

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

Prävalenz von *Taylorella equigenitalis* bei Islandstuten und
Islandwallachen in Süddeutschland und Tirol, Österreich

von Veronika Elena Solbach
aus Kirchheimbolanden

München 2025

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

Lehrstuhl für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Holm Zerbe

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.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Holm Zerbe

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Roswitha Dorsch

Tag der Promotion: 26. Juli 2025

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG.....	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Kontagiöse Equine Metritis (CEM)	3
1.1. Historischer Kontext und Entdeckung	3
1.2. <i>Taylorella equigenitalis</i>	4
1.3. Klinische Symptomatik.....	6
1.4. Übertragungswege	6
1.5. Labordiagnostischer Nachweis	7
1.6. Differenzierung zu <i>Taylorella asinigenitalis</i>	11
1.7. Therapie	12
1.8. Verbreitung weltweit und aktuelle Prävalenz.....	13
2. Islandpferde	17
2.1. Rasse und Vorkommen	17
2.2. Population in Deutschland	17
2.3. Haltung und Zuchtmanagement.....	18
2.4. <i>Taylorella equigenitalis</i> bei Islandpferden	19
III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	22
1. Zielsetzung.....	22
2. Publikation	23
2.1. Paper	23
2.2. Supplementary Data.....	31
IV. ERWEITERTE DISKUSSION	37
1. <i>Taylorella equigenitalis</i> beim Islandpferd	37
2. Endemisches Vorkommen und Pathogenität verschiedener Taylorellenstämme	38
3. Bekannte und mögliche neue Übertragungswege von <i>Taylorella equigenitalis</i>	40
4. Einfluss der Erregerreservoir auf die C _t -Werte	42
5. Retrospektive Befragung: Analyse potenzieller Infektionsquellen.....	44
6. Limitationen	45
7. Schlussfolgerung und praktische Relevanz.....	46
V. ZUSAMMENFASSUNG.....	47
VI. SUMMARY	49

VII. LITERATURVERZEICHNIS	51
VIII. ANHANG.....	63
1. Besitzerfragebögen	63
1.1. Fragebogen 1, alle Pferde vor der ersten Beprobung.....	63
1.2. Fragebogen 2, alle <i>Taylorella equigenitalis</i> -positiven Pferde, retrospektiv	64
2. Weitere Publikationen.....	66
2.1. Abstract ISER 2023	66
2.2. Abstract ICERM 2024	67
IX. DANKSAGUNG.....	68

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
CEM	Kontagiöse Equine Metritis
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
C _t	Cycle Threshold
CVUA	Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Untersuchungsamt für Lebensmittelüberwachung und Tiergesundheit, Baden-Württemberg
EIA	Equine Infektiöse Anämie
EU	Europäische Union
EVA	Equine Virus Arteritis
FEIF	International Federation of Icelandic Horse Associations
FLI	Friedrich-Löffler-Institut
FN	Fédération Equestre Nationale, Deutsche Reiterliche Vereinigung
HBLB	Horserace Betting Levy Board
<i>H. equigenitalis</i>	<i>Haemophilus equigenitalis</i>
IFA	Indirekter Fluoreszenz Antikörpertest
IPZV	Islandpferde-Reiter- und Züchterverband e.V.
KB	Künstliche Besamung
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LVBP	Landesverband Bayerischer Pferdezüchter
MELR	Mixed-Effects-Logistic-Regression
µg	Microgramm
ml	Milliliter
NaCl	Natriumchlorid

Abkürzungsverzeichnis

OIE	Office International Epizooties
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PFGE	Pulsfeld-Gelelektrophorese
REP-PCR	Repetitive extragenische palindromische-PCR
Sp.	Species
<i>T. asinigenitalis</i>	<i>Taylorella asinigenitalis</i>
<i>T. equigenitalis</i>	<i>Taylorella equigenitalis</i>
UK	United Kingdom
USA	United States of America
V.a.	Vor allem
Vgl.	Vergleiche
WOAH	World Organization of Animal Health

I. EINLEITUNG

Die Infektion mit dem Bakterium *Taylorella equigenitalis* (*T. equigenitalis*) gilt beim Pferd als Auslöser der Kontagiösen Equinen Metritis (Contagious Equine Metritis, CEM). Es handelt sich hierbei um eine Genitalinfektion, die bei der Stute zur Endometritis, Infertilität und in seltenen Fällen zum Abort führt (NAKASHIRO et al., 1981). Klinische Symptome wie v.a. weiß-gräulicher Vaginalausfluss treten jedoch nur bei etwa 30-40% der infizierten Stuten auf (WAKELEY et al., 2006). Hengste fungieren als asymptomatische Träger des Bakteriums und spielen daher eine zentrale Rolle bei der Verbreitung der CEM (SCHLÜTER et al., 1991). Da lange Zeit von einer primär venerischen Übertragung ausgegangen wurde (EAGLESOME & GARCIA, 1979), ist über die Rolle von Nicht-Zuchttieren wie Wallachen und Maidenstuten bei der CEM wenig bekannt. Dennoch wurden in der Vergangenheit vereinzelt *T. equigenitalis*-positive Testergebnisse bei Nicht-Zuchttieren beschrieben (SCHULMAN et al., 2013).

Im Jahr 1977 wurde das Bakterium erstmals bei einem Ausbruch in England isoliert (CROWHURST, 1977) und galt seither als Krankheitsauslöser der CEM. Aufgrund des hohen Infektionspotentials von *T. equigenitalis* ist die CEM weltweit verbreitet (DUQUESNE et al., 2020). Besonders in der Vollblutzucht Englands und der USA führte die Infektion in der Vergangenheit durch reduzierte Trächtigkeitsraten zu erheblichen Verlusten. Der Nachweis von *T. equigenitalis* bei Deckhengsten und Zuchstuten erfordert deren Isolation und eine aufwendige Behandlung, was den Trächtigkeitsbeginn verzögert und wirtschaftliche Einbußen mit sich bringt (HOLDEN, 1978; KRISTULA & SMITH, 2004). Um die Verbreitung des Erregers einzudämmen, wurden weltweit geltende Richtlinien für die Testung von Zuchttieren etabliert. Besonders bedeutend für die Vollblutzucht war 1978 die Implementierung der Codes of Practice for Breeders des Horserace Betting Levy Board (International Codes of Practice, HBLB, 2025), welche die Verbreitung der Erkrankung und die damit verbundenen wirtschaftlichen Schäden wirksam reduzierten (SCHULMAN et al., 2013).

Insbesondere in der Warmblutzucht haben moderne Reproduktionstechniken wie die künstliche Besamung (KB) und der Embryotransfer an Bedeutung gewonnen (SCHULMAN et al., 2013), wodurch der internationale Austausch genetisch wertvoller Zuchttiere erleichtert wird. Dieser Wandel beeinflusst jedoch auch die Übertragungswege, da *T. equigenitalis* über kontaminierten Samen auf die Stuten übertragen werden kann (DENNIS et al., 2014). Dieses Risiko konnte durch die Delegierte Verordnung (EU) 2020/686 der Europäischen Kommission (Delegierte

Verordnung (EU) 2020/686, 2020) und die damit verbundene Testpflicht für Deckhengste effektiv minimiert werden.

Während die KB heute in vielen deutschen Zuchtverbänden gängige Praxis ist, gibt es neben der Vollblutzucht, wo der Natursprung vorgeschrieben ist (HOLDEN, 1978), einige Verbände, die weiterhin den Natursprung bevorzugen. Dazu gehören insbesondere Zuchtverbände für Robustpferderassen wie Haflinger, Islandpferde und Süddeutsche Kaltblüter. Die Zucht von Haflingern und Süddeutschen Kaltblütern wird in Süddeutschland durch den Landesverband Bayerischer Pferdezüchter (LVBP) organisiert. Wenngleich in beiden Rassen künstliche Reproduktionstechniken zulässig sind, wird in den meisten Betrieben der Natursprung an der Hand praktiziert (Zuchtpogramm LVBP, 2020; Zuchtpogramm LVBP, 2025). Eine besondere Stellung nehmen Islandpferde ein, da sie überwiegend im Herdenverband in Offenstall- oder Weidehaltung leben. Der Deckakt erfolgt häufig direkt in der Herde, wobei Zuchtstuten für mindestens einen Zyklus mit einem Hengst zusammen auf die Weide verbracht werden (DAVIES MOREL & GUNNARSSON, 2000). Im Gegensatz zur Vollblutzucht existieren hier nach europäischem Recht (Delegierte Verordnung (EU) 2020/686, 2020) keine strengen Testpflichten für den Natursprung.

In den letzten Jahren wurden an der Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München wiederholt Islandhengste mit reduzierter Fruchtbarkeit untersucht, die positiv auf *T. equigenitalis* getestet wurden. Aufgrund dessen wurde in einer Vorläuferstudie die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandhengsten im Vergleich zu Haflingern und Kaltblütern untersucht, wobei Islandhengste im Rassevergleich signifikant häufiger positiv getestet wurden (GRABATIN et al., 2025).

Basierend auf diesen Erkenntnissen ergab sich die Fragestellung nach der Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandstuten, die den Fokus der vorliegenden Studie darstellen sollte. Neben Zuchtstuten wurden auch Maidenstuten und Wallache in die Untersuchungen einbezogen. Um Rückschlüsse auf mögliche Übertragungswege und Erregerreservoir ziehen zu können, wurden weitere Parameter wie Alter, Geschlecht und Haltungsform erfasst. Für *T. equigenitalis*-positive Pferde wurde ein Fragebogen entwickelt, mit welchem detailliertere Informationen zur züchterischen Nutzung, möglichen Kontakten zu Zuchttieren oder infizierten Pferden sowie zur Gruppenkonstellation erfragt wurden. Somit sollte die Hypothese geprüft werden, dass Zuchtstuten aufgrund der venerischen Übertragung durch den Deckakt signifikant häufiger infiziert sind als Maidenstuten und Wallache.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Kontagiöse Equine Metritis (CEM)

1.1. Historischer Kontext und Entdeckung

Der erste große Ausbruch einer bis dahin unbekannten Deckseuche wurde erstmals während der Zuchtsaison 1977 in Newmarket, UK dokumentiert (CROWHURST, 1977; TAYLOR et al., 1978). Im März desselben Jahres traten im Nationalgestüt von Newmarket mehrere Fälle bei Vollblutstuten auf, die nach der Bedeckung purulentaen Vaginalausfluss entwickelten. Zudem zeigten einige Stuten einen verkürzten Diöstrus und kamen bereits nach wenigen Tagen erneut in Rosse oder erwiesen sich als nicht tragend nach Bedeckung (GREENWOOD & ALLEN, 2020). Bei der speziellen Untersuchung zeigten die betroffenen Stuten entzündliche Veränderungen im Bereich der Zervix, mukopurulentaen uterinen Ausfluss und Anzeichen einer fortgeschrittenen Endometritis. Hengste hingegen waren durchweg asymptomatische Träger (SCHLÜTER et al., 1991). Kurz darauf wurden weitere Stuten mit ähnlicher Symptomatik in England festgestellt, obwohl bei diesen Stuten kein direkter Kontakt zum Nationalgestüt bestand. Dies bestätigte, dass eine Übertragung nicht nur durch den Deckakt, sondern auch über kontaminierte Gegenstände oder die behandelnden Tierärzte während gynäkologischer Routineuntersuchungen möglich war (POWELL & WHITWELL, 1979). Parallel dazu berichteten irische Tierärzte, dass eine vergleichbare Symptomatik bereits 1976 bei Stuten in Irland aufgetreten war. Damals wurde die Infektion fälschlicherweise *Proteus* sp. zugeschrieben. Einige dieser irischen Stuten wurden später in das Nationalgestüt von Newmarket gebracht, wodurch die Infektion vermutlich nach England gelangte (GREENWOOD & ALLEN, 2020). Durch internationaen Austausch stellte sich heraus, dass bereits 1976 auch in Australien zehn Stuten ähnliche Symptome entwickelten. Sie waren zuvor mit einem aus Irland importierten Hengst gedeckt worden.

Bei den ersten bakteriologischen Untersuchungen konnte zunächst kein spezifisches Bakterium isoliert werden. Im Mai 1977 gelang es Edward Taylor (Cambridge Public Health Service) erstmalig die gramnegativen kokkoiden Bakterien erfolgreich zu isolieren (PLATT et al., 1977). Entscheidend für den Nachweis war die Verwendung mikroaerophiler Wachstumsbedingungen (10% CO₂) auf einem Schokoladen-Blut-Agar. Das Bakterium zeigte sich sensibel gegenüber gängigen Antibiotika, war jedoch resistent gegen Streptomycin, sodass dieses in der Anzucht gezielt zur Unterdrückung der Begleitflora eingesetzt wurde (PLATT & ATHERTON, 1977). Nach der erfolgreichen Anzucht wurde das Bakterium zunächst als *Haemophilus equigenitalis* (*H. equigenitalis*) klassifiziert (TAYLOR et al., 1978). Spätere wissenschaftliche

Untersuchungen zeigten jedoch, dass *H. equigenitalis* im Gegensatz zu anderen *Haemophilus* sp. weder Kohlenhydrate fermentiert noch Nitrat reduziert, keine V- und X-Faktoren zum Wachstum benötigt und somit von der Gattung der *Haemophilus* sp. abgegrenzt werden musste. Phänotypisch wäre eine Einordnung in die Gattung der *Moraxella* sp. möglich gewesen, allerdings erfordern *Moraxella* sp. strikt aerobe Wachstumsbedingungen, während das neu entdeckte Bakterium mikroaerophile Wachstumsbedingungen benötigte. Später wurde der Erreger daher von SUGIMOTO et al. (1983) zu Ehren von Dr. Taylor in die neue Gattung *Taylorella* überführt und erhielt die bis heute gültige Bezeichnung *T. equigenitalis*. Die Pathologie in der Stute wurde fortan als CEM bezeichnet.

1.2. *Taylorella equigenitalis*

Bei *T. equigenitalis* handelt es sich um ein gramnegatives, mikroaerophiles, nicht motiles, kokkoides Bakterium (PLATT et al., 1977), das wie unter II.1.1. beschrieben initial als *H. equigenitalis* klassifiziert wurde (TAYLOR et al., 1978). Eine taxonomische Einordnung nach SCHOCHE et al. (2020) kann wie folgt vorgenommen werden:

Bacteria (Domäne)

- └ *Pseudomonadota* (Stamm)
 - └ *Betaproteobacteria* (Klasse)
 - └ *Burkholderiales* (Ordnung)
 - └ *Alcaligenaceae* (Familie)
 - └ *Taylorella* (Gattung)
 - └ *Taylorella equigenitalis* (Spezies)

Das Bakterium nutzt die Genitalschleimhäute von Pferden als Reservoir (TIMONEY et al., 2011) und konnte bei Stuten v.a. aus der Fossa clitoridis und den Sinus clitorides sowie bei Hengsten v.a. aus der Fossa urethralis isoliert werden (CROWHURST et al., 1978; SIMPSON et al., 1978). Darüber hinaus konnte das Bakterium beim Hengst an weiteren Lokalisationen nachgewiesen werden: Sinus urethralis, distale Urethra, Penisschaft und Präputium (POWELL, 1981) sowie postmortal bei einem infizierten Hengst im Hoden und Nebenhoden (SCHLÜTER

et al., 1991). Bei der Stute kann das Bakterium neben Fossa und Sinus clitorides ebenfalls die Zervix und den Uterus besiedeln (TIMONEY & POWELL, 1988).

Unterschiedliche Pathogenität der verschiedenen Stämme wurde in der Literatur bereits mehrfach angenommen und durch Unterschiede in der Invasions- und Replikationsfähigkeit in Zellkulturen gestützt (BLEUMINK-PLUYM et al., 1996). Zudem ist ein langfristiges Persistieren des Erregers in Hengsten und Stuten nachgewiesen (TIMONEY, 1996). Das Vorkommen von weniger pathogenen Stämmen kann als Erklärung herangezogen werden, dass nicht jeder Kontakt unmittelbar zu einer Infektion führen muss (RICKETTS, 1997). Dies wird ebenfalls deutlich durch die Studie von PARLEVLIET et al. (1997), in der Islandpferde unmittelbar nach dem Export aus Island ohne klinische Symptomatik positiv auf *T. equigenitalis* getestet wurden.

In der kulturellen Anzucht stellt *T. equigenitalis* hohe Wachstumsansprüche. Die Anzucht erfolgt auf 5%igem hämolysierten Blutagar unter mikroaerophilen Bedingungen (Terrestrial Manual, WOAH, 2022). Im Anschluss werden selektive Antibiotika zugesetzt, darunter Trimethoprim (1 µg/ml), Clindamycin (5 µg/ml) und Amphotericin B (5–15 µg/ml) (TIMONEY & POWELL, 1982). Das verwendete Medium unterdrückt das Wachstum vieler kommensaler Bakterien sowie von Pilzen und ist in der Lage, sowohl Streptomycin-resistente als auch -sensible *T. equigenitalis*-Stämme zu isolieren (Terrestrial Manual, WOAH, 2022). Nach wenigen Tagen können bereits kleine, glänzende, gräulich-weiße Kolonien erscheinen (TIMONEY & POWELL, 1988). Allerdings beschreiben WARD et al. (1984), dass es bis zum Erscheinen der Kolonien unterschiedlich lange dauern und die kulturelle Anzucht bis zu 14 Tage in Anspruch nehmen kann.

Taylorella equigenitalis kann anhand der Sensibilität gegenüber Antibiotika in zwei Biotypen unterteilt werden: Streptomycin-resistent und Streptomycin-sensibel (PLATT & TAYLOR, 1982). SUGIMOTO et al. (1981) konnten eine gute Sensibilität gegenüber 26 antimikrobiellen Mitteln nachweisen, wobei Makrolide, Tetracycline, Colistin, Ampicillin und Tiamulin besonders wirksam waren, während bei über 90% der Isolate Streptomycin keine hemmende Wirkung auf das Wachstum hatte. Ebenfalls konnte eine Sensibilität gegenüber Benzylpenicillin, Trimethoprim, Sulfamethoxazol, Clindamycin, Gentamicin und mehreren Aminoglykosiden nachgewiesen werden (PLATT et al., 1977). Eine Resistenzentwicklung gegen Penicillin, Streptomycin und Nitrofurantoin wurde in einem Fall bei langwieriger Behandlung beobachtet (SCHLÜTER et al., 1991), jedoch später keine generelle Resistenzzunahme festgestellt (TIMONEY, 2011).

1.3. Klinische Symptomatik

Bei der CEM handelt sich um eine hochansteckende Deckseuche, die bei Pferden aller Rassen auftreten kann (PARLEVLIET et al., 1997). Die klinische Symptomatik manifestiert sich primär bei infizierten Zuchstuten, wenngleich das Bakterium auch bei asymptomatischen Hengsten, Wallachen und Stuten nachgewiesen werden kann (MELDRUM & NEWTON, 2020). Die klinische Ausprägung bei Stuten beschränkt sich auf den Genitaltrakt, ohne systemische Symptome zu verursachen. Im Gegensatz zu Hengsten konnte bei Stuten allerdings eine systemische Immunreaktion in Form von serologisch nachweisbaren Antikörpern beobachtet werden (BENSON et al., 1977). Symptomatische Stuten zeigen typischerweise einen weißlich-gräulichen vaginalen Ausfluss sowie entzündliche Veränderungen von Vagina, Zervix und Uterus (EAGLESOME & GARCIA, 1979). Häufig tritt zudem eine verkürzte Diöstrusphase mit einem verfrühten Rossebeginn nach 8-9 Tagen auf (GREENWOOD & ALLEN, 2020). Der Erreger wurde aus Tupferproben von tragenden als auch nicht tragenden Stuten isoliert. Zudem konnte der Mikroorganismus bei Stuten nach der Geburt vitaler Fohlen nachgewiesen werden (TIMONEY et al., 1978). In seltenen Fällen wurden Aborte infolge einer Infektion mit *T. equigenitalis* beschrieben (NAKASHIRO et al., 1981).

Nach Abklingen der akuten Infektion ist die klinische Symptomatik meist selbstlimitierend, was jedoch nicht zwangsläufig mit der vollständigen Elimination des Erregers aus dem Genitaltrakt einhergeht. Trotz persistierender Infektion konnten bei den meisten Stuten keine negativen Langzeiteffekte auf eine folgende Trächtigkeit festgestellt werden (TIMONEY & POWELL, 1988; TIMONEY, 1996). Dennoch trägt die chronische Infektion bei Stuten sowie der asymptomatische Verlauf bei Hengsten maßgeblich zur weltweiten Verbreitung der Erkrankung bei, da klinisch gesunde Tiere als Träger (*carrier*) fungieren.

1.4. Übertragungswege

Initial wurde die Verbreitung von *T. equigenitalis* primär auf die venerische Übertragung während des Deckakts zurückgeführt (PLATT et al., 1977). Aufgrund des asymptomatischen Träger-Status bei Zuchstuten und Deckhengsten können infizierte Tiere bei unzureichenden Untersuchungen unentdeckt bleiben und das Bakterium während des Zuchteinsatzes weiterverbreiten, wodurch sie eine wesentliche Infektionsquelle darstellen (TIMONEY, 1996). Bereits wenige Jahren nach der Erstbeschreibung stellte sich heraus, dass *T. equigenitalis* bei mangelnden Hygienemaßnahmen ebenfalls über kontaminierte Gegenstände oder Personen übertragen werden kann, insbesondere im Rahmen gynäkologischer Routineuntersuchungen

oder bei künstlicher Besamung (SCHULMAN et al., 2013). Neben der horizontalen Übertragung ist auch eine vertikale Übertragung von der Stute auf das Fohlen möglich. So wurde in England zwischen 1978 und 1982 bei 15 Fohlen *T. equigenitalis* nachgewiesen, die sich entweder intrauterin oder perinatal bei der *T. equigenitalis*-positiven Mutterstute infiziert haben mussten (TIMONEY & POWELL, 1982).

Mit dem stetigen Fortschritt in der Reproduktionsmedizin hat sich das Zuchtmanagement zahlreicher Zuchtverbände bedeutend verändert. Wie eingangs beschrieben, haben v.a. in der Warmblutzucht moderne Reproduktionstechniken an Bedeutung gewonnen (SCHULMAN et al., 2013). Dadurch erhöht sich das Risiko einer Infektion über kontaminierten Samen bei KB (DENNIS et al., 2014). Die horizontale Übertragung über infiziertes Equipment oder kontaminierten Samen ist hierbei vor allem auf mangelhafte Hygienestandards auf den Zuchtstationen zurückzuführen. Aktuelle europäische Studien bestätigen die Übertragung von *T. equigenitalis* über kontaminierten Samen und daraus resultierende akute Endometritiden bei besamten Stuten (DELERUE et al., 2019).

