übertragung im Natursprung wird als relativ hoch eingeschätzt (Timoney 2011). Aber auch die indirekte Übertragung über kontaminierte Gegenstände wie zum Beispiel Spekula, Besamungsequipment ist möglich (Timoney 1996). Eine Infektion über kontaminiertes Versand- oder Tiefgefriersperma und Embryonen ist ebenfalls möglich und wird von Schulman et al. (2013) als ein häufiger auftretender Übertragungsweg beschrieben. Dieser sieht nicht nur eine Gefahr in der weitreichenden geographischen Verbreitung, sondern auch in der zeitlichen Verschleppung durch die Konservierung in Tiefgefriersperma. Von Timoney (1996) werden positive Animierhengste ebenfalls als potentielle Überträger gesehen, auch wenn die Bedeutung dieser Art der Übertragung nicht nachgewiesen ist.

Neben der horizontalen Übertragung wird aber auch eine vertikale Übertragung von Mutterstuten auf Fohlen vermutet. Timoney und Powell (1982) schlussfolgerten in einer retrospektiven Studie, in der 15 Hengstfohlen und zwei Stutfohlen untersucht wurden, dass auch eine intrauterine, peripartale oder postnatale Infektion, zum Beispiel während der Saugperiode, möglich ist.

#### 2.1.4 Erregernachweis

Für den Nachweis von *T. equigenitalis* wird von der Europäischen Union (EU) die Probenentnahme beim Hengst von dem Penischaft, der *Urethra* und der *Fossa Glandis*, vorgeschrieben, wenn von diesem Sperma gewonnen und weiterverarbeitet werden soll (Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter I). Die Tupferprobenentnahme beim Hengst ist in den Abbildungen 1 bis 3 dargestellt. Bei der Stute ist die Probenentnahme von den Schleimhäuten der *Fossa clitoridis* und dem *Sinus clitoridis* vorgeschrieben, wenn Eizellen oder Embryonen entnommen werden sollen (Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter I). Eine Probenentnahme von diesen Lokalisationen wird in den Abbildungen 4 bis 7 gezeigt. Von der *World Organisation for Animal Health* (WOAH; früher als *Office International des Epizooties* (OIE) bezeichnet (WOAH 2023)) werden dieselben und weitere Lokalisationen als Reservoir für *T. equigenitalis* beschrieben und für die Probenentnahme als geeignet angesehen (Hengst: *urethral fossa, urethral sinus, terminal urethra* and *penile sheath*; Stute: *clitoral fossa, clitoral sinuses* and *uterus*) (OIE 2022). Timoney und Powell (1982) weisen darauf hin, dass wegen falsch-negativen Bakterienkultur-Ergebnissen teilweise mehr als einmal Proben genommen werden mussten. Zudem konnte gezeigt werden, dass nicht immer alle Lokalisationen gleichzeitig positiv sind. Am häufigsten konnte *T. equigenitalis* in der *Fossa glandis* nachgewiesen werden (Timoney und Powell 1982).



Abbildung 1: Tupferprobenentnahme beim Hengst aus der *Urethra*



Abbildung 2: Tupferprobenentnahme beim Hengst aus der *Fossa glandis*



Abbildung 3: Tupferprobenentnahme beim Hengst an der Umschlagstelle des Präputiums

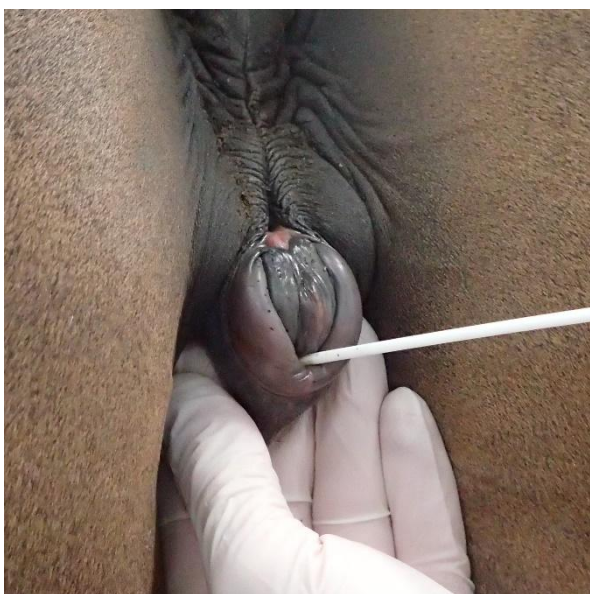


Abbildung 4: Tupferprobenentnahme bei der Stute aus der *Fossa clitoridis*

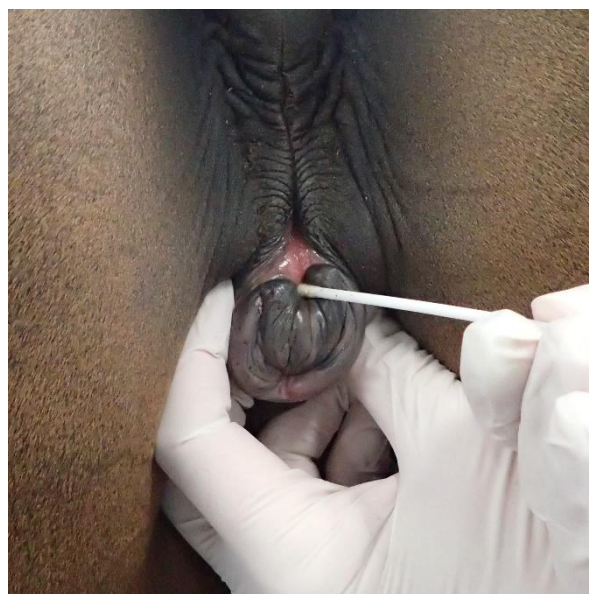


Abbildung 5: Tupferprobenentnahme bei der Stute aus dem *Sinus clitoridis medialis*



Abbildung 6: Tupferprobenentnahme beim der Stute aus dem *Sinus clitoridis lateralis*



Abbildung 7: Tupferprobenentnahme beim der Stute aus dem *Sinus clitoridis lateralis*

Der erste Nachweis des Erregers erfolgte von Platt et al. (1977) durch Anzucht des Bakteriums und der Differenzierung aufgrund seiner Eigenschaften. Auch heute ist die Isolierung und Identifikation des Bakteriums eine gängige Nachweismethode und zählt zu den von der WOAH empfohlenen Methoden (OIE 2022). Für die Anzucht wird von der OIE (2022) empfohlen bei der Probenentnahme den Tupfer in ein Amies-Kohle Medium zu geben. Durch das spezielle Amies-Kohle Medium werden Nebenprodukte des Bakterienmetabolismus gebunden, die einen hemmenden Einfluss haben (Swerczek 1978a; OIE 2022). Der Transport sollte kühl erfolgen und die Anzucht innerhalb von 48 h starten. Bei höheren Temperaturen sind weniger *T. equigenitalis* Bakterien anzüchtbar (Sahu et al. 1979, zitiert nach OIE 2022). Die Anzucht erfolgt auf Kochblutagar, wobei der Zusatz von Antibiotika bei der Anzucht helfen kann, um das Wachstum von anderen Bakterien zu hemmen (Swerczek 1978b; OIE 2022). Die WOAH beschreibt die Verwendung von Trimethoprim (1µg/ml), Clindamycin (5µg/ml) und Amphotericin B (5-15 µg/ml), wie es von Timoney et al. (1982) bereits publiziert wurde (OIE 2022). Um die Möglichkeit auszuschließen, dass durch die angewendeten Substanzen auch Stämme von *T. equigenitalis* gehemmt werden, wird empfohlen eine weitere Bakterienkultur auf Kochblutagar (5%) reich an Pepton und versetzt mit Cystein (0,83 mM), Natriumsulfit (1,59 mM) und Amphotericin B (5-15 µg/ml) anzuzüchten (OIE 2022). Die Inkubation erfolgt bei 35 bis 37°C bei einem 5 bis 10%igem CO<sub>2</sub>-Gehalt über einen Zeitraum von gewöhnlich 72 Stunden und sollte mindestens 7 Tage lang erfolgen (OIE 2022). Ward et al. (1984) beschreiben in ihrer Studie, dass 39% der Proben länger als 6 Tage benötigten bevor Kolonien sichtbar waren, dass es aber auch bis zu 14 Tagen dauern kann. Kolonien von *T. equigenitalis* sind glatt, glänzend, gelbgrau, können einen Durchmesser von 2-3mm und einen



Rand aufweisen (OIE 2022; Jacob 2022). In der Abbildung 8 sind nachfolgend angezüchtete *T. equigenitalis* Kolonien abgebildet.

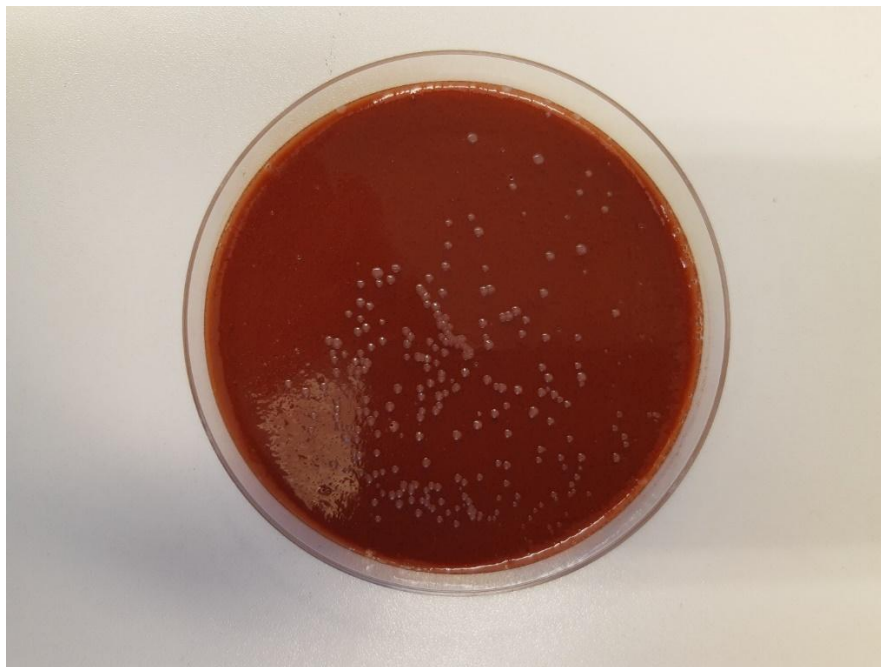


Abbildung 8: *Taylorella equigenitalis* Kultur angezüchtet auf Kochblutagar

Die Testbelegung einer Stute kann als eine weitere Nachweismethode ergänzend eingesetzt werden. Geringe Konzentrationen von *T. equigenitalis*, die in der Anzucht nicht nachweisbar sind, können so teilweise nachgewiesen werden (OIE 2022).

Die Identifizierung von *T. equigenitalis* Kolonien kann durch Serotypisierung unter Verwendung von Agglutinationstests, direkter oder indirekter Immunfluoreszenz Methoden erfolgen (OIE 2022). Breuil et al. (2010) beschreiben eine Nachweismethode mit indirekter Immunfluoreszenz für den Nachweis aus einer Bakterienkultur oder einem Tupfer. Für den positiven Nachweis aus Tupfern wird aufgrund einer geringeren Spezifität eine anschließende Testung mittels PCR oder bakterieller Anzucht empfohlen. Von der WOAHP wird der Immuno Fluorescence Antibody Test (IFAT) als nur bedingt geeignete Nachweismethode eingestuft (OIE 2022).

Als eine weitere Methode zur Identifizierung von *T. equigenitalis* Kolonien steht die Matrixunterstützte Laser Desorption Ionisation Flugzeit Massenspektrometrie (Matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)) zur Verfügung (OIE 2022). Petry et al. (2019) konnten zeigen, dass dies eine schnelle und zuverlässige Methode ist, um *T. equigenitalis* und *Taylorella asinigenitalis* zu identifizieren.

Eine weitere von der WOAH empfohlene Nachweismethode von *T. equigenitalis* ist die real-time PCR (OIE 2022). Hiermit kann *T. equigenitalis* von Tupfern direkt oder auch von Kolonien aus der Bakterienanzucht nachgewiesen werden (OIE 2022). Die folgenden Vorteile einer PCR gegenüber dem Nachweis durch Anzucht werden von der WOAH (OIE 2022) aufgelistet: geringere Beeinflussung durch kontaminierende Bakterienfloren; eine kürzere Durchführungszeit; geringere Ansprüche an den Transport der Proben, weil lediglich DNA nachgewiesen wird; Differenzierung zwischen *T. equigenitalis* und *T. asinigenitalis* (OIE 2022). Von der WOAH wird die Verwendung der real-time PCR von Wakeley et al. (2006) und die real-time PCR von Nadin-Davis et al. (2015) empfohlen (OIE 2022). Erstere PCR wurde auch in der vorliegenden Studie angewendet.

Bei der real-time PCR von Wakeley et al. (2006) erfolgt die Vervielfältigung der DNA mittels der Primer Tay377for: CCGCGTGTGCGATTGA und Tay488rev: TTTGCCGGTGCTTATTCTTCA. Der Nachweis von *T. equigenitalis* erfolgt über eine TaqMan Sonde TequiFAM: AAAGGTTTGTGTTAATACCATGGACTGCTGACGG. Folgendes Temperaturprotokoll ist für die Durchführung der PCR angegeben (Wakeley et al. 2006):

- Initiale Denaturierung bei 94°C für 2 Minuten.
- Gefolgt von 40 Zyklen bestehend aus:
  - Denaturierung bei 94°C für 5 Sekunden
  - Primer Bindung bei 60°C für 10 Sekunden und Verlängerung
  - Datenerfassung bei 72°C für 15 Sekunden.

Die PCR wurde anhand von 1090 Proben evaluiert und eine Sensitivität von 83,3% sowie eine Spezifität von 99,7% kalkuliert (Wakeley et al. 2006).

### 2.1.5 Epidemiologie

Für die Verbreitung von *T. equigenitalis*, dem auslösenden Erreger der CEM, gibt es verschiedene Einflussfaktoren. Beschriebene Faktoren sind der Trägerstatus bei Hengsten und Stuten, direkte und indirekte Übertragungswege, Unterschiede in der Pathogenität zwischen den *T. equigenitalis* Stämmen und der internationale Zuchtverkehr (Timoney 1996, 2011).

Der Trägerstatus bei Hengsten und auch bei Stuten ist ein entscheidender Faktor in der Verbreitung (Timoney 1996). Nach einer Infektion können Hengste, aber auch Stuten, zu asymptomatischen Trägertieren werden und somit unerkannt den Erreger verbreiten (Timoney 1996). Dieser Faktor gepaart mit den unterschiedlichen Sensitivitäten von *T. equigenitalis* Nachweisen macht das Verhindern einer Übertragung schwierig und aufwändig (Luddy und Kutzler 2010; Timoney 2011).

Die Übertragung des Erregers erfolgt durch direkten und indirekten Schleimhautkontakt des Genitaltraktes (Timoney 2011). Eine Übertragung im Natursprung bei direktem Kontakt der Schleimhäute ist sehr wahrscheinlich (Timoney 2011). Die Übertragung kann aber auch in der künstlichen Besamung durch kontaminierten Samen oder kontaminierte Gegenstände erfolgen (Timoney 2011). Eine indirekte Übertragung durch kontaminierte Gegenstände wie Spekula, künstliche Scheiden oder Phantome wurden in Ausbrüchen als Übertragungsursachen identifiziert (Timoney 2011). Somit ist die Gefahr einer Übertragung durch die Zucht und bei Zuchttieren immer präsent.

Beobachtungen von Ausbrüchen haben gezeigt, dass unterschiedliche Stämme von *T. equigenitalis* in dem Verdacht stehen eine unterschiedliche Pathogenität zu besitzen (Timoney 2011). Unterschiede in der Virulenz konnten von Bleumink-Pluym et al. (1996) in Zellkulturmodellen nachgewiesen werden. Somit stellt der auftretende Stamm wahrscheinlich einen wesentlichen Faktor für die epidemiologische Verbreitung dar und könnte je nach Stamm große Unterschiede zwischen den Ausbrüchen bewirken (Timoney 2011).

Der Zuchtverkehr und somit der internationale Austausch von Zuchthengsten und Zuchtstuten spielen eine bedeutende Rolle in der Verbreitung von *T. equigenitalis* (Timoney 2011). Neben der Verbringung von positiven Tieren stellt auch der Versand von gekühltem oder gefrorenem Sperma einen möglichen Übertragungsweg dar (Timoney 2011). Dadurch besteht die Möglichkeit positives Sperma eines Hengstes weltweit zu verbreiten. Anhand eines Ausbruchs der CEM 2008 in den USA wurde die Reichweite und Verschleppung dieser Erkrankung mit den heute üblichen Zuchtmethoden und Reiseaktivitäten der Zuchttiere von Timoney (2011) dargestellt. Bei der Untersuchung des Ausbruchs wurden 28 Trägartiere identifiziert. Weitere 722 Stuten und 255 Hengste, verteilt über 48 Staaten der USA, wurden als potentiell infiziert angesehen (Timoney 2011).

Neben diesen häufig beschriebenen Verbreitungsfaktoren, denen jeweils eine maßgebliche Beteiligung bei Ausbrüchen zugeordnet wurde, gibt es noch weitere Faktoren. Eine peripartale Übertragung von *T. equigenitalis* von Mutterstuten auf ihre Fohlen wird vermutet (Timoney und Powell 1982; Timoney 2011). Dabei ist nicht geklärt, ob eine Übertragung intrauterin, während der Geburt oder erst nach der Geburt stattfindet. Für eine Übertragung des Erregers durch die Umwelt konnte aber aktuell noch kein Nachweis erbracht werden (Jacob 2022).

Das Auftreten der CEM wurde erstmals in England 1977 von Crowhurst (1977) beschrieben. Nach dem Ausbruch der CEM in der Vollblutpferdepopulation von Newmarket hatte die Erkrankung einen negativen Einfluss auf die Abfohlraten und verursachte einen erheblichen finanziellen Schaden (Luddy und Kutzler 2010). Allein in dieser Zuchtsaison waren über 29 Betriebe in dieser Gegend betroffen und

23 Hengste sowie etwa 200 Stuten infiziert. Als Ursprung für diesen Ausbruch wird vermutet, dass *T. equigenitalis* durch Stuten aus Irland nach England eingeschleppt wurde (Luddy und Kutzler 2010). Andere Autoren sehen auch Hinweise anhand von retrospektiven klinischen und epidemiologischen Daten dafür, dass die CEM schon ein und zwei Jahre zuvor in Irland unbemerkt aufgetreten ist (Timoney 2011; Timoney und Powell 1982). Es wird allerdings vermutet, dass Stuten aus Frankreich ursprünglich die CEM verbreitet haben (Luddy und Kutzler 2010). Wo und wann sich *T. equigenitalis* ursprünglich entwickelt hat, konnte nicht abschließend geklärt werden.

