

Leipziger Blaue Hefte

Zitation dieses Bandes:

LBH: 8. Leipziger Tierärztekongress – Tagungsband 2

ISBN 978-3-86541-809-8

Editoren: Dr. Reiko Rackwitz

Veterinär-Physiologisches Institut, Universität Leipzig

Prof. Dr. Michael Pees

Klinik für Vögel und Reptilien, Universität Leipzig

Prof. Dr. Jörg R. Aschenbach

Institut für Veterinär-Physiologie, Freie Universität Berlin

Prof. Dr. Gotthold Gäbel

Veterinär-Physiologisches Institut, Universität Leipzig

Facheditoren dieses Bandes:

Prof. Dr. Walter Brehm

Prof. Dr. Manfred Coenen

Prof. Dr. Heinz-Adolf Schoon

Prof. Dr. Gerald F. Schusser

PD Dr. Ingrid Vervuert

Redaktionsleitung:

Dr. Reiko Rackwitz, Veterinär-Physiologisches Institut, Universität Leipzig

An den Tierkliniken 7, 04103 Leipzig

blaue-hefte@uni-leipzig.de; www.blauehefte.de

Verlag:

Lehmanns Media GmbH, Berlin

Druck:

Fritsch Druck, Leipzig

Gestaltung:

Dr. Reiko Rackwitz, Leipzig

Lektorat:

Megan Glatzle, Sylvia Behr, Lisa Pohlandt, Anne-Kathrin Kuna

(Universität Leipzig)

Titelbild: BIP Kreativgymnasium Leipzig

Das Copyright der Manuskripte liegt bei den Autoren

Editorial

Fast schon traditionell erscheinen die Manuskripte der Vorträge des Leipziger Tierärztekongresses im Rahmen der Leipziger Blauen Hefte. Erneut haben wir uns für eine Teilung des Inhaltes in mehrere Bände entschieden, um zum einen dem umfangreichen Themenspektrum der Beiträge Rechnung zu tragen, zum anderen eine gemeinsame Darstellung verwandter Gebiete in handlicher Form zu gewährleisten.

Unser Anspruch ist es, Ihnen mit diesem Band nicht nur eine inhaltliche Orientierung während des Kongresses zu liefern, sondern auch ein darüber hinaus nützliches Buch zum Nach- und Weiterlesen. Aus diesem Grund sind die einzelnen Manuskripte meist umfangreicher gestaltet als ein reines Abstract und mit Literaturhinweisen versehen.

Wir danken allen, die durch Lektorat, Layout oder technische Unterstützung einen Beitrag zur Fertigstellung dieses Bandes geleistet haben und wünschen Ihnen einen erfolgreichen und interessanten Kongress, angenehme Tage in Leipzig und viel Vergnügen beim Schmökern in den Leipziger Blauen Heften.

Leipzig, November 2015

Dr. Reiko Rackwitz

Prof. Dr. Michael Pees

Prof. Dr. Jörg R. Aschenbach

Prof. Dr. Gotthold Gäbel

Inhaltsverzeichnis

1 PFERD	8
----------------------	----------

Forensisches Symposium

Vorwort zum Forensischen Symposium.....	9
Gerald. F. Schusser	
Die besondere Biologie der Stammzellen – ein Review	10
Matthias Giese	
Einführung in die Problematik der Anwendung von Blut- und Zellprodukten beim Pferd.....	11
Eberhard Schüle	
Indikationen und regulatorische Aspekte von zellulären Therapien beim Menschen.....	15
Dietger Niederwieser	
Regenerative Therapie beim Kleintier – anhand eines Beispiels.....	16
M. van Staa, L. Brunberg, A.Kurtz	
Regenerative Therapie beim Pferd	18
Walter Brehm, Janina Burk, Antonia Lempe-Troillet	
Sind Stammzellen oder Zellen zur regenerativen Therapie Arzneimittel im Sinne des Arzneimittelrechtes?	29
Timo Faltus, Walter Brehm	

Vertieft: Der Musculus interosseus medius

Die klinische Diagnostik bei Erkrankung des M. interosseus medius	33
Uta Delling	
Anatomie, Histologie und Ultrastruktur des M. interosseus medius.....	37
Christoph K.W. Mülling	
Röntgendiagnostik bei Erkrankung des M. interosseus medius	41
Kerstin Gerlach, Dagmar Berner	
Szintigraphie in der Diagnostik der Erkrankungen des M. interosseus medius	43
Mahmoud Mageed, Kerstin Gerlach	
Ultraschalldiagnostik am M. interosseus medius	46
Dagmar Berner, Kerstin Gerlach	
Magnetresonanztomographie und Computertomographie des M. interosseus medius	49
Kerstin Gerlach, Dagmar Berner	
Therapeutische Konzepte bei Erkrankungen des M. interosseus medius	52
Walter Brehm	
Der M. interosseus in der klinischen Praxis	56
Werner Jahn	

Respirationstrakt

Diagnostischer Zugewinn der Vollblut-TNF-alpha-Messung in der Abklärung equiner Atemwegserkrankungen	58
Wieland Schrödl, Simon Rütten, Gerald Schusser, Getu Abraham	
Spezifische nanopartikuläre inhalative Immuntherapie bei Pferden mit COB	60
Heidrun Gehlen, John Klier, Sabine Geis, Gerhard Winter	
Diagnosis and treatment of pulmonary hypertension in horses	63
Katharyn Mitchell	
COPD, COB, RAO, IAD, SPAOPD und Pferdeasthma – was sollen all diese Namen?	65
Vinzenz Gerber	
Möglichkeiten und Grenzen der Arzneitherapie bei obstruktiven Atemwegserkrankungen des Pferdes.....	68
Getu Abraham	
Therapie der tiefen Thoraxverletzungen beim Pferd.....	71
Anton Fürst, Michelle Jackson, Felix Theiss	
Management von DDSP	76
Christoph J. Lischer	
Sinuszysten beim Pferd - Fortschritte in der Diagnostik (CT und Endoskopie) und Therapie	78
Michael Nowak, S. Schulte - Bahrenberg	
EHV-Latenz - der Nachweis.....	84
Lutz Göhring	

Kolik

What's new in colic surgery and postoperative care?.....	85
Nathaniel A. White	
Lumeneinengende anale / perianale Prozesse beim Pferd – klinische Beispiele	89
Wolfgang Scheidemann	
Peritonitis as a Reason for Equine Colic-A Retrospective Study of 34 Cases (2005-2015).	90
Mohammed Adam, Gerald Schusser	
Microbiome of an elite athlete: The Thoroughbred racehorse.	91
Chris Proudman, Alistair Darby, John Hunter, Ebony Escalona, Joy Leng	
Mikrobiota beim Pferd unter Antibiotikatherapie und Fütterung von Huminsäuren.....	94
Nicole Graneß, Monika Krüger, Alexander Swidsinski, Gerald F. Schusser	
Konservative Therapie und Prognose der Dickdarmverlagerung	97
Gerald F. Schusser, Christiane Müller, Annette Zeyner	
Graduierung der Nekrose am ischämischen Darm.....	99
Maika Breitenstein, Tobias Theuß, Heinz-Adolf Schoon, Rosa Barsnick et al.	
Charakterisiert das Adrenomedullin den Schock bei Pferden mit Strangulationsileus?.....	101
Gábor Köller, Gerald F. Schusser	

Labordiagnostische Untersuchungen zur Beurteilung der Energie und Nährstoffaufnahme beim Pferd

Präanalytik - Fehlerquellen bei der Entnahme, Aufbewahrung und Transport von Blut- und Harnproben.....	103
Esther Humann-Ziehank	