1.5. Labordiagnostischer Nachweis

Der labordiagnostische Nachweis erfolgt über eine Beprobung der typischen Erregerreservoir mittels Polyesterstupfer bei Stuten, Hengsten und Wallachen. Bei der Stute werden die unter II.1.2. beschriebenen Erregerreservoir mit Fossa clitoridis und Sinus clitorides beprobt (CROWHURST et al., 1978). Für die Beprobung der Sinus clitorides (medialis und lateralis) wird in der Literatur die Verwendung von ultrafeinen Tupfern beschrieben, um eine zuverlässigere Beprobung durch tieferes Eindringen zu gewährleisten (DASCANIO, 2021). Beim Hengst werden die Fossa urethralis, die distale Urethra und der Penisschaft zur Beprobung herangezogen (Terrestrial Manual, WOAH, 2022). Die folgenden Abbildungen zeigen die Probenentnahme an den spezifischen Lokalisationen bei der Stute (Abb. 1A-D) und beim Hengst/Wallach (Abb. 1E-G).

Stute

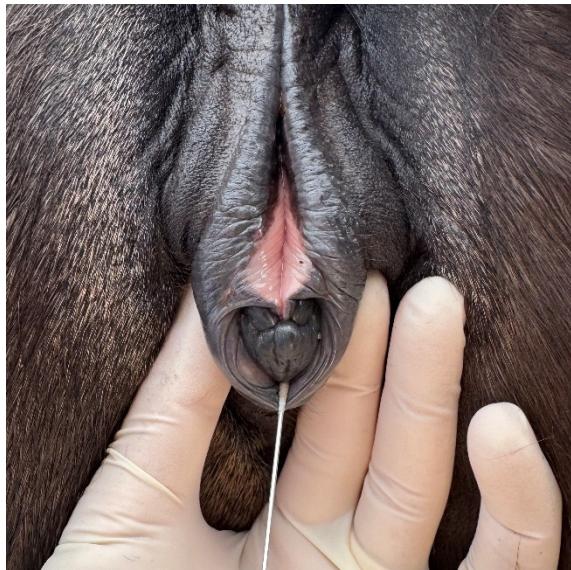


Abb. 1A: Fossa clitoridis

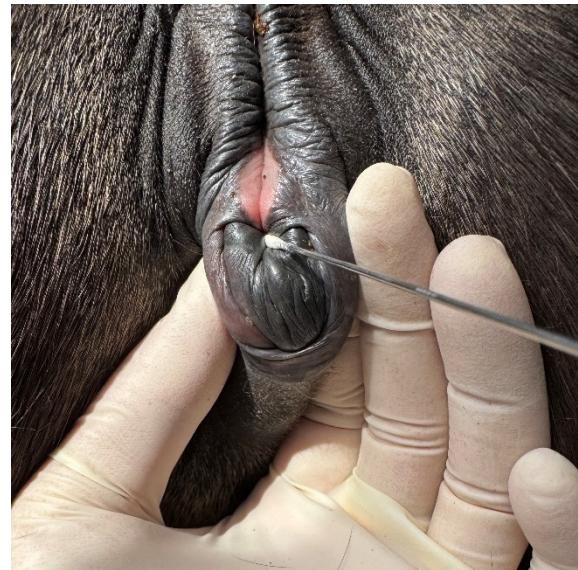


Abb. 1B: Sinus clitoridis medialis

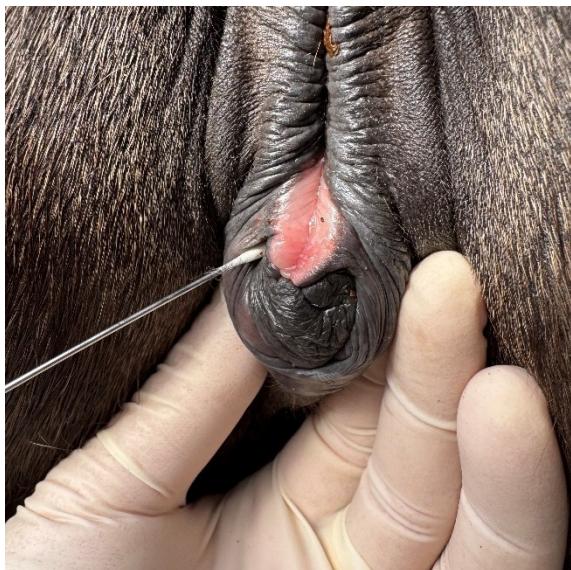


Abb. 1C: Sinus clitoridis lateralis

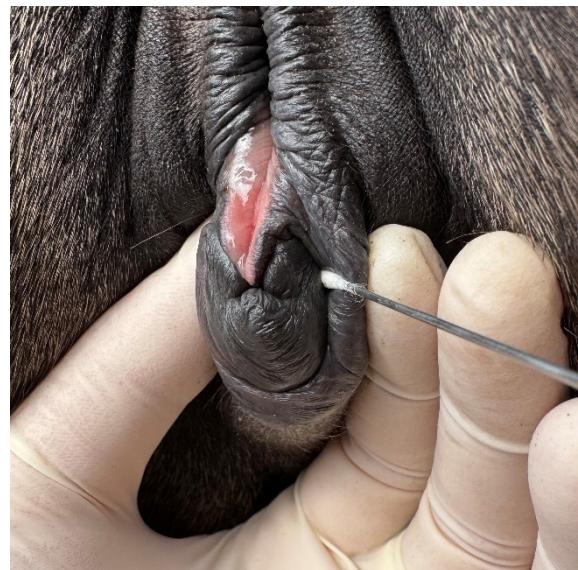


Abb. 1D: Sinus clitoridis lateralis

Hengst/Wallach

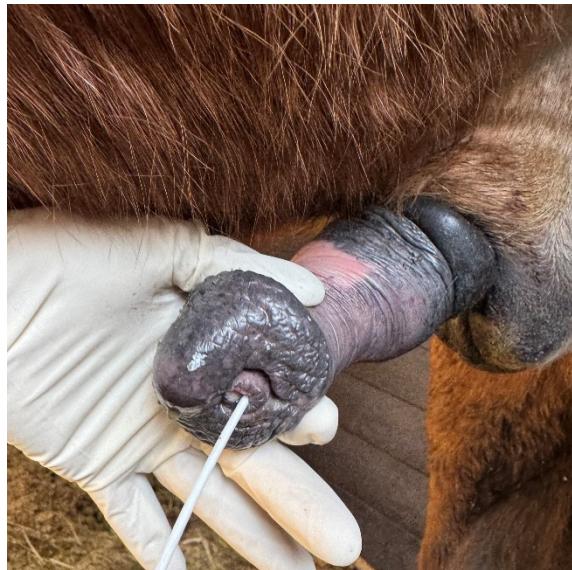


Abb. 1E: Urethra

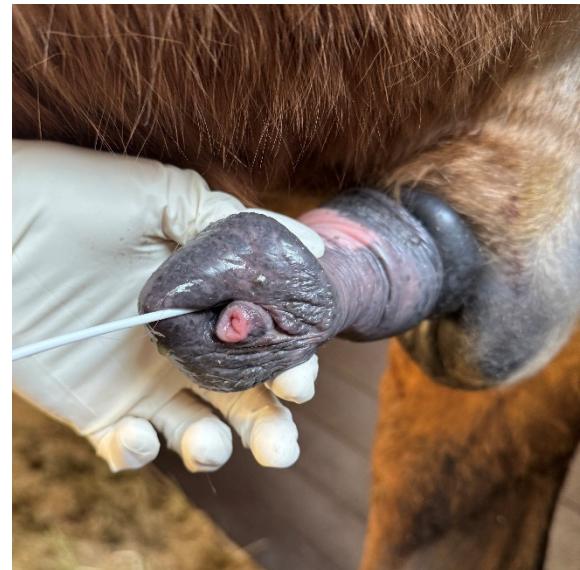


Abb. 1F: Fossa urethralis

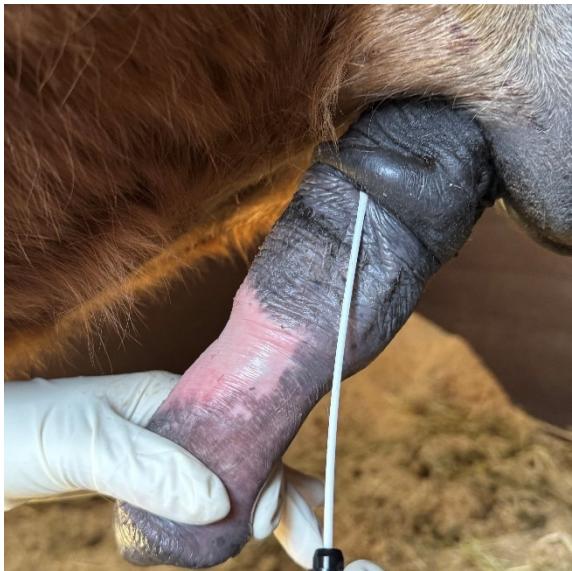


Abb. 1G: Penisschaft

Abbildung 1A-G: Spezifische Lokalisationen der Tupferprobenentnahme bei der Stute (A-D) und beim Hengst/Wallach (E-G).

Die gewonnenen Tupferproben müssen unmittelbar nach der Entnahme in ein Amies-Kohle-Medium überführt werden, das Nebenprodukte des Bakterienmetabolismus absorbiert und so wachstumshemmende Effekte minimiert (Terrestrial Manual, WOAH, 2022). Idealerweise werden die Proben gekühlt und innerhalb kürzester Zeit zum zuständigen Labor transportiert, sodass eine Anzucht innerhalb von 24 Stunden erfolgen kann.

Bis heute erfordert der bakteriologische Nachweis von *T. equigenitalis* besondere Bedingungen. Das Bakterium wird unter mikroaerophilen Bedingungen (10% CO₂) bei 35-37°C für mindestens 72 Stunden kultiviert und auf Schokoladen-Blut-Agar als glatt, glänzende, graue Kolonien isoliert (Terrestrial Manual, WOAH, 2022). Zudem wird zwischen Streptomycin-sensiblen und Streptomycin-resistenten *T. equigenitalis*-Stämmen unterschieden. Bei Streptomycin-sensiblen Stämmen kann die Zugabe von Streptomycin zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Alternativ kann stark verdünnte Trimethoprim-Lösung zugesetzt werden, um während der langen Inkubationszeit (3-10 Tage) eine Übersiedlung durch die Begleitflora zu verhindern (GREENWOOD & ALLEN, 2020; WAKELEY et al., 2006). Aufgrund der anspruchsvollen Kulturbedingungen für *T. equigenitalis* wird die Testbedeckung als ergänzende Diagnostik eingesetzt, insbesondere in CEM-freien Regionen. Die Erregerlast auf den äußeren Genitalien von Hengsten kann sehr gering sein und durch Kultivierung allein möglicherweise nicht nachgewiesen werden. Durch Vermehrung im infizierten Teststutenmodell kann die Sensitivität der Erregererkennung erhöht werden (Terrestrial Manual, WOAH, 2022).

JANG et al. (2001) isolierten ein *Taylorella*-ähnliches Bakterium aus Eselhengsten, das zunächst als *T. equigenitalis* identifiziert wurde. Es unterschied sich jedoch durch eine verlängerte Wachstumsphase, eine schwach positive Reaktion im Indirekten Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFA) sowie das Fehlen klinischer Symptome bei infizierten Eselstuten. Nach umfassenden phänotypischen und genotypischen Analysen wurde der Erreger als *Taylorella asinigenitalis* (*T. asinigenitalis*) klassifiziert (vgl. II.1.6.). Diese Erkenntnis verdeutlicht, dass neben der verlängerten Inkubationszeit und der potenziellen Überwucherung durch andere Mikroorganismen auch die Unterscheidung zwischen *T. equigenitalis* und *T. asinigenitalis* eine zusätzliche diagnostische Herausforderung darstellt.

Bereits 1993 beschrieben BILEUMINK-PLUYM et al. den Einsatz der Polymerasekettenreaktion (PCR) als diagnostische Methode, die gegenüber der klassischen bakteriologischen Kultur sowohl eine höhere Sensitivität als auch Spezifität aufweist. In den Folgejahren wurden weitere PCR-Methoden entwickelt (ANZAI et al., 1999; ARATA et al., 2001), die

jedoch eine Agarose-Gel-Elektrophorese zur DNA-Sequenzierung erforderten. Mit der Einführung der real-time TaqMan-PCR von WAKELEY et al. (2006) konnte eine hochempfindliche und spezifische Methode etabliert werden, die eine schnelle und direkte Detektion aus Genitaltupfern ermöglicht und zudem eine Differenzierung zwischen *T. equigenitalis* und *T. asinigenitalis* erlaubt. Die Methode wurde mit 1.090 klinischen Proben validiert und zeigte eine Sensitivität von 83,3% sowie eine Spezifität von 99,7%. Der spezifische Nachweis von *T. equigenitalis* erfolgt durch Amplifikation einer konservierten Genregion. Dabei kommen die Primer Tay377for (5'-CCGCGTGTGCGATTGA-3') als Forward-Primer und Tay488rev (5'-TTGCCGGTGCTTATTCTCA-3') als Revers-Primer zum Einsatz. Der Nachweis erfolgt mittels der TaqMan-Sonde TequiFAM (5'-AAAGGTTGTGTTAACCATGGACTGCTGACGG-3'), die mit einem fluoreszierenden Reporterfarbstoff (FAM) und einem Quencher zur Echtzeit-Detektion ausgestattet ist (WAKELEY et al., 2006).

Seit 2014 ist der PCR-Nachweis offiziell anerkannt und als Alternative zur kulturellen Anzucht zulässig (Delegierte Verordnung (EU) 2020/686, 2020). Allerdings existieren in Deutschland für Hengste, die ausschließlich im Natursprung eingesetzt werden, keine gesetzlichen Vorgaben zur verpflichtenden Testung auf *T. equigenitalis*. In der Vollblutzucht hingegen, in der der Natursprung verpflichtend ist, wurden bereits 1978 die „Codes of Practice for Breeders“ des Horserace Betting Levy Board eingeführt. Diese beinhalteten umfassende Hygienemaßnahmen und Testvorgaben, die eine Übertragung während des Deckakts oder über kontaminierte Gegenstände oder Personen weitgehend kontrolliert (International Codes of Practice, HBLB, 2025).

1.6. Differenzierung zu *Taylorella asinigenitalis*

Im Jahr 1997 wurden bei insgesamt drei Eselhengsten in Kalifornien und Kentucky *Taylorellen* aus Tupferproben der Fossa urethralis isoliert (JANG et al., 2001). Zunächst nahm man an, es handele sich ebenfalls *T. equigenitalis*. Weitere Untersuchungen zeigten jedoch, dass dieses neuartige Bakterium in mehreren Merkmalen von *T. equigenitalis* abwich. Es wies eine verlängerte Anzuchtphase auf, reagierte im IFA nur schwach positiv und führte bei frisch infizierten Eselstuten nicht zu klinischen Symptomen (JANG et al., 2001). Nach detaillierteren geno- und phänotypischen Analysen wurde das Bakterium 2001 offiziell als *T. asinigenitalis* benannt (JANG et al., 2001).

Die Differenzierung zwischen *T. equigenitalis* und *T. asinigenitalis* gestaltete sich zunächst schwierig, da beide Stämme eine sehr ähnliche Kolonienmorphologie aufwiesen und eine hohe Sequenzhomologie in der PCR zeigten. Durch die von WAKELEY et al. (2006) beschriebene Real-time PCR mittels TaqMan-Sonden gelang schließlich die sichere Differenzierung beider Erreger. Bereits zuvor wurde an der Entwicklung einer Multiplex-PCR zur Differenzierung gearbeitet (ARATA et al., 2001), allerdings handelte es sich dabei nicht um eine Real-time-PCR. Die Nachweise der PCR-Produkte erfolgten nach der Amplifikation durch Agarose-Gel-Elektrophorese. Die sichere Differenzierung der beiden Stämme bleibt von hoher Relevanz, da *T. asinigenitalis* mittlerweile weltweit sowohl bei Eseln als auch Pferden nachgewiesen wurde (BAVERUD et al., 2006). Zudem wurden kürzlich neue Stämme mit unterschiedlicher Pathogenität beschrieben, darunter Varianten, die bei Stuten eine ausgeprägte Endometritis verursachen (WILSHER et al., 2020).

1.7. Therapie

Das Hauptziel der Therapie infizierter Tiere besteht darin, den Erreger sowohl beim Deckhengst als auch bei der Zuchstute im Bereich des Genitaltraktes zu eliminieren und so eine weitere Übertragung zu verhindern. Da die Infektion bei Hengsten asymptomatisch und bei Stuten nach der initialen akuten Entzündungsreaktion meist selbstlimitierend verläuft, hat eine persistierende Besiedlung für das betroffene Tier selbst keine nachteiligen Effekte (TIMONEY, 1996). Da *T. equigenitalis* vorwiegend das äußere Genital von Hengst und Stute besiedelt und als Reservoir nutzt, erwies sich die lokale Behandlung als besonders effektiv (SWERCZEK, 1981). Diese erfolgt in zwei Schritten: Zunächst wird das äußere Genital sorgfältig gereinigt und von Smega befreit, anschließend wird eine antibiotische Salbe aufgetragen (TIMONEY, 1996). Die Therapie unterscheidet sich zwischen Hengst und Stute lediglich darin, dass der Penis beim Hengst vollständig ausgeschachtet sein muss, um eine optimale Reinigung zu gewährleisten. Besondere Aufmerksamkeit erfordern die bevorzugten Rückzugsorte von *T. equigenitalis*, die beim Hengst Penis, Penisschaft, Fossa urethralis und distale Urethra sowie bei der Stute Fossa und Sinus clitorides umfassen (LUDDY & KUTZLER, 2010).

Zur Reinigung und Desinfektion werden laut Literatur hauptsächlich 4%ige Chlorhexidinseife oder 2% Iodseife eingesetzt (TIMONEY, 1996), wobei die empfohlene Konzentration je nach Publikation leicht variieren kann. Auch die Behandlungsdauer ist nicht einheitlich festgelegt und wird in der Literatur mit an drei bis zehn aufeinanderfolgenden Tagen angegeben (POWELL, 1978; TIMONEY, 1996; KRISTULA & SMITH, 2004). Nach der Reinigung wird

der Bereich sorgfältig abgetrocknet und eine antibiotische Salbe aufgetragen. Als besonders wirksam gilt 0,2%ige Nitrofurazonsalbe (POWELL, 1978; TIMONEY, 1996; PARLEVLIET et al., 1997), wenngleich *T. equigenitalis* auch sensibel auf zahlreiche andere Antibiotika reagiert. Gelegentlich treten nach der Behandlung lokale Schleimhautirritation oder Störungen der physiologischen Genitalflora auf (PICKETT et al., 1999). Im Anschluss an die durchgeführte Behandlung sollte der Therapieerfolg durch ein negatives Testergebnis bestätigt werden.

In einigen Fällen reicht eine einmalige lokale Therapie nicht aus, weshalb entweder in einem zweiten Behandlungsintervall oder grundsätzlich bereits im ersten Behandlungsintervall die Hinzunahme einer gängigen systemischen Antibiotikabehandlung, wie beispielsweise Trimethoprim-Sulfadiazin, durchgeführt wird (PARLEVLIET, 1997; KRISTULA & SMITH, 2004). Bei ausbleibendem Therapieerfolg nach mehrfacher lokaler Behandlung wurde in der Vergangenheit ebenfalls die chirurgische Entfernung der Klitoris als letzte Maßnahme beschrieben (TIMONEY, 1996). Allerdings konnte bereits 1983 nachgewiesen werden, dass dieser Eingriff weder das Ausmaß noch die Dauer der Infektion beeinflusst (ACLAND et al., 1983), weshalb dieser heute als obsolet gilt (LUDDY & KUTZLER, 2010).

Das Freitesten nach durchgeführter Behandlung ist insbesondere bei Deckhengsten auf EU-Besamungsstationen von großer Bedeutung und unterliegt klaren gesetzlichen Vorgaben. Laut europäischer Gesetzgebung darf das Freitesten auf *T. equigenitalis* frühestens sieben Tage nach systemischer Behandlung oder 21 Tage nach lokaler Behandlung durchgeführt werden (Delegierte Verordnung (EU) 2020/686, 2020). Für Hengste auf EU-Besamungsstationen ist zudem zu Beginn jeder Zuchtsaison eine CEM-Beprobung verpflichtend. Dafür müssen zwei Tupferserien im Abstand von mindestens sieben Tagen untersucht werden, wobei eine Untersuchung kulturell oder mittels PCR erfolgen kann (Terrestrial Manual, WOAH, 2022).

1.8. Verbreitung weltweit und aktuelle Prävalenz

Die weltweite Verbreitung dieser hochansteckenden Deckseuche wird maßgeblich durch den asymptomatischen Träger-Status von klinisch gesund erscheinenden Hengsten und Stuten begünstigt (SCHLÜTER et al., 1991). In der Vergangenheit wurden wiederholt klinisch unauffällige Pferde, insbesondere aus der Vollblutzucht, international im- und exportiert und trugen so zur globalen Verbreitung von *T. equigenitalis* bei. Nach der offiziellen Erstbeschreibung der CEM 1977 wurden in der Folge weltweit Infektionen mit *T. equigenitalis* beschrieben (DUQUESNE et al., 2020).

Im Jahr 1978 wurde *T. equigenitalis* erstmals in den USA bei zwei Stuten in Kentucky nachgewiesen. Beide Stuten wurden von einem aus England importierten französischen Vollbluthengst gedeckt, der bei der Einreise in die USA negativ auf *T. equigenitalis* getestet wurde. Nach Bestätigung der positiven Testergebnisse der Stuten erfolgten sofort Eindämmungsmaßnahmen sowie ein vorübergehendes Importverbot für englische Pferde (HOLDEN, 1978). Dennoch traten in den USA in den Folgejahren wiederholt kleinere CEM-Ausbrüche auf. Dazu zählt u.a. ein Ausbruch aus dem Jahr 1979 in einer Trakehnerpopulation in Missouri (LUDDY & KUTZLER, 2010). Hier konnte ein Taylorellenstamm, der nicht resistent gegenüber Streptomycin war, nachgewiesen werden, womit eine direkte Verbindung zum Ausbruch in Kentucky ausgeschlossen werden konnte (TIMONEY, 1996). Ein weiterer Ausbruch wurde 2006 dokumentiert, als drei zuvor aus Europa importierte Lipizzanerhengste in Wisconsin positiv auf *T. equigenitalis* getestet wurden. Ein größerer Ausbruch folgte 2008 in Kentucky, bei dem ein in den USA geborener Quarterhorse-Hengst positiv getestet wurde. Dieser Hengst wurde zuvor weder im Natursprung eingesetzt noch wurden größere Standortwechsel vorgenommen. Im Anschluss daran konnten in den USA bei 994 getesteten Pferden 23 Hengste und fünf Stuten positiv auf *T. equigenitalis* getestet werden (LUDDY & KUTZLER, 2010).