Die CEM wurde nach ihrer ersten Beschreibung in zahlreichen weiteren Ländern nachgewiesen, wie von Matsuda und Moore (2003) zusammengefasst und dargestellt. So gab es im selben Jahr noch Nachweise aus Irland, Frankreich und Australien (Matsuda und Moore 2003). Im Februar 1978 wurden in den USA Stuten mit CEM von Hengsten angesteckt, die aus Frankreich importiert wurden (Swerczek 1978a). Im selben Jahr wurde die CEM auch in Deutschland und Belgien erkannt (Matsuda und Moore 2003). Viele Länder versuchten sich durch Vorschriften vor einer Einschleppung von *T. equigenitalis* zu schützen (Timoney 2011). *Taylorella equigenitalis* wurde mittlerweile weltweit beschrieben (Timoney 2011). So gibt es Berichte von größeren und kleineren Ausbrüchen aus mehreren Ländern Europas (Parlevliet et al. 1997; Rocha 2016; Štritof et al. 2017), den Vereinigten Staaten von Amerika (Luddy und Kutzler 2010), Japan (Anzai et al. 2012), Ägypten (Sobhy et al. 2019) oder auch Süd Korea (Jeoung et al. 2016).

In Europa wird die CEM von einigen Autoren als endemisch in der Nicht-Vollblutpferdepopulation angesehen (Timoney 2011; Schulman et al. 2013). In der Vollblutpferdezucht gibt es strenge Regeln und alle Zuchttiere müssen vor dem Deckeinsatz auf CEM getestet werden (HBLB 2023). Damit hat es die Vollblutzucht geschafft Ausbrüche von CEM effektiv zu verhindern (Schulman et al. 2013). Generell sind in der EU Tests auf *T. equigenitalis* ebenfalls für Hengste, deren Spermia für die künstliche Besamung gewonnen wird, vorgeschrieben (Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter I). Allerdings gibt es in der EU keine offiziellen Vorschriften für Hengste oder Stuten, die im Natursprung eingesetzt werden. Dies gilt entsprechend auch in Deutschland.

### **2.1.6 Behandlung**

Die grundsätzliche Behandlung von *T. equigenitalis*-positiven Tieren besteht aus der topischen Anwendung von desinfizierenden und antimikrobiellen Substanzen (Kristula und Smith 2004; Luddy und Kutzler 2010; Schulman et al. 2013). In vielen dieser Protokolle wird die lokale Behandlung durch eine systemische antibiotische Behandlung ergänzt. Eine Beprobung auf *T. equigenitalis* darf nach der europäischen Gesetzgebung frühestens 7 Tage nach systemischer Behandlung oder 21 Tage nach lokaler Behandlung durchgeführt werden (Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II;



Part 4; Chapter I). Eine Impfung gegen *T. equigenitalis* ist derzeit nicht möglich (OIE 2022). Eine natürliche Elimination von *T. equigenitalis* kann erfolgen (Luddy und Kutzler 2010). Die Behandlung von Hengsten und Stuten wird in zahlreichen Publikationen und Lehrbüchern ähnlich beschrieben und ist nachfolgend zusammengefasst (Timoney 1996; Kristula und Smith 2004; Luddy und Kutzler 2010; Schulman et al. 2013).

Bei der Behandlung von *T. equigenitalis*-positiven Hengsten muss ein gründliches Waschen und Säubern der Genitalschleimhäute erfolgen (Luddy und Kutzler 2010). Dafür wird die Verwendung von Chlorhexidin-Lösung (2-4%) empfohlen. Der Hengst muss bei dieser Behandlung vollständig ausschachten, um eine gründliche Waschung gewährleisten zu können. Nach dem Waschen sollten die Schleimhäute zuerst abgetrocknet werden und anschließend mit nitrofurazonhaltiger (0,2%), silbersulfadiazinhaltiger (1%) oder gentamicinhaltiger Salbe versorgt werden (Schulman et al. 2013). Diese Prozedur wird täglich über 5 bis 10 Tage durchgeführt. Eine systemische antibiotische Behandlung (Sulfadiazin-Trimethoprim) ist ebenfalls beschrieben und wird als hilfreich bei der Behandlung von Lokalisationen erachtet, die nicht durch die topische Therapie erreicht werden, wie die distale *Urethra* oder der *Sinus Urethralis* (Kristula und Smith 2004). Eine intraurethrale und vesiculäre Applikation eines Breitspektrumantibiotikums über 3 bis 5 Tage ist von Schlüter et al. (1991) beschrieben. Dieser empfiehlt zudem durch Bewegung des Patienten ein sofortiges Ausschwemmen durch Harnabsatz zu verhindern. Zusätzlich zu den vorgeschriebenen Tests wird eine dritte Testung nach 35 Tagen teilweise empfohlen (Kristula und Smith 2004). Der Behandlungserfolg und die -dauer können sehr unterschiedlich ausfallen. So wurde von Schlüter et al. (1991) bei der Behandlung von drei positiven Hengsten berichtet, dass zwei der Hengste nach jeweils 5-tägiger Behandlung im Abstand von 14 Tagen *T. equigenitalis*-negativ waren. Bei einem dritten Hengst waren 8 Behandlungszyklen notwendig, bis der Hengst negativ auf *T. equigenitalis* getestet wurde.

Die Behandlung *T. equigenitalis*-positiver Stuten besteht ebenfalls aus dem Waschen der Genitalschleimhäute. Die Vulva, die Klitoris einschließlich des Sinus clitoridis und das Vestibulum vaginae werden mit chlorhexidinhaltigen 4% Lösungen gewaschen und gesäubert (Luddy und Kutzler 2010; Schulman et al. 2013). Zudem kann der Uterus durch Lavagen gereinigt werden (Schulman et al. 2013). Nach dem Trocknen der Genitalschleimhäute werden diese mit nitrofurazonhaltiger (0,2%), silbersulfadiazinhaltiger (1%) oder gentamicinhaltiger Salbe abgedeckt (Schulman et al. 2013). Diese Behandlung wird täglich über 5 Tage durchgeführt (Luddy und Kutzler 2010). Wenn eine mehrfache Behandlung nicht erfolgreich war, wurde auch die chirurgische Entfernung der clitoralen Sinusse beschrieben (Timoney 1996). Allerdings hatte eine Entfernung der Klitoris keinen Einfluss auf die

Schwere oder Länge der Erkrankung (Acland und Kenney 1983). Eine derartige Behandlung findet heutzutage keine Anwendung mehr (Luddy und Kutzler 2010).

Auch eine antibiotische Behandlung von *T. equigenitalis*-positivem Sperma wurde untersucht und kann die Anzahl von koloniebildenden Einheiten signifikant reduzieren und dadurch das Risiko einer Übertragung verringern (Klein et al. 2012). Dies wurde von Klein et al. (2012) für Samenverdünner, der Amikacinsulfat (1g/L) und Penicillin G Potassium (0,63g/L) enthält, gezeigt. Keine der besamten Stuten zeigte anschließend klinische Anzeichen von CEM. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits von Timoney et al. (1979a, zitiert nach Klein et al. 2012) publiziert. Auch Olivieri et al. (2011) untersuchten, ob eine Übertragung von *T. equigenitalis* durch antibiotikahaltige Spermaverdünner verhindert werden kann. Diese konnten ebenfalls zeigen, dass durch die Beimengung von Antibiotika das Vorhandensein von *T. equigenitalis* reduziert wurde.

## **2.2 Untersuchte Pferderassen**

In dieser Arbeit wurde das Auftreten von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten und einer Vergleichsgruppe aus Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten untersucht. In den untersuchten Betrieben deckten die Hengste dieser Rassen überwiegend im Natursprung.

### **2.2.1 Islandpferde**

Die Rasse der Islandpferde hat ihren Ursprung in Island und nur Islandpferde, deren Abstammung bis nach Island nachvollziehbar ist, gelten als reinrassig (FEIF 2023). Eine internationale Datenbank aller reinrassigen Islandpferde, bezeichnet als WorldFengur, ermöglicht eine Rückverfolgung der Abstammung (IPZV e.V. 2011).

In Deutschland ist der Islandpferde- Reiter- und Züchterverband (IPVZ) als Fachverband für die Zucht der Islandpferde zuständig (IPZV e.V. 2011). In der Zuchtordnung des IPVZ wird bei der Definition des Standard-Islandpferdes und den Zuchtzielen auf den internationalen Verband International Federation of Icelandic Horse Association (FEIF) und seine Vorgaben verwiesen (IPZV e.V. 2023). In den General Rules and Regulations and Breeding Rules and Regulations (FEIF 2023) wird das Islandpferd mit einem eindeutigen Ursprung aus Island und einer dort weit zurück reichenden Reinzucht beschrieben. Die Größe wird zwischen 125 und 145cm mit einem Gewicht von 300 bis 400kg angegeben. Als dominante Fellfarben werden Kastanie, Schwarz, Lorbeer, Grau, Tobiano und zahlreiche Farbvarianten angegeben. Das Exterieur wird als rechteckig und kompakt beschrieben. Eine abfallende Kruppe, lange

und dichte Mähne sowie ein schützendes Fell sind typisch. Es wird als vielseitiges Reitpferd, mit einer langen Lebenserwartung sowie einer guten Gesundheit und Fruchtbarkeit beschrieben. Neben den Grundgangarten Schritt, Trab und Galopp beherrschen viele Islandpferde auch das Tölten (FEIF 2023). Die Zuchtziele verfolgen die Erhaltung und Verbesserung der Pferderasse (FEIF 2023). Es sollen gesunde, fertile und ausdauernde Reitpferde, die vielfältig eingesetzt werden können, gezüchtet werden. Die Farbvielfalt und die Größe sollen erhalten bleiben (FEIF 2023). Es wird empfohlen nur mit Tieren zu züchten, die einen überdurchschnittlichen Zuchtwert entsprechend einem vorgegebenen Bewertungssystem aufweisen. In einigen Fällen wird auch eine DNA-Analyse für den Nachweis der Reinrassigkeit gefordert (FEIF 2023). Ausgeschlossen sind geklonte und genmanipulierte Nachkommen (FEIF 2023).

Auch wenn andere Zuchtmethoden, wie eine künstliche Besamung, zulässig sind, wurden die in der vorliegenden Studie untersuchten Hengste überwiegend im Natursprung eingesetzt.

### **2.2.2 Haflingerpferd**

Haflingerpferde sind eine Reit- und Kutschpferderasse mit ihrem Ursprung in Südtirol (Italien) (LVBP 2022). Der Landesverband Bayerischer Pferdezüchter (LVBP) ist für das Zuchtprogramm zuständig und führt ein Filialzuchtbuch. Es werden die Grundsätze der italienischen Ursprungszuchtorganisation Associazione Nazionale Allevatori Cavallo Razza Haflinger Italia (A.N.A.C.R.HA.I.) eingehalten (LVBP 2022).

Durch den LVBP wird das Haflingerpferd als mittelgroß mit einer Größe zwischen 144-152cm, einem fuchsfarbenen Deckhaar und einem hellen Langhaar beschrieben (LVBP 2022). Es wird als edel, gutmütig, leistungsbereit, aber auch genügsam beschrieben. In der Beschreibung des Exterieurs wird der Haflinger unter anderem mit einem Rechteckformat, einem ausgeprägten Widerrist und gut bemuskelter Kruppe beschrieben (LVBP 2022). Als Zuchtziel ist die Verbesserung der Rasse vorgegeben. Der Haflinger soll ein edles, gutmütiges, leistungsbereites und genügsames Reit- und Fahrpferd für Erwachsene und Kinder sein (LVBP 2022).

Der Haflinger wird in Reinzucht gezüchtet und das Zuchtbuch ist geschlossen (LVBP 2022). Der Einsatz von künstlicher Besamung und Embryonentransfer ist unter Umständen erlaubt. Das Klonen von Tieren ist nicht zulässig (LVBP 2022).

Neben dem Haflinger ist auch der Edelbluthaflinger ein vielseitiges Kleinpferd (LVBP 2019). Das Zuchtprogramm wird ebenfalls durch den LVBP wie nachfolgend beschrieben festgelegt (LVBP 2019).

Der Edelbluthaflinger hat eine Größe von 142-152cm, ein fuchsfarbenes Deckhaar und ein helles Langhaar (LVBP 2019). Es wird ein Vollblutanteil zwischen 1,57 bis 25 % angestrebt. Im Erscheinungsbild ist es ein elegantes, großliniges und harmonisches Kleinpferd. Vom Exterieur besitzt es ein Langrechteckformat und gute Körperbemuskulung. Neben den Grundgangarten ist ein geschicktes Springen ausdrücklich erwünscht und unterstreicht die Zielsetzung eines vielseitigen Reit- und Kutschpferdes. Es handelt sich bei der Pferderasse um ein leistungsfähiges, unkompliziertes und nervenstarkes Kleinpferd mit einem ausgeglichenen Charakter (LVBP 2019). Als Zuchtziel wird die Verbesserung der Eigenschaften der Rasse angegeben und ein edles, vielseitig nutzbares, robustes und leistungsfähiges Klein- und Freizeitpferd angestrebt (LVBP 2019). Die verwendete Zuchtpopulation ist offen und es dürfen auch Haflinger Pferde oder Arabische Vollblüter in der Zucht Verwendung finden. Reproduktionstechniken wie künstliche Besamung und Embryonentransfer sind im Gegensatz zum Klonen von Tieren zugelassen (LVBP 2019).

In der durchgeführten Studie wurden Haflinger und Edelbluthaflingerhengste beprobt. Beide wurden zusammengefasst als Haflingerpferdehengste bezeichnet. Die überwiegend verwendete Zuchtmethod der beprobten Hengste war der Natursprung.

### **2.2.3 Kaltblutpferd**

Kaltblutpferde sind eine Pferderasse, die für das Fahren, Ziehen, aber auch Reiten genutzt wird (LVBP 2020). Für die Rasse des Süddeutschen Kaltblutes ist der LVBP zuständig. Dieser beschreibt im Zuchtprogramm für die Zucht der Rasse Süddeutsches Kaltblut des Landesverbands Bayerischer Pferdezüchter e.V. (LVBP 2020) das Süddeutsche Kaltblut mit einer Größe von ca. 160-167cm und einem Röhrebeinumfang von ca. 22-25cm. Bei den Fellfarben überwiegen Füchse und Braune, aber auch Rappen, Schimmel und Tiger kommen ebenfalls vor. Es wird als ein kräftiges, harmonisches Pferd beschrieben, das einen gewissen Adel ausstrahlt. Neben einer starken und guten Bemuskulung besitzt das Süddeutsche Kaltblutpferd ein korrektes und stabiles Fundament. Der Charakter ist ruhig, umgänglich, leistungsbereit und ausdauernd mit kontrollierbarem Temperament (LVBP 2020). Als Zuchtziel wird der Erhalt der Rassemerkmale und die Beibehaltung der genetischen Vielfalt angegeben, sowie eine weitere Selektion und Verbesserung der Rasse (LVBP 2020). Es soll ein mittelschweres, vielseitig einsetzbares Pferd gezüchtet werden. Ein korrektes Fundament, ausgeglichenes Temperament und gute Fruchtbarkeit werden ebenfalls als Zuchtziele angegeben. Es wird eine Reinzucht angestrebt. Das Zuchtbuch ist offen, so dass auch Hengste und Stuten anderer Rassen für die Zucht verwendet werden dürfen (LVBP 2020). Reproduktionstechniken wie künstliche Besamung und Embryonentransfer sind erlaubt. Das Klonen von Tieren ist nicht zulässig (LVBP 2020).

Wie bei den bereits beschriebenen Rassen ist die Verwendung von künstlichen Reproduktionstechniken auch bei dieser Rasse erlaubt. Die von uns untersuchten Hengste wurden jedoch überwiegend im Natursprung eingesetzt.



## 3 Eigene Untersuchungen

### 3.1 Zielsetzung

Die CEM ist eine weltweit auftretende Deckseuche mit dem Potential hohe finanzielle Verluste in der Pferdezucht zu verursachen (Timoney 2011). Durch vermehrte Besitzeranfragen entstand der Verdacht einer CEM Problematik in der deutschen Islandpferdepopulation.

Ziel dieser Studie war die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten zu untersuchen und mit der Prävalenz von Hengsten zu vergleichen, die ähnliche Zuchtmethoden verwenden wie die untersuchten Islandpferdehengste. Als Vergleichsgruppe wurden deshalb Haflinger- und Kaltbluthengste gewählt. Die Hypothese war, dass *T. equigenitalis* häufiger bei Islandpferdehengsten als bei Hengsten der Vergleichsgruppe vorkommt.

Proben wurden bei Hengsten der drei Rassen in Süddeutschland und Österreich genommen und *T. equigenitalis* durch eine qPCR nachgewiesen. Die Prävalenz von *T. equigenitalis* in den untersuchten Gruppen wurde ermittelt und statistisch ausgewertet.

### 3.2 Veröffentlichung

Die durchgeführte Studie wurde im Equine Veterinary Journal am 16. März 2024 veröffentlicht. Die Veröffentlichung ist in der Wiley online Bibliothek zugänglich und nachfolgend eingefügt (Grabatin et al. 2024):

## ***Taylorella equigenitalis* in Icelandic intact males compared with other horse breeds using natural cover**

Markus Grabatin<sup>1</sup>, Robert Fux<sup>2</sup>, Yury Zablotki<sup>1</sup>, Lutz S. Goehring<sup>3</sup>, Tanja S. Witte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Equine Clinic, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany*

<sup>2</sup>*Division of Virology, Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany*

<sup>3</sup>*MH Gluck Equine Research Center, College of Agriculture, Food and Environment, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, USA*

### **Correspondence**






Tanja S. Witte, Equine Clinic, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany. Email: [t.witte@lmu.de](mailto:t.witte@lmu.de)

### **Funding Information**

Deutsche Gesellschaft für Pferdemedizin



# Taylorella equigenitalis in Icelandic intact males compared with other horse breeds using natural cover

Markus Grabatin<sup>1</sup>  | Robert Fux<sup>2</sup>  | Yury Zablotski<sup>1</sup>  | Lutz S. Goehring<sup>3</sup>  |  
Tanja S. Witte<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Equine Clinic, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany

<sup>2</sup>Division of Virology, Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany

<sup>3</sup>MH Gluck Equine Research Center, College of Agriculture, Food and Environment, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, USA

## Correspondence

Tanja S. Witte, Equine Clinic, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany.  
Email: [t.witte@lmu.de](mailto:t.witte@lmu.de)

## Funding information

Deutsche Gesellschaft für Pferdemedizin

## Abstract

**Background:** Contagious equine metritis (CEM) is caused by *Taylorella equigenitalis*. It is a venereal disease that is detected in some breeds more than others and can cause temporary infertility with substantial costs for regular testing, sanitation and retesting. There was a perceived increase in *T. equigenitalis*-positive cases in Icelandic intact males where natural cover is common.