Diagnostisches Update zur Beurteilung der Insulinsensitivität beim Pferd	106
Katja Roscher	
Mengenelemente im Plasma? Wie gut wird die Versorgung reflektiert?.....	109
Ellen Kienzle	
Ein Update zur Schilddrüsendiagnostik	111
Kerstin Fey	
Jodversorgung beim Pferd: Welche diagnostischen Parameter sind sinnvoll?.....	114
Ellen Kienzle	
Wie gut reflektieren die Kupfer-, Zink- und Selengehalte im Blut die entsprechende Versorgung beim Pferd?	115
Ingrid Vervuert	
Mythos Kryptopyrrolurie aus Sicht der Diagnostik und Fütterung	119
Katja Roscher und Ingrid Vervuert	
Impact of Diet on Microbial Profile in Equine Faeces.....	122
Jullian Véronique and Grimm Pauline	
Haaranalysen zur Beurteilung der Nährstoffversorgung?	126
Manfred Coenen	
Tierschutz im Pferdesport	
Änderungsbedarf bei den „Leitlinien Tierschutz im Pferdesport“	129
Andreas Franzky, Angela Schwarzer	
Bewertungskriterien artgerechter Ställe für Pferde in Gruppenhaltung.....	133
Annette Wagener-Kettler	
Aktuelle Tierschutzprobleme in der Gruppenhaltung von Pferden.....	136
Margit H. Zeitler-Feicht	
Untersuchungen zu Pferdelaufställen unter dem Aspekt des Zusammenhangs zwischen Haltung und Gesundheit.....	140
Anna-Caroline Wöhr und Barbara Szivacz	
Aggressionslevel und Platzangebot bei Pferden.....	144
Konstanze Krüger, Kim Fuchs, Kristina Hinz, Johanna Lindner, Caroline Manschel, Katja Pohl et al.	
Gruppenhaltung von Pferden unter Berücksichtigung der Fressplatzgestaltung	147
Angela Schwarzer	
Bewertung von Offenställen für Pferde aus Sicht des Halters	151
Tanja Romanazzi	
Kolik, Leberkrankheiten	
Endoskopische Befunde im Bereich des Pylorus und des proximalen Duodenums	155
Katharina Ehlers, Corinna Arnold, Nicole Graneß, Stephan Recknagel, Alice Snyder, Albrecht Uhlig et al.	
Prävalenz von Antikörpern gegen Leptospira spp. bei Pferden in Mitteldeutschland	158
Jutta Pikalo, Tatjana Sattler, Michaela Eichinger, Angelika Loitsch, Hao Sun, Friedrich Schmoll et al.	
Vakzination und Seroprotektion gegenüber Tetanus	160
Stephan Recknagel, Alice Snyder, Benjamin Brüser, Gerald F. Schusser	
Lebererkrankungen – Aktuelle Diagnostik beim Pferd	163
Karsten Feige und J.-M. V. Cavalleri	
Acute and chronic liver disease. Causes, Clinical features, Diagnosis and management	166
Tim Mair	

OMICS-Diagnostik / Kurzbeiträge

Optionen der Labordiagnostik mit OMICS-Technologien.....	169
Joachim Thiery	
Therapie eines Plattenepithelkarzinoms der Haut – moderne Behandlungsansätze.....	170
Corinna Arnold, Claudia Dettmer-Richardt, Ina Dreher, Thomas Grammel, Gerald Fritz Schusser	
MMP 9 als Biomarker: Die Verwendung von MMP 9 als diagnostisches Hilfsmittel in der Pferdemedizin	173
Dirk Barnewitz	
Atypische Weidemyopathie beim Pferd – Diagnostik und Prävention	177
Mandy Bochnia, Jörg Ziegler, Johannes Sander, Stephan Schaefer, Albrecht Uhlig, Steffen Abel et al.	
Lyme-Borreliose beim Pferd	182
Reinhard K. Straubinger	
Feldanästhesie beim Pferd - welches Regime?.....	184
Klaus Hopster	

Hygiene in Praxis und Klinik

Hygienemanagement in der Pferdemedizin	186
Stephanie Speck, Iris Lange, Gerd Möbius, Walter Brehm und Uwe Truyen	
Management bei Ausbrüchen von Infektionskrankheiten (EHV, EIA, Influenza)	187
Klaus Osterrieder	
Multiresistente Infektionserreger und Hygienemanagement in der Pferdemedizin.....	188
Birgit Walther, Antina Lübke-Becker	
Desinfektion in Praxis, Klinik und Ambulanz.....	191
Birgit Hunsinger	
Evidence based hand hygiene in veterinary surgery: What is holding us back?	194
Denis Verwilghen	
A multimodal approach to prevention of SSI.....	200
Denis Verwilghen	
9th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE REPRODUCTIVE MEDICINE ...213	
Insemination of low doses of frozen/thawed and sex sorted stallion sperm	214
Juan C. Samper	
Testicular abnormalities affecting reproductive efficiency in the stallion.....	215
Claus P. Bartmann, Michael Röcken, Peter Wohlsein, Heinz-Adolf Schoon	
Fetal sexing in the horse	218
Tom A.E. Stout, Marta de Ruijter-Villani, Andrew J. McGladdery	
Early pregnancy loss in the mare – reasons and possible strategies for prevention	221
Christine Aurich, Juliane Kuhl	
Using laparoscopy to treat infertility in mares	224
Marta de Ruijter-Villani, Tom A.E. Stout	
The transitional period. Effects of lighting regimes and environment.....	227
William R. Allen, Sandra Wilsher	
Hormones role on mare reproductive physiology and dysfunction	231
Maria R. Rebordão, A Amaral, A Galvão, Anna Z Szótek, Pedro Pinto-Bravo et al.	

Ovulatory failure: Contributing factors and possible management strategies	234
Dale Paccamonti	
Social interactions and reproductive efficiency in horses.....	237
Dominique Burger, H. Sieme, C. Wedekind	
Update on endometritis therapy	239
Terttu Katila	
High prevalence of dormant streptococci in the endometrium of mares with Escherichia coli endometritis	242
Morten R. Petersen, Mette Christoffersen, Mats Troedsson, Anders M. Bojesen	
Fungal endometritis in the mare	244
Jesper Møller Nielsen, Christian Springborg, Peter Fog	
Influence of mare, stallion, dose and interval on post-insemination uterine neutrophil counts	246
John R. Newcombe, Gary Kelly	
Endometrial mRNA expression during the early immune response to breeding: a holistic approach	247
Elizabeth M. Woodward, Ted Kalbfleisch, Arnold J. Stromberg, Joshua Lambert, Mats H.T. Troedsson	
New insights into the innate immune defenses of the equine endometrium	249
Sandra Schöniger, Hilke Gräfe, Denny Böttcher, Tobias Theuß, Heinz-Adolf Schoon	
Placentitis in the mare.....	252
Mats H.T. Troedsson	
Why we should vaccinate our horses against EHV-1: a review of 40+ years of EHV-1 vaccination	254
Lutz Göhring	
HUFKUNDE FÜR TIERÄRZTE UND HUFSCHMIEDE	257
Anatomie und Histologie der Sehnen und Bänder der distalen Gliedmaße des Pferdes.....	258
Christoph K.W. Mülling	
Das Pferd in Bewegung – High Speed Fluoroscopic Kinematography, eine neuartige Methode der Bewegungsanalyse	264
Sandra Geiger, Jenny Hagen	
Die Aussagekraft von Ultraschalluntersuchungen der distalen Pferdegliedmaße zur Beurteilung der tiefen Beugesehne.....	267
Melania I. Crişan, Aurel Damian und Jean-Marie Denoix	
Bildgebende Diagnostik zur Befundung von Schäden an der distalen Gliedmaße.....	271
Dagmar Berner, Kerstin Gerlach	
Orthopädische Hufbeschläge – traditionell bei Sehnen- und Fesselträgererkrankungen verwendete Hufeisenmodifikationen.....	274
Axel Berndt	
Orthopädische Beschlagsalternativen – Kleben, Kunststoff und Co.....	277
Andreas Müller	
Einfluss orthopädischer Beschläge auf die Ausrichtung der Zehenknochen in Statik und Bewegung	278
Jenny Hagen, Florian Häfner, Daniela Mäder, Michael Hüppler, Sandra Geiger	