Neben der Verbreitung in den USA wurden auch in Europa wiederholt *T. equigenitalis*-positive Pferde beschrieben. Eine Studie von PARLEVLIET et al. (1997) untersuchte in den Niederlanden eine randomisierte Stichprobe von 107 Stuten mittels PCR. Die getesteten Tiere umfassten verschiedene Rassen (u.a. Holländisches Warmblut, Friesen, Standardbreds, New-Forest-Ponys, Welsh Ponys, Hackney, Araber, Haflinger, Islandpferde, Przewalskipferde, Esel und Zebras) sowie Stuten mit unterschiedlicher Reproduktionshistorie (Zuchtstuten, Maidenstuten und Stuten mit unbekanntem Status). Obwohl keine der beprobten Stuten zum Zeitpunkt der Untersuchung klinische Symptome zeigte, waren insgesamt 49% der Tiere *T. equigenitalis*-positiv. Die Autoren folgerten daraus, dass die Infektion endemisch in der Pferdepopulation verbreitet ist und bereits lange vor der Entdeckung im Jahr 1977 existierte. Auch in weiteren europäischen Ländern wie Frankreich wurde das wiederkehrende Auftreten von CEM ebenfalls publiziert. Eine Studie von BREUIL et al. (2015) zeigte, dass zwar die französische Vollblutpopulation seit 2006 als CEM-frei gilt, in anderen Pferderassen aber weiterhin jährlich CEM-Fälle dokumentiert werden. Ergänzend dazu belegen aktuelle Publikationen das Vorkommen von *T. equigenitalis* in Finnland (PELKOLA et al., 2023). In dieser Studie wurden über den Zeitraum von 1992 bis 2021 insgesamt 34 *T. equigenitalis*-Isolate von 24 Pferden gewonnen und anschließend einer Genomsequenzierung unterzogen.

Darüber hinaus gibt es zahlreiche aktuelle Publikationen, die die weltweite Präsenz von *T. equigenitalis* beschreiben. Dazu zählen u.a. Südafrika (MAY et al., 2012), Ägypten (SOBHY et al., 2019), Südkorea (HWANG et al., 2018) und Japan (ANZAI et al., 2011). Laut der Weltorganisation für Tiergesundheit (WOAH, ehemals OIE) ist CEM aktuell in neun Ländern präsent, während in weiteren 39 Ländern wiederkehrend CEM-Ausbrüche verzeichnet werden (HICKS et al., 2018). Während das Vorkommen von CEM in den Vollblutzuchtverbänden durch strenge Zuchtrichtlinien weitgehend kontrolliert und eingedämmt wurde (SCHULMAN et al., 2013), wird *T. equigenitalis* bei anderen Rassen regelmäßig nachgewiesen.

Da es sich bei der CEM um eine ansteckende Deckseuche handelt, unterliegt der Nachweis von CEM beim Pferd in Deutschland der Meldepflicht. Offizielle Zahlen sind auf der Internetseite des CVUA Stuttgart (Chemisches & Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Untersuchungsamt für Lebensmittelüberwachung und Tiergesundheit, Baden-Württemberg) für die Jahre 1995 bis 2015 veröffentlicht (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1: Offiziell gemeldete Fallzahlen von *T. equigenitalis*-positiven Tieren aus Deutschland von 1995 bis 2015 (Sting, CVUA Stuttgart, 2016)

Jahr	1995	1996	1997	1998	1999	2001	2002	2003	2004	2005
CEM-Fälle	5	11	6	3	5	6	13	10	7	9
Jahr	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
CEM-Fälle	4	9	16	7	5	12	7	15	24	15

Zudem veröffentlicht das Friedrich-Löffler-Institut (FLI) jährlich den Tiergesundheitsjahresbericht, in dem die CEM als meldepflichtige Erkrankung miterfasst wird. Im letzten Tiergesundheitsjahresbericht von 2023 wurden 39 Primär- und fünf Sekundärinfektionen mit *T. equigenitalis* gemeldet (Tiergesundheitsjahresbericht, FLI, 2023). Die Interpretation dieser Fallzahlen ist jedoch nur eingeschränkt möglich, da wahrscheinlich vor allem klinisch auffällige Pferde oder Tiere im Zuchteinsatz getestet wurden. Subklinisch infizierte Pferde oder Nicht-Zuchttiere könnten daher unentdeckt bleiben und in der Statistik nicht erfasst sein. Darüber hinaus ist anhand dieser Zahlen eine Unterscheidung von klinisch auffälligen Tieren

mit beispielsweise Vaginalausfluss und asymptomatischen Tieren, bei denen ausschließlich das Bakterium nachgewiesen wurde, nicht möglich.

Zur Prävalenz von *T. equigenitalis* beim Islandpferd liegt eine aktuelle Studie der LMU München vor, in der 76 Islandhengsten untersucht wurden. Dabei erhielten 30,3% (23/76) der untersuchten Islandhengste ein positives PCR-Ergebnis. Die Proben wurden zwischen 2019 und 2020 entnommen und umfassten sowohl Zuchthengste als auch Junghengste ohne vorherigen Deckeinsatz. Die hohe Prävalenz deutet darauf hin, dass die offiziell gemeldeten Fallzahlen die tatsächliche Verbreitung von *T. equigenitalis* unterschätzen und das Bakterium möglicherweise in vielen Pferden ohne klinische Symptome nachweisbar ist (GRABATIN et al., 2025). Ein endemisches Vorkommen von *T. equigenitalis* in einigen Ländern wurde bereits mehrfach vermutet (PARLEVLIET et al., 1997; TIMONEY et al., 2011).

2. Islandpferde

2.1. Rasse und Vorkommen

Das Islandpferd ist eine aus Island stammende, robuste und vielseitig einsetzbare Kleinpferderasse mit einem Stockmaß von 125 bis 145 cm und einem Körpergewicht zwischen 300 und 400 kg (FEIF General Rules and Regulations, 2024.). Die Zuchthistorie begann Ende des 9. Jahrhunderts n. Chr., als kelto-germanische Ponys aus Norwegen und Schottland nach Island importiert wurden (ADALSTEINSSON, 1981). Nach dem 930 n. Chr. erlassenen Einfuhrverbot für Pferde wurden diese Tiere als isolierte Reinzucht weitergezüchtet. Dadurch wurde eine sehr robuste und widerstandsfähige Pferderasse geschaffen (ARNÓRSSON, 2006), die üblicherweise im Herdenverband ganzjährig im Freien leben und auch heute noch entsprechend extensiv gehalten wird (LUTHERSSON et al., 2022).

Als Gangpferde verfügen Islandpferde neben den Grundgangarten Schritt, Trab und Galopp über die besondere Gangart Tölt (4-Gänger), einige Isländer zusätzlich über den Rennpass, sogenannte 5-Gänger (LUTHERSSON et al., 2022). Darüber hinaus gelten sie durch ihr stabiles Fundament als sogenannte Lastenträger, sodass sie sich trotz der Größe auch für Erwachsene als Reitpferd eignen. Als Zuchtziel ist ein eleganter Körperbau mit Stärke, Beweglichkeit und guter Bemuskelung definiert, zudem ein modernes im Reitpferdetyp stehendes Pferd mit vollem Mähnen- und Schweifhaar gewünscht (FEIF General Rules and Regulations. 2024.). Durch die robuste und ausgeglichene Natur der Islandpferde sind sie sowohl in Island als auch international, wie etwa in Deutschland, sehr beliebt.

In Deutschland ist der Islandpferde-Reiter- und Züchterverband (IPZV) als Fachverband für die Zucht der Islandpferde zuständig. Auf internationaler Ebene agiert die FEIF (International Federation of Icelandic Horse Associations) und regelt alle Angelegenheiten, die den Islandpferdesport betreffen. Eine weltweite Datenbank namens World Fengur ermöglicht die Rückverfolgung reinrassiger Islandpferde.

2.2. Population in Deutschland

Gemäß der FEIF waren 2024 in Deutschland knapp 76.000 Islandpferde registriert. Nach Island mit ca. 93.000 Pferden ist Deutschland das zweitgrößte europäische Land, das Islandpferde beheimatet. Insgesamt leben in Europa ca. 300.000 Islandpferde, wobei neben Island und Deutschland auch die skandinavischen Länder (Dänemark, Schweden, Norwegen) einen größeren Islandpferdebestand verzeichnen (FEIF, 2024). Pferde, die einmal aus Island exportiert wurden, dürfen nicht zurück auf die Insel verbracht werden.

Laut dem Jahresbericht der FN aus 2023 waren in Deutschland 2023 4723 Zuchstuten, 970 eingetragene Hengste und 105 gekörte Hengste registriert. Über die letzten 20 Jahre blieb die Entwicklung der deutschen Islandpferdezucht weitgehend stabil (FN-Jahresbericht, 2023, Abbildung 2).

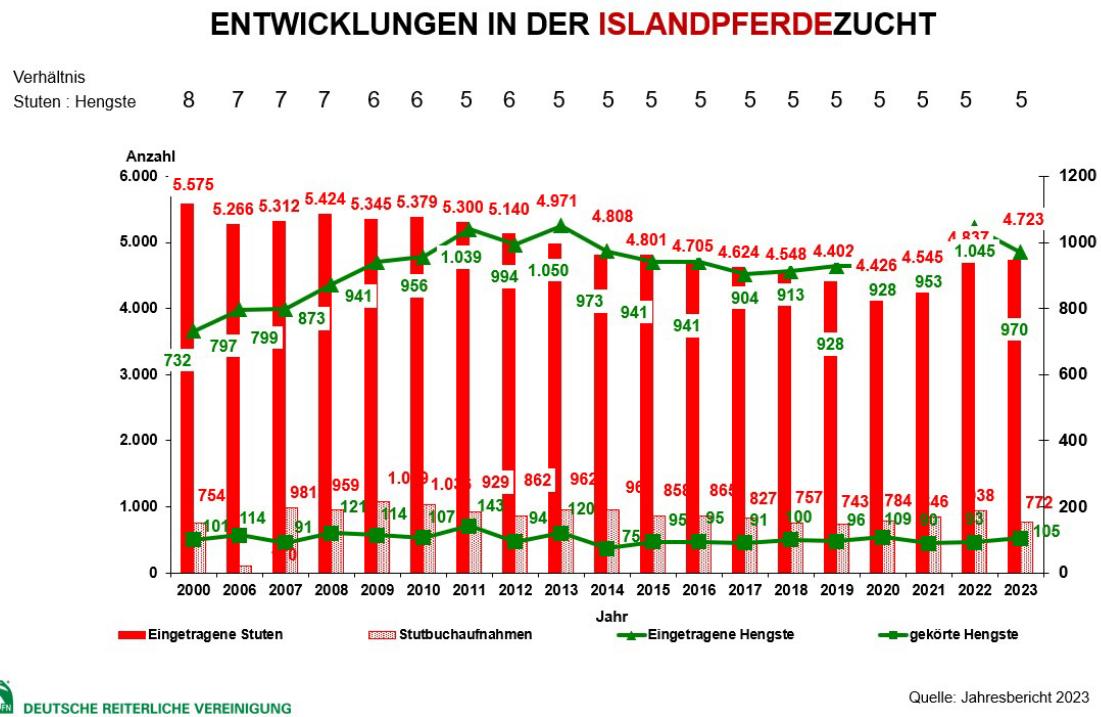


Abbildung 2: Entwicklung der deutschen Islandpferdepopulation in absoluten Zahlen (FN-Jahresbericht, 2023).

2.3. Haltung und Zuchtmanagement

Islandpferde werden gemäß ihrer ursprünglichen Herkunft noch heute als Robustpferderasse im Herdenverband extensiv gehalten (LUTHERSSON et al., 2022). Dies entspricht im Sommer einer reinen Weidehaltung mit entsprechendem Witterungsschutz und im Winter üblicherweise einer Haltung im Offenstall. Da Islandpferde an diese Bedingungen gut adaptiert sind, ist nur eine moderate Zufütterung notwendig. Die extensive Haltung im Herdenverband ist vom Verband (IPZV) so vorgesehen und soll die positiven, robusten Eigenschaften des Islandpferdes erhalten. Islandpferden wird eine gute Fertilität zugesprochen, wenngleich wissenschaftlich wenig Hinweise dafür vorliegen. In einer Studie von HUGASON et al. (1985) wurde die Fertilität bei Islandpferden untersucht. Die in dieser Studie beschriebene durchschnittliche Fruchtbarkeitsrate von 316 Hengsten betrug 85,6%. Vergleichend hierzu wird sogenannte

Konzeptionsrate pro Zyklus (*per cycle conception rate*) beim Englischen Vollblut zwischen 60 und 69% angegeben, wobei die Konzeptionsrate von multiplen Faktoren stark beeinflusst werden kann (LANE et al., 2016; ATKEN et al., 2023).

Üblicherweise werden die Stuten während der Decksaison mehrfach im Natursprung von einem Hengst im Herdenverband gedeckt (DAVIES MOREL & GUNNARSSON, 2000). Alternativ kann der Natursprung auch an der Hand erfolgen. Die künstliche Besamung, wie in der Warmblutpferdezucht üblich, kommt in der Islandpferdezucht bisher nur in Ausnahmefällen zur Anwendung. Wissenschaftliche Arbeiten zum Einsatz moderner Reproduktionstechniken beim Islandpferd sind sehr limitiert. Eine Studie von AURICH et al. (2020) untersuchte den Einfluss der Rasse auf die Anzahl der für die kommerzielle künstliche Besamung geeigneten kryokonservierten Ejakulate. Dabei hatten Arabische Hengste eine überdurchschnittliche, dagegen Islandpferde und Quarter Horses eine unterdurchschnittliche Rate, während Warmblut- und Lipizzaner-Hengste im Durchschnitt lagen.

2.4. *Taylorella equigenitalis* bei Islandpferden

In Deutschland existieren für die Zuchtnutzung von Pferden im Natursprung keine offiziellen Regelungen, die eine Untersuchung auf bestimmte Genitalinfektionen vorschreiben. Im Gegensatz hierzu existieren für die KB sowie für den innergemeinschaftlichen Handel mit Samen, Eizellen und Embryonen klare Richtlinien. Diese tierseuchenrechtlichen Bedingungen sind in der Richtlinie 92/65/EWG (1992) festgelegt. Gemäß der aktuellen Fassung dieser Richtlinie müssen Hengste, die für die KB eingesetzt werden, standardmäßig auf folgende Erkrankungen untersucht werden: Equine Infektiöse Anämie (EIA) mittels Coggins-Test (Blutuntersuchung), Equine Virus Arteritis (EVA) mittels Serum-Neutralisationstest (Blutuntersuchung) sowie eine Untersuchung des Spermazells mittels Virusisolation oder PCR, wenn der Hengst im Serum-Neutralisationstest ein Ergebnis von $\geq 1:4$ oder durch eine Impfung gegen EVA ein Ergebnis von $\geq 1:4$ im Serum-Neutralisationstest hat. Zur Untersuchung auf CEM ist je eine Tupferprobe bestehend aus zwei Serien im Abstand von sieben Tagen aus der Harnröhre, der Eichelgrube und des Penisschafts mittels Kultur oder PCR vorgeschrieben (Handbuch Pferdebesamungsstationen, 2015). Eine Zulassung des Hengstes zur Besamungsstation erfolgt nur nach negativem Testergebnis und entsprechenden Quarantänemaßnahmen.

Diese detaillierten Vorschriften sind für Islandhengste, die im Natursprung im Herdenverband decken, nicht verpflichtend, und eine tierärztliche Voruntersuchung ist dem Ermessen des

Züchters vorbehalten. Da eine Genitalinfektion mit *T. equigenitalis* beim Hengst immer asymptomatisch verläuft, ist die Detektion von CEM beim Hengst ohne Tupferprobe nicht möglich.

Über das Vorkommen von CEM bei Islandpferden wird in der Literatur nur wenig berichtet, vielmehr galt Island selbst lange als CEM-frei. Eine Studie von PARLEVLIET et al. (1997) berichtete jedoch von sieben *T. equigenitalis*-positiven Islandpferden, die direkt nach dem Export aus Island getestet wurden. Zudem wurden in dieser Studie sieben weitere Islandstuten, die bereits in den Niederlanden beheimatet waren, positiv getestet. Keine der positiv getesteten Stuten zeigte klinische Auffälligkeiten. Dies deutet darauf hin, dass das Bakterium im Reproduktionstrakt dieser Tiere vorkommen kann, ohne klinische Symptome zu verursachen oder die Befruchtungsraten zu beeinträchtigen. Daher wurde ein endemischer Status von *T. equigenitalis* in der Islandpferdepopulation vermutet.

Im Jahr 2020 kam es in Dänemark zu einem CEM-Ausbruch in der Islandpferdepopulation, bei dem 104 Islandpferde positiv getestet werden konnten. Ein 2021 durchgeführtes Screeningprogramm ergab 53 (2%) PCR-positive Proben von 2.703 untersuchten Tieren. Insgesamt 38 Isolate wurden kultiviert und davon 34 dem Ausbruchstyp ST74 zugeordnet. Die restlichen Isolate wiesen auf mindestens drei unabhängige Einträge von *T. equigenitalis* hin (CEM in Icelandic Horses, Universitiy of Copenhagen, 2023).

Darüber hinaus wurden an der Klinik für Pferde der LMU München in der Abteilung für Pferde-Reproduktionsmedizin in den vergangenen Jahren wiederholt Islandhengste aufgrund schlechter Befruchtungsraten vorgestellt. Neben der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung der Hengste wurde jeweils eine Tupferprobe entnommen sowie ein Ejakulat durch den Sprung auf das Phantom gewonnen. Alle gewonnenen Proben wurden eingehend mikrobiologisch untersucht. In mehreren Fällen konnte das Bakterium *T. equigenitalis*, der Erreger der CEM, nachgewiesen werden.

Daraus entstand die Fragestellung für eine Vorläuferstudie der vorliegenden Untersuchung: In dieser Arbeit wurde die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandhengsten im Rassevergleich zu anderen Pferderassen (Haflinger und Kaltblutpferde), die ebenfalls im Natursprung eingesetzt werden, untersucht. Die Studie zeigte interessante Ergebnisse (vgl. II.1.8.), insbesondere eine signifikant höhere Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandhengsten im Vergleich zu Haflinger- und Kaltbluthengsten. Zudem wurde festgestellt, dass Junghengste ohne Zuchteinsatz signifikant häufiger positiv auf *T. equigenitalis* getestet wurden als Zuchthengste der gleichen Rasse, was hinsichtlich der Übertragungswege weitere Fragen

aufwarf (GRABATIN et al., 2025). Daraus resultierte die Fragestellung für die vorliegende Arbeit, in der nun die Prävalenz von *T. equigenitalis* sowohl bei Islandstuten als auch bei Islandwallachen untersucht werden soll.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Zielsetzung

Islandhengste konnten im Rassevergleich mit Haflinger- und Kaltbluthengsten, die ebenfalls überwiegend im Natursprung eingesetzt werden, signifikant häufiger positiv auf das Bakterium *T. equigenitalis* getestet werden (GRABATIN et al., 2025). Über die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandstuten und -wallachen gibt es bislang keine wissenschaftlichen Untersuchungen.

Ziel der vorliegenden Studie war es deshalb, die Prävalenz von *T. equigenitalis* in einer umfangreichen Beprobung von Islandstuten und -wallachen zu erfassen. Hierzu wurden ausschließlich Islandpferde aus Süddeutschland (Bayern und Baden-Württemberg) und Österreich (Tirol) einbezogen und an den international gängigen Lokalisationen beprobt (vgl. II.1.5.). Darüber hinaus wurden bei der Stute Tupferproben vom Euter und im Zwischenschenkelspalt entnommen, allerdings im Zuge der vorliegenden Arbeit noch nicht weiter untersucht. Vor jeder Probennahme wurden für alle inkludierten Tiere Alter, Geschlecht, die bisherige züchterische Nutzung und die Haltungsform erfasst. Die erhobenen Informationen sollten mögliche Faktoren, die mit einem *T. equigenitalis*-positiven Ergebnis in Verbindung stehen, identifizieren. Die Halter aller *T. equigenitalis*-positiv getesteten Tiere erhielten darüber hinaus einen retrospektiven Fragebogen, mit dem weitere detaillierte Informationen zu den genannten Faktoren überprüft wurden.

Als Hypothese wurde angenommen, dass Zuchstuten aufgrund der hauptsächlich venerischen Übertragung signifikant häufiger positiv getestet werden. Allerdings wurde ebenfalls erwartet, dass auch Stuten ohne bisherigen Zuchteinsatz (Maidenstuten) und Wallache ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis liefern könnten, da durch die Studie von GRABATIN et al. (2025) gezeigt wurde, dass auch Junghengste ohne vorherigen Zuchteinsatz positiv getestet werden können.