**Objectives:** We aimed to investigate the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic intact males and compare to draught horse and Haflinger intact males. We hypothesised that prevalence of *T. equigenitalis* is higher in Icelandic compared with draught and Haflinger intact males.

**Study design:** Cross sectional.

**Methods:** Swabs from 76 Icelandic, 35 Haflinger, and 51 draught horse intact males were collected on 38 different farms and analysed by qPCR. Animals were further stratified into active breeding and non-breeding animals and age groups (1.5–7.0 and 8.0–26.0 years). Fisher's exact tests and mixed effect logistic regression with 'farm' as random effect were used to estimate differences in odds for *T. equigenitalis*-positive test results.

**Results:** The overall prevalence of *T. equigenitalis* in included intact males was 16.7% (27/162). The odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were significantly higher in Icelandic compared with draught and Haflinger intact males (Odds ratio [OR] = 6.42, 95% confidence interval (CI) = 1.43–28.8,  $p = 0.02$ ). Odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were significantly lower in active breeding compared with non-breeding animals (OR = 0.09, 95% CI = 0.01–0.54,  $p = 0.009$ ). Age had no significant influence on test results.

**Main limitations:** Convenience sampling with regional restrictions to Southern Germany and Austria, small sample size.

**Conclusions:** Significantly higher odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were found within Icelandic over draught and Haflinger and within non-breeding animals compared with active breeding animals. Findings suggest that non-breeding animals could be a reservoir for *T. equigenitalis*. Testing for CEM should therefore be routinely

performed in Icelandic horses prior to breeding and investigations into epidemiology and reservoirs on affected farms should be initiated.

#### KEYWORDS

contagious equine metritis (CEM), epidemiology, prevalence, stallion

## 1 | INTRODUCTION

Contagious equine metritis (CEM) is a widespread equine disease with recurring outbreaks worldwide since its first description in 1977.<sup>1,2</sup> The causative agent of CEM is *Taylorella equigenitalis*, a gram negative, non-motile coccobacillus.<sup>3,4</sup> The transmission is usually venereal, but can also be iatrogenic due to poor breeding hygiene.<sup>2</sup> Foals born to infected mares are thought to become chronic carriers,<sup>5,6</sup> and fomite transmission may occur.<sup>1,5</sup> However, persistence of the organism in the environment over time has not been proven.<sup>5,6</sup> Stallions can be subclinical carriers of *T. equigenitalis* on their external genitalia,<sup>1,7</sup> while in mares, a clinical infection might cause severe inflammation of the reproductive tract, associated with short-term infertility.<sup>8</sup> Clinical signs in mares differ and range from mild to severe endometritis, cervicitis, and vaginitis with purulent vaginal discharge.<sup>2,8</sup> In rare cases, *T. equigenitalis* might cause abortion.<sup>9</sup> However, the course of disease can also be subclinical with a chronic and persistent subclinical carrier state.<sup>8</sup> Pre-breeding sampling is commonly conducted in stallions and mares as recommended by Horserace Betting Levy Board (HBLB) International Codes of Practice.<sup>10</sup> Testing is currently performed via culture or PCR assay from swabs collected from urethral fossa, urethra, and penile sheath in stallions and from clitoral fossa and sinuses in mares.<sup>11,12</sup>

Infections or outbreaks can cause high economic losses due to reduced pregnancy rates, labour-intensive treatments and enforced sexual rest. This was especially true for the Thoroughbred breeding industry during large outbreaks in 1977 and 1978 (United Kingdom, Ireland and United States).<sup>13,14</sup> Because of mandatory natural cover and low stallion-to-mares ratio, Thoroughbred breeding associations worldwide have implemented strict testing rules within the breed (including 'teaser' stallions and mares).<sup>14,15</sup> With this regime, the manifestation of the classical venereal transmitted disease has been nearly eradicated from the global Thoroughbred population.<sup>1,16</sup> However, CEM has been reported in various other breeds worldwide including Europe and was assumed to be endemic in some non-Thoroughbred populations.<sup>1,14</sup> *Taylorella equigenitalis* isolates from Germany have been held responsible for CEM outbreaks in the United States.<sup>17</sup> Within the European Union (EU), *T. equigenitalis* transmission via fresh or frozen semen in any breed is prevented by rigorous CEM testing before semen collection from breeding stallions according to EU regulations.<sup>12</sup> However, naturally covering stallions are exempt from testing. Sporadic cases of *T. equigenitalis*-positive horses have been reported in Germany in recent years.<sup>18</sup>

While pasture breeding without mandatory and standardised *T. equigenitalis* testing is common among Icelandic horses, there has

also been a perceived increase in *T. equigenitalis*-positive cases and clinical impact of CEM within this breed. Furthermore, Denmark reported a major outbreak among Icelandic horses in 2020 raising awareness of the disease in this breed.<sup>19</sup>

Aim of this study was to investigate the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic intact males (Icelandic) and compare findings to a comparison group of intact male Haflinger and draught horses (draught and Haflinger). We chose to compare these breeds because their mares are usually covered at pasture or in-hand by natural cover and neither breeding association specifies mandatory testing prior to breeding. We hypothesised a higher prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic over draught and Haflinger. To the author's knowledge, this is the first investigation into *T. equigenitalis* prevalence in these breeds in a region spanning Southern Germany and parts of Austria.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Animals

Between January 2020 and March 2021, we collected samples from a total of 162 intact male horses on 38 individual farms (76 Icelandic on 10 farms, and 86 draught and Haflinger on 28 farms, see Table 1). Study participants were acquired by contacting owners of intact males out of the Equine Clinic (LMU Munich) records pool or approaching animal owners of hospitalised animals following a convenience sampling strategy. Horses were included by breed (Icelandic horses, Haflinger, draught horses) and sex (intact male). It was not always possible to test every intact male on each farm due to different ownership. Most farms were in a 200 km radius around Munich (Germany), which includes parts of Austria. Only a single animal was tested from central Germany which was a referred case to the Equine clinic (LMU Munich) for purposes unrelated to male reproduction. We obtained a breeding history and age of all included intact males prior to sampling. Additional information was obtained via a retrospective telephone survey 2 years later. Information on husbandry, herd health, infectious diseases and treatments prior to testing were obtained (see Questionnaire S1).

Icelandic intact males were compared with draught and Haflinger, a combined group of draught horse and Haflinger intact males. In both groups, intact males were further divided into active (or previously used for) breeding (ABA), and non-breeding (never have been, or not yet) animals (NBA) as well as two age groups of 1.5–7.0 and 8.0–26.0 years.



**TABLE 1** Total numbers of intact males in individual groups and total numbers of included farms.

	Icelandic intact male (n = 76)			COM (n = 86)		
	Total	Positive	Negative	Total (draught horse intact male/Haflinger intact male)	Positive (draught horse intact male/Haflinger intact male)	Negative (draught horse intact male/Haflinger intact male)
Total	76	23	53	86 (51/35)	4 (4/0)	82 (47/35)
Active breeding animal	28	3	25	54 (24/30)	0 (0/0)	54 (24/30)
Non-breeding animal	48	20	28	32 (27/5)	4 (4/0)	28 (23/5)
Farms	10	4	6	28 (14/12/2*)	2 (2/0)	26 (12/12/2*)

Note: A farm was defined positive as soon as one intact male was tested *T. equigenitalis*-positive. The asterisk (\*) indicates farms where both, Haflinger and draught horse intact males, were tested.

## 2.2 | Sampling procedure

In most cases, sample collection was performed at the home farm. In 13 cases (Icelandic  $n = 3$ , draught horses  $n = 8$ , Haflinger  $n = 2$ ), sample collection was performed at the Equine clinic (LMU Munich) because of a hospital stay unrelated to male reproduction. Preferably, intact males were stimulated by a mare for penile let down. If that was not possible, they were sedated orally with detomidine hydrochloride (Domosedan-Gel, Orion Corporation) to induce penile extrusion. Samples were collected from the urethral fossa, urethra, and penile sheath with a sterile polyester swab (Copan Italia S.p.A.) as described by EU regulation EU2020/686 and by the HBLB International Codes of Practice.<sup>10,12</sup> Swabs from the three locations were stored separately in 1.5 mL tubes (Eppendorf SE) containing 400  $\mu$ L NaCl 0.9% (Ecotainer, B. Braun Melsungen AG). Samples were immediately put on ice, transported to the laboratory of the Equine Clinic and stored there at  $-80^{\circ}\text{C}$  until further investigation.

## 2.3 | DNA extraction and quantitative PCR

A volume of 25  $\mu$ L from each sample per animal was combined for pooled DNA extraction using the DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen) according to the manufacturer's instruction.<sup>20</sup> For quantitative PCR (qPCR), the SensiFAST Probe Lo-ROX Kit (Meridian Bioscience) was used. A slightly modified qPCR protocol for *T. equigenitalis* detection previously described by Wakeley et al. was used.<sup>21</sup> The thermal profile of the qPCR was set at:  $95^{\circ}\text{C}$  for 5 min, and 42 cycles of  $94^{\circ}\text{C}$  for 15 s and  $60^{\circ}\text{C}$  for 60 s. AriaMx real-time qPCR system (Agilent) and its Aria 1.8 software were used for analysis. Negative and positive controls were added to each run. Results with a Ct-value of  $<35.0$  were regarded as positive samples.

## 2.4 | Data analysis

Statistical analyses were conducted using R version 4.3.1. (The R Foundation for Statistical Computing). Additionally, mean, median, standard deviation (SD) and interquartile range (IQR) values as well as

percentages were calculated using Microsoft<sup>®</sup> Excel for Mac (Version 16.76, 2023).

The age of all included animals was investigated for normal distribution using the Shapiro–Wilk test. The relationship between *T. equigenitalis*-positivity and 'breed' as well as 'breeding use' was assessed using the univariate Fisher's exact test (fisher.test stats version 3.6.2.). Differences in prevalence of *T. equigenitalis*-positive intact males were further evaluated by multivariable mixed effect logistic regression with 'farm' as random effect (glmer (lme4\_1.1-35.1)). The odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result among intact males were assessed by estimated marginal means. Two age groups were used in the logistic regression analyses. The age groups were as evenly distributed as possible and contained at least one positive animal in each group (1.5–7.0 years and 8.0–26.0 years, respectively). Results with a  $p$ -value  $<0.05$  were considered statistically significant.

## 3 | RESULTS

### 3.1 | Animals

In total, 162 intact males between 1.5 and 26 years (median: 5.0 years; IQR: 6.0 (3.0–9.0) years) were included in this study. Penile swab samples from all 3 locations were collected from all tested intact males. There were slightly more draught and Haflinger (53.1%, 86/162) than Icelandic horses (46.9%, 76/162) and within the comparison group, there were 41% (35/86) Haflinger, and 59% (51/86) draught horse intact males (Table 1). Overall, 51% (82/162) actively breeding and 49% (80/162) non-active intact males were tested (Table 1).

The age of tested intact males was not normally distributed ( $p < 0.001$ ). The number of intact males in each age group was similar between breed groups (Icelandic 1.5–7.0 years,  $n = 56$ ; draught and Haflinger 1.5–7.0 years,  $n = 56$ ; Icelandic 8.0–26.0 years,  $n = 20$ ; draught and Haflinger 8.0–26.0 years,  $n = 30$ ; see Table 2). A higher number of non-active intact males was found between 1.5 and 7.0 years (non-active  $n = 73$ , active 39), in contrast to intact males between 8.0 and 26.0 years (non-active  $n = 7$ , active  $n = 43$ ).

**TABLE 2** Numbers of *T. equigenitalis*-positive intact males and total numbers of all included intact males in both age groups divided into Icelandic intact male, comparison group, active breeding animal and non-breeding animal.

	Age: 1.5–7.0 years		Age: 8.0–26.0 years	
	Active breeding animal	Non-breeding animal	Active breeding animal	Non-breeding animal
Icelandic intact male	3/9	19/47	0/19	1/1
Comparison group	0/30	1/26	0/24	3/6
Total	3/39	20/73	0/43	4/7

Number of tested intact males per farm varied: Icelandic stallions were distributed over 10 different farms with an age distribution from 1.5 to 26.0 years (median: 4.0 years; IQR: 5.0 (3.0–8.0) years). Draft and Haflinger intact males were distributed on 28 different farms with an age distribution of 2.0–18.0 years (median: 6.0 years; IQR: 6.8 (3.0–9.8) years). In general, breeds were housed separately on individual farms except on two farms where draught horses and Haflinger intact males were housed together. In the Icelandic group, 37% (28/76) of the intact males were actively breeding and in draught and Haflinger, 63% (54/86) of the intact males were actively breeding (Table 1).

Additional farm information that could not be obtained during the sample collection visit was obtained by retrospective questionnaire in November 2023; however, only 63% (24/38) of the contacted owners responded. All Icelandic farms ( $n = 7$ ) stated that they used group housing; however, 6 of 7 Icelandic farms also reported using single boxes with access to pasture. All draught and Haflinger farms ( $n = 17$ ) reported single box housing with access to pasture. Four of 17 draught and Haflinger farms had additional group housing. Prior to or at the time of sampling, none of the included farms reported an infectious disease outbreak or consecutive treatment with antibiotics of a large proportion of the farm population. Therefore, we assume that antibiotic treatment did not influence our results. Further results of the telephone survey are presented as Table S1.

## 3.2 | Quantitative PCR results

### 3.2.1 | Quantitative PCR results regarding breed

Overall, *T. equigenitalis* could be detected in 16.7% (27/162) of all tested intact males ( $n = 162$ ) included in the study with Ct-values between 14.77 and 34.04 (median = 18.54, IQR = 5.72). Within the Icelandic group ( $n = 76$ ), 30% (23/76) and within the draught and Haflinger group ( $n = 86$ ) 5% (4/86) were *T. equigenitalis*-positive; however, *T. equigenitalis*-positive qPCR results were exclusively detected in draught horse intact males (Table 1).

The odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were significantly increased for Icelandic compared with draught and Haflinger (Fischer's exact, Icelandic vs. draught and Haflinger odds ratio (OR) = 8.78, 95% confidence interval (CI): 2.78–36,  $p < 0.001$ ). Separating draught and Haflinger into Haflinger and draught horse intact males, significantly higher odds were detected in Icelandic compared with

draught horse intact males only (Fischer's exact, Icelandic vs. draught OR = 5.04, 95% CI: 1.56–21.5,  $p = 0.004$ ). When we excluded one Icelandic farm (I1) because it had a high prevalence (15 positives of 34 intact males), the odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were still higher for Icelandic compared with draught and Haflinger (Fischer's exact, Icelandic without farm I1 vs. draught and Haflinger OR = 4.75, 95% CI: 1.18–23.06,  $p = 0.02$ ). Analysing the odds for *T. equigenitalis*-positive intact males in Icelandic compared with draught and Haflinger using logistic regression taking 'farm' as random effect, significantly higher odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were found in Icelandic compared with draught and Haflinger (logistic regression Icelandic vs. draught and Haflinger OR = 6.42, 95% CI: 1.43–28.8,  $p = 0.02$ ).

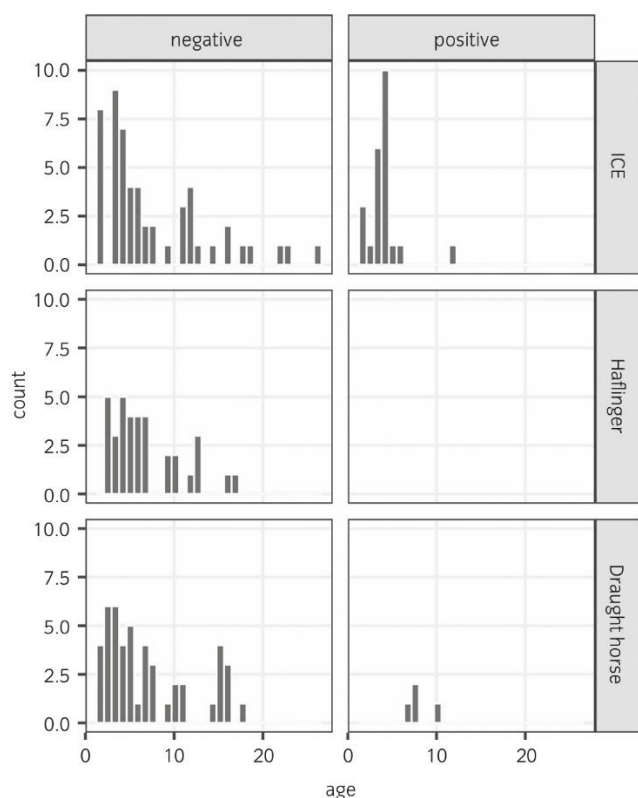
### 3.2.2 | Quantitative PCR results regarding breeding use

Within the Icelandic group, 11% (3/28) active breeding animals and 42% (20/48) non-breeding animals had a *T. equigenitalis*-positive qPCR result. In draught and Haflinger group, 13% (4/32) *T. equigenitalis*-positive intact males were detected in the group of non-breeding animals and none in the group of active breeding animals. Combining tested intact males of all breeds, the odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were significantly lower in actively breeding compared with non-active males (Fischer's exact active vs. non-active OR = 0.09, 95% CI: 0.02–0.32,  $p < 0.001$ ). Using logistic regression with 'farm' as random effect, the odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were also lower in actively breeding compared with non-active animals (logistic regression active vs. non-active OR = 0.09, CI: 0.01–0.54,  $p = 0.009$ ).