Einfluss von orthopädischen Beschlägen auf das Druckverteilungsmuster und den Fußungsablauf.....	281
Michael Hüppler , Florian Häfner, Sandra Geiger, Daniela Mäder, Jenny Hagen	
Dialog zwischen Tierarzt und Hufschmied bei der Behandlung des orthopädischen Patienten	285
Charlotte von Zadow	



Schwerpunkt

PFERD

Rackwitz R, Pees M, Aschenbach JR, Gäbel G (Hrsg.)
LBH: Proceedings 8. Leipziger Tierärztekongress: Band 2
ISBN 978-3-86541-809-8

Vorwort zum Forensischen Symposium

Gerald. F. Schusser

Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass nur zugelassene Arzneimittel gem. § 56a, 2a Arzneimittelgesetz (AMG) durch die Tierärztin/den Tierarzt bei Equiden angewendet, dem Tierbesitzer abgegeben oder verschrieben werden dürfen. Blutzubereitungen als Arzneimittel (§ 4 AMG) können aufgrund des § 56a, 2 Ziff. 4 bei Pferden angewendet werden. Hier ist jedoch der § 13 AMG, der die Herstellungserlaubnis beschreibt, zu berücksichtigen. Das In-Verkehr-Bringen von Blut- und Gewebesubereitungen ist geregelt in den §§ 21 - 24 AMG, wenn das Paul Ehrlich Institut als Bundesoberbehörde zugestimmt hat. Werden Pferde zu Blutabnahmen zwecks Gewinnung / Isolierung von Blutstammzellen herangezogen, so müssen die „Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verabreichung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich“ des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit von 2011 Anwendung finden. Die Blutabnahme hat nur von gesunden Pferden zu erfolgen und müssen vorerst einer Blut- und Harnuntersuchung unterworfen werden. Alle hämatologischen und blutchemischen sowie Harnparameter müssen im Referenzbereich sein. Außerdem gilt, dass die Pferde frei vom infektiösen Anämie und Arteriitis Virus sowie Theileria equi sein müssen. Erst dann sind Blutprodukte zur Behandlung von Pferden anzuwenden, wobei diese Behandlung nur in einer Pferdeklunik erfolgen darf. Die Gewinnung von z. B. Knochenmarksstammzellen, die Verarbeitung (z. B. durch Zentrifugation) und die Anwendung bei ein und demselben Pferdepatienten (z. B. Applikation in die Sehne), ohne dieses Gewebeprodukt in den Verkehr zu bringen, bedarf keiner Zulassung (§56a AMG).

Eine Entnahme von Blut- und Gewebeproben von einem Pferdepatienten kann von einem Tierarzt unter sterilen Kautelen vorgenommen, in ein spezielles Labor gem. oben genannter Leitlinie transportiert werden und unter der Maßgabe der Erlaubnis gem. § 13, 4 AMG eine Aufbereitung und Isolation von Blut- und mesenchymalen Stammzellen vorgenommen werden. Ist die Applikation der Blut- oder mesenchymalen Stammzellen, aufbereitet in einem Labor, durch den/die Tierarzt/Tierärztin legal?

1

Die besondere Biologie der Stammzellen – ein Review

Matthias Giese

IMV Heidelberg

Eukaryotische Zellen vermehren sich durch Zweiteilung. Die Besonderheit der Stammzellen (Stem cell, SC) beginnt schon bei der Teilung.

SCs teilen sich asymmetrisch, d.h. die Mutterzelle teilt sich in eine Tochterzelle, die dann z.B. in eine Neuron- oder Leberzelle ausdifferenziert, und in eine neue, in diesem Fall, adulte und somit multipotente SC. Diese replikative Selbsterneuerung (self-renewal) ist das Markenzeichen von Stammzellen.

Eine kritische Rolle in der Regulation und Aufrechterhaltung dieser Stammzeleigenschaft spielt die Mikroumgebung, d. h. die Nische, in der die SC eingebettet ist. Daraus folgt, dass nicht nur intrinsische, stammzell-autonome Faktoren das Schicksal von SCs entscheiden, sondern ganz besonders extrinsische Faktoren, die in der Nische gebildet werden und von außen auf die SCs einwirken. Die Kompetenz der SC hängt von der Biologie der Nische ab. Ohne Nische keine SCs.

Dabei ist die Struktur einer Nische spezifisch für die jeweilige SC und die aus dieser spezifischen Struktur abgeleiteten Funktionen der Einzelkomponenten keineswegs zu generalisieren. Einigkeit besteht jedoch darüber, dass ausnahmslos alle Stammzellen ohne ihre spezifische Nische nicht funktionsfähig sind.

In den Nischen finden sich, neben den wenigen echten SCs, verschiedene Zellarten, z.B. Megakaryozyten, Endothelzellen, Stromazellen, dazu eine dynamische extrazelluläre Matrix. Lösliche Faktoren in der Nische sind verschiedene Zytokine, wie TGF- β , oder Wachstumsfaktoren wie EGF. Das bedeutet, dass innerhalb der Nische ein intensiver „cross-talk“ stattfindet, der auf molekularer Ebene durch besondere Signalkaskaden, wie den Wnt-Signalweg, messbar ist. Der Wnt-Signalweg ist für die Embryonalentwicklung, Zelldifferenzierung und Proliferation verantwortlich.

Die Komplexität der Nische macht jede ex vivo Kultivierung von SCs schwierig. Standardprotokolle existieren nicht. Auch ist die breite therapeutische Anwendung, bis auf den Einsatz von hämatopoetischen SCs, bis heute noch nicht möglich.

Das biologische Prinzip der Nische, als privilegierter Schutzraum, findet sich nicht nur bei SCs, sondern ist auch nachweisbar bei Krebszellen, Tumor Micro Environment (TME) und auch bei seneszenten Zellen. Zellen, die funktionslos geworden oder mutiert sind, aktivieren autonom den *programmed cell death* (PCD). Dank der Nische haben seneszente oder Tumorzellen den PCD deaktiviert.

Einführung in die Problematik der Anwendung von Blut- und Zellprodukten beim Pferd

Eberhard Schüle

Dortmund

1

Im Vorwort des forensischen Symposiums wurde in Bezug auf die Rechtsgrundlage auf das Arzneimittelgesetz (AMG) §4 und sonstige Begriffsbestimmungen, hier insbesondere Abs. 2, Bezug genommen:

Blutzubereitungen sind Arzneimittel, die aus Blut gewonnene Blut-, Plasma- oder Serumkonserven, Blutbestandteile oder Zubereitungen aus Blutbestandteilen sind oder als Wirkstoffe enthalten.

Grundsätzlich sind die Vorschriften des § 56 a über die Verschreibung, Abgabe und Anwendung von Arzneimitteln durch Tierärzte, insbesondere unter Abs. 2a dieses Paragraphen in Bezug auf die Anwendung beim Pferd, zu beachten.