2. Publikation

2.1. Paper

Die in dieser Arbeit beschriebene Studie wurde am 30.11.2024 im Journal of Equine Veterinary Science (JEVS) veröffentlicht:

Prevalence of *Taylorella equigenitalis* in Icelandic mares and geldings in Southern Germany and Austria

V. Solbach^a, M. Grabatin^a, Y. Zablotski^a, R. Fux^b, H. Zerbe^c, T.S. Witte^{a*}

^a *Equine Clinic, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich, Sonnenstrasse 14, 85764 Oberschleissheim, Germany*

^b *Division of Virology, Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich, Sonnenstrasse 24, 85764 Oberschleissheim, Germany*

^c *Clinic for Ruminants with Ambulatory and Herd Health Services, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich, Sonnenstrasse 16, 85764 Oberschleissheim, Germany*



Prevalence of *Taylorella equigenitalis* in Icelandic mares and geldings in Southern Germany and Austria

Veronika Solbach ^a, Markus Grabatin ^a, Yury Zablotski ^a, Robert Fux ^b, Holm Zerbe ^c,
Tanja Semira Witte ^{a,*}

^a Equine Clinic, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich, Sonnenstrasse 14, 85764 Oberschleissheim, Germany

^b Division of Virology, Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich, Sonnenstrasse 24, 85764 Oberschleissheim, Germany

^c Clinic for Ruminants with Ambulatory and Herd Health Services, Ludwig-Maximilians-Universität in Munich, Sonnenstrasse 16, 85764 Oberschleissheim, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Contagious equine metritis
Geldings
Natural breeding
qPCR
Venereal disease

ABSTRACT

Contagious Equine Metritis (CEM) caused by the bacterium *Taylorella equigenitalis* (*T. equigenitalis*), is a venereal infection of equids which is of international concern to the equine breeding industry. A recent study showed a high prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic stallions when compared to stallions of other breeds also using for natural breeding. Consequently, the objectives of the present study were to investigate the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic mares and geldings and to determine factors associated with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result. In total, 361 Icelandic horses located in Southern Germany and Austria were tested for *T. equigenitalis* using a qPCR assay. An overall prevalence of 14.4 % was detected. Positive qPCR results were found in 2.2 % (3/134) of brood mares, 9.0 % (11/122) of maiden mares and in 36.2 % (38/105) of geldings. The odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result were significantly lower in both brood (OR = 40.1, 95 % CI: 8.38-192, $P < 0.001$) and maiden mares (OR = 9.51, 95 % CI: 3.26-25.7, $P < 0.001$) when compared to geldings. Advancing age was not associated with higher odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result (OR = 0.98, 95 % CI: 0.94-1.03, $P = 0.51$). However, horses of the younger age group showed significantly lower C_t values compared to horses of the older age group ($P = 0.04$). Furthermore, geldings showed significantly lower C_t values than brood ($P < 0.03$) and maiden mares ($P < 0.001$). This study showed a significantly higher prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic geldings compared to Icelandic mares. Icelandic geldings might therefore represent a reservoir for *T. equigenitalis*.

1. Introduction

Taylorella equigenitalis (*T. equigenitalis*), the causative agent of Contagious Equine Metritis (CEM), is a mainly venereally transmitted bacterial disease that is of concern to the international equine breeding industry [1]. It is a World Organization for Animal Health (WOAH)-listed disease and has been identified in various equine breeds and in many countries worldwide [2-5]. After its initial identification following major outbreaks in Thoroughbreds in Newmarket (United Kingdom, UK) and Ireland in 1977 [6] and in Kentucky (United States, US) in 1978 [7,8], international breeding regulations were established to control the spread of the disease. The Horserace Betting Levy Board's (HBLB) Code of Practice for Breeders [9], implemented after the initial outbreak in 1977, focused mainly on biosecurity and identification of

carrier animals and proved remarkably effective in preventing recurrence of *T. equigenitalis* outbreaks in the UK and Ireland [10,11].

In mares, clinical signs include vaginal, cervical and endometrial inflammation leading to temporary infertility [3,12]. In most cases, infected mares will clear themselves of infection but may go on to become carrier animals. Stallions show no clinical signs and become subclinical carriers, remaining undetected for years [13]. Traditionally, transmission of *T. equigenitalis* occurred via natural breeding, however, in recent outbreaks [4,13], fomites and contaminated fresh and frozen semen used for artificial insemination (AI) have posed the most risk. Correspondingly, due to increased worldwide trade in semen used for AI in the equine breeding industry, biosecurity and import/export regulations have gained importance [4]. *Taylorella equigenitalis* has also been detected in placental tissues, aborted fetuses, newborn foals as well as

* Corresponding author.

E-mail address: T.Witte@lmu.de (T.S. Witte).

colts and fillies. Therefore, intrauterine or perinatal infection due to horizontal transmission was assumed [14,15].

In Germany, some horse breeds are still using natural breeding, especially Icelandic, Draft and Haflinger horses. There are currently no legal requirements for *T. equigenitalis* testing prior to natural breeding. In a recent study from Germany [16], Icelandic stallions had a significantly higher prevalence of *T. equigenitalis*-positive qPCR results compared to Draft horse and Haflinger stallions also used for natural breeding. Interestingly, this study also showed that Icelandic stallions never used for breeding were significantly more likely to have a *T. equigenitalis*-positive qPCR result than active Icelandic breeding stallions. In these cases, environmental contamination or direct transmission from animals in the same herd were discussed. Therefore, non-breeding Icelandic horses were also assumed to be *T. equigenitalis* carriers.

The objectives of the present study were to investigate the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic mares (brood and maiden) and geldings. Furthermore, any factors associated with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result would be identified. We hypothesized that brood mares would have a higher prevalence of *T. equigenitalis* compared to maiden mares and geldings due to potential venereal transmission following the routine use of natural breeding in this breed. We also hypothesized that Icelandic maiden mares and geldings may also have positive qPCR results, since it had recently been shown that stallions without breeding history had tested positive for *T. equigenitalis* [16].

2. Material and methods

2.1. Ethical approval

This study was conducted in accordance with national laws for animal use and approved by the Ethics Committee of the Veterinary Department of the Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) in Munich (Germany; Approval number, 294-28-12-2022; Approval date, February 2022). The owners of all sampled animals gave informed consent to testing.

2.2. Animals

In total, 361 Icelandic horses, including 134 brood mares, 122 maiden mares and 105 geldings were included in the study. Study participants were recruited by contacting Icelandic horse owners from the patient pool of the Equine Clinic (LMU Munich, Germany) and through the resulting contacts, to larger Icelandic studs. Therefore, convenience samples were taken on 11 different studs [A-K] located in Southern Germany (Bavaria and Baden-Württemberg) and Austria (Tyrol). All studs were geographically and logically separated from each other. According to the owner's information, there had been no direct connection between the studs nor any known active exchange of animals. However, due to a close Icelandic horse community in Germany, interbreeding of some horses could not be ruled out with certainty. Only studs with >10 horses in total were included in the study. The responsible caretaker at each stud, who was not involved in the study, selected the horses for sampling. Apart from seven individually stabled Icelandic horses, all horses were kept in herds, which varied in group composition regarding size and reproductive status. For each horse, a short questionnaire regarding breed, age, reproductive status, type of husbandry and previous breeding history was completed before sampling. Only mares that, according to the owner, had never been in contact with a stallion or been bred before, were included in the group of maiden mares. All horses included were further divided into two age groups: younger horses from 1 to 11 years and older horses from 12 to 32 years. A second, retrospective questionnaire was sent to all owners of a horse with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result. The detailed information on both questionnaires can be found in supplementary data (Appendix A: Supplementary material).

2.3. Sampling procedure

Samples were taken between April and August 2022. In all mares, sampling was performed without sedation from standardized locations, internationally recommended by the WOAH i.e. the clitoral fossa and clitoral sinuses [9,17]. In geldings, sampling was carried out after oral sedation with 'acepromazine (0.3 mg/kg, Relaquine 35 mg/ml, Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany)' for penile let down. On three studs, oral sedation was not accepted by the owner, therefore, sampling was only performed on one of these studs on seven individual cooperative geldings. Samples were taken at the same standardized locations as recommended for stallions, i.e. urethral fossa, urethra and penile sheath [9]. In 3/105 (2.9 %) geldings, no sample could be taken from the penile sheath due to incomplete penile let down despite sedation. Nevertheless, the pooled sample of one gelding without sample from the penile sheath revealed a *T. equigenitalis*-positive qPCR result. Samples from each location were taken separately with a 'dry polyester swab (Dry Swabs 159 C, Copan Diagnostics, CA, USA)' and immediately placed in a 'coded reaction tube (Safe-Lock Tubes, 1.5 mL, Eppendorf SE, Hamburg, Germany)' filled with 400 µL 'isotonic saline (NaCl 0.9 %, 1000 ml, B. Braun, Melsungen Germany)'. Samples were then stored on ice, transported to the laboratory within three hours and frozen at -80 °C until further examination. At the time of sampling, all horses appeared healthy without any clinical signs of CEM (i.e. vaginal discharge).

2.4. DNA extraction and qPCR

Isolation of *T. equigenitalis* DNA was performed from all samples using the DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Venlo, Netherlands) according to the manufacturer's instruction. For DNA isolation all swabs from one animal were pooled according to Mawhinney et al. [18].

For all qPCRs, the SensiFAST Probe Lo-ROX Kit (Meridian Bioscience, Ohio, US) was used. Oligonucleotide primers (Tay377for 5'-CCGCGTGTGCGATTGA, Tay448rev 5'-TTGCCGGTGCTTATTCTTCA; 400nM) and probe (TequiFAM, 5'-FAM-AAAGGTTGTGTTAA-TACCATGGACTGCTGACGG-BHQ1; 100nM), as previously described by Wakeley et al. [19], were used for *T. equigenitalis* detection. Briefly, the thermal profile of the qPCR was set at 95 °C for 5 min, 42 cycles of 94 °C for 15 s and 60 °C for 60 s. The AriaMx real-time PCR system (Agilent, California, USA) was used together with the corresponding Aria 1.8 software to perform and analyze the qPCRs. Negative and positive controls were added to every run. All positive samples with a C_t value \geq 30 were repeated. Double positive results were considered truly positive. For C_t values from \geq 30 to 35 in the first run, and a negative result in the second run, a third crucial run was performed. For C_t values from > 35 to 40 in the first run and a negative result in the second run, the sample was scored negative.

2.5. Statistical analyses

The statistical analysis was performed using R version 4.3.1. (2023-10-19, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Multivariable mixed effects logistic regression (MELR) with 'stud' as random effect was conducted to estimate probabilities of a positive qPCR result. Reproductive status and age of Icelandic horses were used as predictors with 'stud' as random effect. Odds Ratio (OR) with 95 % confidence interval (95 % CI) were calculated for all models. All contrasts (differences between reproductive status) were assessed after model-fitting by the estimated least-squares marginal means ("emmeans" package). A Kruskal-Wallis test was performed to compare C_t values between brood mares, maiden mares and geldings, due to a non-normal and highly heteroskedastic distribution of data. Results with a P -value <0.05 were considered statistically significant. P -values were corrected for multiple comparisons with the Tukey method for MELR and with Holm method for Kruskal-Wallis analysis.

3. Results

3.1. Animals

In total, 361 Icelandic horses (134 brood mares, 122 maiden mares, 105 geldings) were included with a mean age of 12.14 ± 6.52 years. Samples were collected from horses on 11 studs in Germany and Austria. Seven out of eleven (63.6 %) studs located in Bavaria (Germany), 3/11 (27.3 %) in Baden-Wuerttemberg (Germany) and 1/11 (9.1 %) in Tyrol (Austria). One stud (D) kept only 11 horses, all other studs kept 70 or more horses in total. Since the owners refused sedation, on 2/11 (18.2 %) studs (D, J) only mares were sampled although both studs also housed geldings. On all other studs, samples from all status groups were taken. No stallion was present on stud D, while on all other studs, Icelandic stallions were present, housed separately or together with geldings, but theoretically could also have had contact with mares (see Table 1).

The second questionnaire was only sent to owners of *T. equigenitalis*-positive horses and was answered by 43/52 (82.7 %) of them, including 3/3 (100.0 %) owners for *T. equigenitalis*-positive brood mares, 9/11 (81.8 %) for *T. equigenitalis*-positive maiden mares and 31/38 (81.6 %) for *T. equigenitalis*-positive geldings. All *T. equigenitalis*-positive brood mares (3/134, 2.2 %) had not been bred in the year of sampling, but 2/3 (66.7 %) had tested negative before the last natural breeding attempt. All three *T. equigenitalis*-positive brood mares were stabled on studs with only Icelandic horses, were kept together with maiden mares and geldings and had had no known contact with any *T. equigenitalis*-positive horses on the same or other studs according to the owner's information. Based on the nine responses from the second survey, all *T. equigenitalis*-positive maiden mares had contact with brood mares and 6/9 (66.7 %) were kept in a herd together with brood mares. No *T. equigenitalis*-positive maiden mare had contact with known *T. equigenitalis*-positive horses before sampling according to the owner. All maiden mares were stabled on studs with only Icelandic horses. In *T. equigenitalis*-positive geldings, previous breeding history was reported in 3/31 (9.7 %) geldings. However, one *T. equigenitalis*-positive gelding was observed attempting to cover mares and geldings in the same herd. The group composition for geldings varied, with 23/31 (74.2 %) living in a herd

with other geldings only, 3/31 (9.7 %) living together with mares and 5/31 (16.1 %) living in a group with stallions. The majority of geldings (27/31; 87.1 %) were stabled on studs with Icelandic horses only. Detailed information of the second questionnaire can be found in supplementary data (Appendix A). The results from all *T. equigenitalis*-positive horses from the second questionnaire were insufficient and therefore not statistically investigated further.

3.2. qPCR results

3.2.1. qPCR results regarding reproductive status

An overall prevalence for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result in all sampled Icelandic horses of 14.4 % (52/361) could be detected: 3/134 (2.2 %) of brood mares, 11/122 (9.0 %) of maiden mares and 38/105 (36.2 %) of geldings. Fig. 1 shows the odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result in the three different status groups. Odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result were significantly lower in brood mares (OR = 40.1, 95 % CI: 8.38-192, $P < 0.001$) and in maiden mares (OR = 9.51, 95 % CI: 3.26-25.7, $P < 0.001$) compared to geldings. No statistically significant difference in odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result could be detected between maiden mares and brood mares (OR = 9.15, 95 % CI: 3.26-25.7, $P = 0.074$).

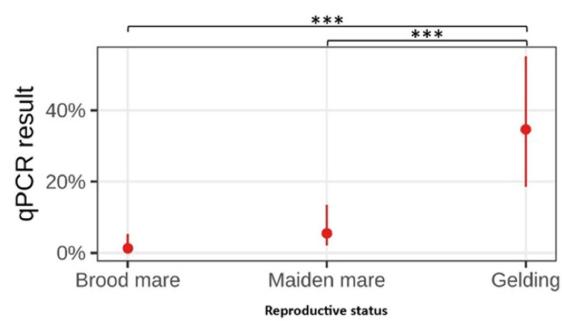


Fig. 1. Probabilities for qPCR results of brood mares, maiden mares and geldings evaluated with multivariable mixed effects logistic regression.

Table 1

Number of *T. equigenitalis*-positive mares and geldings present on 11 studs (A-K) in South Germany and Austria.

Stud	Number of horses present on stud	Stallion present on stud (Y/N ^a)	Total number of horses sampled	Total number of <i>T. equigenitalis</i> -positive horses	Number of <i>T. equigenitalis</i> -positive brood mares	Number of <i>T. equigenitalis</i> -positive maiden mares	Number of <i>T. equigenitalis</i> -positive geldings
A	70	Y	46	2/46 (4 %)	0/18 (0 %)	1/12 (8 %)	1/16 (6 %)
B	> 200	Y	39	5/39 (13 %)	0/16 (0 %)	0/15 (0 %)	5/8 (63 %)
C	> 100	Y	49	6/49 (12 %)	2/20 (10 %)	0/14 (0 %)	4/15 (27 %)
D	11	N	10	0/10 (0 %)	0/7 (0 %)	0/3 (0 %)	0 (0 %)
E	80-100	Y	46	2/46 (4 %)	0/11 (0 %)	0/16 (0 %)	2/19 (11 %)
F	80	Y	24	5/24 (21 %)	0/8 (0 %)	1/9 (11 %)	4/7 (57 %)
G	> 100	Y	32	8/32 (25 %)	0/5 (0 %)	2/13 (15 %)	6/14 (43 %)
H	> 100	Y	51	17/51 (33 %)	1/20 (5 %)	7/20 (35 %)	9/11 (82 %)
I	> 100	Y	22	6/22 (27 %)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)	6/12 (50 %)
J	> 100	Y	31	0/31 (0 %)	0/18 (0 %)	0/13 (0 %)	0 (0 %)
K	> 100	Y	11	1/11 (9 %)	0/6 (0 %)	0/2 (0 %)	1/3 (33 %)

^a Y = Yes; N = No

3.2.2. qPCR results regarding age

Fig. 2a shows the odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result in younger horses (1-11 years) and older horses (12-32 years). There was no statistically significant difference in odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result between both age groups (OR = 0.99, 95 % CI: 0.49-2.01, $P > 0.9$). The odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result were also calculated for individual horses regarding age. Advancing age was not associated with higher odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result (OR = 0.98, 95 % CI: 0.94-1.03, $P = 0.51$). However, horses of the younger age group showed significantly lower C_t values compared to horses of the older age group ($P = 0.04$) independent of their reproductive status (see Fig. 2b).

3.2.3. qPCR results regarding studs

In Table 1, all sampled animals from each stud are listed in detail. Horses to be sampled were selected individually by an independent caretaker on each stud, therefore, the number of sampled horses per stud differed, with only 10 horses sampled on smaller studs and up to 51 horses sampled on larger studs. Mixed effects logistic regressions with 'stud' as random effect obtained identical results in terms of significance between mares and geldings compared to univariable logistic regression without random effect, which indicates relative homogeneity of results between studs. Moreover, a logistic regression with qPCR results as a response and studs as a predictor also showed no significant differences among studs. In brief, only two studs (one small stud: D, 10 sampled horses and one big stud: J, 31 sampled horses) had no horses with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result. On both studs, geldings were present, but were not sampled, while on all other studs both mares and geldings were tested. Four studs [F-I] showed a high overall prevalence ($>20\%$ of tested horses) for *T. equigenitalis*-positive qPCR results. Each of these studs housed >80 horses with all reproductive status groups present.

3.2.4. C_t values

After the first qPCR run, 73/361 (20.2 %) samples tested positive, of which 18/73 (24.7 %) had a C_t between 30 and 35, and 19/73 (26.0 %) had a $C_t > 35$. After the second qPCR run, 11/18 (61.1 %) samples with a C_t value of 30 to 35 in the first run and 5/19 (26.3 %) of samples with a $C_t > 35$ in the first run were double positive and therefore regarded positive in total. The seven samples with a C_t of 30 to 35 in the first run and a negative result in the second run, tested double negative in the second and third qPCR run. As a result, 52/73 (71.2 %; corresponding to 14.4 % of all the 361 samples analyzed) of the original positive samples after the first qPCR run were considered positive after a second and a third qPCR run.

The median C_t value of all horses with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result was 21.45 (range 15.1-36.1) independent of age and reproductive status (Fig. A, supplementary data). The median C_t value of brood mares was 33.7 (range: 33.0-34.3), of maiden mares, 32.8 (range: 23.1-35.7)

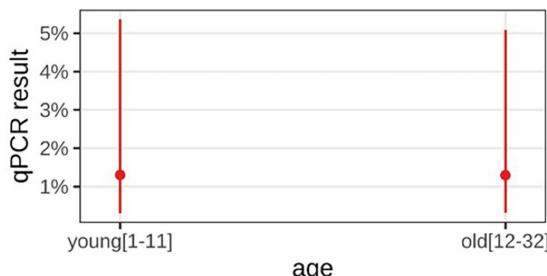


Fig. 2a. Comparison of both age groups regarding positive qPCR results in Icelandic brood mares, maiden mares, and geldings. There was no statistically significant difference in odds for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result between both age groups (OR = 0.99, 95 % CI: 0.49-2.01, $P > 0.9$).

and of geldings, 20.0 (range: 15.1-36.1). As shown in Fig. 3, the C_t values of geldings were significantly lower compared to C_t values of brood mares ($P < 0.03$) and maiden mares ($P < 0.001$).

4. Discussion

The Icelandic horse represents a special breed due to the extensive husbandry in mixed groups and the use of mainly natural breeding. This study showed that *T. equigenitalis* is present in the Icelandic mare population and contrary to our expectation, is most prevalent in the Icelandic gelding population (38/105, 36.2 %, $P < 0.001$). In addition, *T. equigenitalis*-positive qPCR samples from geldings showed significantly lower C_t values than mares. This is in accordance with Grabatin et al. [16] who detected higher odds for *T. equigenitalis*-positive qPCR results in Icelandic stallions without breeding use compared to Icelandic stallions actively used for breeding. The assumption, based on the reported high prevalence of *T. equigenitalis* in non-breeding Icelandic stallions [16], that horses not used for breeding (maiden mares and geldings) might also have *T. equigenitalis*-positive qPCR results was therefore confirmed. To the authors' knowledge, this is the first study to investigate the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic mares and geldings. Our study indicated that geldings may serve as a reservoir of infection of *T. equigenitalis*, maintaining the infection even after castration. Horizontal transmission in bachelor herds or via infected fomites (bedding, tack, grooming equipment) was the most likely route, as has previously been suggested in both, horses [3,4,13,20,21] and donkeys [22,23]. Although described, perinatal transmission routes [14,15] are unlikely as the *T. equigenitalis* infection would have had to persist in the genital tract for years or even decades as the oldest gelding with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result in the present study was 28 years old. The classic route of venereal transmission also seemed to play a subordinate role since only 9.7 % of *T. equigenitalis*-positive geldings had previously been used for breeding.

Due to a lack of official regulations regarding natural breeding under European law, routine testing for venereal diseases is not obligatory in the Icelandic breed. Although the difference between brood and maiden mares was not statistically significant, a trend towards more *T. equigenitalis*-positive qPCR results in maiden mares (9.0 %) compared to brood mares (2.2 %) was obvious ($P = 0.074$). However, brood mares were the only active breeding group of the study population that might have become infected via venereal transmission [14]. We assume that brood mares with sub- or infertility would have been noticed in the context of breeding management and would have been subsequently examined and treated in case of a *T. equigenitalis*-positive test result. Since no brood mares in our study were bred in the year of sample collection, the infection must have existed for a longer time without causing obvious clinical signs. In maiden mares, regular testing for venereal diseases is not routinely performed due to their non-breeding status. Thus, maiden mares with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result might not be detected and treated. According to the owners of maiden mares included in the present study, none had ever been used for breeding nor had any contact with stallions. Therefore, infection must have occurred either perinatally [14,15] or via horizontal transmission from other carrier animals living in the same herd.