### 3.2.3 | Quantitative PCR results regarding age

The age distribution of all *T. equigenitalis*-positive intact males was between 1.5 and 12.0 years (median: 4.0 years; IQR: 1.5 (3.0–4.5) years). The age distribution in the different breeds split into intact males with *T. equigenitalis*-positive and *T. equigenitalis*-negative qPCR results is shown in Figure 1. No significant difference in odds for a *T. equigenitalis*-positive intact male was detected between the age groups using logistic regression with 'farm' as random effect (logistic regression 1.5–7.0 years vs. 8.0–26.0 years OR = 0.51, 95% CI: 0.09–2.83,  $p = 0.4$ ).





**FIGURE 1** Age distributions in Icelandic, Haflinger and draught horse intact males differentiated according to *T. equigenitalis*-positive and negative qPCR results. Draught horse, draught horse intact male; Haflinger, Haflinger intact male; ICE, Icelandic intact male; negative, *Taylorella equigenitalis*-negative intact males; positive, *Taylorella equigenitalis*-positive intact males.

### 3.2.4 | Quantitative PCR results regarding farm

All intact males were distributed over 38 different and independent farms (Table 1). In Icelandic, 40% (4/10) and in draught and Haflinger, 7% (2/28) of the farms were detected with at least one *T. equigenitalis*-positive intact male and the farm was therefore regarded as positive. In *T. equigenitalis*-positive Icelandic farms, one farm housed 45% (34/76) of all tested Icelandic and 65% (15/23) of all *T. equigenitalis*-positive Icelandic. In two draught and Haflinger farms, both, draught horse and Haflinger intact males, were housed and tested. In these farms, all tested intact males were *T. equigenitalis*-negative (Table 1).

## 4 | DISCUSSION

This study shows increased risk of *T. equigenitalis*-positive in Icelandic compared with draught and Haflinger intact males. We compared Icelandic to a combined group of Haflinger and draught horse intact males because of similar breeding requirements using mostly natural cover with no mandatory testing. Higher odds for *T. equigenitalis*-positive intact males were also shown in non-breeding compared with actively breeding animals, regardless of breed.

According to the information we received from farms answering the retrospective telephone survey, 100% of the Icelandic farms and only 24% of draught and Haflinger farms used group housing. This corresponds to common practices in housing of breeding animals and bachelor stallions in Iceland and typical housing conditions of Icelandic horses in European Nordic countries, where extensive group housing is the predominant husbandry form.<sup>22,23</sup> Breeding practice in Icelandic horses often involves pasture breeding where a group of mares is combined with a stallion for several weeks during breeding season. This contrasts with Haflinger and draught horses, where in hand breeding is more common. Furthermore, it is not uncommon for Icelandic horses to have yearling horses on pasture as bachelor herds accompanied by one of the older stallions.

Initial analysis showed significantly higher odds for *T. equigenitalis*-positive in Icelandic compared with draught and Haflinger intact males. One of the 10 included Icelandic farms (11) housed 45% (34/76) of all Icelandic animals and 65% (15/23) of the *T. equigenitalis*-positive Icelandic animals found in this study. This stable performed regular *T. equigenitalis* tests and had already recognised positive cases prior to this study. However, excluding this farm from the analysis, also showed the odds of positive results in Icelandic intact males were higher compared with draught and Haflinger. In total, *T. equigenitalis*-positive intact males were detected on 6 farms. On 5 of these farms between 40% and 50% of the intact males were *T. equigenitalis*-positive. These results suggested a possible farm effect due to cross infection or other influencing factors between tested horses on one farm. Therefore, a farm had to be regarded as a cluster and the clustering effect was taken into account using logistic regression with 'farm' as a random effect and with this analysis method, odds for *T. equigenitalis*-positive intact males remained higher for Icelandic compared with draught and Haflinger animals. Our finding of an increased prevalence of *T. equigenitalis* among tested Icelandic is supported by observations made during a major CEM outbreak in Denmark reported by the Danish Statens Serum Institute in 2020: in 700 samples from 269 horses of different breeds, 104 Icelandic horses (14 intact males and approximately 90 mares) were found *T. equigenitalis*-positive.<sup>19</sup> In the Netherlands, *T. equigenitalis*-positive horses of various breed and age (6/13 maiden mares, 48/94 bred mares), were detected by Parlevliet et al. in 1995.<sup>24</sup> During their investigation of these 107 mares with no clinical signs of CEM, 49% were *T. equigenitalis*-positive in a PCR-assay. Moreover, in the same study, 29.2% (7/24) of mares imported from Iceland were found to be *T. equigenitalis*-positive before contact to horses in continental Europe, suggesting that *T. equigenitalis* has been present within the Icelandic horse population in Iceland without apparent clinical signs or detection.<sup>24</sup> The statement that CEM may be an endemic disease in central Europe has been made by other observers studying other non-Thoroughbred breeds.<sup>1,14,25</sup>

In our study, the group of Haflinger intact males stands out as there were no *T. equigenitalis*-positive test results. This finding should be regarded with caution as it could be due to the convenience sampling method and study design we used and this is an important limitation which could have introduced bias across the whole study



population. A further limitation is our deviation from test recommendations: The HBLB code of practice for breeders recommends taking additional samples of pre-ejaculate fluid if possible<sup>10</sup> and this was not performed in the current study. Furthermore, the included stallions were sampled only once and therefore, the testing methods did not comply with the regulations according to EU law or HBLB recommendations, where two samples at intervals of 7 days are prescribed.<sup>10,12</sup> Due to this deviation from the official recommendations, it is conceivable, albeit unlikely, that a number of intact males were false negatives in our study. Nevertheless, the single sample approach used in the current study did not differ between groups and therefore, any error should occur to a similar extent in all included horses.

Another reason that Haflinger intact males were *T. equigenitalis*-negative might be there was a high number of actively breeding animals within this group. In general, to avoid breeding failure by CEM, it can be assumed that actively breeding animals are tested more often and more closely monitored than non-breeding animals. However, we obtained in feedback from 71% (10/14) of the farms housing Haflinger intact males and none of these stables had carried out CEM tests prior to our study (see Table S1). Another possible explanation for a lack of *T. equigenitalis*-positive Haflinger intact males might be the low number of non-breeding Haflingers which were tested ( $n = 5$ ) compared with other breeds (Icelandic non-breeding:  $n = 48$ , draught horse non-breeding:  $n = 27$ ). All (4/4) of the *T. equigenitalis*-positive draught horse intact males and 87% (20/23) of the positive Icelandics were found in non-breeding animals. However, significantly higher odds for *T. equigenitalis*-positive intact males in Icelandic compared with only draught horse intact males was also shown albeit with large confidence intervals due to the small number of tested horses.

A further notable result is the significantly higher prevalence of *T. equigenitalis*-positive results in non-breeding compared with actively breeding. This observation was unexpected given that natural cover is the main source of infection. Therefore, other routes of transmission must be taken into consideration. Intrauterine or periparturient infection of foals born to infected mares were proposed by Timoney and Powel based on the history of positive colts and fillies and their parents.<sup>5</sup> In our cases, this route of transmission might be possible because we detected *T. equigenitalis* in very young Icelandics never used for breeding. However, age had no influence on the odds of *T. equigenitalis*-positive test results in our study (Figure 1). Sampling of foals and dams immediately after birth until the age of yearlings would be necessary to provide more information regarding a possible intrauterine or periparturient infection. Iatrogenic transmission or poor hygiene standards at semen collection can play a role in transmission.<sup>2,26</sup> However, that route of transmission is likely to be negligible in non-breeding animals in the current study due to absence of breeding related activities. As extensive group housing is common on Icelandic horse farms, environmental transmission or transmission from direct contact in group housing cannot be ruled out. However, until now, there is no evidence for persistence of *T. equigenitalis* in an environmental reservoir for an extended time or its transmission afterwards.<sup>6</sup> Allombert et al.<sup>27</sup> proved that *T. equigenitalis* is able to survive under laboratory conditions for at least 7 days in an amoeba (*Acanthamoeba castellanii*) and proposed this as a possible mechanism for *T. equigenitalis* to survive in the environment.<sup>27</sup>

There is a need for further investigations and knowledge on possible further ways of transmission and environmental sampling to help in understanding and preventing transmission.

In Germany, *T. equigenitalis* is a legally notifiable pathogen.<sup>28,29</sup> Between 2018 and 2022, increased numbers of annual infections were documented compared with the previous years with up to 61 animals (mean: 41.4) officially reported as *T. equigenitalis*-positive per year in Germany.<sup>18</sup> We assume that officially reported *T. equigenitalis*-positive cases are predominantly breeding animals, because subclinical carriers not used for breeding are commonly not tested. Therefore, based on our observations of relatively high numbers of *T. equigenitalis*-positive in non-actively breeding animals, the number of *T. equigenitalis*-positive horses may be greater than the officially reported numbers. It is likely that the current testing and treatment strategies and notification requirements are not sufficient to prevent further outbreaks.

In the current study, a high number of *T. equigenitalis*-positive intact males of younger age in Icelandic was noted (Figure 1) but no statistically significant influence of age on odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result was shown in this relatively small study. Nonetheless, our data suggest that other non-venereal transmission routes as proposed by Timoney and Powell,<sup>5</sup> might exist. In Icelandic farms, bachelor herds of yearlings are often accompanied by one of the older stallions. Contact infection between those intact males due to physical contact between genital or even nasal mucosa and a possible environmental contamination, which has not been described for *T. equigenitalis* yet, should be explored further.<sup>6</sup>

A main limitation of this study was the convenience sampling due to testing participants through a call for study participation and patients of the Equine Clinic (LMU Munich). This led to bias regarding the study population and limits the ability to draw a conclusion on the total Icelandic horse population. Further studies examining a representative sample of an entire local population are necessary to definitively determine the prevalence of *T. equigenitalis* in the investigated horse breeds. Another limitation was insufficient information about the relationships between intact males. We attempted to address this through additional information gathering by a retrospective telephone survey. However, a failure to collect complete data from all farms prevented this, which might be due to the time lag of 2 years between sampling and survey. Therefore, further studies investigating the total population of exposed farms together with investigation of the CEM status of newborn foals and their dams could gain further insights into other routes of transmission. Studies examining different *T. equigenitalis* strains in the investigated breeds could help to give a better understanding about differences on DNA-level of *T. equigenitalis* in different breeds. Of 124 field isolates from Germany and Austria, Sting et al. found the majority of *T. equigenitalis* isolates in Lipizzaner, Icelandic horses and draught horses, whereupon the Icelandic isolates differed partially from those of other breeds.<sup>25</sup> Bleumink-Pluym et al. could show differences between strains in the ability to invade and replicate in equine cells in culture. Therefore, they suggested a different virulence between those *T. equigenitalis* strains.<sup>30</sup> Further studies investigating the underlying strains in different breeds would be of great interest as proposed by Sting et al.<sup>25</sup> Evaluation of fertility according to *T. equigenitalis* strains and horse breeds could provide further information.



ed should only occur if conditionally, our results suggest that natural cover is not used in non-breeding animals within the current EU regulations, natural cover is exempt from testing and eradication of CEM is therefore not possible in all breeds.<sup>12</sup> In order to gain a CEM-free status, a control system compatible with the HBLB codes of practice for breeders should be established for all breeds using natural cover.<sup>10</sup> However, within the Icelandic horse population, this is likely to be hard to achieve for economic reasons.

## 5 | CONCLUSION

The prevalence of *T. equigenitalis* was investigated in breeds using mainly natural cover. The pathogen responsible for CEM was detected in Icelandic horses with higher odds compared with Haflinger and draught horse intact males. Although the venereal transmission is generally thought to be the main source of infection, we found the odds of a *T. equigenitalis*-positive result was significantly higher in non-actively breeding compared with actively breeding animals. Testing and outbreak control for *T. equigenitalis* should therefore always be considered in breeding horses regardless of the breeding method used. Further studies analysing the genotype of the underlying bacterial strain as well as sampling the whole population of affected farms including their environment could help to gather more epidemiological data and to better understand possible transmission routes.

### FUNDING INFORMATION

Partially funded from the German Equine Veterinary Association/Deutsche Gesellschaft für Pferdemedizin (GPM).

### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank all horse owners for providing their animals included in this study and all assistants helping with sample collection. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

### CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflicts of interest.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

**Markus Grabatin:** Conceptualization; data curation; formal analysis; writing – original draft. **Robert Fux:** Formal analysis; methodology; project administration. **Yury Zablotki:** Formal analysis; methodology. **Lutz S. Goehring:** Conceptualization; methodology; writing – review and editing. **Tanja S. Witte:** Conceptualization; formal analysis; investigation; project administration; supervision; writing – original draft; writing – review and editing.

### DATA INTEGRITY STATEMENT

T. S. Witte had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of data analysis.

### ETHICAL ANIMAL RESEARCH

The study was approved by the ethics committee of the Center of Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine of the Ludwig-Maximilians University München, Germany (Reference number 192-11-11-2019).

### INFORMED CONSENT

The consent for the investigations was given by the horse owners or their agents.

### PEER REVIEW

The peer review history for this article is available at <https://www.webofscience.com/api/gateway/wos/peer-review/10.1111/evj.14121>.

### DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request: Open sharing exemption granted by the editor.

### ORCID

Markus Grabatin  <https://orcid.org/0009-0000-1509-7376>

Robert Fux  <https://orcid.org/0000-0002-1149-1613>

Yury Zablotki  <https://orcid.org/0000-0001-6928-4089>

Lutz S. Goehring  <https://orcid.org/0000-0001-8493-0675>

Tanja S. Witte  <https://orcid.org/0000-0003-2291-0112>

### REFERENCES

- Schulman ML, May CE, Keys B, Guthrie AJ. Contagious equine metritis: artificial reproduction changes the epidemiologic paradigm. *Vet Microbiol.* 2013;167(1–2):2–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.021>
- Crowhurst RC. Genital infection in mares. *Vet Rec.* 1977;100(22):476.
- Platt H, Atherton JG, Simpson DJ, Taylor CE, Rosenthal RO, Wreghitt TG. Genital infection in mares. *Vet Rec.* 1977;101(1):20.
- Sugimoto C, Isayama Y, Sakazaki R, Kuramochi S, Transfer of *Haemophilus equigenitalis* Taylor, et al. 1978 to the genus *Taylorella* gen. nov. as *Taylorella equigenitalis* comb. nov. *Curr Microbiol.* 1983;9(3):155–62. <https://doi.org/10.1007/BF01567289>
- Timoney PJ, Powell DG. Isolation of the contagious equine metritis organism from colts and fillies in the United Kingdom and Ireland. *Vet Rec.* 1982;111(21):478–82.
- Jacob ME. *Taylorella*. In: McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM, Wilkes R, editors. *Veterinary microbiology*. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell; 2022. p. 187–91. <https://doi.org/10.1002/9781119650836.ch19>
- Hughes JP. Contagious equine metritis: a review. *Theriogenology.* 1979;11(3):209–16. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(79\)90029-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(79)90029-3)
- Timoney PJ. Contagious equine metritis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 1996;19(3):199–204. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(96\)00005-7](https://doi.org/10.1016/0147-9571(96)00005-7)
- Nakashiro H, Naruse M, Sugimoto C, Isayama Y, Kuniyasu C. Isolation of *Haemophilus equigenitalis* from an aborted equine fetus. *Natl Inst Anim Health Q.* 1981;21(4):184–5.
- Horsrace Betting Levy Board (HBLB). International Codes of Practice. Code of practice for contagious equine metritis (CEM), *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. 2024 [cited 2023 Nov 28].

- Available from: <https://codes.hblb.org.uk/downloads/2024/Codes%20of%20Practice%202024.pdf>
11. World Organization for Animal Health (WOAH). OIE terrestrial manual. Chapter 3.6.2. Contagious equine metritis. OIE; 2022. [cited 2024 June 17]. Available from: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>
  12. European Union (EU). Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter I. [cited 2023 Sep 29]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32020R0686>
  13. Luddy S, Kutzler MA. Contagious equine metritis within the United States: a review of the 2008 outbreak. *J Equine Vet.* 2010; 30(8):393–400. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2010.07.006>
  14. Timoney PJ. Horse species symposium: contagious equine metritis: an insidious threat to the horse breeding industry in the United States. *J Anim Sci.* 2011;89(5):1552–60. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3368>
  15. Timoney PJ, Powell DG. Contagious equine metritis—epidemiology and control. *J Equine Vet.* 1988;8(1):42–6. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(88\)80109-6](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(88)80109-6)
  16. Delerue M, Breuil MF, Duquesne F, Bayon-Auboyer MH, Amenna-Bernard N, Petry S. Acute endometritis due to *Taylorella equigenitalis* transmission by insemination of cryopreserved stallion semen. *Vet Sci.* 2019;78:10–3. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.03.217>
  17. Aalsburg AM, Erdman MM. Pulsed-field gel electrophoresis genotyping of *Taylorella equigenitalis* isolates collected in the United States from 1978 to 2010. *J Clin Microbiol.* 2011;49(3):829–33. <https://doi.org/10.1128/jcm.00956-10>
  18. German Federal Research Institute for Animal Health (Friedrich-Loeffler-Institute). Annual reports 2022. [cited 2024 Mar 10]. Available from: <https://www.fli.de/de/publikationen/tiergesundheitsjahresberichte/>
  19. Danish Statens Serum Institut (SSI). Outbreak of the venereal disease Contagious equine metritis (CEM) in Icelandic horses. 2020 [cited 2023 Sep 29]. Available from: <https://www.vetssi.dk/vet-nyheder/2020/udbrud-af-koenssygdommen-contagioes-equin-metritis-cem-hos-islandske-hest>
  20. Mawhinney I, Errington J, Stamper N, Torrens N, Engelsma MY, Roest HIJ. Pooling of genital swabs for detection by PCR of *Taylorella equigenitalis*, the cause of contagious equine metritis. *Equine Vet J.* 2019;51(2):227–30. <https://doi.org/10.1111/evj.12986>
  21. Wakeley PR, Errington J, Hannon S, Roest HIJ, Carson T, Hunt B, et al. Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* directly from genital swabs and discrimination from *Taylorella asinigenitalis*. *Vet Microbiol.* 2006;118(3):247–54. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.08.007>
  22. Hoffmann G, Bentke A, Rose-Meierhöfer S, Berg W, Mazetti P, Hardarson GH. Influence of an active stable system on the behavior and body condition of Icelandic horses. *Animal.* 2012;6:1684–93. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000699>
  23. Hartmann E, Bøe KE, Christensen JW, Hyyppä S, Jansson H, Jørgensen GHM, et al. A Nordic survey of management practices and owners' attitudes towards keeping horses in groups. *J Anim Sci.* 2015;93:4564–74. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9233>
  24. Parlevliet JM, Bleumink-Pluym NMC, Houwers DJ, Remmen JLAM, Sluiter FJH, Colenbrander B. Epidemiologic aspects of *Taylorella equigenitalis*. *Theriogenology.* 1997;47(6):1169–77. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00097-6)
  25. Sting R, Seeh C, Mauder N, Maurer M, Loncaric I, Stessl B, et al. Genotyping of German and Austrian *Taylorella equigenitalis* isolates using repetitive extragenic palindromic (REP) PCR and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *Res Vet Sci.* 2016;109:101–6. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.09.017>
  26. Swerczek TW. Contagious equine metritis in the USA. *Vet Rec.* 1978; 102(23):512–3.
  27. Allombert J, Vianney A, Laugier C, Petry S, Hébert L. Survival of *Taylorella* in the environmental amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *BMC Microbiol.* 2014;14:69. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-69>
  28. German Animal Health Act in the version published on November 21, 2018 (BGBl. I p. 1938), which was last amended by Article 2 of the law of December 21, 2022 (BGBl. I p. 2852). [cited 2023 Sep 29]. Available from: <https://www.gesetze-im-internet.de/tiergesg/BJNR132400013.html>
  29. Ordinance on notifiable animal diseases in the version of the announcement of February 11, 2011 (BGBl. I p. 252), which was last amended by Article 1 of the ordinance of July 8, 2022 (BGBl. I p. 1604). [cited 2023 Sep 29]. Available from: [https://www.gesetze-im-internet.de/tkrmdpflv\\_1983/BJNR010950983.html](https://www.gesetze-im-internet.de/tkrmdpflv_1983/BJNR010950983.html)
  30. Bleumink-Pluym NMC, ter Laak EA, Houwers DJ, van der Zeijst BA. Differences between *Taylorella equigenitalis* strains in their invasion of and replication in cultured cells. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1996;3(1): 47–50. <https://doi.org/10.1128/cdli.3.1.47-50.1996>

## SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Grabatin M, Fux R, Zablotski Y, Goehring LS, Witte TS. *Taylorella equigenitalis* in Icelandic intact males compared with other horse breeds using natural cover. *Equine Vet J.* 2025;57(2):441–8. <https://doi.org/10.1111/evj.14121>



### **3.3 Ergänzende Informationen**

Zusätzliche Informationen wurden zusammen mit der Veröffentlichung publiziert (Grabatin et al. 2024):



## Questionnaire S1:

### Questionnaire home stables (telephone call)

**Type of farm:** : breeding farms / : riding farm / : other farms

**Number of horses / Equids:**

: < 50 horses / : 50-100 horses / : > 100 horses

Number of stallions:

: < 5 stallions / : 5-20 stallion / : > 20 stallion

Number of mares:

: < 5 mares / : 5-20 mares / : > 20 mares

Number of geldings:

: < 5 geldings / : 5-20 geldings / : > 20 geldings

**Horse breeds:**

: Icelandic / : Haflinger / : Draft horse / : other breeds

Contact between horse breeds:

: Yes / : No

**Husbandry:** : box housing with pasture / : group housing

Contact between the stallions : Yes / : No (direct/indirect)\*

Contact between stallions and geldings : Yes / : No (direct/indirect)\*

Contact between stallions and mares : Yes / : No (direct/indirect/breeding)\*

**CEM outbreaks at the farm:**

: Yes / : No ( : 1 / : 1-3 / : >3 )

Treatment of CEM:

: Yes / : No ( : Every time / : Differently / : None )

**Testing for CEM routinely:**

: Yes / : No

**Other disease outbreaks?** : Yes / : No

Treatment: : Yes / : No

\* *direct contact: The animals had physical contact with each other; indirect contact: The animals used the same stables, pastures or facilities at different times.*

**Table S1:**

Overview of the farms housing ICE (Icelandic intact males), HAF (Haflinger intact males), Draught (Draught horse intact males) or MIX (Draught horse and Haflinger intact males) regarding farm size (total number of animals, number of stallions, mares and geldings), *T. equigenitalis*-positive tested animals, contact of the stallions to: stallions (S)/ geldings (G) / mares (M), contact with *T. equigenitalis* before (CEM before Y/N), *T. equigenitalis* test regime, other horse breeds on the same farm and age distribution of *T. equigenitalis*-positive intact males and total tested intact males; Y=yes, N=no, NA=not available. <sup>1</sup>There have been known cases of CEM-positive animal on the farm. <sup>2</sup>A regular CEM testing system before the breeding season was carried out on the farm. <sup>3</sup>Horses of breeds other than the breeds tested were housed on the farm.

Farm No.	Farm size		Intact males (tested positive / total number tested)	Contact of the stallions to:	CEM before <sup>1</sup>	CEM test regime <sup>2</sup>	Other breeds <sup>3</sup>	Age distribution	
	Total number	Number of stallions/mares/geldings						Y/N	Y/N
<b>ICE</b>									
ICE 1	>100	>20/>20/>20	15/34	S/G/M	Y	Y	N	4 (3 – 12)	4 (3 – 23)
ICE 2	50-100	5-20/>20/5-20	0/4	S/M	Y	Y	N	-	11.5 (6 – 18)
ICE 3	<50	5-20/5-20/5-20	1/9	S/M/G	N	Y	N	6	5 (3 – 9)
ICE 4	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	-	11
ICE 5	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	-	3
ICE 6	<50	5-20/0/0	0/4	S	N	N	N	-	2.5 (1.5 – 5)
ICE 7	NA	NA	3/6	NA	NA	NA	NA	3 (3 – 4)	4.5 (3 – 16)
ICE 8	50-100	>20/>20/>20	0/6	S/G/M	N	Y	N	-	13 (6 – 26)
ICE 9	>100	5-20/>20/>20	4/10	S/G	N	Y	Y	1.5 (1.5 – 2.5)	1.5 (1.5 – 2.5)
ICE 10	50-100	<5/>20/>20	0/1	S/G/M	N	Y	N	-	16
<b>HAF</b>									
HAF 1	50-100	>20/5-20/5-20	0/15	S/M	N	N	Y	-	4 (2.5 – 16)
HAF 2	<50	<5/>20/0	0/1	S/M	NA	NA	Y	-	6

HAF 3	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA	-	5
HAF 4	<50	<5/NA/NA	0/2	S/M	N	N	N	N	-	5.5 (4-7)
HAF 5	<50	<5/NA/NA	0/1	S/M	N	N	N	N	-	13
HAF 6	<50	<5/NA/NA	0/1	S/M	N	N	N	N	-	4
HAF 7	<50	<5/NA/NA	0/1	S/M	N	N	N	N	-	6
HAF 8	<50	<5/NA/NA	0/2	S/M	N	N	N	N	-	9.5 (6-13)
HAF 9	<50	<5/NA/NA	0/2	S/M	N	N	N	N	-	9 (9-9)
HAF 10	<50	<5/NA/NA	0/2	S/M	N	N	N	Y	-	6 (5-7)
HAF 11	<50	<5/NA/NA	0/1	S/M	N	N	N	N	-	4
HAF 12	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA	-	3
<b>Draught</b>										
Draught 1	<50	<5/5-20/5-20	0/3	S/G/M	N	Y	Y	Y	-	2.5 (2.5-5)
Draught 2	NA	NA	0/4	NA	NA	NA	NA	NA	-	3 (2.5-11)
Draught 3	50-100	<5/>20/>20	0/1	M	N	N	Y	Y	-	11
Draught 4	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA	-	4
Draught 5	<50	<5/5-20/5-20	0/1	S/G/M	N	Y	Y	Y	-	5
Draught 6	<50	5-20/0/<5	0/8	S/G	N	N	N	N	-	4.5 (2-15)
Draught 7	<50	5-20/0/5-20	2/5	S/G	N	N	N	N	8.5 (7-10)	7 (3-10)
Draught 8	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA	-	6
Draught 9	<50	<5/<5/<5	0/1	S/G/M	N	N	N	N	-	3
Draught 10	NA	NA	0/2	NA	NA	NA	NA	NA	-	7 (7-7)
Draught 11	NA	NA	2/4	NA	NA	NA	NA	NA	8 (8-8)	5.25 (2.5-8)
Draught 12	<50	5-20/5-20/5-20	0/3	S/G/M	N	N	Y	Y	-	2.5 (2-3)
Draught 13	NA	NA	0/3	NA	NA	NA	NA	NA	-	9 (4-16)
Draught 14	NA	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA	-	2
<b>MIX (HAF/Draught)</b>										
MIX 1	NA	NA	0/13	NA	NA	NA	NA	NA	-	8 (4-16)
MIX 2	NA	NA	0/5	NA	NA	NA	NA	NA	-	15 (14-18)

## 4 Erweiterte Diskussion

Kontagiöse Equine Metritis verursacht von *T. equigenitalis* ist eine venerische Erkrankung und kann eine vorübergehende Infertilität bei Stuten bewirken (Timoney 2011). Aufgrund der hohen kontagiösen Eigenschaft, besonders bei direktem Schleimhautkontakt während des Deckaktes, wird CEM als eine potentielle Gefahr insbesondere in der Vollblutzucht gesehen, auch weil diese nur den Natursprung als zulässige Zuchtmethode erlaubt (Holden 1978; Kristula und Smith 2004; Luddy und Kutzler 2010; Timoney 2011; Deutscher Galopp e.V.). Die Erkennung von subklinischen *T. equigenitalis*-positiven Trägertieren ist entscheidend, um eine unkontrollierte Verbreitung zu verhindern (Timoney 2011). Besonders in der Vollblutzucht besteht aufgrund von Erfahrungen mit CEM-Ausbrüchen die Sorge vor großen finanziellen Verlusten durch weitere Ausbrüche (Holden 1978; Kristula und Smith 2004; Luddy und Kutzler 2010; Timoney 2011). Aus diesem Grund sind Tests auf *T. equigenitalis* durch den Zuchtverband vorgeschrieben und Ausbrüche in dieser Population seitdem selten (Schulman et al. 2013; HBLB 2023). Nach der europäischen Gesetzgebung ist bei der Zucht im Natursprung kein Test auf *T. equigenitalis* erforderlich (VO (EU) 2020/686). Für Zentraleuropa wird die CEM als endemisch in der Nicht-Vollblutpferdepopulation angesehen (Timoney 2011; Schulman et al. 2013). Die Bedeutung der CEM wird aber unterschiedlich bewertet. So haben zum Beispiel Parlevliet et al. (1997) die von der CEM ausgehende Gefahr, abhängig von der Pathogenität des *T. equigenitalis*-Stammes, teilweise in Frage gestellt. Unterschiede in der Pathogenität der *T. equigenitalis*-Bakterienstämme wurden von Bleumink-Pluym et al. (1996) in Zellkulturversuchen gezeigt. Es wird davon ausgegangen, dass alle Pferde empfänglich gegenüber *T. equigenitalis* sind (Parlevliet et al. 1997). Der subjektive Eindruck eines vermehrten Auftretens der CEM bei Islandpferden war Anlass diese Studie durchzuführen. Das Ziel war die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten im Vergleich zu Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten für die untersuchten Gruppen festzustellen. Die Vergleichsgruppe wurde aufgrund ähnlicher Zuchtmethoden ausgewählt. Die untersuchten Betriebe verwendeten überwiegend den Natursprung. Unabhängig von der Altersverteilung der beprobten, intakten männlichen Tiere zwischen 1,5 und 26 Jahren, werden diese als Hengste in der weiteren Arbeit angesprochen.

Bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse zeigte sich zum einen ein zahlenmäßiges Übergewicht an Islandpferdehengsten auf einem einzelnen Betrieb (Islandpferde-Betrieb I1). Dieser eine Betrieb von insgesamt 10 untersuchten Islandpferde-Betrieben beherbergte 45% (34/76) aller untersuchten Islandpferdehengste und 65% (15/23) aller *T. equigenitalis*-positiven Islandpferdehengste. Zum anderen zeigte sich bei der Betrachtung der sechs *T. equigenitalis*-positiven Betriebe, dass in fünf der Betriebe (drei Islandpferde-Betriebe und zwei Vergleichsgruppen-Betriebe) zwischen 40 % und 50% der getesteten männlichen Tiere *T. equigenitalis*-positiv waren. Diese Beobachtung spricht für eine

Übertragung des Erregers innerhalb eines Betriebes, sodass ein Betrieb als Cluster gesehen werden kann.

Erste Analysen wurden mit dem Exakten Fisher-Test (FET, Fisher Exact Test) durchgeführt und zeigten höhere Chancen für ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis bei den Islandpferdehengsten im Vergleich zur Vergleichsgruppe (FET Islandpferdehengste/Vergleichsgruppe odds ratio (OR)= 8.78, 95% Konfidenzintervall (KI): 2.78-36,  $p < 0.001$ ). Um die Übergewichtung durch den Islandpferde-Betrieb I1 zu berücksichtigen, wurde die Analyse ohne diesen Stall wiederholt. Hierbei konnten nach wie vor höhere Chancen für ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis bei Islandpferdehengsten im Vergleich zur Vergleichsgruppe gezeigt werden (FET Islandpferdehengste ohne I1/Vergleichsgruppe OR= 4.75, 95% KI: 1.18-23.06,  $p = 0.019$ ). Die durchgeführten Analysen gaben einen Hinweis auf ein vermehrtes Auftreten von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten in der untersuchten Gruppe. Weil bei der FET Analyse der beschriebenen Problematik des Clustering keine Rechnung getragen wird, wurde eine Mixed Effekt Logistik Regression (MELR) angewendet, bei der die Betriebe als Random Effekt eingesetzt wurden und somit das Clustering berücksichtigt wurde. Auch in diesen Analysen konnten höhere Chancen für ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis für die Islandpferdehengsten im Vergleich zur Vergleichsgruppe gezeigt werden (MELR Islandpferdehengste/Vergleichsgruppe OR= 6.42, 95% KI: 1.43-28.8,  $p = 0.015$ ). Gründe für die Clusterbildung könnten in der Übertragung von *T. equigenitalis* zwischen Tieren eines Betriebs liegen. So könnte eine direkte, venerische Übertragung durch Schleimhautkontakt ebenso wie die indirekte Übertragung durch Infektionsträger bei mangelnder Hygiene über Gebrauchsgegenstände wie vaginale Spekula, künstliche Scheiden oder Phantome, stattfinden (Timoney 2011). Eine intrauterine oder peripartale Übertragung wird ebenso vermutet und könnte *T. equigenitalis* auf die nachfolgende Generation übertragen (Timoney und Powell 1982). Aber auch weitere unbekannte Faktoren, wie zum Beispiel die Herkunft der Tiere, könnten Ursache für die Häufung von positiven *T. equigenitalis* Ergebnissen in einem Betrieb sein. Nachträglich wurde eine Telefonbefragung der Besitzer durchgeführt, in der unter anderem die Haltungsform und vorherige Krankheitsausbrüche mit gegebenenfalls erfolgten Behandlungen abgefragt wurden. Es konnten anhand der Telefonumfrage keine weiteren Gründe für die Häufung *T. equigenitalis*-positiver Tiere auf einzelnen Betrieben gefunden werden. Mit der durchgeführten Untersuchung wurde, bei den getesteten Tieren, ein vermehrtes Auftreten von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten gezeigt. Die Studie kann somit einen Hinweis auf ein vermehrtes Auftreten von *T. equigenitalis* in der Islandpferdepopulation gegenüber der Vergleichspopulationen in Süddeutschland und Österreich liefern. Um diese Hypothese zu bestätigen, müssten weitergehende Studien mit repräsentativen Stichproben für die jeweilige Pferderasse durchgeführt werden.

Die Wichtigkeit der durchgeführten Untersuchung wird durch einen großen CEM-Ausbruch in Dänemark unterstrichen (SII 2020). Dabei wurden bei 104 Islandpferden (14 intakte männliche Tiere

und 90 Stuten) *T. equigenitalis* nachgewiesen. Insgesamt waren 700 Proben von 269 Pferden unterschiedlicher Rassen untersucht worden. Des Weiteren zeigten Parlevliet et al. (1997) in den Niederlanden bei der Untersuchung von Maidenstuten (6/13) und Zuchtstuten (48/94) verschiedener Rassen und mit unterschiedlichem Alter, dass *T. equigenitalis*-positive Tiere vorhanden sind. Es wurde bei 49% der Stuten *T. equigenitalis* mit Hilfe einer PCR nachgewiesen. Keine der untersuchten Stuten zeigte klinische Symptome. In derselben Untersuchung konnte bei 7 von 24 (29,2%) Stuten, die aus Island importiert und beprobt wurden bevor sie Kontakt zu Pferden in Kontinentaleuropa hatten, *T. equigenitalis* nachgewiesen werden. Daraus vermuteten Parlevliet et al. (1997), dass *T. equigenitalis* in der Pferdepopulation in Island präsent ist ohne klinische Anzeichen auszulösen. Zudem vermuteten Parlevliet et al. (1997) ein endemisches Auftreten von *T. equigenitalis* in der Pferdepopulation aufgrund der hohen nachgewiesenen Inzidenz von *T. equigenitalis*, dem Auftreten von symptomlosen Ausbrüchen, dem Auftreten von *T. equigenitalis* ohne klinische Probleme zu bereiten und dem Auftreten von symptomlosen kongenitalen Übertragungen. Ein endemisches Vorkommen von *T. equigenitalis* in Zentraleuropa wird auch von anderen Autoren vermutet (Timoney 2011; Schulman et al. 2013). Ebenso wurde eine mögliche Verbreitung von CEM in Frankreich in der Nicht-Vollblutpferdepopulation von Breuil et al. (2015) vermutet und die Etablierung eines CEM-Monitoringprogramms für die Nicht-Vollblutpferdezucht angeregt, auch wenn in den letzten drei Jahren vor der Veröffentlichung (in dem Zeitraum zwischen 2012 bis 2015) kein positives Tier mehr gemeldet wurde. Positive Tiere (3/12) wurden auch in Kroatien nachgewiesen und eine hohe Prävalenz vermutet (Štritof et al. 2017). Die Ergebnisse wurden in Verbindung gebracht mit niedrigen Konzeptionsraten bei kroatischen Pferden. Zudem wurde bei zwei der drei positiven Pferde *T. asinigenitalis* nachgewiesen. Demgegenüber berichtete Rocha (2016) aus Portugal, dass es zwar 2008 zu einem Ausbruch gekommen war, dieser aber vermutlich durch einen importierten Hengst ausgelöst wurde und lokal begrenzt war. Weitere 2000 durchgeführte Tests von Pferden im Zeitraum von 2008 bis 2016 waren dort negativ. Für Deutschland kann ein konstantes Auftreten der CEM anhand der offiziell gemeldeten Fälle gesehen werden. Es wurden zwischen 2018 und 2022 bis zu 61 Tiere pro Jahr (Mittelwert: 41,4) offiziell als *T. equigenitalis*-positiv gemeldet (FLI 2023). Auch Sting et al. (2016) untersuchten durch Genotypisierung, in Deutschland und Österreich auftretende, *T. equigenitalis* und *T. asinigenitalis* Isolate und vermuteten ebenfalls ein endemisches Auftreten von *T. equigenitalis* in zumindest bestimmten Pferdepopulationen in Deutschland.