(2a) Abweichend von Absatz 2 Satz 2 dürfen Arzneimittel für Einhufer, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen und für die nichts anderes in Abschnitt IX Teil II des Equidenpasses im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 504/2008 der Kommission vom 6. Juni 2008 zur Umsetzung der Richtlinie 90/426/EWG des Rates in Bezug auf Methoden zur Identifizierung von Equiden (ABl. L 149 vom 7.6.2008, S. 3) in der jeweils geltenden Fassung festgelegt ist, auch verschrieben, abgegeben oder angewendet werden, wenn sie Stoffe, die in der Verordnung (EG) Nr. 1950/2006 der Kommission vom 13. Dezember 2006 zur Erstellung eines Verzeichnisses von für die Behandlung von Equiden wesentlichen Stoffen gemäß der Richtlinie 2001/82/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Tierarzneimittel (ABl. L 367 vom 22.12.2006, S. 33) aufgeführt sind, enthalten.

Weiterhin ist für die Themenstellung §13 AMG relevant.

Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG)

§ 13 Herstellungserlaubnis

(1) Wer

1. Arzneimittel im Sinne des § 2 Absatz 1 oder Absatz 2 Nummer 1,
2. Testsera oder Testantigene,
3. Wirkstoffe, die menschlicher, tierischer oder mikrobieller Herkunft sind oder die auf gentechnischem Wege hergestellt werden, oder
4. andere zur Arzneimittelherstellung bestimmte Stoffe menschlicher Herkunft gewerbs- oder berufsmäßig herstellt, bedarf einer Erlaubnis der zuständigen Behörde. Das Gleiche gilt für juristische Personen, nicht rechtsfähige Vereine und Gesellschaften bürgerlichen Rechts, die Arzneimittel zum Zwecke der Abgabe an ihre Mitglieder herstellen. Satz 1 findet auf eine Prüfung, auf deren Grundlage die Freigabe des Arzneimittels für das Inverkehrbringen erklärt wird, entsprechende Anwendung. § 14 Absatz 4 bleibt unberührt.

(2b) Einer Erlaubnis nach Absatz 1 bedarf ferner nicht eine Person, die Arzt ist oder sonst zur Ausübung der Heilkunde bei Menschen befugt ist, soweit die Arzneimittel unter ihrer unmittelbaren fachlichen Verantwortung zum Zwecke der persönlichen Anwendung bei einem bestimmten Patienten hergestellt werden. Satz 1 findet keine Anwendung auf

- 1. Arzneimittel für neuartige Therapien und xenogene Arzneimittel sowie*
- 2. Arzneimittel, die zur klinischen Prüfung bestimmt sind, soweit es sich nicht nur um eine Rekonstitution handelt.*

(2c) Absatz 2b Satz 1 gilt für Tierärzte im Rahmen des Betriebes einer tierärztlichen Hausapotheke für die Anwendung bei von ihnen behandelten Tieren entsprechend.

Darüber hinaus ist das Inverkehrbringen in den §§ 20-24 AMG geregelt und bedarf der Zulassung bzw. der Erlaubnis durch die Bundesoberbehörde im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Gesundheit, in diesem Fall des zuständigen Paul-Ehrlich-Instituts (PEI).

Über die gesetzlichen Vorgaben hinaus gab es in der Veterinärmedizin, im Gegensatz zur Humanmedizin, bis 2011 keine offiziellen Qualitäts- und Sicherheitsstandards für Blutzubereitungen. Erst im Jahr 2007 wurde unter Leitung des BVL unter Einbezug des PEI und Hochschulkliniken für Kleintiere und Pferde eine Arbeitsgruppe zur Erarbeitung von Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verabreichung von Blut und Blutprodukten etabliert.

Diese Leitlinien richten sich sowohl an pharmazeutische Unternehmen und Betreiber von privaten und universitären Blutbanken, als auch an Tierärzte, die solche Produkte anwenden.

Die Leitlinien sollen nicht den Einsatz von Blut **in Notfällen** regeln, trotzdem enthalten sie gewisse Empfehlungen, die auch bei der Transfusion von Blut im Notfall zu beachten sind.

Ziel der Leitlinien ist es, eine angemessene Qualität bei Blut und Blutprodukten sicherzustellen und gleichzeitig für die höchste Sicherheit beim Spender- und Empfängertier zu sorgen. Die Leitlinien behandeln solche Blutzubereitungen, die allgemein bedeutend sind und für die Erfahrungen über die Anwendung vorliegen.

Auf dieser Rechtsgrundlage ist die Anwendung von Blutprodukten in diesem Symposium zu betrachten und zu diskutieren. Es wird möglicherweise durch einige weiterführende Ausführungen aus dem Bereich der Humanmedizin ergänzt.

Nicht im Vordergrund dieses Themenkomplexes soll die Anwendung von nicht autologem Blut und Blutprodukten, d.h. von fremden Spendertieren, stehen. Auch in diesem Fall liegen für die Spendertiere seit 2011 Qualitätskriterien vor.

Dabei soll das Pferd als Blutspender folgende Voraussetzungen erfüllen, die in einem Spenderdatenblatt vom Halter erfragt und dokumentiert sind:

Das Pferd soll als Blutspender folgende Voraussetzungen erfüllen:

- *Das Spendertier muss lebensmittellieferndes Tier sein*
- *Nicht Lebensmittel liefernde Tiere sind von der Gewinnung von Blutprodukten auszuschließen. Bei Lebensmittel liefernden Pferden, die mit zugelassenen Arzneistoffen aus Tabelle 1 der Verordnung (EU) Nr. 37/2010 oder mit Stoffen der "Positivliste" entsprechend Verordnung (EG) Nr. 1950/2006 entsprechend der Eintragung im Equidenpass (Abschnitt XI, Teil III) behandelt wurden, muss vor der Gewinnung von Blutprodukten die vorgesehene Wartezeit eingehalten werden.*
- *Das Spendertier darf nur in Deutschland oder in Ländern/Regionen gewesen sein, die ein mit Deutschland vergleichbares Infektionsrisiko aufweisen.*
- *Das Körpergewicht des Spendertieres soll über 400kg betragen.*

- *Das Spendertier soll mindestens 3 Jahre alt sein.*
- *Stuten dürfen weder trächtig noch dürfen sie laktierend sein.*
- *Das Spendertier muss klinisch gesund sein unter Berücksichtigung der Voraussetzungen unter 2.2.*
- *Das Spendertier soll ordnungsgemäß geimpft sein (Tetanus, Influenza, equines Herpesvirus, Tollwut).*
- *Für das Spendertier sollte eine Blutgruppenbestimmung (Aa-, Qa-) vorliegen. Die Ergebnisse der Laboruntersuchungen sollen innerhalb der Referenzwerte liegen, auf Infektionskrankheiten und Parasiten muss gemäß 2.1.4, Tabelle 3 getestet worden sein.*
- *Das Spendertier soll entsprechend gängiger Empfehlungen antiparasitär behandelt sein.*
- *Das Spendertier darf im Laufe seines Lebens kein Blut/Blutprodukt erhalten haben.*

Laboruntersuchungen, die beim Pferd unmittelbar gleichzeitig mit der Erstspende sowie jährlich durchgeführt werden müssen, sind:

Blutgruppenbestimmung, Blutbild, biochemische Untersuchung, Harnstatus sowie Untersuchung auf infektiösen Anämie-Virus, equiner Arthritis-Virus und Theileria equi.

Pferde sind nur dann als Spendertier zugelassen, wenn sie sich zeitlebens in Deutschland oder in Ländern/Legionen aufgehalten haben, die ein mit Deutschland vergleichbares Infektionsrisiko aufweisen.

Auch für den Transport und die Lagerung gelten strikte Vorschriften, deren Einhaltung durch ein entsprechendes Qualitätssicherungssystem gewährleistet sein muss. Darüber hinaus ist eine ausführliche Dokumentation und detaillierte Etikettierung vorgeschrieben.