The results of our study are also in accordance with Parlevliet et al. [24] and indicate that *T. equigenitalis* may be endemic in the Icelandic horse population without causing any clinical problems. Parlevliet et al. [24] demonstrated the presence of *T. equigenitalis* in 14/36 (38.9 %) mares (brood mares, maiden mares, and mares with unknown reproductive status) housed in the Netherlands (12/36) or immediately after importation from Iceland to the Netherlands (24/36), although *T. equigenitalis* had never been reported in Iceland before. In Germany, only a few CEM cases have been officially reported in recent years, although a trend towards more positive CEM cases was recorded from 2020 to 2022 (2020: 43 cases, 2021: 46 cases, 2022: 61 cases) [25]. Compared to these official reported cases, results of this study lead to the

III. Eigene Untersuchungen

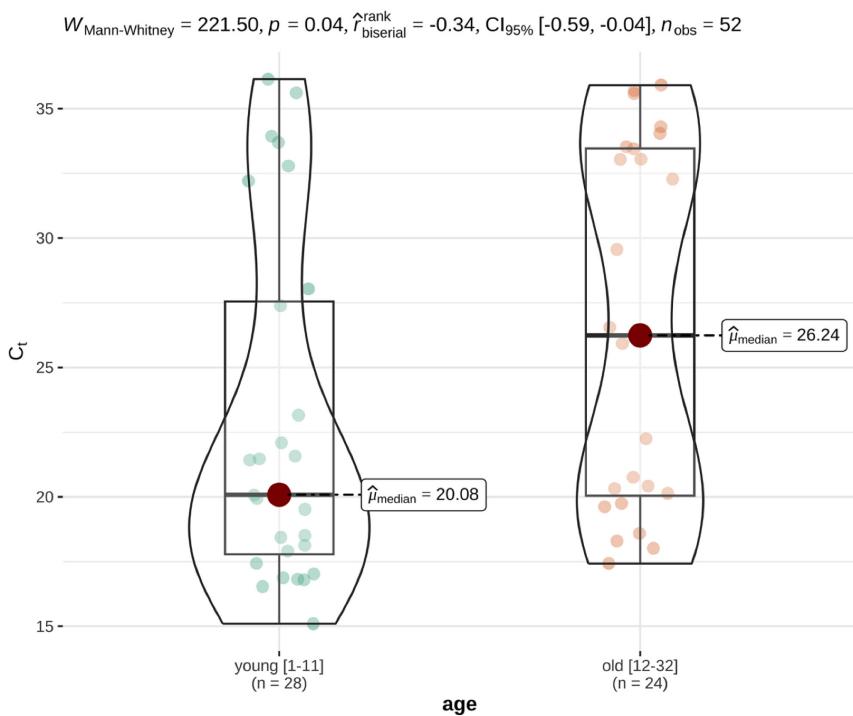


Fig. 2b. Comparison of both age groups regarding Ct values. Younger horses had significantly lower Ct values compared to older horses ($P = 0.04$).

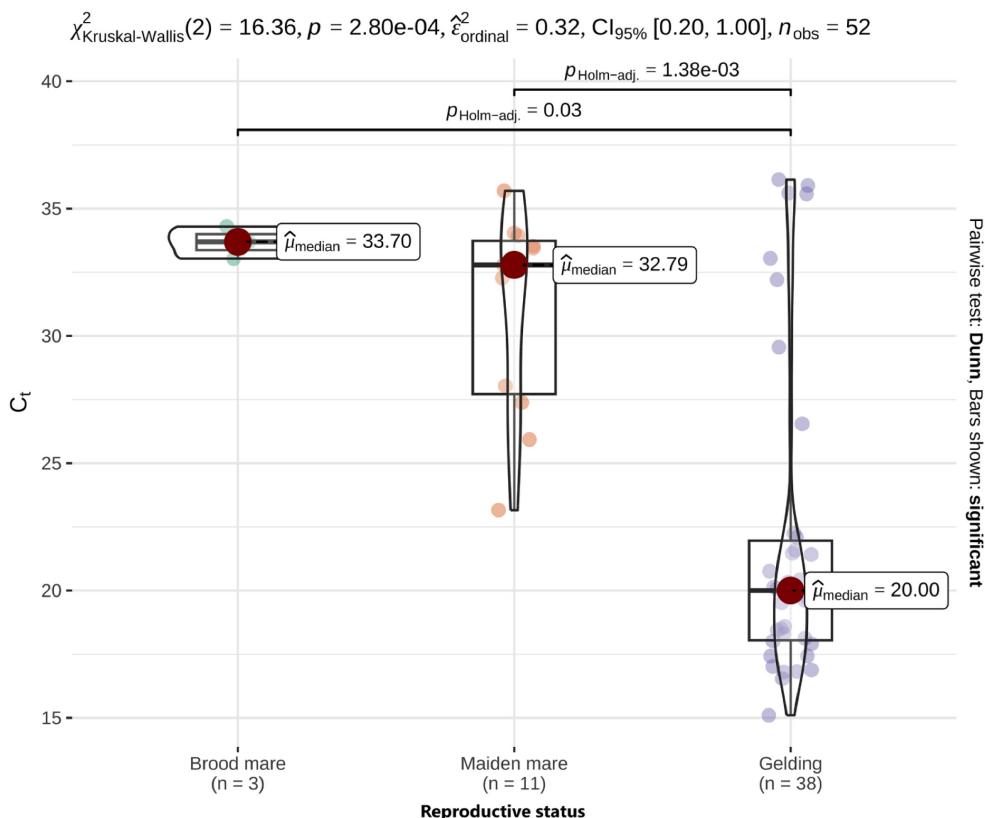


Fig. 3. Comparison of Ct values of brood mares, maiden mares and geldings. The Ct values of geldings are significantly lower compared to the Ct values of brood mares ($P < 0.03$) and maiden mares ($P < 0.001$).

assumption that the official prevalence of *T. equigenitalis* in Germany is probably extremely underestimated. The officially reported CEM cases are mainly in breeding animals, with clinical signs or signs of sub- or infertility observed by the owners. The other main reason for *T. equigenitalis* testing includes animals for export or stallions in artificial insemination programs. Furthermore, the officially reported CEM numbers do not state any breeding affiliation.

Limitations of the present study include the convenience sampling strategy, the small study population and that not all animals (especially no stallions) on the studs were sampled, preventing epidemiological tracing. The absence of tested stallions in this study does not allow comparisons of all status groups (i.e. stallions, geldings, mares), but since Grabatin et al. [16] already demonstrated a higher prevalence in Icelandic stallions compared to other horse breeds, we intended to focus on Icelandic mares and geldings only. Furthermore, the sampled horses were only located in Southern Germany and Austria, where, according to the International Federation of Icelandic Horse Associations (FEIF) [26] around 80.000 Icelandic horses reside. Therefore, the results only reflect a small portion of the Icelandic horse population in continental Europe where around 300.000 Icelandic horses were registered in 2023 [26]. Additional data such as previous breeding use, contact with *T. equigenitalis*-positive horses, contact with breeding animals and group composition were collected with the second retrospective questionnaire and unfortunately, due to lack of information or uncertain statements by the owners regarding these questions, the results were insufficient for further statistical investigation.

In our study, a routine qPCR was used to detect *T. equigenitalis* [19]. Since qPCR has a very high sensitivity, it is possible that only a small amount of *T. equigenitalis* DNA left in the reproductive tract is sufficient for a *T. equigenitalis*-positive qPCR result. However, all weakly positive samples (with a C_t value above 30) were tested repeatedly via qPCR and only double positive results were regarded truly positive. If, according to literature, all C_t values < 36 had been regarded as positive [27], the overall prevalence would have been slightly higher (18.6 %) compared to our test procedure with an overall prevalence of 14.4 %. Additional bacteriological culture was not performed due to the higher sensitivity of the qPCR [19] and the risk of false negative results with culture [28]. The objective of this study was to determine the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic mares and geldings, and therefore, no further strain differentiation has been completed so far. Strain differentiation should be performed to ensure tracing of the *T. equigenitalis* strains and to gain further epidemiological insight, especially in comparison to other breeds.

In summary, this study shows a high prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic horses, especially in non-breeding animals. The present study was not intended to prove an impact of infection with *T. equigenitalis* on fertility. However, although all tested animals with a *T. equigenitalis*-positive qPCR result showed no clinical signs, testing for *T. equigenitalis* is strongly recommended before natural breeding to optimize breeding management and achieve higher pregnancy rates. Geldings showed the highest prevalence for *T. equigenitalis* in this study, so testing of non-breeding horses in close contact with breeding horses would be highly recommended, especially in mixed herds.

5. Conclusion

An overall prevalence of *T. equigenitalis* of 14.4 % in Icelandic mares and geldings was detected in this study, indicating that *T. equigenitalis* is widespread in the Icelandic horse population and is particularly common in Icelandic geldings (36.2 %) when compared to Icelandic mares (5.5 %). Therefore, Icelandic geldings might represent a reservoir of *T. equigenitalis* in this breed. Since both, breeding and non-breeding horses, were tested positive for *T. equigenitalis*, horses intended for breeding should be kept separately from other horses and should be tested frequently. This would help to avoid further transmission of *T. equigenitalis*.

Funding information

The study received no external funding.

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 294-28-12-2022; Approval date, February 2022).

Informed consent

The consent for the investigations was given by the horse owners or those with the owners' authority. The horses and farms as well as horse owners have been anonymized.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

CRediT authorship contribution statement

Veronika Solbach: Writing – original draft, Investigation, Data curation, Conceptualization. **Markus Grabatin:** Writing – review & editing, Investigation. **Yury Zablotski:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Software, Formal analysis. **Robert Fux:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Formal analysis. **Holm Zerbe:** Writing – review & editing, Supervision, Conceptualization. **Tanja Semira Witte:** Writing – review & editing, Supervision, Resources, Project administration, Methodology, Formal analysis, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare no competing interests related to this report.

Acknowledgements

We would like to thank all owners of horses included in this study and those who helped with sample collection. Preliminary results were presented as an Abstract at the International Symposium on Equine Reproduction (ISER), Foz do Iguaçu, Brazil, 10th-14th July 2023.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.jevs.2024.105247](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2024.105247).

References

- [1] Timoney PJ. Contagious equine metritis. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 1996 Jun;19(3):199–204. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(96\)00005-7](https://doi.org/10.1016/0147-9571(96)00005-7). PMID: 8800545.
- [2] Duquesne F, Merlin A, Pérez-Cobo I, Sedlák K, Melzer F, Overesch G, Fretin D, Iwanicki W, Breuil MF, Wernery U, Hicks J, Agüero-García M, Frías-Serrano N, San Miguel-Ibáñez E, Patrasová E, Waldvogel AS, Szulowski K, Joseph M, Jeeba J, Shantz J, Varghese P, Hans A, Petry S. Overview of spatio-temporal distribution inferred by multi-locus sequence typing of *Taylorella equigenitalis* isolated worldwide from 1977 to 2018 in equidae. Vet. Microbiol. 2020 Mar;242:108597. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108597>. Epub 2020 Jan 24. PMID: 32122601.
- [3] 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: 1552–60.
- [4] Schulman ML, May CE, Keys B, Guthrie AJ. Contagious equine metritis: artificial reproduction changes the epidemiologic paradigm. Vet. Microbiol. 2013;167:2–8.
- [5] World Organization for Animal Health (WOAH). (accessed 2024-10-10). Available from: <https://wahis.woah.org/#/event-management>.

III. Eigene Untersuchungen

- [6] Crowhurst RC. Genital infection in mares. *Vet. Rec.* 1977;100:476.
- [7] Swerczek TW. Contagious equine metritis in the U.S.A. *Vet. Rec.* 1978;102:512–3.
- [8] Holden C. Outbreak of equine VD stirs fear in Kentucky. *Science* (1979) 1978;200: 181–5.
- [9] Horserace betting levy board (HBLB). 2004. Codes of Practice on Contagious equine metritis (CEM), Equine viral arteritis (EVA), Equine herpesvirus (EHV), guidelines on strangles. Edited by: L. Archer and J.F. Wade.
- [10] Powell DG. Contagious equine metritis. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 1981;25: 161–84.
- [11] Kristula MA, Smith BI. Diagnosis and treatment of four stallions, carriers of the contagious metritis organism— Case report. *Theriogenology* 2004;61:595–601.
- [12] May CE, Schulman ML, Gerstenberg C, Grobler A, Mphele A, Guthrie AJ. Confirmation of the first outbreak of contagious equine metritis in South Africa. In: Squires EL, Orsini JA, Evans J, editors. *Equine Infectious Diseases*, Equine Vet. Sci, 32; 2012. p. 77.
- [13] May CE, Guthrie AJ, Keys B, Joone C, Monyai M, Schulman ML. Polymerase chain reaction-based national surveillance programme to determine the distribution and prevalence of *Taylorella equigenitalis* in South African horses. *Equine Vet. J.* 2016; 48(3):307–11. <https://doi.org/10.1111/evj.12439>. Epub 2015 May 22. PMID: 25764125.
- [14] Powell DG, Whitewell K. The epidemiology of contagious equine metritis (CEM) in England 1977–1978). *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1979;27:331–5.
- [15] Timoney PJ, Powell DG. Isolation of the contagious equine metritis organism from colts and fillies in the United Kingdom and Ireland. *Vet. Rec.* 1982;111:478–82.
- [16] Grabatin M, Fux R, Zablotki Y, Goehring LS, Witte TS. *Taylorella equigenitalis* in Icelandic intact males compared with other horse breeds using natural cover. *Equine Vet. J.* 2024;1–8. <https://doi.org/10.1111/evj.14121>. Epub ahead of print. PMID: 39031711.
- [17] World Organization for Animal Health (WOAH). OIE terrestrial manual. Chapter 3.6.2. P. 1–10. Contagious equine metritis. OIE; 2022. (accessed: 2024-11-21). Available from: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/ahm/3.06.02_CEM.pdf.
- [18] Mawhinney I, Errington J, Stamper N, Torrens N, Engelsma MY, Roest HJ. 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>. Epub 2018 Aug 11. PMID: 29935036.
- [19] Wakeley PR, Errington J, Hannon S, Roest HJ, Carson T, Hunt B, Sawyer J, Heath P. Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella* equigenitalis directly from genital swabs and discrimination from *Taylorella asinigenitalis*. *Vet. Microbiol.* 2006;118:247–54.
- [20] 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>. Epub 2010 Dec 29. PMID: 21191049; PMCID: PMC3067726.
- [21] Dominguez M, Münnemann S, de Guindos I, Timoney P. Equine disease events resulting from international horse movements: systematic review and lessons learned. *Equine Vet. J.* 2016;48(5):641–53. <https://doi.org/10.1111/evj.12523>. Epub 2015 Dec 23. PMID: 26509734.
- [22] Dorrego A, Herranz C, Pérez-Sancho M, Camino E, Gómez-Arribes V, Carrasco JJ, De Gabriel-Pérez J, Serres C, Cruz-López F. First report and molecular characterization of cases of natural *Taylorella asinigenitalis* infection in three donkey breeds in Spain. *Vet. Microbiol.* 2023;276:109604. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2022.109604>. Epub 2022 Nov 24. PMID: 36481483.
- [23] Donahue JM, Timoney PJ, Carleton CL, Marteniuk JV, Sells SF, Meade BJ. Prevalence and persistence of *Taylorella asinigenitalis* in male donkeys. *Vet. Microbiol.* 2012;160(3–4):435–42. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.06.016>. Volume issues ISSN 0378-1135.
- [24] Parlevliet JM, Bleumink-Plum NM, Houwers DJ, Remmen JL, Sluijter FJ, 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). PMID: 16728066.
- [25] TSN-Tiergesundheitsjahresbericht, 2021. Tierseuchennachrichtensystem der BRD. P. 29 (accessed 2023-11-13). Available from: <https://www.fli.de/de/publikationen/tiergesundheitsjahresberichte/>.
- [26] 1995-2024 FEIF - International Federation of Icelandic Horse Associations. (accessed 2024-10-13). Available from: <https://www.fEIF.org/feif/facts-figures/?item=Horses>.
- [27] Petry S, Breuil MF, Duquesne F, Laugier C. Towards European harmonisation of contagious equine metritis diagnosis through interlaboratory trials. *Vet. Rec.* 2018; 183(3):96. <https://doi.org/10.1136/vr.104556>. Epub 2018 Apr 25. PMID: 29695449.
- [28] Ousey JC, Palmer L, Cash RS, Grimes KJ, Fletcher AP, Barrelet A, Foote AK, Manning FM, Ricketts SW. An investigation into the suitability of a commercial real-time PCR assay to screen for *Taylorella equigenitalis* in routine prebreeding equine genital swabs. *Equine Vet. J.* 2009;41(9):878–82. <https://doi.org/10.2746/042516409x474275>. PMID: 20383985.

2.2. Supplementary Data

I) Questionnaire answered by the owners before sampling.

I.1 Farm A

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	18/46	12/46	16/46
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	28/46	18/46	
Housing	Group housing	Individual housing	
	44/46	2/46	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	21/46	25/46	

I.2 Farm B

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	16/39	15/39	8/39
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	18/39	21/39	
Housing	Group housing	Individual housing	
	39/39	0/39	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	17/39	22/39	

I.3 Farm C

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	20/49	14/49	15/49
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	32/49	17/49	
Housing	Group housing	Individual housing	
	49/49	0/49	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	20/49	29/49	

I.4 Farm D

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	7/10	3/10	0/10
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	6/10	4/10	
Housing	Group housing	Individual housing	
	10/10	0/10	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	7/10	3/10	

III. Eigene Untersuchungen

I.5 Farm E

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	11/46	16/46	19/46
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	17/46	29/46	
Housing	Group housing	Individual housing	
	46/46	0/46	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	14/46	32/46	

I.6 Farm F

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	8/24	9/24	7/24
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	15/24	9/24	
Housing	Group housing	Individual housing	
	22/24	2/24	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	11/24	13/24	

I.7 Farm G

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	5/32	13/32	14/32
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	12/32	20/32	
Housing	Group housing	Individual housing	
	31/32	1/32	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	6/32	26/32	

I.8 Farm H

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	20/51	20/51	11/51
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	25/51	26/51	
Housing	Group housing	Individual housing	
	51/51	0/51	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	20/51	31/51	

III. Eigene Untersuchungen

I.9 Farm I

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	5/22	5/22	12/22
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	9/22	13/22	
Housing	Group housing	Individual housing	
	20/22	2/22	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	6/22	16/22	

I.10 Farm J

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	18/31	13/31	0/31
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	14/31	17/31	
Housing	Group housing	Individual housing	
	31/31	0/31	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	18/31	13/31	

I.11 Farm K

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	6/11	2/11	3/11
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	4/11	7/11	
Housing	Group housing	Individual housing	
	11/11	0/11	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	6/11	5/11	

I.12 Farm A-K

Reproductive status	Brood mare	Maiden mare	Gelding
	134/361	122/361	105/361
Age	Group I (1-11 years)	Group II (>11 years)	
	180/361	181/361	
Housing	Group housing	Individual housing	
	354/361	7/361	
Breeding history	Breeding history	No breeding history	
	146/361	215/361	

II) Questionnaire answered by the owners after sampling with positive tested animals.

II.1) Brood mares

<i>T. equigenitalis</i> positive brood mares	3/134		
Questionnaires received	Yes	No	
	3/3	0/3	
Last breeding use	Same season when tested (2022) 0/3	Before 2022 2/3	Unknown 1/3
Type of breeding	Pasture breeding 2/3	Hand breeding/AI 0/3	Unknown 1/3
Tested negative for CEM before breeding	Yes 2/3	No 0/3	Unknown 1/3
Group composition	Only brood mares 0/3	Maiden and brood mares 3/3	Mixed groups (B, M, G*) 0/3
Only Icelandic horses stabled on the stud	Yes 3/3	No 0/3	
Contact to CEM-positive animals	Yes 0/3	No 2/3	Unknown 1/3
CEM-positive dam	Yes 0/3	No 2/3	Unknown 1/3

*B: Brood mares, M: Maiden mares, G: Geldings

II.2) Maiden mares

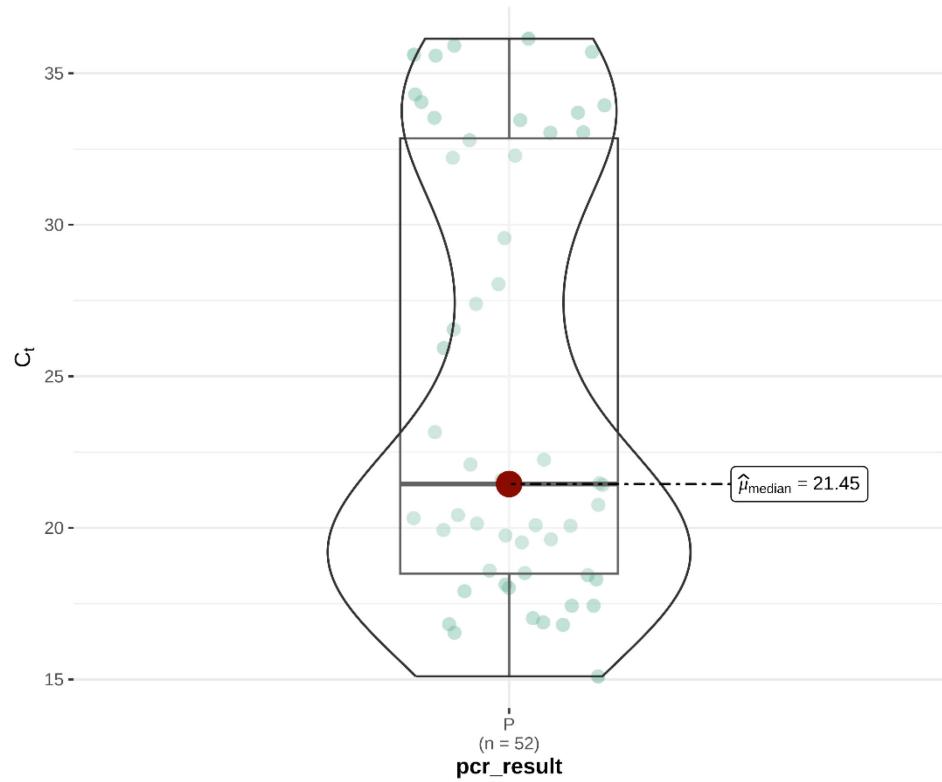
<i>T. equigenitalis</i> positive maiden mares	11/122		
Questionnaires received	Yes 9/11	No 2/11	
No previous breeding use	Yes 9/9	No 0/9	Unknown 0/9
Contact to CEM-positive animals	Yes 0/9	No 1/9	Unknown 8/9
Contact to brood mares	Yes 9/9	No 0/9	Unknown 0/9
Group composition	Only maiden mares 1/9	Maiden and brood mares 6/9	Mixed groups (B, M, G*) 2/9
Only Icelandic horses stabled on the stud	Yes 9/9	No 0/9	
CEM-positive dam	Yes 0/9	No 0/9	Unknown 9/9

II.3) Geldings

<i>T. equigenitalis</i> positive geldings	38/105		
Questionnaires received	Yes 31/38	No 7/38	
Previous breeding use as a stallion	Yes 3/31	No 28/31	Unknown 0/31
Castration	Same season when tested (2022) 0/31	Before 2022 18/31	Unknown 13/31
Covering/breeding on non-breeding animals	Yes 1/31	No 28/31	Unknown 2/31
Contact to CEM-positive animals	Yes 1/31	No 5/31	Unknown 25/31
Contact to brood mares	Yes 1/31	No 18/31	Unknown 12/31
Group composition	Only geldings 23/31	Mixed groups with mares 3/31	Mixed groups with stallions 5/31
Only Icelandic horses stabled on the stud	Yes 27/31	No 4/31	
CEM-positive dam	Yes 0/31	No 6/31	Unknown 25/31

III) 3.2.4 Ct values

Fig. A:



IV. ERWEITERTE DISKUSSION

1. *Taylorella equigenitalis* beim Islandpferd

Die Infektion mit *T. equigenitalis* als Erreger der CEM gilt weltweit als hochinfektiöse Deckseuche, die u.a. durch verminderte Fertilitätsraten bei der Stute (TIMONEY, 2011) zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten führt (HOLDEN, 1978; KRISTULA & SMITH, 2004).