Ein Unterschied zwischen der Gruppe der Islandpferdehengste und der Vergleichsgruppe besteht in den Haltungsbedingungen. Von den Betrieben, die die retrospektive Telefonumfrage beantworteten, gaben 100% der Islandpferde-Betriebe an Gruppenhaltung zu verwenden, während es bei den Vergleichsgruppen-Betrieben lediglich 24% waren. Eine längeres Überleben des Erregers und die Übertragung über die Umwelt, wie zum Beispiel durch Ruheplätze und Liegeflächen in

Laufhaltungsställen wurden, soweit bekannt, noch nicht beschrieben (Timoney et al. 1978a; Jacob 2022). Jedoch vermuteten Timoney und Powell (1982), dass eine Übertragung von *T. equigenitalis* auch durch kontaminierte Liegeflächen von positiven Muttertieren auf ihre Fohlen möglich sein könnte. Sie vermuteten außerdem, dass aufgrund der exponierten Lage der Genitalschleimhäute eine Übertragung auf Hengstfohlen wahrscheinlicher ist als auf Stutfohlen. Diese Schlussfolgerungen basieren auf einer retrospektiv durchgeführten Studie, bei der auf mögliche Übertragungswege rückgeschlossen wurde. Einen möglichen weiteren Übertragungsweg beschreiben Allombert et al. (2014). In Untersuchungen unter Laborbedingungen zeigten sie, dass *T. equigenitalis* in Amöben (*Acanthamoeba castellanii*) fähig war einen Zeitraum von 7 Tagen zu überleben. Deswegen stellten sie die Vermutung auf, dass dies eine potentielle Möglichkeit für *T. equigenitalis* sein könnte in der Umwelt zu überleben. Weitere Untersuchungen, ob die Haltungsbedingungen einen Einfluss auf eine Übertragung haben, könnten hilfreiche Informationen für eine Eindämmung von Infektionen liefern.

Unterschiede in der Invasions- und Replikationsfähigkeit verschiedener *T. equigenitalis* Stämme wurden von Bleumink-Pluym et al. (1996) für Untersuchungen in der Zellkultur beschrieben. Ein unterschiedliches Auftreten von verschiedenen Stämmen, mit einer unterschiedlichen Infektiosität bei verschiedenen Rassen könnte ebenfalls eine Erklärung für die spezifischen Prävalenzen bei den unterschiedlichen Rassen sein. Durch die Genotypisierung von *T. equigenitalis* Isolaten ist eine Differenzierung möglich, so dass Übertragungswege teilweise nachverfolgt werden können (Sting et al. 2016; Aalsburg und Erdman 2011). Für zahlreiche Ausbrüche weltweit konnte so auf mögliche Ursprungsorte rückgeschlossen werden (Sting et al. 2016). Sting et al. (2016) führten eine Untersuchung an Isolaten aus Deutschland und Österreich durch, wobei die meisten Isolate von Islandpferden, Süddeutschen Kaltblütern und Lipizzanern stammten. Aufgrund der hohen Anzahl an Genotypen, die in Deutschland nachgewiesen werden konnten, schlussfolgerten Sting et al. (2016), dass *T. equigenitalis* in manchen Pferdepopulationen endemisch ist. Eine genauere Untersuchung der Isolate bei den positiven Tieren in der eigens durchgeführten Studie wäre ebenfalls von großem Interesse.

Abhängig von der Pathogenität des *T. equigenitalis*-Stammes, wurde von Parlevliet et al. (1997) die von der CEM ausgehende Gefahr teilweise in Frage gestellt, beziehungsweise relativiert im Vergleich zu anderen Infektionserregern wie Streptokokken, Pseudomonaden, Pilzen oder Hefen. Neben einer unterschiedlichen Pathogenität der *T. equigenitalis*-Stämme (Bleumink-Pluym et al. 1996; Timoney 2011) kommt prinzipiell auch eine unterschiedliche Empfänglichkeit der Wirte gegenüber dem Erreger in Betracht. Untersuchungen hierzu sind aktuell nicht bekannt. Parlevliet et al. (1997) gehen von einer Empfänglichkeit aller Pferderassen gegenüber *T. equigenitalis* aus. Dies erscheint nachvollziehbar, weil *T. equigenitalis*-positive Tiere bei vielen Rassen beschrieben sind, wie zum Beispiel bei: Vollblutpferden, Islandpferden, Haflingerpferden, Kaltblutpferden, Warmblutpferden (Holsteinern,



Hannoveranern, Oldenburgern, Trakehnern), Lipizanern, Trabern, Arabische Vollblüter, Quarter Horses, Przewalski Pferde, Friesen, New Forest und Welsh Ponys (Sting et al. 2016; Parlevliet et al. 1997).

Bei der weiteren Betrachtung der *T. equigenitalis*-positiven Ergebnisse bei den untersuchten Rassen fällt auf, dass kein einziger positiver Haflingerpferdehengst nachgewiesen wurde. Eine eindeutige Erklärung für dieses Ergebnis ließ sich nicht finden. Die Gewinnung von Studienteilnehmern durch eine willkürliche Stichprobe und somit nicht die Verwendung einer randomisierten, repräsentativen Stichprobenauswahl könnte einen Einfluss auf das Ergebnis gehabt haben. Die Probenentnahme und Auswertung wurde standardisiert für alle Tiere gleich durchgeführt, weshalb dies als Einflussfaktor ausgeschlossen wird. Eine Auffälligkeit bestand darin, dass ein Großteil der Haflingerpferdehengste zu einem Zuchtverband gehörte. Aber auch hier ließ sich keine Erklärung, wie die Verwendung von routinemäßigen Testregimen, als Ursache ausmachen. Einen Einfluss auf die Ergebnisse könnte die niedrige Anzahl an Nichtzuchttieren (Tiere, die noch nie in der Zucht eingesetzt worden sind) innerhalb der Haflingerhengste (n=5) im Vergleich zu Islandpferdehengsten (n=48) und Kaltblutpferdehengsten sein (n=27). In der Studie wurden die *T. equigenitalis*-positiven Hengste überwiegend in der Gruppe der Nichtzuchttiere nachgewiesen. Bei den Kaltblutpferdehengsten waren 100% (4/4) der positiven Tiere Nichtzuchttiere und bei den Islandpferdehengsten waren es 87% (20/23). Um diese Besonderheit der Gruppe der Haflingerpferdehengste zu berücksichtigen, wurde eine Analyse mit dem FET auch ohne Haflingerpferdehengste durchgeführt. Trotzdem zeigten sich signifikant höhere Chancen für ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis bei den Islandpferdehengsten (FET Islandpferdehengste/Kaltblutpferdehengste OR=5.04, 95% CI: 1.56-21.5, p=0.004). Wie im vorherigen Absatz beschrieben, sind *T. equigenitalis*-positive Haflinger allerdings möglich und es wird nicht von einer verringerten Empfänglichkeit von Haflingern gegenüber *T. equigenitalis* aufgrund dieser Ergebnisse ausgegangen.

Ein weiteres Resultat dieser Untersuchung ist das signifikant geringere Auftreten von *T. equigenitalis*-positiven Tieren in der Gruppe der Zuchttiere im Vergleich zu den Nichtzuchttieren (MELR Zuchttiere/Nichtzuchttiere OR= 0.09, CI: 0.01-0.54, p=0.009). Diese Beobachtung ist erst einmal unerwartet bei einer venerisch übertragbaren Krankheit und könnte auch eine grundsätzlich unterschiedliche Behandlung der Gruppe von Zuchttieren und Nichtzuchttieren durch die Züchter und Besitzer widerspiegeln. Die Ursache könnte darin liegen, dass Zuchttiere im Vergleich zu Nichtzuchttieren vermehrt getestet werden. Ein weiterer Grund könnte sein, dass *T. equigenitalis*-positive Zuchttiere durch eine verminderte Fertilität im Gegensatz zu Nichtzuchttieren auffallen. Nachfolgende Maßnahmen wie Behandlungen oder der Ausschluss aus der Zucht würden somit die Häufigkeit des Auftretens von *T. equigenitalis* in den beiden Gruppen beeinflussen und könnten die Ergebnisse erklären. In der durchgeführten Telefonumfrage gaben allerdings von allen Besitzern, die

an der Umfrage teilgenommen hatten, nur 33,33% an regelmäßige Tests durchzuführen. Lediglich bei 8,33% der Betriebe ist schon einmal ein *T. equigenitalis*-positives Tier aufgefallen. Somit kann die Beeinflussung der Ergebnisse auf Grund von durchgeführten Tests oder die Behandlung von positiven Tieren als gering eingeschätzt werden. Durch die Aufteilung der Tiere in Nichtzuchttiere, die noch nie in der Zucht eingesetzt wurden, und Zuchttiere, die schon mindestens einmal in der Zucht eingesetzt wurden, gehen wir davon aus, dass eine Beeinflussung der Ergebnisse durch das Herausnehmen von *T. equigenitalis*-positiven Tieren aus der Zucht unwahrscheinlich ist.

Andere Übertragungswege als der venerische könnten ebenfalls eine Erklärung für das signifikant vermehrte Auftreten von *T. equigenitalis* in der Gruppe der Nichtzuchttiere sein. Von Timoney und Powell (1982) wurde die Vermutung einer intrauterinen oder peripartalen Übertragung aufgestellt. Diese basierte auf der Betrachtung des CEM-Status von Stut- und Hengstfohlen sowie deren Elterntieren. Dieser Übertragungsweg erscheint denkbar für die in der vorliegenden Studie untersuchten Tiere. Ein großer Anteil von positiven Tieren in der Untersuchung hatte ein relativ junges Alter, wie in der Figure 1 (Grabatin et al. 2024) des Kapitels 3.2 Veröffentlichung gesehen werden kann. Diese Tatsache könnte mit einer peripartalen Übertragung einhergehen. Es war nicht möglich und nicht Ziel der Studie für die *T. equigenitalis*-positiven Tiere Informationen über den CEM-Status der Muttertiere zu bekommen, um eine mögliche Übertragung nachzuvollziehen. Ebenfalls wurde das Auftreten weniger *T. equigenitalis*-positiver junger Hengste durch Timoney (2011) beschrieben.

Mangelnde Hygiene oder eine iatrogene Übertragung sind ebenfalls beschriebene, mögliche Übertragungswege. So kann eine Übertragung mit kontaminierten vaginalen Spekula, Schweifbandagen und Gegenständen, die bei der Untersuchung des weiblichen Reproduktionstrakts Verwendung finden, künstlichen Scheiden, Wascheimern und Phantomen erfolgen (Crowhurst 1977; Swerczek 1978a; Timoney 2011). Vereinzelt auftretende *T. equigenitalis*-positive junge Hengste, die nicht in der Zucht eingesetzt worden waren, nicht in einem Betrieb geboren wurden, der von CEM betroffen war, oder bekannt positive Mutterstuten gehabt hatten, sind auch von Timoney (2011) beschrieben. Dieser sieht eine mögliche Erklärung für ein derartiges Auftreten in dem von Timoney und Powell (1982) postulierten Übertragungsweg über Schwämme und Waschutensilien. Ein Waschen der externen Genitalien ist in manchen Trainingsställen vor dem Einsatz im Rennsport üblich (Timoney und Powell 1982). Derartige Übertragungswege können für die positiven Fälle in dieser Untersuchung nicht ausgeschlossen werden. Allerdings erscheint diese Art der Übertragung relativ unwahrscheinlich, weil viele der Tiere jüngeren Alters sind und noch nie in der Zucht eingesetzt wurden und die Praxis von standardmäßigen Waschungen nicht bekannt ist. Bei derartigen Übertragungswegen als Ursache wäre ein vermehrtes Auftreten von *T. equigenitalis* bei den Zuchttieren und älteren Tieren zu erwarten, weil bei diesen Gruppen über die Zeit eine höhere Chance einer derartigen Übertragung zu erwarten

wäre. Somit ist es unwahrscheinlich, dass eine Übertragung durch eine Untersuchung oder Samengewinnung stattgefunden hat.

Ein Übertragungsweg über die Umwelt könnte ebenfalls eine Erklärung liefern für das vermehrte Auftreten von *T. equigenitalis*-positiven Tieren in der Gruppe der Nichtzuchttiere. Wie in einem vorherigen Abschnitt der Diskussion ausführlich erläutert, ist ein derartiger Übertragungsweg noch nicht beschrieben (Timoney et al. 1978a; Jacob 2022). Jedoch wurde von anderen Autoren eine Übertragung von *T. equigenitalis* auf Fohlen durch Kontakt mit kontaminierten Ruheplätzen für potentiell möglich erachtet (Timoney und Powell 1982). Auch die Beobachtung von Allombert et al. (2014) über die Überlebensmöglichkeit von *T. equigenitalis* in Amöben (*Acanthamoeba castellanii*) wurde bereits in einem vorherigen Abschnitt der Diskussion ausführlich beschrieben und als einen potentiellen Weg für ein Überleben von *T. equigenitalis* in der Umwelt diskutiert. Sollte eine derartige Übertragung möglich sein, müssten strengere Hygienemaßnahmen in den Zuchtbetrieben erfolgen. Die Betriebe sollten alle Tiere auf *T. equigenitalis* testen und, wenn positive Tiere nachgewiesen werden, eine strikte räumliche Trennung einhalten und/oder eine Behandlung der *T. equigenitalis*-positiven Tiere durchführen. Wegen dieses erheblichen zeitlichen und finanziellen Mehraufwandes wären Untersuchungen zu diesem Übertragungsweg von großem Interesse.

Die Beobachtung, dass *T. equigenitalis*-positive Hengste vermehrt in der Gruppe der Nichtzuchttiere nachgewiesen wurden, sollte bei der epidemiologischen Betrachtung der CEM berücksichtigt werden. Geht man für die in Deutschland gemeldeten Fälle davon aus, dass überwiegend Zuchttiere aufgrund von Routine-Tests oder Problemen in der Zucht, wie Unfruchtbarkeit, getestet werden und dem gegenüber wahrscheinlich häufig keine Notwendigkeit bei symptomlosen Nichtzuchttieren gesehen wird, könnten die Ergebnisse dieser Untersuchung auf ein häufigeres Auftreten als die offiziellen Zahlen vermuten lassen hinweisen. Weitere Untersuchungen anderer Übertragungswege als den venerischen sowie die Untersuchung von CEM bei Nichtzuchttieren einschließlich Maidenstuten und Wallachen sowie deren mögliche Rolle bei der Verbreitung des Erregers wären von Interesse.

Bei der durchgeführten Studie handelt es sich um eine Querschnittsstudie mit dem Ziel die Prävalenz von *T. equigenitalis* in den untersuchten Gruppen zu erheben und diese in Abhängigkeit von weiteren Merkmalen zu untersuchen (Harms 2012). Das angewendete Studiendesign und die Stichprobenauswahl müssen allerdings bei der Beurteilung der Daten berücksichtigt werden. Es wurde eine willkürliche Stichprobe untersucht, wobei diese nicht notwendigerweise die Gesamtpopulation repräsentiert. Untersucht wurden Tiere von Besitzern, die sich auf einen Aufruf hin gemeldet hatten, sowie Tiere aus dem Patientenpool der Klinik für Pferde der LMU München. Tiere, die wegen Erkrankungen des Reproduktionstraktes vorgestellt wurden, sind nicht getestet worden. Die untersuchte Gruppe besteht somit aus Pferden von Besitzern, die ein gewisses Interesse an der CEM

und einer Studienteilnahme haben, sowie aus Pferden von Patientenbesitzern, die ihre Pferde in der Klinik für Pferde der LMU München aus anderen Gründen vorgestellt haben. Durch diese willkürliche Stichprobenauswahl lassen sich nur eingeschränkt Rückschlüsse auf die tatsächlichen Populationen von Islandpferde-, Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten ziehen. Weiterführende Untersuchungen einer repräsentativen Stichprobe der Population von Islandpferde-, Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten im untersuchten Gebiet sind notwendig, um die Beobachtungen dieser Studie zu bestätigen.

Bei der Auswertung der Daten hat sich eine Konzentration von positiven Tieren auf einzelnen Betrieben gezeigt. Zusätzliche Informationen über die intakten männlichen Tiere und Betriebsstrukturen wären für eine weitergehende epidemiologische Aufarbeitung nötig. Durch eine Telefonumfrage wurde versucht weitere Informationen zu sammeln, um Rückschlüsse ziehen zu können. Dabei konnte von 63,16% der Stallbetreiber oder Besitzern der Studienteilnehmer Informationen über den Betrieb, die Betriebsgröße, die gehaltenen Rassen, die Unterbringungsart, über CEM-Ausbrüche und deren Behandlungen, CEM-Testungen und weitere Krankheitsausbrüche und deren Behandlungen (Antibiose) gesammelt werden. Die Qualität und Quantität der erhobenen Informationen variierte sehr zwischen den Besitzern und Betrieben. Ein zeitlicher Versatz zwischen Probennahme und Telefonumfrage ist zudem ein zu diskutierender Einflussfaktor auf die gesammelten Informationen. Somit konnten nur eingeschränkte Rückschlüsse aus diesen Informationen gezogen werden. Repräsentative Untersuchungen von gesamten Betriebspopulationen und der Vergleich von möglichen Einflussfaktoren, wie Haltungsbedingungen und Betriebsstrukturen, zwischen positiven und negativen Ställen wäre sehr interessant und könnte praktische Informationen für die Vermeidung von Ansteckungen liefern.