Der „Hype“ Stammzellen

Eine besondere Bedeutung, insbesondere in gesellschaftspolitischer, aber auch in marktwirtschaftlicher Hinsicht, kommt der Begrifflichkeit der „Stammzellen“ und deren Anwendung, nicht zuletzt der damit verbundenen Erwartungshaltung und der wirtschaftlichen Bedeutung zu, die in den folgenden Beiträgen differenziert dargestellt und möglicherweise relativiert werden. Insbesondere wird dabei nicht so sehr auf die direkt von dem Pferd gewonnenen nativen Knochenmarksaspirate oder die durch Zentrifugieren vom Knochenmark hergestellten Substrate und deren unmittelbare Verabreichung am selben Pferd durch den Tierarzt zu diskutieren sein. Als selbstverständlich ist dabei vorauszusetzen, dass die erforderlichen anatomischen Kenntnisse vorliegen und hygienischen Erfordernisse eingehalten werden.

Vielmehr sollen die Kultivierung möglicherweise im Knochenmark vorhandener Stammzellen und die damit verbundene Vermehrung außerhalb der tierärztlichen Praxis/Klinik und ihre spätere Rückkehr und Anwendung beleuchtet werden. Dies gilt analog für die Anwendung kernhaltiger Zellen und Stammzellen aus Fettgewebe. Dabei wären die einzelnen Stammzellenquellen zu vergleichen und in Bezug auf ihre „Ausbeute“ - und sowohl beim Spender als auch beim Empfänger möglicherweise auftretenden Komplikationen - anzusprechen

Dies gilt auch für die Gewinnung und Behandlung mit Substratenblut. Dazu gehören in erster Linie das autologe Vollblut, das thrombozytenreiche Plasma (PRP = platelet-rich-plasma), autologes konditioniertes Plasma (ACP), autologes konditioniertes Serum (ACS) sowie die Behandlung mit Gerüstsubstanzen („scaffolds“) wie Acell Vet. Darüber hinaus werden vereinzelt Behandlungen mit

isolierten Wachstumsfaktoren und experimentell auch genetisch veränderte Zellen (Gentherapie) eingesetzt.

Die folgenden Beiträge sollen einen weiteren Einblick in das komplexe Zusammenspiel aus Gerüstsubstanzen, Wachstumsfaktoren und Zellen geben, die zur Regeneration von Sehngewebe führen soll. Eine abschließende Klärung, welches Blut- oder Stammzellenprodukt oder welche Kombination und zu welchem Zeitpunkt den besten Therapieerfolg liefert, gibt es nicht.

Auch in der Humanmedizin gibt es Uneinigkeit. So wird ACS (EOT-II) als „*patentiertes Medizinprodukt der 2. Generation zur Herstellung von ACS*“ bezeichnet. Gleichzeitig wird mitgeteilt, dass „*die Herstellung und Anwendung des ACS eine IGEL-Leistung ist und durch die gesetzlichen Krankenversicherung zurzeit noch nicht erstattet wird*“.

An anderer Stelle wird das Orthokin-Verfahren als „*umstrittene Therapieoption bei entzündlichen Prozessen orthopädischer Natur*“ bezeichnet und ist seit Jahren gerichtsanhängig, weil ein „*therapeutischer Nutzen zur Behandlung verschiedener entzündlicher und degenerativer Erkrankungen infrage gestellt wird*“, als „*nicht abschätzbar*“ gilt und der Unterschied zu Placebo „*nicht das statistische Signifikanzniveau*“ erreichen würde.

Viele Therapieformen sind im „Versuchsstadium“. Da es keinen „Goldstandard“ gibt, kommt der Aufklärung bei Auftragserteilung besondere Bedeutung zu. Die Forderung nach Aufklärung wird im Schadensfall allerdings dadurch verstärkt, dass es sich bei der Indikation in der Regel um Krankheitsgeschehen handelt, die langdauernde Rekonvaleszenz erfordern, deshalb möglicherweise mit hohen Kosten und nicht selten mit Rezidiven verbunden sind und damit das Konfliktpotenzial erhöhen.

Dabei scheint das Komplikationsrisiko in Bezug auf Verträglichkeit in der Häufigkeit der Anwendung relativ gering zu sein. Wenn es sich aber verwirklicht, sind schwerwiegende Folgen zu erwarten.

Kontakt

Dr. Eberhard Schüle, Dortmund
schuelehippoconsult@t-online.de

Indikationen und regulatorische Aspekte von zellulären Therapien beim Menschen

Dietger Niederwieser

Abteilung für Hämatologie und Internistische Onkologie, Universität Leipzig

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

1

Regenerative Therapie beim Kleintier – anhand eines Beispiels

M. van Staa¹, L. Brunberg¹, A.Kurtz²

¹Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

²Berlin-Brandenburger Centrum für Regenerative Therapien, Charité - Universitätsmedizin Berlin

Einleitung

Die Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale ist beim Hund das am häufigste therapeutisch zu intervenierende orthopädische Problem (1). Seit der ersten Beschreibung 1926 von Carlin (2) ist dazu eine kaum noch übersehbare Flut von Publikationen erschienen. Sieht man einmal von den anatomischen Studien zur Struktur, Biomechanik, Vaskularisation und denen zur Ätiologie (degenerative Veränderungen, Folge eines Traumas) ab, sind mehr als 120 verschiedene operative Verfahren oder Modifikationen davon beschrieben, die Kreuzbandruptur chirurgisch zu behandeln.

Es wird zwischen extra- und intrakapsulären Stabilisierungstechniken und Korrekturosteotomien unterschieden. Ziel der intraartikulären Kreuzbandersatztechniken ist, mithilfe von autogenem, allogenen, xenogenem oder synthetischem Material den Verlauf des kranialen Kreuzbandes zu rekonstruieren.

Die Vielfalt der in den letzten Jahren empfohlenen Methoden wie „cleaning-up“, Raffung periartikulären Gewebes, Kapsel-Faszienimbrikation, Transposition von Sehnen, Transposition des Fibulaköpfchens, Tibiaosteotomie, Autoplastiken mit Faszie, mit Haut, Ersatz durch homo- bzw. heterologe (xenogene) Gewebe sowie Alloplastiken lässt erkennen, dass bisher noch keine voll befriedigende Therapie gefunden wurde, mit der sich das Gelenk nach Kreuzbandriss primär und dauerhaft stabilisieren ließe.

Ziel

Daher verfolgen wir die Brauchbarkeit von heterologen Sehnen zum Ersatz des vorderen Kreuzbandes beim Hund zu prüfen.

Ziel dieser klinisch-wissenschaftlichen Forschung ist es ein gewebebkonstruiertes Band, das die native Struktur, die mechanischen Eigenschaften und die immunologische Inertie eines autologen Materials hat, herzustellen und basiert auf folgenden Annahmen:

1. eine native extrazelluläre Matrix (Sehne) ist das am besten geeignete Gerüst (Zellträger) für Bandregeneration bezüglich mechanischen und biochemischen Eigenschaften
2. das Gerüst (Zellträger) kann mit mesenchymalen Stammzellen rezellularisiert werden, die unter dem Einfluss der Matrix, optimaler Mediumbedingungen und mechanischer Stimulation in Matrix sezernierende Tenozyten differenzieren

Letztendlich soll eine Rezellularisierung von dezellularisierter Sehnenmatrix mit caninen mesenchymalen Stammzellen erfolgen und dieses mittels Tissue Engineering hergestellte Konstrukt als Kreuzbandersatz fungieren und nach biomechanischer Testung in das canine Kniegelenk transplantiert werden.