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer Feldstudie mit 361 Islandpferden in Süddeutschland (Bayern und Baden-Württemberg) und Österreich (Tirol) die Prävalenz von *T. equigenitalis* untersucht. Entgegen der Erwartung, dass Zuchstuten im Vergleich zu Nicht-Zuchttieren häufiger betroffen seien, konnte gezeigt werden, dass die Prävalenz bei Islandwallachen mit 36,2% (38/105) signifikant höher war als die Prävalenz bei Islandstuten (Zucht- und Maidenstuten) mit 5,5% (14/256). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Maidenstuten (9,0%, 11/121) im Vergleich zu Zuchstuten (3/134, 2,2%) ebenfalls häufiger positiv auf *T. equigenitalis* getestet werden konnten, wenngleich statistisch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte ($P = 0,074$). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass *T. equigenitalis* bei Islandpferden jeden Alters und insbesondere bei Nicht-Zuchttieren weit verbreitet ist, meist ohne eine klinische Symptomatik hervorzurufen.

Die offiziell gemeldeten Fallzahlen von CEM in Deutschland hingegen (vgl. II.1.8., Tabelle 1) liegen vermutlich weit unter der tatsächlichen Prävalenz. Ein möglicher Grund hierfür ist, dass überwiegend Zuchttiere offiziell getestet werden. Da Hengste und Wallache keine klinischen Symptome zeigen und auch Stuten nur gelegentlich Symptome entwickeln, besteht für die Besitzer häufig kein Anlass, eine Untersuchung auf *T. equigenitalis* durchführen zu lassen.

Die Verbreitung von *T. equigenitalis* bei Islandhengsten in Deutschland spiegelt sich in den Ergebnissen der Studie von GRABATIN et al. (2025) wider. Hier wurden 30,3% (23/76) der untersuchten Islandhengste positiv auf *T. equigenitalis* getestet. Interessanterweise waren Junghengste, die bisher nicht aktiv in der Zucht genutzt wurden, signifikant häufiger positiv als Hengste, die aktuell im Zuchteinsatz standen. Die Ergebnisse von GRABATIN et al. (2025) decken sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, wo auch primär Wallache, die offensichtlich nicht züchterisch genutzt wurden, signifikant häufiger positiv getestet werden konnten ($P < 0,001$). In der zweiten retrospektiven Befragung gaben die Besitzer der positiven Wallache darüber hinaus nur bei 9,7% eine vorherige züchterische Nutzung an.

Die Bedeutung von *T. equigenitalis* beim Islandpferd wird durch einen CEM-Ausbruch in Dänemark im Jahr 2020 unterstrichen, bei dem 104 Islandpferde (14 Islandhengste und 90

Islandstuten) positiv auf den Erreger getestet wurden (CEM in Icelandic horses, University of Copenhagen, 2023). Daraufhin wurde 2021 ein von der Horse Levy Foundation finanziertes Screeningprogramm der Universität Kopenhagen und des Statens Serum Instituts durchgeführt, um die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandpferden zu bestimmen. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden 2021 insgesamt 2.703 Proben untersucht, von denen 53 (2%) PCR-positiv waren. Insgesamt konnten 38 verschiedene Isolate kultiviert werden. Die Mehrheit dieser Isolate (n=34) entsprach genetisch dem Typ ST74, der bereits den Ausbruch 2020 verursacht hatte. Die übrigen Isolate ließen sich zwei weiteren genetischen Linien zuordnen, was auf mindestens drei unabhängige Einträge von *T. equigenitalis* in die dänische Islandpferdepopulation hindeutet.

In einer Studie von PARLEVLIET et al. (1997) wurden 38,9% (14/36) der untersuchten klinisch unauffälligen Islandpferde positiv auf *T. equigenitalis* getestet. Von den untersuchten Islandstuten waren 12 Tiere bereits in den Niederlanden beheimatet, während 24 Tiere direkt nach dem Export aus Island beprobt wurden. Von diesen 24 aus Island importierten Stuten waren immerhin 29,2% (7/24) positiv, was zu der Annahme führte, dass eine Infektion mit *T. equigenitalis* bei einigen Pferderassen endemisch vorkommt, oft ohne eine klinische Symptomatik auszulösen. Sowohl der CEM-Ausbruch in Dänemark als auch die Ergebnisse von PARLEVLIET et al. (1997) stützen die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Studie: *T. equigenitalis* scheint beim Islandpferd weit verbreitet zu sein, ohne eine klinische Symptomatik hervorzurufen.

2. Endemisches Vorkommen und Pathogenität verschiedener Taylorellenstämme

Neben PARLEVLIET et al. (1997) äußerten auch andere Autoren den Verdacht auf ein endemisches Vorkommen für bestimmte Pferderassen in Zentraleuropa (TIMONEY, 2011; SCHULMAN et al., 2013). Die von *T. equigenitalis* ausgehende Gefahr beim Islandpferd wurde jedoch in Frage gestellt, da infizierte Pferde in Island offenbar ohne nachweisbare negative Auswirkungen auf die Fertilität leben konnten (PARLEVLIET et al., 1997). Zudem wurde die unterschiedliche Pathogenität der *T. equigenitalis*-Stämme wiederholt beschrieben (BLEUMINK-PLUYM et al., 1996; TIMONEY, 2011), ebenso wie eine potenziell variierende Empfänglichkeit verschiedener Pferderassen. Da jedoch Infektionen mit *T. equigenitalis* bei zahlreichen Rassen, darunter Vollblüter, Warmblüter, Isländer, Haflinger, Kaltblüter, Lipizzaner, Traber sowie diverse Ponyrassen, dokumentiert wurden (PARLEVLIET et al., 1997; STING et al., 2016), kann bislang von einer weitgehend gleichmäßigen Empfänglichkeit

unterschiedlicher Pferderassen ausgegangen werden. PARLEVLIET et al. (1997) schlussfolgerten zudem, dass CEM über lange Zeit ohne klinische Relevanz in der Islandpferdepopulation, auch auf Island selbst, vorkam. Da Hengste selbst im Infektionsfall symptomfrei bleiben und Stuten nur gelegentlich eine klinische Symptomatik in Form von weiß-gräulichem vaginalen Ausfluss zeigen (EAGLESOME & GARCIA, 1979), scheint das klinische Erscheinungsbild von CEM in dieser Population häufig nicht in Erscheinung zu treten. Auch in der vorliegenden Studie wies keine Stute klinische Auffälligkeiten auf, sodass ein endemisches Vorkommen für die untersuchten Regionen (Süddeutschland und Tirol) denkbar erscheint.

Allerdings wurden an der Klinik für Pferde der LMU München wiederholt Islandhengste aufgrund von verminderter Befruchtungsfähigkeit vorgestellt, die anschließend positiv auf *T. equigenitalis* getestet wurden. Mögliche negative Auswirkungen auf die Befruchtungsrate sind also möglich, konnten jedoch mit der vorliegenden Studie weder bestätigt noch widerlegt werden. Dennoch sollte es oberstes Ziel sein, eine großflächige Verbreitung zu verhindern und insbesondere für Zuchttiere verpflichtende Testverfahren auf *T. equigenitalis* einzuführen.

Inwiefern sich verschiedene *Taylorella*-Stämme hinsichtlich ihrer Pathogenität unterscheiden, konnte in der vorliegenden Studie nicht untersucht werden, da hierfür eine Stammsequenzierung erforderlich wäre. Erste Hinweise auf Unterschiede hinsichtlich der Invasions- und Replikationsfähigkeit einzelner Taylorellenstämme wurden bereits 1996 von BLEUMINK-PLUYM et al. in Zellkulturstadien beschrieben. Darüber hinaus wurden in mehreren Studien unterschiedliche Stämme identifiziert, insbesondere im Rahmen epidemiologischer Nachverfolgungen (STING et al., 2016). In einer Studie von AALSBURG & ERDMAN (2011) wurden zwischen 1978 und 2010 insgesamt 82 *T. equigenitalis*-Stämme in den USA mittels Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) analysiert. Ein Teil dieser Stämme stammte von dem CEM-Ausbruch aus 2009 und konnte auf eine gemeinsame Infektionsquelle zurückgeführt werden, ohne Hinweise auf eine Verbindung zu früheren CEM-Ausbrüchen in den USA. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Infektion durch den Import infizierter Pferde verursacht wurde. STING et al. (2016) untersuchten Isolate aus Deutschland und Österreich, die überwiegend von Islandpferden, Süddeutschen Kaltblütern und Lipizzanern stammten. Die hohe genetische Diversität der nachgewiesenen Stämme deutet ebenfalls darauf hin, dass *T. equigenitalis* in bestimmten Pferdepopulationen endemisch ist. Die im Rahmen der vorliegenden Studie gewonnenen Proben sollten in Folgeprojekten einer weiterführenden Stammsequenzierung unterzogen werden. Es ist denkbar, dass weniger pathogene *Taylorella*-

Stämme in bestimmten Populationen endemisch vorkommen, da sie eine geringere klinische Symptomatik hervorrufen und die Fertilität weniger beeinträchtigen.

Detaillierte Untersuchungen zur Veränderung der Genitalflora infolge einer Infektion mit *T. equigenitalis* sowie ein Vergleich zwischen Islandpferden und Warmblütern wären für ein besseres Verständnis der Infektionsdynamik von Interesse. Erste Erkenntnisse hierzu wurden von QUINONES-PÉREZ et al. (2020) veröffentlicht. Sie analysierten das Mikrobiom der Genitalschleimhaut bei einem *T. equigenitalis*-positiven Hengst und stellten Unterschiede in der Zusammensetzung des Samenmikrobioms zwischen infizierten und nicht infizierten Tieren fest. Insbesondere die Bakterienfamilien Corynebacteriaceae, Porphyromonadaceae und Bacteroidaceae zeigten signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

*3. Bekannte und mögliche neue Übertragungswege von *Taylorella equigenitalis**

Ursprünglich wurde CEM als reine Deckseuche betrachtet, wobei die Übertragung vorwiegend während des Deckakts erfolgen sollte (EAGLESOME & GARCIA, 1979). Allerdings zeigte sich schnell, dass auch weitere Übertragungswege, wie die vertikale Übertragung von der Stute auf das Fohlen – intrauterin oder peripartal – eine Rolle spielen könnten (TIMONEY & POWELL, 1982). Zudem wurde bestätigt, dass Stuten durch kontaminierte Instrumente während tierärztlicher Untersuchungen oder den Einsatz kontaminierten Gegenstände infiziert werden können (TIMONEY, 2011). Mit der Einführung der KB und dem weltweiten Austausch von Tiefgefriersperma haben sich die potenziellen Infektionswege weiter verändert (SCHULMAN et al., 2013). Die hohe Prävalenz von *T. equigenitalis* bei männlichen Islandpferden – 30,3% bei Islandhengsten (GRABATIN et al., 2025) und 36,2% bei Islandwallachen (SOLBACH et al., 2025) – wirft neue Fragen zur Übertragung auf.

Besonders auffällig ist, dass sowohl in der vorliegenden Studie als auch bei GRABATIN et al. (2025) vor allem männliche Tiere ohne bekannte Zuchthistorie betroffen waren, was die Bedeutung der venerischen Übertragung infrage stellt. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre eine intensivere Testung von Zuchttieren, während Nicht-Zuchttiere in der Regel nicht auf *T. equigenitalis* untersucht werden. Diese Annahme ist jedoch fraglich, da in den Studien von GRABATIN et al. (2025) und der vorliegenden Untersuchung insgesamt nur ein geringer Anteil der Islandpferde überhaupt getestet wurde. Eine vertikale Übertragung von der Stute auf das Fohlen (TIMONEY & POWELL, 1982) erscheint angesichts der niedrigen Prävalenz bei Zuchstuten (2,2%, 3/134) unwahrscheinlich. Wäre dieser Mechanismus relevant, müssten

Stuten und Hengste (später Wallache) als Folge einer intrauterinen oder peripartalen Infektion gleichermaßen betroffen sein, was den aktuellen Studienergebnissen widerspricht.

Mangelnde Hygiene und iatrogene Übertragungen sind als mögliche Infektionswege von *T. equigenitalis* beschrieben. Eine Transmission kann durch kontaminierte Instrumente wie vaginale Spekula, künstliche Scheiden, Wascheimer oder Phantomstuten erfolgen (SCHULMAN et al., 2013). TIMONEY (2011) vermutet, dass eine Infektion auch über kontaminierte Waschutensilien erfolgen könnte, die insbesondere bei Vollblutpferden im Rennsport in manchen Trainingsställen routinemäßig zur Reinigung der äußeren Genitalien eingesetzt werden. Beim Islandpferd ist eine derartige Praxis unüblich, jedoch wäre eine indirekte Übertragung über gemeinsame Putzutensilien denkbar.

Auch eine Übertragung über die Stallumgebung, wie kontaminierte Boxen, Einstreu oder andere Umweltquellen, wurde für Pferde (SCHULMAN et al., 2013) als auch für Esel (DORREGO et al., 2023) diskutiert, konnte jedoch bisher nicht belegt werden. In der vorliegenden Studie zeigte sich bei der Auswertung der Ergebnisse auf Betriebsebene, dass lediglich zwei Betriebe (D und J) keine *T. equigenitalis*-positiven Pferde aufwiesen. Auf beiden Betrieben wurden zwar Wallache gehalten, allerdings wurde kein Islandwallach beprobt, was potenziell das Gesamtergebnis beeinflusst haben könnte. Eine erhöhte Prävalenz von *T. equigenitalis* (>20 % der getesteten Pferde) wurde auf vier Betrieben (F–I) festgestellt. Diese Betriebe beherbergten jeweils mehr als 80 Pferde, darunter Islandpferde aller Geschlechtsgruppen. Zu Beginn der statistischen Auswertung wurde versucht, Unterschiede zwischen den Betrieben zu evaluieren, um potenzielle betriebsbedingte Einflussfaktoren zu identifizieren. Aufgrund der insgesamt kleinen Betriebsgrößen und der limitierten Anzahl beprobter Pferde auf den einzelnen Betrieben gestaltete sich ein statistischer Nachweis jedoch schwierig. Daher wurde eine Mixed-Effects-Logistic-Regression (MELR) durchgeführt, bei der die Betriebe als zufälliger Effekt (*random effect*) berücksichtigt wurden. Die Analyse ergab für Stuten und Wallache identische statistische Ergebnisse im Vergleich zur univariablen logistischen Regression ohne zufälligen Effekt. Dies weist darauf hin, dass die Ergebnisse zwischen den Betrieben weitgehend homogen sind und die innerbetriebliche Verbreitung von *T. equigenitalis* eine untergeordnete Rolle spielt. Zusätzlich verstärkt die geringe Überlebensfähigkeit des Erregers in der Umwelt diese Annahme, sodass eine Übertragung über die Stallumgebung eher unwahrscheinlich ist. Allerdings konnte ALLOMBERT et al. (2014) nachweisen, dass *Taylorella* in Amöben bis zu einer Woche überleben kann. Solche oder vergleichbare Überlebensstrategien außerhalb des Genitaltrakts könnten auf bislang unerkannte Infektionswege aus der Umgebung hinweisen und erfordern weitere Untersuchungen.

Neben Umweltkontaminationen wäre ebenfalls eine Tier-zu-Tier-Übertragung ohne Deckakt denkbar. Islandpferde nehmen aufgrund ihrer extensiven Haltungsform in größeren Herden eine besondere Rolle ein. Zudem ist der Natursprung, der häufig im Herdenverband praktiziert wird, eine gängige Zuchtmethode (DAVIES MOREL & GUNNARSSON, 2000). Ein derart enges und permanentes Zusammenleben der einzelnen Pferde erhöht insgesamt den Infektionsdruck und könnte eine direkte Übertragung von *T. equigenitalis* ermöglichen. Ein gegenseitiges Aufspringen unter Stuten oder Wallachen ist ebenfalls möglich und begünstigt aufgrund der anatomischen Lage der Geschlechtsorgane einen direkten Kontakt. Allerdings wurde das Aufspringen der Pferde mit dem zweiten Fragebogen, der an *T. equigenitalis*-positive Pferde gesendet wurde, abgefragt und gemäß Besitzerangaben nur bei einem einzigen positiven Wallach beobachtet. Nimmt man allerdings an, dass das Bakterium über Jahre hinweg insbesondere im Geschlechtstrakt männlicher Tiere persistiert (TIMONEY, 1996), so könnten sich die Pferde bereits im Jungpferdealter infiziert haben. Dies scheint möglich, da Jungpferde oft bis zur Kastration im zweiten bis dritten Lebensjahr (MOLL et al., 1995) ohne intensive menschliche Betreuung in Herdenverbänden gehalten werden. Das gegenseitige Aufspringen mit Erreichen der Geschlechtsreife ist physiologisch (LINE et al., 1985), und ein Fortbestehen einer Infektion mit *T. equigenitalis* über die Kastration hinaus durchaus denkbar und wahrscheinlich. In der vorliegenden Studie hatte das Alter der Pferde keinen signifikanten Einfluss auf ein *T. equigenitalis*-positives Ergebnis ($OR = 0,98$, 95 % CI: 0,94-1,03, $P = 0,51$), was ebenfalls für ein jahrelanges Persistieren im Geschlechtstrakt der Tiere sprechen könnte.

4. Einfluss der Erregerreservoir auf die C_t -Werte

Eine höhere Erregerlast von *T. equigenitalis* bei den Wallachen aus dieser Studie spiegelt sich in der qPCR in den deutlich niedrigeren C_t -Werten wider. Der C_t -Wert (Cycle Threshold) in der PCR-Diagnostik gibt an, nach wie vielen Zyklen der Amplifikation ein nachweisbares Signal der Ziel-DNA oder -RNA erreicht wird. In der vorliegenden Studie waren die C_t -Werte der Wallache (Median: 20,0, Range: 15,1-36,1) signifikant niedriger als die der Zuchstuten (Median: 33,7 Range: 33,0-34,3; $P < 0,03$) und der Maidenstuten (Median: 32,8, Range: 23,1-35,7; $P < 0,001$). In der Literatur ist ein derartiger Unterschied der C_t -Werte innerhalb der Geschlechtsgruppen einer Rasse bisher nicht beschrieben. Vielmehr geben die Autoren anderer Studien ein allgemeines Detektionslimit für *T. equigenitalis* bei einem C_t -Wert von < 36 an (PETRY et al., 2018). Für andere Bakterien wie beispielsweise *Salmonella* sp. gibt es Studien beim Pferd, in denen festgestellt werden konnte, dass ein niedriger C_t -Wert mit einem tödlichen

Ausgang der Pferde korrelierte (AMORY et al., 2023). Ähnliche Untersuchungen zum Einfluss der C_t-Werte bei einer Infektion mit *T. equigenitalis* hingegen sind nicht bekannt.

Als mögliche Erklärung für die hohe Erregerlast wäre denkbar, dass der männliche Geschlechtstrakt ein besonders geeignetes Erregerreservoir darstellt (TIMONEY, 2011). Denkbar ist, dass anatomische Strukturen wie die Fossa urethralis, die Urethra und der Penisschaft günstigere Bedingungen für die Besiedlung bieten als Fossa und Sinus clitoridis bei der Stute. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass Wallache aufgrund von mehr Infektionsmaterial potenziell auch infektiöser sind als weibliche Tiere mit deutlich höheren C_t-Werten und entsprechend weniger bakterieller Besiedlung. Um diese Hypothese zu bestätigen, wären gezielte Langzeituntersuchungen an Junghengstgruppen erforderlich, bei denen eine Übertragung über alternative Infektionswege ausgeschlossen werden kann. Eine abschließende Bewertung ist mit den aktuellen Daten nicht möglich.

Ein weiterer Faktor, der die Unterschiede in den C_t-Werten erklären könnte, ist die Probenentnahme. Während sich die Tupferproben bei Wallachen problemlos mit einem Standard-Polyestertupfer am ausgefahrenen Penis nach Sedation entnehmen lassen, gestaltet sich insbesondere der Zugang in den Sinus clitoridis medialis und Sinus clitoridis lateralis (vgl. Abb. 1B-D) aufgrund seiner anatomischen Gegebenheit in der Praxis häufig schwierig. Zwar ist die Entnahme aus der Fossa und dem Sinus clitoridis mit einem Standardtupfer zulässig, allerdings empfehlen DASCANIO (2021) den Einsatz ultrafeiner Tupfer, um eine tiefere und zuverlässigere Probenentnahme zu gewährleisten. Zusätzlich ist die Beprobung der Zervix beschrieben, da auch dort *T. equigenitalis* nachgewiesen werden konnte. Allerdings wird diese Methode vorrangig bei klinisch an CEM erkrankten Stuten angewendet, da sie invasiver und aufwendiger ist.

In der vorliegenden Studie wurde aus Praktikabilitätsgründen die Standardbeprobung der Fossa clitoridis und der Sinus clitorides mittels kommerziellen Polyestertupfern gewählt. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass schwach positive Proben mit hohen C_t-Werten dadurch zustande kamen oder einige Stuten fälschlicherweise als negativ getestet wurden.