Die durchgeführte Studie lässt ein vermehrtes Auftreten von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten vermuten. In den untersuchten Gruppen gab es eine signifikant höhere Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Zudem konnte ein signifikant vermehrtes Auftreten von *T. equigenitalis* in der untersuchten Gruppe der Tiere, die noch nie in der Zucht eingesetzt worden waren, im Gegensatz zu den Tieren, die bereits in der Zucht eingesetzt worden waren, gezeigt werden. Bemerkenswert ist auch die Beobachtung, dass sich häufig auf *T. equigenitalis*-positiven Betrieben zwischen 40% und 50% der getesteten Hengste *T. equigenitalis*-positiv waren. Aufgrund dieser Ergebnisse sollte eine Untersuchung auf *T. equigenitalis* vor jedem Zuchteinsatz unabhängig von der Zuchtmethode in Betracht gezogen werden. Sogar die Untersuchung von Tieren, die nicht im Zuchteinsatz sind, aber Kontakt zu Zuchttieren haben, sollte in Erwägung gezogen werden. Umfassendere Untersuchungen zum Vorkommen von *T. equigenitalis* in der Islandpferdepopulation wären von großem Interesse. Eine Untersuchung und Genotypisierung der

auftretenden *T. equigenitalis* Stämme bei verschiedenen Rassen zusammen mit dem Vergleich der klinischen Symptome könnte zudem weitere Informationen liefern.



## 5 Zusammenfassung

Die kontagiöse Equine Metritis ist eine Deckseuche, die durch das Bakterium *T. equigenitalis* verursacht wird (Platt et al. 1977; Sugimoto et al. 1983). Infizierte Hengste sind symptomlose Träger und Überträger von *T. equigenitalis* auf Zuchtstuten, die daraufhin klinische Symptome entwickeln können (Schlüter et al. 1991; Timoney 2011). Klinisch unauffällige Trägertiere sind aber auch bei Stuten beschrieben (Timoney 2011). Der Erreger besiedelt die Schleimhaut des Genitaltraktes und kann dort zum Teil noch nach Jahren nachgewiesen werden (Timoney 1996). Bei Stuten kann eine Erkrankung zu subklinischen Verläufen bis hin zu schweren Entzündungen des Reproduktionstraktes führen (Timoney 1996). Dies kann eine vorübergehende Infertilität zur Folge haben und auch das Auslösen von Aborten wird vermutet (Nakashiro et al. 1981; Timoney 1996). Die Übertragung des Erregers kann direkt während des Deckaktes erfolgen aber auch eine indirekte Übertragung über Infektionsträger ist möglich (Timoney 2011). Eine intrauterine oder peripartale Übertragung wird ebenfalls vermutet (Timoney und Powell 1982). Ausbrüche von CEM können einen hohen finanziellen Schaden anrichten. (Holden 1978; Timoney 2011). Aufgrund der subjektiven Wahrnehmung einer Häufung von *T. equigenitalis*-positiven Islandpferden und Anfragen von Islandpferdezüchtern und -besitzern im Zusammenhang mit CEM ergab sich die Fragestellung nach der Prävalenz von *T. equigenitalis* in der Islandpferdepopulation im süddeutschen Raum.

In der Studie wurde die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten und einer Vergleichsgruppe bestehend aus Haflingerpferde- und Kaltblutpferdehengsten untersucht. Die Hypothese war, dass die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten höher ist als in der Vergleichsgruppe. Bei der Probennahme wurden Informationen über Zuchteinsatz und Alter der Hengste gesammelt. In einer nachträglichen Telefonumfrage wurden weitere Informationen über die untersuchten Hengste und deren Haltungsbedingungen gesammelt.

Es wurden von 76 Islandpferde-, 35 Haflingerpferde- und 51 Kaltblutpferdehengsten Proben von der *Fossa glandis*, der *Urethra* und dem Penischaft genommen. Die Proben wurden überwiegend in den Heimatställen gesammelt. Ein kleiner Teil der Proben kam von Hengsten, die in der Klinik für Pferde der LMU München vorstellig waren, ausgenommen aufgrund von Erkrankung des Reproduktionstraktes. Jeder Tupfer wurde in einem Reaktionsgefäß mit 400µl steriler NaCl-Lösung 0,9% aufbewahrt, gekühlt in das Labor der Klinik für Pferde der LMU München transportiert und dort bei -80°C gelagert. Die Extraktion der DNA erfolgte mit dem DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Venlo, Netherlands) entsprechend der Herstellerangaben. Die von Wakeley et al. (2006) entwickelte qPCR wurde für den Nachweis von *T. equigenitalis* geringfügig modifiziert verwendet. Mittelwerte, Mediane, Standardabweichungen, Interquartilsabstände und Prozentsätze wurden mit Microsoft Excel (Mac Version 16.76, 2023) errechnet. Mit dem Shapiro-Wilk Test wurde das Alter der Tiere auf

Normalverteilung geprüft. Die Chancen für ein positives Ergebnis wurden mit dem FET (fisher.test stats version 3.6.2.) und der MELR mit den Farmen als Random Effekt (glmer (lme4\_1.1-35.1)) analysiert. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm R Version 4.3.1. (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) durchgeführt.

Bei den insgesamt 162 in die Studie aufgenommenen Hengsten, konnten signifikant höhere Chancen für ein *T. equigenitalis*-positives qPCR-Ergebnis bei Islandpferdehengsten (n=23) im Vergleich zu der Vergleichsgruppe (n=4) nachgewiesen werden (MELR Islandpferdehengste/Vergleichsgruppe OR= 6.42, 95% CI: 1.43-28.8, p=0.015). Es konnten zudem signifikant geringere Chancen für ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis bei der Gruppe der Tiere, die bereits im Zuchteinsatz gewesen sind, nachgewiesen werden im Vergleich zu den Tieren, die noch nicht im Zuchteinsatz waren (MELR Zuchttiere/Nichtzuchttiere OR= 0.09, CI: 0.01-0.54, p=0.009). Ein Einfluss des Alters der Tiere auf die Chancen für ein positives *T. equigenitalis* Ergebnis wurde nicht festgestellt (MELR 1.5-7.0 Jahre/8.0-26.0 Jahre OR= 0.51, 95% CI: 0.09-2.83, p=0.440).

Der subjektive Eindruck, dass die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferdehengsten höher ist als bei der Vergleichsgruppe, konnte für die untersuchten Tiere bestätigt werden. Das Auftreten von *T. equigenitalis* bei Islandpferden wurde auch in einer Studie von Parlevliet et al. (1997) beschrieben und zeigte sich zudem in einem großen Ausbruch 2020 in Dänemark (SII 2020). Für die Nicht-Vollblutpferdepopulation im zentraleuropäischen Raum ist die Vermutung eines endemischen Vorkommens von *T. equigenitalis* beschrieben (Schulman et al. 2013; Timoney 2011). Die Zahlen des Tiergesundheitsjahresberichts (FLI 2023) lassen ebenfalls ein endemisches Auftreten von *T. equigenitalis* in Deutschland vermuten. Um mögliche Ursachen der unterschiedlichen Prävalenzen in den untersuchten Gruppen und den Betrieben zu untersuchen, wurde eine retrospektive Telefonumfrage durchgeführt. Es wurden Informationen über den Betrieb, die Betriebsgröße, die gehaltenen Rassen, die Unterbringungsart, über CEM-Ausbrüche und deren Behandlungen, CEM-Testungen und weitere Krankheitsausbrüche und deren Behandlungen abgefragt. Dabei konnte keine Erklärung für die hohe Prävalenz bei den untersuchten Islandpferdehengsten ausgemacht werden. Mögliche Gründe für das unterschiedliche Auftreten von *T. equigenitalis* zwischen den Pferderassen könnten in unterschiedlichen Haltungsbedingungen, aber auch in verschiedenen *T. equigenitalis* Stämmen liegen. Bleumink-Pluym et al. (1996) konnten Unterschiede in der Infektiosität zwischen den *T. equigenitalis* Stämmen nachweisen und vermuteten stammspezifische Virulenzen. Weiterführende Studien, die die Unterschiede zwischen den Gruppen untersuchen und eine Genotypisierung der Stämme in den unterschiedlichen Rassen durchführen, wären von Interesse.

Die signifikant niedrigeren Chancen von Hengsten, die bereits in der Zucht eingesetzt wurden im Vergleich zu Hengsten ohne Zuchteinsatz, *T. equigenitalis*-positiv zu sein, waren bemerkenswert und



lassen andere Übertragungswege als den klassisch venerischen vermuten. In den untersuchten Fällen standen nicht genug Informationen zur Verfügung, um den Weg möglicher Übertragungen nachzuvollziehen. Es sollten Folgeuntersuchungen der Prävalenz nicht nur bei Hengsten, sondern auch bei Wallachen und Stuten durchgeführt werden. Auch wären weitere Untersuchungen über die Übertragungswege bei Nichtzuchttieren von Interesse.

Die Akquirierung der untersuchten Tiere durch eine willkürliche Stichprobenauswahl stellt eine Einschränkung dieser Untersuchung dar. Weiterführende Studien, die eine repräsentative Stichprobe der Islandpferdehengste und Hengsten der Vergleichsgruppen testen, sind notwendig, um eine gesicherte Aussage treffen zu können.

Aufgrund der Beobachtungen in dieser Studie sollte eine Testung auf *T. equigenitalis* vor jedem Zuchteinsatz unabhängig von der Zuchtmethode erfolgen. Zudem sollte auch die Testung von Nichtzuchttieren, die Kontakt zu Zuchttieren haben, in Betracht gezogen werden.



## 6 Summary

Contagious equine metritis (CEM) is a venereal disease caused by the bacterium *Taylorella equigenitalis* (*T. equigenitalis*) (Platt et al. 1977; Sugimoto et al. 1983). Infected stallions are subclinical carriers and transmit the disease to brood mares, which then might develop clinical signs (Schlüter et al. 1991; Timoney 2011). Subclinical carrier animals can also occur in mares (Timoney 2011). *Taylorella equigenitalis* colonizes the mucous membrane of the urogenital tract and can be detected up to several years after infection in some animals (Timoney 1996). In mares, an infection can be subclinical but can also cause severe inflammation of the reproductive tract, leading to short time infertility and potentially abortion (Nakashiro et al. 1981; Timoney 1996). Transmission of *T. equigenitalis* can occur directly during natural cover, but also indirectly via fomites (Timoney 2011). Intrauterine or periparturient transmission is also suspected (Timoney und Powell 1982). Outbreaks of CEM can cause high financial losses in the breeding industry (Holden 1978; Timoney 2011). In recent years, an increase of *T. equigenitalis*-positive Icelandic horses especially in Southern Germany could be observed. Additionally, Icelandic horse breeders and owners had several requests regarding CEM. This sparked interest regarding the actual prevalence of *T. equigenitalis* in the Icelandic horse population in Southern Germany.

In this study, the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic horse intact males (ICE) and a comparative group (COM) consisting of Haflinger- and Draft horse intact males was investigated. Our hypothesis was that *T. equigenitalis* has a higher prevalence in ICE compared to COM. Information about breeding use and age of the tested intact males was recorded. In a retrospective telephone survey further information about the investigated intact males and their housing conditions were collected.

Samples from 76 ICE, 35 Haflinger- and 51 Draft horse intact males which were taken from *urethral fossa*, *urethra* and penile sheath were usually collected at the home farms. A small part of samples was collected from intact males upon presentation to the Equine Clinic (LMU Munich) for other purposes than problems of the reproductive tract. Samples were placed in 400µl sterile NaCl 0,9% and transported on ice to the laboratory of the Equine Clinic (LMU Munich). There they were stored at minus 80C° until further analysis. DNA was extracted with the DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Venlo, Netherlands) according to the manufacture's manual. A qPCR established by Wakeley et al. (2006) was used for detection of *T. equigenitalis*. Mean, median, standard deviation, interquartile range and percentages were calculated by Microsoft Excel (Mac Version 16.76, 2023). The age of the animals was assessed for normality using the Shapiro-Wilk test. Odds for a *T. equigenitalis*-positive result were calculated using the FET (fisher.test stats version 3.6.2.) and the multivariable mixed effect logistic regression with farms as random effect (MELR) (glmer (lme4\_1.1-35.1)). Statistical analysis was

carried out using the Program R Version 4.3.1. (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

In total, 162 intact males were included in the study. A significant higher odds of a *T. equigenitalis*-positive qPCR result was shown in ICE compared to COM (MELR ICE/COM OR= 6.42, 95% CI: 1.43-28.8,  $p=0.015$ ). In addition, significant lower odds of a *T. equigenitalis*-positive qPCR result were detected for active breeding animals (ABA, animals that had already been used for breeding) compared to non-breeding animals (NBA, animals that had never been used for breeding) (MELR ABA/NBA OR= 0.09, CI: 0.01-0.54,  $p=0.009$ ). Age had no influence on the odds for a *T. equigenitalis*-positive test result (MELR 1.5-7.0 years/8.0-26.0 years OR= 0.51, 95% CI: 0.09-2.83,  $p=0.440$ ).

The subjective impression of a higher prevalence of *T. equigenitalis*-positive intact males in ICE compared to COM could therefore be proven for the investigated animals. The occurrence of *T. equigenitalis* in Icelandic horses is also described by a study of Parlevliet et al. (1997) and confirmed in a major outbreak of CEM 2020 in Denmark (SII 2020). *Taylorella equigenitalis* is also assumed to be endemic in Central Europe in the non-Thoroughbred population (Timoney 2011; Schulman et al. 2013). The numbers of *T. equigenitalis*-positive recorded horses at the animal health annual report (FLI 2023) also suggest an endemic occurrence of *T. equigenitalis* in Germany. To investigate possible reasons of the different prevalence in the investigated groups and farms a retrospective telephone survey was performed. Information about the farm, the size of the farm, the breeds kept at the farm, the type of animal housing, about earlier CEM outbreaks and treatments, CEM testing and other disease outbreaks and treatments (antibiotics) was requested. An explanation for the higher prevalence in the investigated ICE could not be found based on the answers. Possible causes for the different prevalence of *T. equigenitalis* in the groups might be caused by their housing conditions but could also be due to different strains of *T. equigenitalis*. Bleumink-Pluym et al. (1996) were able to show differences in infectiousness between *T. equigenitalis* strains and assumed variations in the virulence. Further studies, investigating differences between those groups and genotyping the occurring strains would be of interest.

The significantly lower odds of *T. equigenitalis*-positive test results in ABA compared to NBA are surprising due to the commonly suspected venereal transmission. Other ways of transmission could therefore be discussed for the group of NBA. In the investigated cases there was not enough information available to trace the way of transmission. Follow up studies should investigate the prevalence of *T. equigenitalis* not only in stallions but also in geldings and mares. Further, additional transmission routes should be investigated, particularly in non-breeding animals.

A limitation of the study is the recruitment of the investigated animals through convenience sampling. Further studies investigating a more representative sample for the entire Icelandic population and comparative groups, are necessary.

Based on the observations in this study, testing for *T. equigenitalis* should be performed in stallions and mares before breeding, regardless of the breeding method used. In addition, non-breeding stallions should also be tested if they have contact with breeding animals.



## 7 Literaturverzeichnis

Aalsburg, A. M.; Erdman, M. M. (2011): Pulsed-field gel electrophoresis genotyping of *Taylorella equigenitalis* isolates collected in the United States from 1978 to 2010. In: *Journal of clinical microbiology* 3), S. 829–833. DOI: 10.1128/jcm.00956-10.

Acland, H. M.; Kenney, R. M. (1983): Lesions of contagious equine metritis in mares. In: *Veterinary pathology* 20 (3), S. 330–341. DOI: 10.1177/030098588302000309.

Allombert, J.; Vianney, A.; Laugier, C.; Petry, S.; Hébert, L. (2014): Survival of *taylorellae* in the environmental amoeba *Acanthamoeba castellanii*. In: *BMC microbiology* 14, S. 69. DOI: 10.1186/1471-2180-14-69.

Anzai, T.; Kamada, M.; Niwa, H.; Eguchi, M.; Nishi, H. (2012): Contagious equine metritis eradicated from Japan. In: *The Journal of veterinary medical science* (Vol. 74 (4)), S. 519–522. DOI: 10.1292/jvms.11-0347;

Båverud, V.; Nyström, C.; Johansson, K.-E. (2006): Isolation and identification of *Taylorella asinigenitalis* from the genital tract of a stallion, first case of a natural infection. In: *Veterinary Microbiology* 116 (4), S. 294–300. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.04.027.

Benson, J. A.; Dawson, F. L.; Durrant, D. S.; Edwards, P. T.; Powell, D. G. (1978): Serological response in mares affected by contagious equine metritis 1977. In: *The Veterinary record* 102 (13), S. 277–280. DOI: 10.1136/vr.102.13.277.

Bleumink-Pluym, N. M.; Werdler, M. E.; Houwers, D. J.; Parlevliet, J. M.; Colenbrander, B.; van der Zeijst, B. A. (1994): Development and Evaluation of PCR Test for Detection of *Taylorella equigenitalis*. In: *Journal of clinical microbiology* 32 (4), S. 893–896. DOI: 10.1128/jcm.32.4.893-896.1994.

Bleumink-Pluym, N. M. C.; Laak, E. A. ter; Houwers, D. J.; van der Zeijst, B. A. (1996): Differences between *Taylorella equigenitalis* Strains in Their Invasion of and Replication in Cultured Cells. In: *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 3 (1), S. 47–50. DOI: 10.1128/cdli.3.1.47-50.1996.

Breuil, M. F.; Duquesne, F.; Sévin, C.; Laugier, C.; Petry, S. (2010): Indirect immunofluorescence test using polyclonal antibodies for the detection of *Taylorella equigenitalis*. In: *Research in veterinary science* 88 (3), S. 369–371. DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.11.003.

Breuil, M.-F.; Duquesne, F.; Leperchois, E.; Laugier, C.; Ferry, B.; Collin, G.; Petry, S. (2015): Contagious equine metritis cases reported in France since 2006. In: *The Veterinary record* 177 (13), S. 340. DOI: 10.1136/vr.103349.

Commission Delegated Regulation (EU) 2020/686; Annex II; Part 4; Chapter I.

Crowhurst, R. C. (1977): Genital infection in mares. In: *The Veterinary record* (Vol. 100 (22)), S. 476.

Croxton-Smith, P.; Benson, J. A.; Dawson, F. L.; Powell, D. G. (1978): A complement fixation test for antibody to the contagious equine metritis organism. In: *The Veterinary record* 103 (13), S. 275–278. DOI: 10.1136/vr.103.13.275.