Material und Methoden

Für die Studie wurden Sehnen von Schlachtrindern und -pferden, sowie aus anderen Gründen kürzlich euthanasierten Hunden verwendet.

Die Verwendung von Sehnen zum Kreuzbandersatz erscheint insofern günstig, weil sie sich als funktionsentsprechendes Gewebe besonders gut eignen, dynamische Belastungen zu übernehmen (3). Sehnen von Beugemuskeln sind wegen der höheren Steifigkeit denen von Streckmuskeln

vorzuziehen (4). Ihre guten mechanischen Eigenschaften werden vom Kollagengehalt, den Mukopolysacchariden und Elastin mitbestimmt.

Die Sehnen werden nach einem eigens modifizierten Protokoll nach Nakayama dezelluliert (5). Anschließend wird der Dezellulierungserfolg mithilfe von Kryo- und Paraffinschnitten sowie entsprechenden Färbemethoden (HE, GRA, Elastin, Masson Trichrom) histologisch verifiziert.

Zeitgleich wird subkutanes Fettgewebe von oben genannten Tieren gewonnen und daraus werden mesenchymale Stammzellen isoliert und charakterisiert. Zum Beweis, dass es sich tatsächlich um mesenchymale Stammzellen handelt, wird einerseits die Osteo-, Adipo- und Chondrogenese sowie andererseits ein Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS) mit verschiedenen speziesspezifischen Oberflächenmarkern durchgeführt.

Im Anschluss werden die mesenchymalen Stammzellen auf die dezellulierten Sehnen transplantiert und die rezellulierten Bänder verschiedenen biomechanischen und biochemischen Stimuli zur Optimierung der Zellbesiedlung und –ausrichtung ausgesetzt.

Die immunologische Inertie wird parallel untersucht und bestätigt.

Ergebnisse

Zum aktuellen Zeitpunkt kann von einer erfolgreichen Dezellulierung der Sehnen und Isolation und Charakterisierung von mesenchymalen Stammzellen ausgegangen werden.

Literatur

1. Bergh, Mary Sarah, Surgical treatment of cranial cruciate ligament disease. *Advances in small animal medicine and surgery*, 2014; 7(8):1-2.
2. Carlin, I., Ruptur des Ligamentum anterius im Kniegelenk beim Hund. *Arch. Wissensch. Prakt. Tierheilk.*, 1926;54:420-423.
3. Birch HL1, Thorpe CT, Rumian AP, Specialisation of extracellular matrix for function in tendons and ligaments, *Muscle, Ligaments and Tendons Journal*, 2013;3(1):12-22.
4. Woo SL, Gomez MA, Woo YK, Akeson WH., Mechanical properties of tendons and ligaments. II. The relationships of immobilization and exercise on tissue remodeling. *Biorheology*. 1982;19(3):397-408.
5. Nakayama KH1, Batchelder CA, Lee CI, Tarantal AF., Decellularized rhesus monkey kidney as a three-dimensional scaffold for renal tissue engineering. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(7):2207-16.

Kontakt

Univ.-Prof. Leo Brunnberg, Klinik für kleine Haustiere, Berlin

Leo.Brunnberg@fu-berlin.de

Regenerative Therapie beim Pferd

Walter Brehm, Janina Burk, Antonia Lempe-Troillet

Chirurgische Tierklinik, Universität Leipzig, An den Tierkliniken, 04103 Leipzig

Im Rahmen der Diskussion der forensischen Aspekte der Regenerativen Medizin beim Pferd soll mit diesem Beitrag ein Überblick über die regenerativmedizinischen Therapieformen gegeben werden.

Therapieformen haben im letzten Jahrzehnt in der Pferdemedizin immer mehr an Bedeutung gewonnen. Ziel dieses Therapiekonzepts ist es, durch die Applikation biologischer Therapeutika, wie Wachstumsfaktoren und Zellen, allein oder in Kombination mit Biomaterialien (Tissue Engineering), die Regeneration von geschädigten Geweben und Organen zu fördern.

In der Pferdemedizin sind es vor allem orthopädische Erkrankungen, die im Fokus der Regenerativen Medizin stehen. In der Reihenfolge der Häufigkeit der Behandlung sind es Erkrankungen der Sehnen und Bänder, der Gelenke, des Knochens und der Haut und darunter liegenden Gewebe im Sinne der Wundheilung, die so behandelt werden.

Unter den in der Pferdemedizin bislang vor allem in der Orthopädie eingesetzten biologischen Therapeutika finden vor allem verschiedene Blutprodukte und Progenitorzellen Anwendung. Diese werden aus Gewebe hergestellt, das dem Tier entnommen wurde und durch Aufbereitung in einem Fremdlabor, oder im Labor der Praxis des Tierarztes, oder vor Ort durch den Tierarzt hergestellt wird. Zur Unterstützung der Herstellung sind von verschiedenen Firmen Materialien im Handel.

Die regenerativen Therapeutika können aus autologem, also vom Patienten selbst gewonnenem, oder allogenem, also von einem Spenderpferd gewonnenem, Material hergestellt werden.

Während derzeit autologes Material in der Praxis aus Gründen der Anwendungssicherheit und Praktikabilität bevorzugt wird, gibt es mittlerweile auch Anbieter, die allogenenes Material, aktiv bewerben.

Autologe Blutprodukte

Die Nutzung autologer Blutprodukte in der regenerativen Medizin hat sich aufgrund der klinisch zu vermerkenden Erfolge und der sehr guten Verträglichkeit auch in der Pferdemedizin etabliert und wird als Therapiemethode mit großem Potenzial in der Behandlung von Sehnen- und Bandschäden, Osteoarthritis, Weichteil- und Knochenverletzungen angesehen.

In der Humanmedizin wurde die sogenannte PAW-Klassifizierung für blutzellbasierende autologe Therapeutika vorgestellt:

- P (Platelets): Anzahl der Thrombozyten pro Volumeneinheit Endprodukt
- A (Activation): Aktivierung des Produktes vor der Applikation
- W (White Cells): Weiße Blutzellen im Endprodukt

Die aufgeführten autologen Blutprodukte sind als Übersicht in Abb. 1 dargestellt.

Blutzellbasierende autologe Therapeutika

Inhaltsstoffe

In den auf Zellen basierenden autologen Blutprodukten stellen die Thrombozyten nach verschiedenen produkttypischen Anreicherungsverfahren die Hauptkomponente der zur Wirkung beitragenden zellulären Fraktion dar. Die Schlüsselfunktion für die regenerative Wirkung besitzen die in den thrombozytären α -Granula enthaltenen Wachstumsfaktoren und Zytokine. Durch den Vorgang der Thrombozytenaktivierung werden diese nach intraläsionaler Applikation im physiologischen

Konzentrationsverhältnis zueinander in die direkte Umgebung freigesetzt. Abhängig von der Art der Aufbereitung sind rote und weiße Blutzellen in unterschiedlicher Konzentration im Endprodukt enthalten. Über ihre Rolle bei der therapeutischen Anwendung wird wissenschaftlich kontrovers diskutiert. Einige Autoren gehen von wichtigen Stimuli durch Leukozyten in der Entzündungskaskade und somit auch im Wundheilungsprozess aus. Andere fordern eine möglichst minimale Konzentration der weißen Blutzellen, besonders der neutrophilen Granulozyten, im Endprodukt, um Nebenwirkungen wie lokale Reaktionen nach Injektion, erneute Entzündungsreize oder eine verzögerte Wundheilung so gering wie möglich zu halten. Wissenschaftliche Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Art des verletzten Gewebes maßgeblich den Einfluss der Leukozyten auf die Regeneration bestimmt. Das Vorhandensein von Erythrozyten im Endprodukt wird einheitlich als nachteilig für die Qualität des Endprodukts betrachtet. Zelluläre Blutprodukte, die Blutplasma als Grundlösung aufweisen, enthalten zusätzlich Plasmaproteine wie Globuline, Albumine und Fibrinogen, sowie Elektrolyte, Nährstoffe und kleine Mengen an bioaktiven Molekülen (z.B. Wachstumsfaktoren).