Im Vorfeld der Beprobung wurde entschieden, bei Stuten ebenfalls das Euter und den Zwischenschenkelspalt zu beproben. Nachdem die Stuten den deutlich geringeren positiven Anteil darstellten, wurden diese Proben bisher nicht weiter analysiert. Diese Proben können im Zuge von Folgestudien ebenfalls herangezogen werden, um weitere potenzielle Erregerreservoirs zu identifizieren, die Einfluss auf die Übertragungswege haben könnten.

Für den Nachweis wurde bei der Stute eine gepoolte Probe aus Fossa und Sinus clitoridis verwendet (MAWHINNEY et al., 2019) und mittels PCR untersucht. Die eingesetzte und von WAKELEY et al. (2006) beschriebene quantitative PCR (qPCR) weist eine hohe Sensitivität und Spezifität auf. Allerdings kann mit dieser Methode nicht zwischen vermehrungsfähigen Erregern und abgestorbenem DNA-Material unterschieden werden, sodass keine direkten Rückschlüsse auf den Infektionsstatus einzelner Tiere möglich sind (MOORE et al., 2001). Eine ergänzende bakteriologische Kultur wäre hilfreich gewesen, um diese Differenzierung vorzunehmen. Dies hätte jedoch den Untersuchungsaufwand erheblich erhöht und war nicht primäres Ziel der Studie. Zur Erhöhung der diagnostischen Präzision wurden alle schwach positiven PCR-Ergebnisse mit einem C_t -Wert > 30 erneut getestet, um verlässliche Resultate zu gewährleisten. Das Vorgehen zur Wiederholung der PCR-Untersuchung ist in der zugehörigen Publikation detailliert beschrieben.

5. Retrospektive Befragung: Analyse potenzieller Infektionsquellen

In der retrospektiven Befragung der Pferdebesitzer positiv getesteter Tiere wurden umfassende Fragen zur Gruppenkonstellation, früherem Zuchteinsatz, potenziellen Infektionsquellen und beim Wallach zum möglichen Aufspringen auf andere Pferde in der Herde gestellt. Die Fragenbögen wurden entsprechend für Zucht- und Maidenstuten als auch für den Wallach individualisiert und können dem Anhang entnommen werden. Von den 256 untersuchten Stuten waren 14 positiv, wovon 12 Besitzer den Fragebogen beantworteten. Die Auswertung ergab jedoch keinen eindeutigen Zusammenhang, da die bereitgestellten Informationen teilweise unvollständig oder unzureichend waren. Bei den Wallachen wurden 36 von 105 Tieren positiv auf *T. equigenitalis* getestet. Von diesen beantworteten 31 Besitzer den Fragebogen. Bei drei Wallachen war eine frühere züchterische Nutzung bekannt, bei einem wurde das Aufspringen auf andere Pferde beobachtet, während die Gruppenkonstellationen variierten. Ähnlich wie bei den Stuten erwiesen sich die Angaben der Besitzer als lückenhaft, teils aufgrund der Besitzdauer, sodass keine statistisch belastbaren Zusammenhänge ermittelt werden konnten. Ähnlich beschreibt GRABATIN et al. (2025) die gewonnenen Informationen zu den *T. equigenitalis*-positiven Hengsten, auch in dieser Studie konnten keine klaren Zusammenhänge aufgrund dieser Informationen hergestellt werden. Vielmehr sollte eine weitere Genotypisierung der gewonnenen Proben durchgeführt werden, um epidemiologische Rückschlüsse ziehen zu können. In der Studie von STING et al. (2016) wurde die Genotypisierung mittels repetitiver extragenischer palindromischer (REP)-PCR und PFGE durchgeführt. Von den insgesamt 124 untersuchten *T. equigenitalis*-Isolaten stammten 34 von

Islandpferden aus Deutschland. Dabei wiesen diese Isolate die REP-Genotypen rep-E3 oder rep-E3a sowie die PFGE-Genotypen TE-A1, TE-A2 oder TE-A4 auf. Ein bemerkenswertes Ergebnis dieser Studie ist, dass bestimmte PFGE-Genotypen mit bestimmten Pferderassen und Isolationsjahren verbunden sind. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen könnte eine weiterführende Genotypisierung oder eine vollständige Stammsequenzierung der im Rahmen dieser Studie isolierten *Taylorella*-Stämme zusätzliche Informationen liefern.

6. Limitationen

Die vorliegende Studie wurde als Querschnittsstudie mit dem Ziel durchgeführt, die aktuelle Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandstuten und -wallachen in Deutschland zu erfassen und weitere Faktoren zu identifizieren, die einen Einfluss auf ein positives Testergebnis haben könnten. Eine der Hauptlimitationen dieser Studie liegt in der willkürlichen Auswahl der beprobten Tiere sowie der Standorte. Die Rekrutierung der Islandpferdegestüte erfolgte initial über das Patientengut der Klinik für Pferde der LMU München sowie über daraus resultierende Kontakte. Dadurch konzentrierten sich die untersuchten Standorte auf Süddeutschland (Bayern und Baden-Württemberg) und Österreich (Tirol), was nur einen begrenzten Teil der deutschen bzw. mitteleuropäischen Islandpferdepopulation repräsentiert. Insgesamt wurden 361 Pferde aus 11 Islandpferdegestüten in den genannten Regionen beprobt, mit einer durchschnittlichen Probenanzahl von 33 Pferden pro Betrieb. Alle Betriebe waren räumlich klar voneinander getrennt, ein aktiver Pferdeausstausch wurde nicht dokumentiert. Allerdings kann eine gewisser Austausch innerhalb der Islandpferdezuchtgemeinschaft nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Die Teilnahme an der Studie war an das Einverständnis der Besitzer gebunden. Es ist daher anzunehmen, dass diese ein bestimmtes Interesse an den Untersuchungsergebnissen hatten. Dieses Interesse könnte jedoch unterschiedliche Motivationen haben und die Studienergebnisse in beide Richtungen beeinflussen: Entweder bestand eine erhöhte Aufmerksamkeit für *T. equigenitalis* aufgrund bereits vermuteter Probleme im Bestand oder aber ein Wunsch nach Kontrolle in bislang unauffälligen Betrieben. Da die untersuchten Betriebe sowohl Zucht-, Reit- als auch gemischte Betriebe umfassten, ist anzunehmen, dass sich diese beiden Aspekte in gewissem Maße ausgleichen.

Ein limitierender Faktor dieser Studie ist der Ausschluss männlicher Zuchttiere (Islandhengste), wodurch direkte Vergleiche zwischen den Geschlechtern nur eingeschränkt möglich sind. Die von GRABATIN et al. (2025) durchgeführte Untersuchung zur Prävalenz von *T. equigenitalis*

bei Islandhengsten kann aufgrund des zeitlichen Abstands der Beprobungen nur begrenzt als Vergleich herangezogen werden. Weitere potenziell relevante Faktoren, darunter frühere züchterische Nutzung, Kontakt zu *T. equigenitalis* positiven Tieren oder zu Zuchttieren und die genaue Gruppenkonstellation wurden im Rahmen einer retrospektiven Befragung erfasst. Allerdings erwiesen sich die Angaben der Besitzer als unzureichend, um daraus belastbare Schlussfolgerungen oder neue Erkenntnisse zu gewinnen.

Eine zentrale Fragestellung, die sich aus den Ergebnissen der Studie ergibt, betrifft den potenziellen Einfluss einer *T. equigenitalis*-Infektion auf die Fruchtbarkeit, insbesondere hinsichtlich reduzierter Trächtigkeitsraten oder klinischer Anzeichen einer Endometritis. Um epidemiologische Rückschlüsse zu ziehen und mögliche Unterschiede in der Pathogenität einzelner Stämme zu belegen, wie sie bereits in der Literatur diskutiert wurden (TIMONEY, 2011), wäre eine weiterführende Genotypisierung der Isolate erforderlich.

7. Schlussfolgerung und praktische Relevanz

Die vorliegende Untersuchung zeigte, dass insbesondere Islandwallache eine signifikant höhere Prävalenz von *T. equigenitalis* im Genitaltrakt aufwiesen, während Zucht- und Maidenstuten derselben Rasse seltener betroffen waren. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Studienergebnissen von GRABATIN et al. (2025), die eine signifikant höhere Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandhengsten im Vergleich zu Kaltblütern und Haflingern nachweisen konnten. Zudem wurden Junghengste ohne züchterischen Einsatz häufiger positiv getestet als Zuchthengste. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass die Besiedlung des männlichen Genitaltrakts mit *T. equigenitalis* bei Islandpferden in den untersuchten Regionen (Süddeutschland und Tirol) als endemisch anzusehen ist. Eine Einschätzung der Pathogenität und des Einflusses auf das Zuchtmanagement kann auf Basis der vorliegenden Daten jedoch nicht abschließend vorgenommen werden.

Auf Grundlage dieser Untersuchungsergebnisse wird empfohlen, alle Pferde, die im Natursprung eingesetzt werden, konsequent auf *T. equigenitalis* zu testen und im Falle eines positiven Befunds entsprechend zu behandeln. Zudem erscheint es ratsam, Zuchttiere und Nicht-Zuchttiere räumlich voneinander zu trennen, um eine potenzielle Übertragung, insbesondere durch Wallache, weitestgehend zu vermeiden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Kontagiöse Equine Metritis (CEM) ist eine hoch ansteckende, bakterielle Deckseuche, die weltweit zu den am strengsten regulierten Erkrankungen in der Pferdemedizin zählt und für die Pferdezucht von großer Bedeutung ist. Ursächlich für die Erkrankung ist eine Infektion des Reproduktionstrakts von männlichen und weiblichen Tieren mit dem Bakterium *T. equigenitalis*. Die Übertragung erfolgt primär beim Deckakt, kann jedoch auch über kontaminierte Gegenstände oder kontaminierten Samen übertragen werden. Die Erkrankung verläuft bei Stuten häufig asymptomatisch, kann jedoch auch eine hochgradige Entzündung des Reproduktionstraktes verursachen. Die daraus resultierenden verminderten Trächtigkeitsraten können erhebliche wirtschaftliche Verluste nach sich ziehen. Hengste gelten grundsätzlich als asymptomatischer Träger von *T. equigenitalis* und können das Bakterium bei unzureichender Untersuchung unbemerkt übertragen. Mit der Einführung der künstlichen Besamung hat die Bedeutung von CEM in den letzten Jahrzehnten scheinbar an Bedeutung verloren, da die Verwendung von Hengstsperma, das auf EU-Besamungsstationen gewonnen wird, strengen Testregimen unterliegt und eine Untersuchung auf *T. equigenitalis* vorgeschrieben ist. Dennoch gibt es in Deutschland weiterhin Pferderassen, bei denen der Natursprung nach wie vor gängige Praxis ist, insbesondere Robustpferderassen wie Haflinger, Kaltblüter und Islandpferde.

Aktuelle Untersuchungen zur Prävalenz von *T. equigenitalis* bei diesen Pferderassen lagen bislang nicht vor, sodass eine Einschätzung schwierig war. In einer vorausgegangenen Studie der LMU München wurden Hengste dieser Rassen auf *T. equigenitalis* getestet. Dabei zeigte sich, dass Islandhengste im Rassevergleich mit Haflingern und Kaltblütern signifikant häufiger positiv auf das Bakterium getestet werden konnten. Demnach ergab sich die Grundlage für die vorliegende Arbeit, in welcher die Prävalenz von *T. equigenitalis* bei Islandstuten und Islandwallachen getestet werden sollte. Ergänzende Informationen hinsichtlich Alter, züchterischer Nutzung und Haltungsform wurden im Zuge der Untersuchung ebenfalls mithilfe eines Fragebogens erhoben. Der labordiagnostische Nachweis des Bakteriums erfolgte mittels qPCR.

Die Ergebnisse zeigten eine Gesamtprävalenz von 14,4% für *T. equigenitalis*-positive Islandstuten und -wallache. Ein signifikanter Unterschied wurde zwischen Wallachen (36,2%) und Stuten (5,5%) festgestellt. Zwischen Zucht- und Maidenstuten bestand kein statistisch signifikanter Unterschied, jedoch wurden Maidenstuten mit einer Prävalenz von 9,0% tendenziell häufiger positiv getestet als Zuchstuten (2,2%). Das Alter hatte weder bei Stuten noch bei Wallachen einen Einfluss auf das Testergebnis. Interessanterweise unterschieden sich

die C_t-Werten in der qPCR signifikant: Die C_t-Werte der Wallache waren deutlich niedriger als die der Stuten, was auf eine höhere Menge bakterieller DNA im Geschlechtstrakt der Wallache hindeutet. Ob von Wallachen eine relevante Infektionsgefahr ausgeht, bleibt unklar. Vielmehr deuten die Ergebnisse dieser Studie darauf hin, dass bisher wenig untersuchte Übertragungswege wie die Übertragung von Nicht-Zuchttieren untereinander innerhalb einer Herde denkbar sind. Angesichts der hohen Prävalenz von *T. equigenitalis* in der Islandpferdepopulation – insbesondere bei Wallachen – sollte diskutiert werden, ob eine Infektion mit *T. equigenitalis* in Nicht-Zuchttieren eher als endemische Erkrankung ohne klinische Relevanz betrachtet werden kann.

Die Bedeutung einer Infektion mit *T. equigenitalis* bei Zuchttieren ist hiervon klar abzugrenzen. Eine Bedeckung mit einem *T. equigenitalis*-positiven Hengst führt potenziell zu verminderten Trächtigkeitsraten bei Stuten, weshalb alle Zuchttiere vor dem Zuchteinsatz negativ auf *T. equigenitalis* getestet werden sollten. Da die genauen Übertragungswege weiterhin nicht abschließend geklärt sind, erscheint es nach aktuellem Stand der Wissenschaft ratsam, Zuchttiere von Nicht-Zuchttieren zu separieren, um eine potenzielle Übertragung zu vermeiden. Weitere epidemiologische Studien zu *T. equigenitalis* beim Islandpferd sind daher dringend erforderlich.

VI. SUMMARY

Contagious equine metritis (CEM) is a highly infectious bacterial disease, ranking among the most strictly regulated equine diseases worldwide and holding significant importance in the horse breeding industry. The causative agent of the disease is *T. equigenitalis*, which is primarily transmitted venereally but can also spread through contaminated fomites or semen. In mares, the disease often remains asymptomatic but can also cause severe inflammation of the reproductive tract. Even in the absence of clinical signs, affected mares exhibit reduced pregnancy rates, resulting in substantial economic losses. Stallions are considered asymptomatic carriers of *T. equigenitalis* and can transmit the bacterium unnoticed when adequate diagnostic screening is lacking. With the introduction of artificial insemination, CEM seems to have lost its importance, as semen collected at EU-approved breeding stations undergo strict mandatory testing. However, certain horse breeds in Germany still predominantly rely on natural mating, particularly robust breeds such as Haflingers, Draft Horses, and Icelandic Horses.

Current studies on the prevalence of *T. equigenitalis* in these horse breeds are lacking, making an assessment difficult. In a previous study conducted at the LMU Munich, stallions of the above-mentioned breeds were tested for *T. equigenitalis*. The results showed that Icelandic stallions were significantly more likely to test positive for the bacterium compared to Haflingers and Draft Horses. Consequently, the aim of the present study was to investigate the prevalence of *T. equigenitalis* in Icelandic mares and geldings. Additional data regarding age, breeding status, and husbandry were collected using an owner questionnaire. Laboratory detection of the bacterium was performed using qPCR.

The study demonstrated an overall prevalence of 14.4% for *T. equigenitalis*-positive qPCR results in Icelandic mares and geldings. A significant difference was observed between geldings (36.2%) and mares (5.5%). No significant difference regarding prevalence of *T. equigenitalis*-positive qPCR results was found between brood mares and maiden mares. However, maiden mares tended to have a higher prevalence (9.0%) compared to brood mares (2.2%). Age had no influence on the likelihood of a *T. equigenitalis*-positive result in either mares or geldings. Interestingly, C_t values differed significantly, with geldings showing significantly lower C_t values than mares. This suggests a higher bacterial DNA load in the genital tract of geldings. Whether geldings pose a relevant infection risk for transmission remains unclear. Instead, the results of this study suggest that alternative transmission routes, such as transmission among non-breeding horses within a herd or environmental contamination, should be considered.

VI. Summary

Given the high prevalence of *T. equigenitalis* in the Icelandic horse population, particularly among geldings, it should be discussed whether infection with *T. equigenitalis* in non-breeding horses should be regarded as an endemic condition without clinical significance.

The importance of *T. equigenitalis* infection in breeding animals must be clearly distinguished from this perspective. Natural mating with *T. equigenitalis*-positive stallions leads to reduced fertility rates in mares. Therefore, all breeding animals should be tested negative for *T. equigenitalis* before breeding. As uncertainties remain regarding transmission, it is currently advisable to separate breeding animals from non-breeding animals to prevent potential transmission. Further epidemiological studies on *T. equigenitalis* in Icelandic horses are warranted.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

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.

Acland HM, Allen PZ, Kenney RM. Contagious equine metritis: distribution of organisms in experimental infections of mares. *Am J Vet Res*. 1983;44:1197-202.

Adalsteinsson S. Origin and conservation of farm animal populations in Iceland. *J Anim Breed Genet*. 1981;98(1-4):258-64.

Aitken RJ, Lambourne S, Medica AJ. Predicting the outcome of Thoroughbred stallion matings on the basis of dismount semen sample analyses. *Reproduction*. 2023;165:281-8.

Allombert J, Vianney A, Laugier C, Petry S, Hébert L. Survival of *taylorella* in the environmental amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *BMC Microbiol*. 2014;14:69.

Amory H, Cesarini C, De Maré L, Loublier C, Moula N, Detilleux J, Saulmont M, Garigiany MM, Lecoq L. Relationship between the Cycle Threshold Value (Ct) of a *Salmonella* spp. qPCR Performed on Feces and Clinical Signs and Outcome in Horses. *Microorganisms*. 2023;11(8):1950.

Anzai T, Eguchi M, Sekizaki T, Kamada M, Yamamoto K, Okuda T. Development of a PCR test for rapid diagnosis of contagious equine metritis. *J Vet Med Sci*. 1999;61(12):1287-92.

Anzai T, Kamada M, Niwa H, Eguchi M, Nishi H. Contagious equine metritis eradicated from Japan. *J Vet Med Sci*. 2012;74(4):519-22.

Arata AB, Cooke CL, Jang SS, Hirsh DC. Multiplex polymerase chain reaction for distinguishing *Taylorella equigenitalis* from *Taylorella equigenitalis*-like organisms. J Vet Diagn Invest. 2001;13(3):263-4.

Arnórsson K. Ræktunin [The breeding]. In: Björnsson GB, Sveinsson HJ, editors. Íslenski hesturinn [The Icelandic horse]. 1st ed. Reykjavík: Mál og menning; 2006. p. 202-47.

Båverud V, Nyström C, Johansson KE. Isolation and identification of *Taylorella asinigenitalis* from the genital tract of a stallion, first case of a natural infection. Vet Microbiol. 2006;116(4):294-300.

Benson JA, Dawson FL, Durrant DS, Edwards PT, Powell DG. Serological response in mares affected by contagious equine metritis 1977. Vet Rec. 1978;102(13):277-80.

Bleumink-Pluym NM, 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.

Bleumink-Pluym NM, van Dijk L, van Vliet AH, van der Giessen JW, van der Zeijst BA. Phylogenetic position of *Taylorella equigenitalis* determined by analysis of amplified 16S ribosomal DNA sequences. Int J Syst Bacteriol. 1993;43(3):618-21.

Breuil MF, Duquesne F, Leperchois E, Laugier C, Ferry B, Collin G, Petry S. Contagious equine metritis cases reported in France since 2006. Vet Rec. 2015;177(13):340.

Contagious equine metritis (CEM) in Icelandic horses. Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Copenhagen. 2023. Online verfügbar unter: https://ivh.ku.dk/english/research/veterinary_clinical_microbiology/one-health-antimicrobial-resistance/news-boxs/cem-in-icelandic-horses/ (Zugriff am 21.03.2025).

Crowhurst RC. Genital infection in mares. Vet Rec. 1977;100(22):476.

Crowhurst RC, Simpson DJ, Greenwood RE, Ellis DR. Contagious equine metritis. Vet Rec. 1978;102(4):91-2.

Dascanio JJ. Contagious equine metritis testing. In: Dascanio JJ, McCue P, editors. Equine reproductive procedures. 2nd ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2021. p. 195–202.

Davies Morel MC, Gunnarsson V. A survey of the fertility of Icelandic stallions. Anim Reprod Sci. 2000;64(1-2):49-64.

Delegierte Verordnung (EU) 2020/686 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates betreffend die Zulassung von Zuchtmaterialbetrieben sowie die Anforderungen an die Rückverfolgbarkeit und die Tiergesundheit in Bezug auf Verbringungen innerhalb der Union von Zuchtmaterial von bestimmten gehaltenen Landtieren. Annex II; Part 4; Chapter I. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_del/2020/686/oj/deu (Zugriff am 21.03.2025).

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. J Equine Vet Sci. 2019;78:10-13.

Dennis S, Pearson LK, Campbell AJ, Tibary A. Interstate Equine Semen and Embryo Shipment Regulations in the United States and Their Implications on Control of Disease Transmission. *J Equine Vet Sci.* 2014;34(7):897-902.

Dorrego A, Herranz C, Pérez-Sancho M, Camino E, Gómez-Arrones V, Carrasco JJ, De Gabriel-Pérez J, Serres C, Cruz-López F. First report and molecular characterization of cases of natural *Taylorella asinigenitalis* infection in three donkey breeds in Spain. *Vet Microbiol.* 2023;276:109604.

Duquesne F, Merlin A, Pérez-Cobo I, Sedlák K, Melzer F, Overesch G, Fretin D, Iwaniak W, Breuil MF, Wernery U, Hicks J, Agüero-García M, Frías-Serrano N, San Miguel-Ibáñez E, Patrasová E, Waldvogel AS, Szulowski K, Joseph M, Jeeba J, Shanty J, Varghese P, Hans A, Petry S. Overview of spatio-temporal distribution inferred by multi-locus sequence typing of *Taylorella equigenitalis* isolated worldwide from 1977 to 2018 in equidae. *Vet. Microbiol.* 2020;242:108597.

Eaglesome MD, Garcia MM. Contagious equine metritis: a review. *Can Vet J.* 1979;20(8):201-6.

FEIF General Rules and Regulations. 2024. Online verfügbar unter: https://www.feiffengur.com/documents/FEIF%20Breeding%202024_web.pdf (Zugriff am 21.03.2025).

FEIF statistics: registered horses (alive). 2024. Online verfügbar unter: <https://www.feif.org/feif/facts-figures/?item=Horses> (Zugriff am 21.03.2025).