Deutscher Galopp e.V. (Hg.): Stationen eines Vollblüters. Online verfügbar unter <https://www.deutscher-galopp.de/gr/galopprennsport/das-vollblut/stationen-eines-vollblueters.php>, zuletzt geprüft am 15.09.2024.

FEIF (2023): General Rules and Regulations, Breeding Rules and Regulations. Hg. v. International Federation Of Icelandic Horse Associations. Online verfügbar unter [https://www.feiffengur.com/documents/FEIF%20Breeding\\_2023.pdf](https://www.feiffengur.com/documents/FEIF%20Breeding_2023.pdf), zuletzt geprüft am 30.04.2023.

FLI (2023): Tiergesundheitsjahresbericht 2022. Unter Mitarbeit von T. Homeier-Bachmann und H. Knittler. Hg. v. Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Online verfügbar unter <https://www.fli.de/de/publikationen/tiergesundheitsjahresberichte/>, zuletzt geprüft am 23.09.2024.

Grabatin, M.; Fux, R.; Zablotzki, Y.; Goehring, L. S.; Witte, T. S. (2024): *Taylorella equigenitalis* in Icelandic intact males compared with other horse breeds using natural cover. In: *Equine veterinary journal*. DOI: 10.1111/evj.14121.

Harms, V. (2012): Medizinische Statistik. Eine leicht verständliche Einführung ; [nach dem Gegenstandskatalog für die 2. Ärztliche Prüfung]. 8., völlig neu bearbeitete Auflage. Lindhöft: Harms Verlag.

HBLB (2023): International Codes of Practice 2023. Code of Practice for Contagious equine metritis (CEM), Klebsiella Pneumoniae and Pseudomonas Aeruginosa. Hg. v. Horserace Betting Levy Board.

Hébert, L.; Moumen, B.; Duquesne, F.; Breuil, M.-F.; Laugier, C.; Batto, J.-M. et al. (2011): Genome sequence of *Taylorella equigenitalis* MCE9, the causative agent of contagious equine metritis. In: *Journal of bacteriology* 193 (7), S. 1785. DOI: 10.1128/jb.01547-10.

Holden, C. (1978): Outbreak of Equine VD Stirrs Fear in Kentucky. In: *Science* 200 (4338), S. 181–185. Online verfügbar unter <http://www.jstor.org.emedien.ub.uni-muenchen.de/stable/1745725>.

IPZV e.V. (2011): Das 1 x 1 der deutschen Islandpferde-Zucht. Unter Mitarbeit von Maria-Magdalena Siepe-Gunkel. Hg. v. Islandpferde- Reiter- und Züchterverband e.V. Online verfügbar unter <https://www.ipzv.de/zucht.html>, zuletzt geprüft am 30.04.2023.

IPZV e.V. (2023): Zuchtordnung Islandpferde- Reiter- und Züchterverband IPZV e.V. Hg. v. Islandpferde- Reiter- und Züchterverband e.V. Online verfügbar unter <https://www.ipzv.de/zucht.html>, zuletzt geprüft am 30.04.2023.



Jacob, M. E. (2022): Taylorella. In: D. Scott McVey, Melissa Kennedy, M. M. Chengappa und Rebecca Wilkes (Hg.): *Veterinary Microbiology*: Wiley, S. 187–191.

Jang, S. S.; Donahue, J. M.; Arata, A. B.; Goris, J.; Hansen, L. M.; Earley, D. L. et al. (2001): *Taylorella asinigenitalis* sp. nov., a bacterium isolated from the genital tract of male donkeys (*Equus asinus*). In: *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 51 (Pt 3), S. 971–976. DOI: 10.1099/00207713-51-3-971.

Jeoung, H.-Y.; Lee, K.-E.; Yang, S.-J.; Park, T.; Lee, S. K.; Lee, J.-H. et al. (2016): First Isolation of *Taylorella equigenitalis* From Thoroughbred Horses in South Korea. In: *Journal of Equine Veterinary Science* 47, S. 42–46. DOI: 10.1016/j.jevs.2016.07.022.

Katz, J. B.; Evans, L. E.; Hutto, D. L.; Schroeder-Tucker, L. C.; Carew, A. M.; Donahue, J. M.; Hirsh, D. C. (2000): Clinical, bacteriologic, serologic, and pathologic features of infections with atypical *Taylorella equigenitalis* in mares. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 216 (12), S. 1945–1948. DOI: 10.2460/javma.2000.216.1945.

Klein, C.; Donahue, J. M.; Sells, S. F.; Squires, E. L.; Timoney, P. J.; Troedsson, M. H. T. (2012): Effect of antimicrobial-containing semen extender on risk of dissemination of contagious equine metritis. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 241 (7), S. 916–921.

Kristula, M. A.; Smith, B. I. (2004): Diagnosis and treatment of four stallions, carriers of the contagious metritis organism—case report. In: *Theriogenology* 61 (2-3), S. 595–601.

Luddy, S.; Kutzler, M. A. (2010): Contagious Equine Metritis Within the United States: A Review of the 2008 Outbreak. In: *Journal of Equine Veterinary Science* 30 (8), S. 393–400. DOI: 10.1016/j.jevs.2010.07.006.

LVBP (2019): Zuchtprogramm für die Rasse Edelbluthaflinger des Landesverbands Bayerischer Pferdezüchter e.V. Hg. v. Landesverband Bayerischer Pferdezüchter e.V. Online verfügbar unter [https://www.bayerns-pferde.de/content/uploads/21052019\\_ZP\\_Haflinger\\_VÖ-2.pdf](https://www.bayerns-pferde.de/content/uploads/21052019_ZP_Haflinger_VÖ-2.pdf), zuletzt geprüft am 29.09.2024.

LVBP (2020): Zuchtprogramm für die Rasse Süddeutsches Kaltblut des Landesverbands Bayerischer Pferdezüchter e.V. Hg. v. Landesverband Bayerischer Pferdezüchter e.V. Online verfügbar unter [https://www.bayerns-pferde.de/wp-content/uploads/290120\\_ZP\\_SK.pdf](https://www.bayerns-pferde.de/wp-content/uploads/290120_ZP_SK.pdf), zuletzt geprüft am 01.05.2023.

LVBP (2022): Zuchtprogramm für die Rasse des Haflingers des Landesverbands Bayerischer Pferdezüchter e. V. Hg. v. Landesverband Bayerischer Pferdezüchter e.V. Online verfügbar unter <https://www.bayerns-pferde.de/wp->

[content/uploads/2022/07/Zuchtprogramm\\_HA\\_Beschluss\\_Maerz\\_2022.pdf](content/uploads/2022/07/Zuchtprogramm_HA_Beschluss_Maerz_2022.pdf), zuletzt geprüft am 01.05.2023.

Matsuda, M.; Moore, J. E. (2003): Recent advances in molecular epidemiology and detection of *Taylorella equigenitalis* associated with contagious equine metritis (CEM). In: *Veterinary Microbiology* 97 (1-2), S. 111–122. DOI: 10.1016/j.vetmic.2003.08.001.

Nadin-Davis, S.; Knowles, M. K.; Burke, T.; Böse, R.; Devenish, J. (2015): Comparison of culture versus quantitative real-time polymerase chain reaction for the detection of *Taylorella equigenitalis* in field samples from naturally infected horses in Canada and Germany. In: *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* 79 (3), S. 161–169.

Nakashiro, H.; Naruse, M.; Sugimoto, C.; Isayama, Y.; Kuniyasu, C. (1981): Isolation of *Haemophilus equigenitalis* from an aborted equine fetus. In: *National Institute of Animal Health Quarterly* 21 (4), S. 184–185.

OIE (Hg.) (2022): OIE Terrestrial Manual 2022. 3.6.2. Contagious equine metritis. World Organisation for Animal Health. Unter Mitarbeit von I. Mawhinney und M. M. Erdman. Online verfügbar unter [https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.06.02\\_CEM.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.06.02_CEM.pdf), zuletzt geprüft am 07.05.2023.

Olivieri, B. T.; Love, B. C.; Rezabek, G. B.; Lamm, C. G.; Varner, D. D.; Payton, M. E.; Holyoak, G. R. (2011): Effect of Antibiotic-containing Extenders on *Taylorella equigenitalis* Contaminated Semen. In: *Journal of Equine Veterinary Science* 31 (11), S. 655–660. DOI: 10.1016/j.jevs.2011.04.002.

Parlevliet, J. M.; Bleumink-Pluym, N. M. C.; Houwers, D. J.; Remmen, J. L. A. M.; Sluijter, F. J. H.; Colenbrander, B. (1997): Epidemiologic aspects of *Taylorella equigenitalis*. In: *Theriogenology* 47 (6), S. 1169–1177. DOI: 10.1016/S0093-691X(97)00097-6.

Petry, S.; Py, J.-S.; Wilhelm, A.; Duquesne, F.; Bâyon-Auboyer, M.-H.; Morvan, H.; Gassilloud, B. (2019): Evaluation of MALDI-TOF MS and an expanded custom reference spectra database for the identification and differentiation of *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis*. In: *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 94 (4), S. 326–330.

Platt, H.; Atherton, J. G.; Simpson, D. J.; Taylor, C. E.; Rosenthal, R. O.; Wreghitt, T. G. (1977): Genital infection in mares. In: *Veterinary record* (Vol. 101 (1)), S. 20.

Quiñones-Pérez, C.; Martínez, A.; Crespo, F.; Vega-Pla, J. L. (2020): Comparative Semen Microbiota Composition of a Stallion in a *Taylorella equigenitalis* Carrier and Non-Carrier State. In: *Animals : an open access journal from MDPI* 10 (5). DOI: 10.3390/ani10050868.

Ricketts, S. W.; Rossdale, P. D.; Wingfield-Digby, N. J.; Falk, N. M.; Hopes, R.; Hunt, M. D.; Peace, C. K. (1977): Genital infection in mares. In: *The Veterinary record* (Vol. 101 (3)), S. 65.

Rocha, T. (2016): Contagious equine metritis in Portugal: A retrospective report of the first outbreak in the country and recent contagious equine metritis test results. In: *Open Veterinary Journal* 6 (3), S. 263–267.

Sahu, S. P.; Dardiri, A. H.; Rommel, F. A.; Pierson, R. E. (1979): Survival of contagious equine metritis bacteria in transport media. In: *American Journal of Veterinary Research* 40 (7), S. 1040–1042.

Schlüter, H.; Kuller, H.-J.; Friedrich, U.; Selbitz, H.-J.; Marwitz, T.; Beyer, C.; Ullrich, E. (1991): Zur Epizootiologie und Therapie der kontagiösen equinen Metritis (CEM). Unter besonderer Berücksichtigung der Behandlung infizierter Hengste. In: *Der praktische Tierarzt* (6), S. 503–511.

Schoch, C. L.; et al. (2020): NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford) baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187. Online verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=937774>, zuletzt geprüft am 20.08.2024.

Schulman, M. L.; May, C. E.; Keys, B.; Guthrie, A. J. (2013): Contagious equine metritis: Artificial reproduction changes the epidemiologic paradigm. In: *Veterinary Microbiology* 167, S. 2–8. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.12.021.

SII (2020): Udbrud af kønssygdommen Contagiøs equin metritis (CEM) hos islandske heste. Unter Mitarbeit von Øystein Angen. Hg. v. Statens Serum Institut. Online verfügbar unter <https://www.vetssi.dk/vet-nyheder/2020/udbrud-af-koenssygdommen-contagioes-equin-metritis-cem-hos-islandske-heste>, zuletzt geprüft am 03.02.2023.

Sobhy, M. M.; Fathi, A.; Abougazia, K.; Oshba, M. R.; Kotb, M. (2019): Study on Occurrence of Contagious Equine Metritis in the Genital Tract of Equine. In: *NIDOC-ASRT* 50 (1), S. 57–62. DOI: 10.21608/ejvs.2020.19942.1134.

Sting, R.; Seeh, C.; Mauder, N.; Maurer, M.; Loncaric, I.; Stessl, B. et al. (2016): Genotyping of German and Austrian *Taylorella equigenitalis* isolates using repetitive extragenic palindromic (REP) PCR and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). In: *Research in veterinary science* 109, S. 101–106. DOI: 10.1016/j.rvsc.2016.09.017.

Štritof, Z.; Habuš, J.; Mojčec Perko, V.; Majhut, M.; Brkljača Bottegaro, N.; Perharić, M. et al. (2017): Detection of *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis* in horses in Croatia as a result of small scale survey. In: *Vet. arhiv* 87 (5), S. 535–541. DOI: 10.24099/vet.arhiv.160627.

Sugimoto, C.; Isayama, Y.; Sakazaki, R.; Kuramochi, S. (1983): Transfer of *Haemophilus equigenitalis* Taylor et al. 1978 to the genus *Taylorella* gen. nov. as *Taylorella equigenitalis* comb. nov. In: *Current Microbiology* (Vol. 9 (3)), S. 155–162. DOI: 10.1007/BF01567289.

Swerczek, T. W. (1978a): Contagious equine metritis in the USA. In: *Vet. Rec*, 512-513.

Swerczek, T. W. (1978b): Inhibition of the CEM organism by the normal flora of the reproductive tract. In: *The Veterinary record* 103 (6), S. 125.

Taylor, C. E. D.; Rosenthal, R. O.; Brown, D. F. J.; Lapage, S. P.; Hill, L. R.; Legros, R. M. (1978): The causative organism of contagious equine metritis 1977: proposal for a new species to be known as *Haemophilus equigenitalis*. In: *Equine veterinary journal* 10 (3), S. 136–144. DOI: 10.1111/j.2042-3306.1978.tb02242.x.

Timoney, P. J. (1978): CEM in Ireland. In: *The Veterinary record* 103 (21), S. 475–476. DOI: 10.1136/vr.103.21.475.

Timoney, P. J. (1996): Contagious equine metritis. In: *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 19 (Vol. 19 (3)), S. 199–204. DOI: 10.1016/0147-9571(96)00005-7.

Timoney, P. J. (2011): Horse species symposium: Contagious equine metritis: An insidious threat to the horse breeding industry in the United States. In: *Journal of animal science* (Vol. 89 (5)), S. 1552–1560. DOI: 10.2527/jas.2010-3368.

Timoney, P. J.; Harrington, A.; McArdle, J.; O'Reilly, P. J. (1978a): Survival properties of the causal agent of contagious equine metritis 1977. In: *Veterinary record*, S. 152.

Timoney, P. J.; O'Reilly, P. J.; Harrington, A. M.; McCormack, R.; McArdle, J. F. (1979a): Survival of *Haemophilus equigenitalis* in different antibiotic-containing semen extenders. In: *Journal of Reproduction and fertility. Supplement* (27), S. 377–381.

Timoney, P. J.; O'Reilly, P. J.; McArdle, J.; Ward, J. (1978b): Attempted transmission of contagious equine metritis 1977 to other domestic animal species. In: *Veterinary record* (102), S. 152.

Timoney, P. J.; O'Reilly, P. J.; McArdle, J. F.; Ward, J.; Harrington, A. M. (1979b): Responses of mares to rechallenge with the organism of contagious equine metritis 1977. In: *The Veterinary record* 104 (12), S. 264. DOI: 10.1136/vr.104.12.264.

Timoney, P. J.; O'Reilly, P. J.; McArdle, J. F.; Ward, J.; Harrington, A. M. (1985a): Contagious equine metritis: Experimental infection in the donkey. In: *Veterinary Microbiology* 10 (3), S. 259–268. DOI: 10.1016/0378-1135(85)90051-3.

Timoney, P. J.; Powell, D. G. (1982): Isolation of the contagious equine metritis organism from colts and fillies in the United Kingdom and Ireland. In: *The Veterinary record* (Vol. 111 (21)), S. 478–482. DOI: 10.1136/vr.111.21.478.

Timoney, P. J.; Shin, S. J.; Jacobson, R. H. (1982): Improved selective medium for isolation of the contagious equine metritis organism. In: *The Veterinary record* 111 (5), S. 107–108. DOI: 10.1136/vr.111.5.107.

Timoney, P. J.; Shin, S. J.; Jacobson, R. H. (1985b): Variable persistence of the contagious equine metritis organism in the genital tract of CBA/J, CBA/N, LAF1/J, BALB/c and congenitally thymus-deficient (nude) mice. In: *Journal of comparative pathology* 95 (2), S. 137–149. DOI: 10.1016/0021-9975(85)90001-5.

Timoney, P. J.; Ward, J.; Kelly, P. (1977): A contagious genital infection of mares. In: *The Veterinary record* 101 (5), S. 103. DOI: 10.1136/vr.101.5.103-a.

Timoney, P. J.; Ward, J.; McArdle, J. F. (1978c): CEM and the foaling mare. In: *The Veterinary record* 102 (11), S. 246–247. DOI: 10.1136/vr.102.11.246.

Wakeley, P. R.; Errington, J.; Hannon, S.; Roest, H.; Carson, T.; Hunt, B. et al. (2006): Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* directly from genital swabs and discrimination from *Taylorella asinigenitalis*. In: *Veterinary Microbiology* (Vol. 118 (3)), S. 247–254. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.08.007.

Ward, J.; Hourigan, M.; McGuirk, J.; Gogarty, A. (1984): Incubation times for primary isolation of the contagious equine metritis organism. In: *The Veterinary record* 114 (12), S. 298.

WOAH (2023): Who we are. Hg. v. World Organisation for Animal Health. Online verfügbar unter <https://www.woah.org/en/who-we-are/>, zuletzt geprüft am 07.05.23.



## 8 Danksagung

Mein Dank gilt Frau Prof. Dr. Angelika Schoster für die Unterstützung der Dissertation und die hilfreichen Ratschläge bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Lutz Göhring für die Themenstellung, die Unterstützung, ständige Diskussionsbereitschaft und hilfreichen Anregungen.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Tanja Witte für die engagierte Unterstützung bei der wissenschaftlichen Bearbeitung der Fragestellung.

Ebenso danke ich Herrn Dr. Robert Fux für die wertvolle Unterstützung bei der Umsetzung des Nachweises von *T. equigenitalis* sowie für zahlreiche Anregungen.

Ich danke Herrn Dr. Yury Zablotski für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Ich danke allen, die mich bei der praktischen Probennahme unterstützt haben.

Allen Pferde- und Stallbesitzern, die ihre Pferde zur Verfügung gestellt und dadurch diese Studie ermöglicht haben, danke ich.