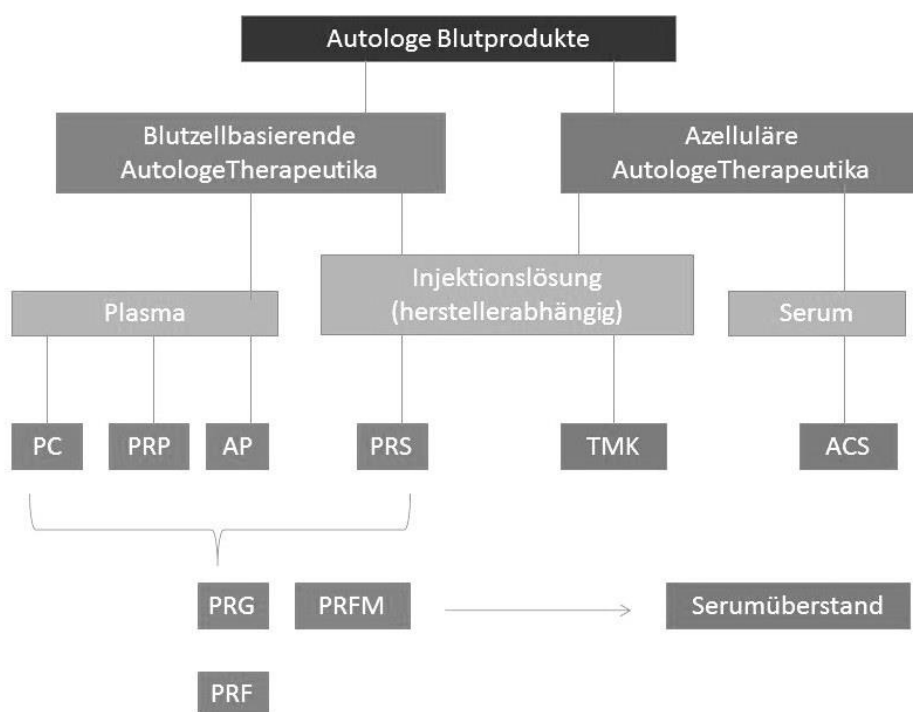


Abb. 1: Übersicht und Einteilung der autologen Blutprodukte. ACS: autologes konditioniertes Serum; AP: autologes Plasma; PC: Platelet Concentrate; PRF: Platelet-Rich Fibrin; PRFM: Platelet-Rich Fibrin Matrix; PRG: Platelet-Rich Gel; PRP: Platelet-Rich Plasma; PRS: Platelet-Rich Solution; TMK: Thrombozyten-Mediatoren-Konzentrat.

Produktdefinitionen

Platelet-Rich Plasma (PRP)

Die wohl bekannteste Form der auf Blutzellen basierenden autologen Therapiemethoden ist das PRP, welches ein mit Thrombozyten angereichertes, gerinnungsgehemmtes und sonst

unverändertes Plasma darstellt. In der Pferdemedizin wird PRP erfolgreich vornehmlich in der Orthopädie als Therapeutikum eingesetzt. Die bereits erwähnte Anreicherung der Thrombozyten im Plasma stellt die Definitionsgrundlage dieses Produktes dar. Eine 4- bis 5-fache Konzentrationserhöhung der Thrombozyten im Vergleich zu Vollblut entspricht dieser Definition. Produkte, die dieser Definition nicht genügen, sollten konsequent auch anders benannt werden.

Der Anreicherungsgrad hängt vom Ausgangswert der Thrombozyten im Vollblut und vom Endplasmavolumen des erstellten PRPs ab. Den Grad der Anreicherung kann man leicht mit einfachen Blutmessgeräten überprüfen. Das Endvolumen des PRP liegt je nach Aufbereitungsmethode und Ausgangsvolumen des Vollbluts zumeist zwischen 2 und 12 ml. Die geforderte Thrombozytenanreicherung pro Volumeneinheit wird üblicherweise über 2 Zentrifugationsschritte oder Filtration erreicht. Kommerziell erhältliche Medizinprodukte ermöglichen diese Zentrifugationsschritte in geschlossenen Systemen unter Einhaltung steriler Kautelen.

Autologes Plasma (AP)

Einige dieser Systeme führen allerdings eine einfache, einmalige Zentrifugation durch oder erlauben die Gewinnung von Thrombozyten durch Aspiration des Buffy Coat. Diese Produkte enthalten somit neben den Thrombozyten gleichzeitig einen erhöhten Gehalt an Leukozyten. Das daraus gewonnene Plasma entspricht nicht der Definition des PRP, da die maximal erreichbare Thrombozytenkonzentration deutlich unter der als notwendig festgelegten 4-fachen Konzentration liegt (etwa 1,5-fach), jedoch zeigen sich auch mit diesem AP teilweise gute klinische Ergebnisse.

Platelet-Rich Solution (PRS)

Bei Benutzung von Filtrationssystemen muss das Thrombozytenfiltrat mit körpereigenem Plasma ausgespült werden, um der Definition des PRP zu entsprechen. Wird eine Spüllösung verwendet, handelt es sich nicht mehr um PRP im klassischen Sinn, sondern um eine mit Thrombozyten angereicherte Injektionslösung.

Platelet Concentrate (PC)

Im Gegensatz zum PRP wird für die Herstellung des PC eine maximale Thrombozytenkonzentration angestrebt. Diese Aufbereitungsmethode wird vor allem zu wissenschaftlichen Zwecken verwendet.

Platelet-Rich Gel (PRG), Platelet-Rich Fibrin Matrix (PRFM)

Um ein Auftragen auf Wunden bzw. Wundauflagen, aber auch die lokale Behandlung subchondraler Knochenzysten zu erleichtern, kann durch Zugabe von (bovinem oder autologem) Thrombin, CaCl₂ oder Ca-Gluconat die Fibringerinnung im PRP aktiviert werden. Das daraus entstehende, geleeartige Produkt bezeichnet man als Platelet-Rich Gel oder Platelet-Rich Fibrin Matrix.

Platelet-Rich Fibrin (PRF)

Dieses Produkt entsteht hingegen ohne Gerinnungsaktivierung, sondern ohne die Zugabe eines Antikoagulans als Koagulationsprodukt.

Generell können alle auf Thrombozyten basierenden Blutprodukte in aktivierter oder nichtaktivierter Form eingesetzt werden. Durch Hemmung der Antikoagulation mit den oben beschriebenen Methoden wird die Gerinnung des Plasmas initiiert, die Thrombozyten folgen der Gerinnungskaskade – sie werden aktiviert und degranulieren: Aktivierte Thrombozyten schleusen die

in den α -Granula befindlichen Wachstumsfaktoren aus. Diesem natürlichen Vorgang, der sonst am Gewebedefekt durch lokale Gewebemediatoren und Kollagenkontakt ausgelöst wird, können die therapeutischen Injektionen schon vor ihrer Anwendung unterzogen werden. Equines PRP wird jedoch in den meisten Fällen ohne Aktivierung appliziert, da man von einer genügend starken lokalen Initiierung des Gerinnungs- und damit Aktivierungsprozesses ausgeht. Sowohl bei aktiviertem als auch bei nichtaktiviertem PRP sind die Thrombozyten lebensfähig.