FN-Jahresbericht 2023 der deutschen reiterlichen Vereinigung e.V. 2023. Online verfügbar unter: <https://www.pferd-aktuell.de/pferdezucht/ponys/ponyrassen/islandpferd> (Zugriff am 21.03.2025).

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.

Greenwood R, Twink Allen WR. Memories of contagious equine metritis 1977 in Newmarket. Equine Vet J. 2020;52(3):344-6.

Handbuch Pferdebesamungsstationen. Leitlinien für die Zulassung, Überwachung und den Betrieb von Pferdebesamungsstationen, Samendepots, Embryo-Entnahmeeinheiten. 2015. Online verfügbar unter: <https://www.landwirtschaftskammer.de/Landwirtschaft/tierproduktion/tierzuchtrecht/pdf/hb-pferdebesamungsstationen.pdf> (Zugriff am 21.03.2025).

Hicks J, Stuber T, Lantz K, Erdman M, Robbe-Austerman S, Huang X. Genomic diversity of *Taylorella equigenitalis* introduced into the United States from 1978 to 2012. PLoS One. 2018; 13: 0194253.

Holden, C. Outbreak of equine VD stirs fear in Kentucky. Science. 1978;200:181-5.

Hugason K, Arnason T, Jónmundsson JV. A note on the fertility and some demographical parameters of Icelandic toelter horses, Livest Prod Sci. 1985;12(2):161-7.

Hwang JY, Cho GJ. First Identification of *Taylorella equigenitalis* from Genital Tracts of Thoroughbred Horses from the Inland Area of South Korea by Multilocus Sequence Typing. J Equine Vet Sci. 2018;60:16-22.

International Codes of Practice 2025. Contagious Equine Metritis. Horserace betting levy board (HBLB). 2025. Online verfügbar unter: <https://codes.hblb.org.uk/index.php/page/19> (Zugriff am 21.03.2025).

Jang SS, Donahue JM, Arata AB, Goris J, Hansen LM, Earley DL, Vandamme PA, Timoney PJ, Hirsh DC. *Taylorella asinigenitalis* sp. nov., a bacterium isolated from the genital tract of male donkeys (*Equus asinus*). *Int J Syst Evol Microbiol*. 2001;51(3):971-6.

Kristula MA, Smith BI. Diagnosis and treatment of four stallions, carriers of the contagious metritis organism--case report. *Theriogenology*. 2004;61(2-3):595-601.

Lane EA, Bijnen ML, Osborne M, More SJ, Henderson IS, Duffy P, Crowe MA. Key factors affecting reproductive success of thoroughbred mares and stallions on a commercial stud farm. *Reprod Domest Anim*. 2016;51:181-7.

Line SW, Hart BL, Sanders L. Effect of prepubertal versus postpubertal castration on sexual and aggressive behavior in male horses. *J Am Vet Med Assoc*. 1985;186(3):249-51.

Luddy S, Kutzler MA. Contagious Equine Metritis Within the United States: A Review of the 2008 Outbreak. *J Equine Vet Sci*. 2010;30(8):393-400.

Luthersson N, Þorgrímsdóttir Ú, Harris PA, Parkins T, Bennet ED. Effect of moving from being extensively managed out in pasture into training on the incidence of equine gastric ulcer syndrome in Icelandic horses. *J Am Vet Med Assoc*. 2022;260:102110.

LVBP 2020. Landesverband Bayerischer Pferdezüchter. Zuchtpogramm für die Rasse Süddeutsches Kaltblut. 2020. Online verfügbar unter: https://www.bayernspferde.de/content/uploads/290120_ZP_SK.pdf (Zugriff am 21.03.2025).

LVBP 2025. Landesverband Bayerischer Pferdezüchter. Zuchtprogramm für die Rasse des Haflingers. 2025. Online verfügbar unter: https://www.bayernspferde.de/content/uploads/2025/02/ZP_Haflinger_nachBescheid_191224_210125.pdf (Zugriff am 21.03.2025).

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.

May CE, Schulman ML, Gerstenberg C, Grobler A, Mphele A, Guthrie, AJ. Confirmation of the first outbreak of contagious equine metritis in South Africa. Squires EL, Orsini JA, Evans J, editors. 9th International Conference on Equine Infectious Diseases, Equine Vet. Sci. 2012; 32:77.

Meldrum KC, Newton JR. Contagious equine metritis: A 2020 vision on control of a notifiable equine disease in the United Kingdom. Equine Vet J. 2020;52(3):347-8.

Moll HD, Pelzer KD, Pleasant RS, Modransky PD, May KA. A survey of equine castration complications. J Equine Vet Sci. 1995;15:522-6.

Moore JE, Buckley TC, Millar BC, Gibson P, Cannon G, Egan C, Cosgrove H, Stanbridge S, Anzai T, Matsuda M, Murphy PG. Molecular surveillance of the incidence of *Taylorella equigenitalis* and *Pseudomonas aeruginosa* from horses in Ireland by sequence-specific PCR. Equine Vet J. 2001;33(3):319-22.

Nakashiro H, Naruse M, Sugimoto C, Isayama Y, Kuniyasu C. Isolation of *Haemophilus equigenitalis* from an aborted equine fetus. Natl Inst Anim Health Q (Tokyo). 1981;21(4):184-5.

Parlevliet JM, Bleumink-Pluym NM, Houwers DJ, Remmen JL, Sluijter FJ, Colenbrander B. Epidemiologic aspects of *Taylorella equigenitalis*. Theriogenology. 1997;47(6):1169-77.

Pelkola K, Heinikainen S, Pohjanvirta T. Core genome multilocus sequence typing analysis of Finnish *Taylorella equigenitalis* isolates. Vet Microbiol. 2023;285:109853.

Petry S, Breuil MF, Duquesne F, Laugier C. Towards European harmonisation of contagious equine metritis diagnosis through interlaboratory trials. Vet. Rec. 2018;183(3):96.

Pickett BW, Voss JL, Jones RL. Control of bacteria in stallions and their semen. J. Equine Vet. Sci. 1999;19(7):424-69.

Platt H, Atherton JG. Contagious equine metritis. Vet Rec. 1977;101(21):434.

Platt H, Atherton JG, Simpson DJ, Taylor CE, Rosenthal RO, Brown DF, Wreghitt TG. Genital infection in mares. Vet Rec. 1977;101(1):20.

Platt H, Taylor CE. Contagious equine metritis. In Easmon CSF, Jeljaszewicz J, editors. Medical Microbiology, Vol. I, London: Academic Press. 1982;49-96.

Powell DG. Contagious equine metritis. Adv Vet Sci Comp Med. 1981;25:161-84.

Powell DG. Contagious equine metritis. Equine Vet J. 1978;10(1):1-4.

Powell DG, Whitwell K. The epidemiology of contagious equine metritis in England 1977–1978. J Repro Fert Suppl. 1979;27:331-5.

Quiñones-Pérez C, Martínez A, Crespo F, Vega-Pla JL. Comparative Semen Microbiota Composition of a Stallion in a *Taylorella equigenitalis* Carrier and Non-Carrier State. *Animals* (Basel). 2020;10(5):868.

Richtlinie 92/65/EWG des Rates vom 13. Juli 1992 zur Festlegung von tierseuchenrechtlichen Bedingungen für den innergemeinschaftlichen Handel und die Einfuhr von Tieren, Samen, Eizellen und Embryonen in die Gemeinschaft [konsolidierte Fassung 2014]. Amtsblatt der Europäischen Union. 2014;L268:54-72.

Ricketts SW. Contagious equine metritis (CEM). *Ir Vet J*. 1997;50:59-63.

Schlüter H, Kuller H-J, Friedrich U, Selbitz H-J, Marwitz T, Beyer T, Ullrich E. Epizootiology and treatment of contagious equine metritis (CEM), with particular reference to the treatment of infected stallions. *Prakt Tierarzt*. 1991;72(6):503-11.

Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, Leipe D, Mcveigh R, O'Neill K, Robbertse B, Sharma S, Soussov V, Sullivan JP, Sun L, Turner S, Karsch-Mizrachi I. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*. 2020;2020:baaa062.

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.

Simpson DJ, Eaton-Evans WE. Sites of CEM infection. *Vet Rec*. 1978;102(22):488.

Sobhy M, Fathi A, Abougazia KA, Oshba MR, Kotb MHR. Study on Occurrence of Contagious Equine Metritis in the Genital Tract of Equine. *Egyptian J Vet Sci*. 2019;50(1):57-62.

Solbach V, Grabatin M, Zablotski Y, Fux R, Zerbe H, Witte TS. Prevalence of *Taylorella equigenitalis* in Icelandic mares and geldings in Southern Germany and Austria. *J Equine Vet Sci.* 2025;144:105247.

Sting R, Seeh C, Mauder N, Maurer M, Loncaric I, Stessl B, Kopp P, Banzhaf K, Martin B, Melzer F, Raßbach A, Spergser J. Genotyping of German and Austrian *Taylorella equigenitalis* isolates using repetitive extragenic palindromic (REP) PCR and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *Res Vet Sci.* 2016;109:101-106.

Sting R. *Taylorella equigenitalis* – der Erreger der vielfach unterschätzten Genitalinfektion CEM beim Pferd. Chemisches & Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Untersuchungsamt für Lebensmittelüberwachung und Tiergesundheit, Baden-Württemberg. 2016. Online verfügbar unter: <https://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=1&ID=2376> (Zugriff am 21.03.2025).

Sugimoto C, Isayama Y, Kashiwazaki M, Mitani K. Susceptibility of *Haemophilus equigenitalis*, the causal agent of contagious equine metritis, to 31 antimicrobial agents. *Natl Inst Anim Health Q (Tokyo)*. 1981;21(4):159-62.

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;9:155-62.

Swerczek TW. Contagious equine metritis: test for suspect carriers. *Vet Rec.* 1981;108(19):420-1.

Taylor CE, Rosenthal RO, Brown DF, Lapage SP, Hill LR, Legros RM. The causative organism of contagious equine metritis 1977: proposal for a new species to be known as *Haemophilus equigenitalis*. *Equine Vet J.* 1978;10(3):136-44.

Tiergesundheitsjahresbericht 2023. Friedrich-Löffler-Institut (FLI). Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. 2023. Online verfügbar unter: https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00063460/TGJ_B-2023.pdf (Zugriff am 21.03.2025).

Timoney PJ. Contagious equine metritis. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 1996;19(3):199-204.

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.

Timoney PJ, Powell DG. Contagious equine metritis - epidemiology and control, J Equine Vet Sci. 1988;8(1):42-46.

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.

Timoney PJ, Ward J, McArdle JF. CEM and the foaling mare. Vet Rec. 1978;102(11):246.

Wakeley PR, Errington J, Hannon S, Roest HI, Carson T, Hunt B, Sawyer J, Heath P. 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(3-4):247-54.

Ward J, Hourigan M, McGuirk J, Gogarty A. Incubation times for primary isolation of the contagious equine metritis organism. Vet Rec. 1984;114(12):298.

Wilsher S, Omar H, Ismer A, Allen T, Wernery U, Joseph M, Mawhinney I, Florea L, Thurston L, Duquesne F, Petry S. A new strain of *Taylorella asinigenitalis* shows differing pathogenicity in mares and Jenny donkeys. Equine Vet J. 2021;53(5):990-5.

WOAH Terrestrial Manual, Chapter 3.6.2. Contagious Equine Metritis. 2022. Online verfügbar unter: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.06.02_CEM.pdf (Zugriff am 21.03.2025).

VIII. ANHANG

1. Besitzerfragebögen

1.1. Fragebogen 1, alle Pferde vor der ersten Beprobung



Klinik für Pferde - Ludwig-Maximilians-Universität München - Sonnenstraße 14 – 85674 Oberschleißheim

Einverständniserklärung für Pferdebesitzer zur Studie „CEM in der Islandpferdepopulation“

Besitzerdaten:

Name	Vorname
Straße und Hausnummer	PLZ und Ort
Telefonnummer	E-Mail

Pferdedaten:

Name	Geburtsdatum
Rasse	Geschlecht
Boxenhaltung mit Paddock/Weide einzeln Offenstall/Gruppenhaltung Sonstiges Bitte ausführen _____	<input type="checkbox"/> Im Zuchteinsatz <input type="checkbox"/> Nicht im Zuchteinsatz <input type="checkbox"/> Sonstiges <input type="checkbox"/> Bitte ausführen _____

Einverständniserklärung:

- I) Sie nehmen an einer kostenlose Studie der LMU München teil.
- II) Sowohl Ihre Daten als auch die Daten Ihres Pferdes (Name, Standort) werden anonymisiert. Für die Studie sind nur Alter, Geschlecht, Rasse, Haltung und Zuchteinsatz von Interesse.
- III) Sie genehmigen den Mitarbeitern der LMU die Entnahme eines Tupfers an Ihrem Pferd.
- IV) Sie erlauben die Auswertung der Probe in unserem hausinternen Labor.

Mit meiner Unterschrift bestätige ich die oben aufgeführten Punkte.

Ort, Datum _____

Unterschrift _____

Ihre Ansprechpartner bei Rückfragen:

Dr. med. vet. Tanja Witte, Fachtierärztin für Reproduktionsmedizin, Oberärztin an der Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität, t.witte@pferd.vetmed.uni-muenchen.de

Veronika Solbach, Tierärztin, Doktorandin an der Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität, veronika.solbach@pferd.vetmed.uni-muenchen.de

Vielen Dank für die Teilnahme! ☺

1.2. Fragebogen 2, alle *Taylorella equigenitalis*-positiven Pferde, retrospektiv

Fragebogen - CEM-positive Islandpferde

Probennummer:

I) Wallach

1. Wann wurde der Wallach kastriert? _____
2. Hat der Wallach gedeckt als er noch Hengst war? Ja Nein
3. Deckt/springt der Wallach aktuell auf andere Pferde auf? Ja Nein
4. In welcher Gruppenkonstellation steht der Wallach?
 Reine Wallachgruppe
 Wallache & Stuten
 Wallache & Hengste (inkl. Junghengste/frisch kastrierte Wallache)
 Gemischte Gruppe (Wallache, Stuten, Hengste)
5. Wie groß ist die Gruppe? _____
6. Wie groß ist der gesamte Betrieb? _____
7. Stehen auf dem Betrieb ausschließlich Islandpferde? Ja Nein
8. Falls bekannt, hat/hatte das Pferd Kontakt zu CEM-positiven Pferden? Ja Nein Unbekannt
9. Falls bekannt, war die Mutterstute CEM-positiv? Ja Nein Unbekannt
10. Bestand Kontakt zu tragenden oder gedeckten Zuchstutten? Ja Nein

II) Zuchstute

1. Wann hatte die Stute das letzte Fohlen? _____
2. Wann wurde die Stute zuletzt gedeckt? _____
3. Wie wurde die Stute gedeckt?
 Natursprung in der Herde Sprung an der Hand Künstliche Besamung
4. Wurde die Stute zuvor mittels Tupferprobe auf CEM getestet?
 Ja negativ getestet Ja positiv getestet Nicht getestet
5. In welcher Gruppenkonstellation steht die Stute?
 Zuchstutengruppe
 Zucht- und Maidenstuten
 Wallache & Stuten
 Wallache, Stuten & Hengste (inkl. Junghengste/frisch kastrierte Wallache)
6. Wie groß ist die Gruppe? _____
7. Wie groß ist der gesamte Betrieb? _____
8. Stehen auf dem Betrieb ausschließlich Islandpferde? Ja Nein
9. Falls bekannt, hat/hatte das Pferd Kontakt zu CEM-positiven Pferden? Ja Nein Unbekannt
10. Falls bekannt, war die Mutterstute CEM-positiv? Ja Nein Unbekannt

III) Maidenstute

1. Die Stute hatte mit an Sicherheit grenzende Wahrscheinlichkeit kein Fohlen und wurde noch nie gedeckt/besamt oder hatte Hengstkontakt? Ja Nein

Falls Frage 1 mit Nein beantwortet wurde, beantworten Sie bitte die Fragen zur Zuchstute!

2. In welcher Gruppenkonstellation steht die Stute?

- Maidenstutengruppe
- Zucht- und Maidenstuten
- Wallache & Stuten
- Wallache, Stuten & Hengste (inkl. Junghengste/frisch kastrierte Wallache)

3. Wie groß ist die Gruppe? _____

4. Wie groß ist der gesamte Betrieb? _____

5. Stehen auf dem Betrieb ausschließlich Islandpferde? Ja Nein

6. Falls bekannt, hat/hatte das Pferd Kontakt zu CEM-positiven Pferden?

Ja Nein Unbekannt

7. Falls bekannt, war die Mutterstute CEM-positiv? Ja Nein Unbekannt

8. Bestand Kontakt zu tragenden oder gedeckten Zuchstuten? Ja Nein

2. Weitere Publikationen

2.1. Abstract ISER 2023

Eine erste Veröffentlichung der Ergebnisse wurde in Form eines Posters auf dem International Symposium on Equine Reproduction (ISER) in Foz do Iguaçu, Brasilien vom 10.-14.07.2023 präsentiert und als Abstract im Journal of Equine Veterinary Science (JEVS) veröffentlicht:

V. Solbach, M. Grabatin, R. Fux, Y. Zablotski, H. Zerbe, L.S. Goehring, T.S. Witte: Prevalence of *Taylorella equigenitalis* in an Icelandic horse population. JEV 125 (2023), 175.

Journal of Equine Veterinary Science 125 (2023) 104749



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Equine Veterinary Science

journal homepage: www.j-evs.com



Journal of Equine Veterinary Science 125 (2023) 175

<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104749>

Prevalence of *Taylorella equigenitalis* in an Icelandic horse population

Veronika Solbach ^{1,*}, Markus Grabatin ¹, Robert Fux ², Yury Zablotski ¹, Holm Zerbe ³, Lutz S Goehring ⁴, Tanja S Witte ¹

¹ Equine hospital LMU, Munich, Germany

² Institute of Infectious Diseases and Zoonoses LMU, Munich, Germany

³ Clinic for ruminants LMU, Munich, Germany

⁴ University of Kentucky, Lexington, USA

Contagious Equine Metritis (CEM) is an infectious disease caused by *Taylorella equigenitalis* (TEq). In mares, clinical as well as subclinical infections have the potential to cause short-term infertility. Stallions are generally believed to be asymptomatic carrier of TEq. Transmission commonly occurs venereally and therefore poses a risk for horses in less controlled natural mating programs (Timoney, Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 1996, 3: 199-204). In the Icelandic breed, pasture breeding is routinely performed. Therefore, the aim of this study was to investigate the prevalence of TEq in intact stallions, mares and geldings of the Icelandic breed. We hypothesized that there is a high prevalence of TEq in Icelandic horses independent of their breeding purpose. In total, 437 Icelandic horses from 16 randomly selected farms in southern Germany and Austria were examined. In a first trial, 76 intact Icelandic males from 10 farms were compared to a reference group (n=86) consisting of 35 Haflinger and 51 Draft intact male horses from 31 farms. Breeds of the reference group are also known to be used in natural mating programs. In a second trial, 105 geldings and 256 mares from 11 farms were tested for presence of TEq. In both trials, swabs from standardized localizations of the male (penis) or female (clitoris) genital tract were collected (WOAH for TEq). The presence of TEq DNA was determined using quantitative

PCR. There was a significant higher prevalence of TEq-positive samples in Icelandic intact males (n=23) compared to the reference group (n=4; p=0.0001). Both groups were further differentiated regarding their actual use for breeding. Pairwise comparison of both groups resulted in a significantly lower number of TEq-positive intact males used for breeding compared to the horses without breeding (reference group: p=0.019; Icelandic group: p=0.006). In the second trial, a higher prevalence of TEq-positive geldings compared to mares (36.2% and 5.5%, respectively) was detected. Mares were further differentiated in mares with breeding history (n=134) and mares without (n=122). A higher prevalence in mares without breeding history could be found (2.2% and 9.0%, respectively). The hypothesis could be confirmed that in the Icelandic breed a higher prevalence of TEq-positive stallions compared to stallions also used in natural mating programs exists. Furthermore, TEq has a higher prevalence in geldings compared to mares of Icelandic horses. Therefore, geldings might represent a reservoir of TEq in this breed. The spread of CEM is of economic importance and should be considered even in horses never used for breeding. Further studies investigating the genotype of the CEM strains in the Icelandic breed might help to understand further ways of transmission.

2.2. Abstract ICERM 2024

Eine zusammenfassende Veröffentlichung, die unter anderem die Ergebnisse der vorliegenden Studie enthielt, wurde als Kurzvortrag auf dem „11th Expert-Workshop“ im Rahmen des ICERM (International Congress on Equine Reproductive Medicine) des Leipziger Tierärztekongresses am 19.01.2024 vorgestellt: T. S. Witte, M. Grabatin, V. Solbach, Y. Zablotski, R. Fux, L. Göhring, H. Zerbe (Munich, Germany): Prevalence of *Taylorella equigenitalis* in an Icelandic horse population.

IX. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Dr. Tanja Witte-Hahn für die Ermöglichung dieser Arbeit, für die Betreuung, die Unterstützung bei der Durchführung und letztlich die Unterstützung bei der finalen Anfertigung der Publikationen und der Dissertation. Darüber hinaus bedanke ich mich herzlich bei Prof. Dr. Holm Zerbe als Ideengeber und für die gesamte Betreuung und Förderung dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Dr. Robert Fux, der die Durchführung der Laborarbeit ermöglichte und unterstützte und immerzu hilfreiche Ratschläge gab und Dr. Yury Zablotski, der den statistischen Anteil maßgeblich beeinflusste und auch spontan immer zur Hilfe bereitstand.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Markus Grabatin, der durch seine Doktorarbeit das Projekt besser kannte als jeder andere und mir maßgebliche Hilfestellung in der praktischen Durchführung gab. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei den Rotationsstudierenden, die bei den Ausfahrten zu den Gestüten ausgeholfen und die praktische Probenentnahme damit nachhaltig vereinfacht haben.

In diesem Sinne möchte ich auch allen Gestütsleitern und Pferdebesitzern danken, die an dieser Studie beteiligt waren, bereitwillig die Pferde zur Beprobung zur Verfügung gestellt und auch alle weiteren Rückfragen beantwortet haben.

Zu guter Letzt gilt mein aufrichtiger Dank meinen Eltern, meiner Familie und meinen Freunden und meinem Partner Philipp, die mich allesamt über den gesamten Zeitraum der Dissertation bedingungslos unterstützt und gefördert haben. Danke!