Wirkungsweise

Die α -Granula in den Thrombozyten sind Träger verschiedener Wachstumsfaktoren, die bei der Aktivierung der Thrombozyten freigesetzt werden und so ihre Wirkung im Gewebe entfalten können. Spezifische Untersuchungen von Blutprodukten des Pferdes zeigen, dass auch bei dieser Spezies die einschlägigen Wachstumsfaktoren vorhanden sind.

Einsatz in der Pferdemedizin

In der Pferdemedizin hat sich die perkutane, ultraschallgestützte intraläsionale Injektion dieser Therapeutika zur Behandlung von Sehnen- und Fesselträgerläsionen etabliert. Die klinischen Erfolge sind vielversprechend, jedoch fehlt es noch an weitreichenden, vergleichbaren In-vivo-Studien. Einzelne Fallstudien konnten bei Sehnen- und Fesselträgerschäden eine frühere Rückkehr von Sportpferden in die maximale Belastung aufzeigen. Die sportlichen Belastungen führten auch langfristig nicht zu einem erneuten Wiederauftreten des Schadens. Bei experimentell induzierten Defekten der oberflächlichen Beugesehne war bei PRP-behandelten Pferden die Sehne allgemein kräftiger im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Sehnendefekte zeichneten sich durch eine signifikant höhere Zelldichte, höhere Glukosaminoglykan- und Kollagengehalte und eine bessere Neovaskularisierung des Reparationsgewebes aus. In vitro konnten an Schäden der oberflächlichen Beugesehne und des Fesselträgers nach PRP-Behandlung höhere Gehalte an Cartilage Oligomeric Matrix Protein und Typ-I-Kollagen als nach Knochenmarkaufbereitung gemessen werden. Die Proliferation von Tenozyten, Osteoblasten und mesenchymalen Progenitorzellen zeigte sich in vitro unter PRP-Zugabe verbessert.

Über die Menge an zu applizierenden, auf Zellen basierenden autologen Blutprodukten und über die Häufigkeit der Injektionen bzw. deren zeitlichen Abstand gibt es keine einheitlichen Maßgaben. Es wird dem Praktiker überlassen, dies dem Ausmaß und Alter der Läsion, der Art des verwendeten Produkts und begleitenden therapeutischen Maßnahmen anzupassen. Weitreichende vergleichende, verblindete, randomisierte Untersuchungen sind dazu bisher noch nicht erschienen.

Der Einsatz bei Gelenkerkrankungen wird ebenfalls praktiziert. Für diese Indikation sind aber in der Literatur bisher keine Berichte verfügbar. Während einige Kollegen die Anwendung von zell- und fibrinogenhaltigem Plasma in entzündlich veränderten Gelenken aufgrund der hohen Gerinnungsbereitschaft grundsätzlich ablehnen, so sehen andere einen Nutzen bei der Applikation von PRFM in Knorpeldefekte unter arthroskopischer Kontrolle. Auch bei Weichteilschäden in Gelenken wie Meniskus- oder Kreuzbandschäden und bei Sehnenläsionen innerhalb von Sehnencheiden werden blutzellbasierende Therapeutika präzise intraläsional oder einfach intrasynovial appliziert.

Azelluläre autologe Therapeutika

Inhaltsstoffe und Produktdefinitionen

Autologe azelluläre Blutprodukte können zum einen aus Vollblut nach Serumaufbereitung zur Verfügung stehen oder werden aus den oben beschriebenen Plasmaprodukten hergestellt, nachdem die darin enthaltene Thrombozytenfraktion zerstört wurde.

Autologes konditioniertes Serum (ACS)

Der wohl bekannteste Vertreter der auf Serum basierenden Therapeutika ist das ACS. Verschiedene Wachstumsfaktoren sowie das Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist-Protein (IL-1RA-Protein, irap) sind bei diesem Produkt humoral im Serum gelöst. Dem körpereigenen Entzündungshemmer IL-1RA unterliegt die therapeutisch genutzte Hauptwirkung von ACS. Zusätzlich sind weitere Bluteiweiße (Globuline, Albumine, Wachstumsfaktoren), Elektrolyte und Nährstoffe in diesem Produkt vorhanden. Entsprechend der allgemeinen Definition für Blutserum ist auch ACS frei von Gerinnungsfaktoren wie Fibrinogen.

Die Produktion von ACS erfolgt in 2 Schritten: Das venöse Vollblut wird in mit Glaskugeln gefüllten Spritzen entsprechend den Herstellervorgaben über mehrere Stunden inkubiert. Eine Überschreitung der Inkubationszeit ist nicht zu empfehlen, da es mit zunehmender Inkubationszeit zur vermehrten Produktion proinflammatorischer Zytokine wie Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-1 β (IL-1 β) kommt. Im zweiten Schritt erfolgt eine Zentrifugation zur Abtrennung der korpuskulären Bestandteile vom separierten Serum mitsamt den benannten Inhaltsstoffen. Zwischen 4 und 28 ml ACS werden auf diesem Wege hergestellt. Die Zellfreiheit ermöglicht einen Einfrierungsprozess für spätere Injektionen, ohne dass es zu Veränderungen in der Zusammensetzung des ACS kommt.

Weitere Produkte

Sollen blutzellbasierende autologe Therapeutika als Ausgangsstoff für eine zellfreie Behandlung genutzt werden, so müssen zunächst die im Plasma oder Lösungsmittel vorliegenden Thrombozyten zerstört werden. Die Thrombozytenmembran kann durch mehrere aufeinander folgende Einfrier- und Auftauzyklen oder durch die Zugabe oberflächenaktiver Substanzen (hypertone/hypotone NaCl-Lösung, Aqua destillata Natriumbikarbonat, Detergens) aufgebrochen werden. Die in den α -Granula enthaltenen Wachstumsfaktoren und Proteine werden passiv freigesetzt und liegen gelöst im Plasma bzw. im entsprechenden Lösungsmittel vor. Das zu injizierende Endprodukt ist im eigentlichen Sinne zellfrei, da nur noch Zellfragmente der Thrombozyten, Leukozyten und eventuell vorhandener Erythrozyten enthalten sind.

Thrombozyten-Mediatoren-Konzentrat (TMK)

Zur Herstellung des TMK wird die Thrombozytenfraktion nach Filtration über die Zugabe verschiedener Lösungen aufgebrochen.

Platelet-Rich Clot Releasate (PRCR)

PRCP entsteht während des exogen induzierten Gerinnungsprozesses des bereits erwähnten PRG oder PRFM. Reines Serum mit einem hohen Anteil an Wachstumsfaktoren wird hierbei als Überstand nach sehr starker Zentrifugation frei.

Wirkungsweise

Der Hauptmechanismus von ACS beruht auf seiner entzündungshemmenden Wirkung durch Anreicherung des körpereigenen IL-1RA. Die selektive kompetitive Hemmung des IL-1 β unterbricht den Entzündungskreislauf und degenerative Prozesse im Gewebe. Des Weiteren führt der produkttypische Gerinnungsprozess während der Inkubation zur Sezernierung von Wachstumsfaktoren aus den Thrombozyten, jedoch in geringerem Maße als bei PRP, da es sich nicht um ein mit Thrombozyten angereichertes Produkt handelt.

Die auf Thrombozytolyse beruhenden azellulären Produkte entfalten ihre Wirkung schon bei der Applikation, da die Wachstumsfaktoren sofort, direkt und in vollem Maße freigesetzt werden. Die hohe Konzentration muss jedoch nicht günstig sein, denn zu hohe lokale

Wachstumsfaktorenkonzentration im Gewebe können zu paradoxen Reaktionen bei der Heilung führen.

Einsatz in der Pferdemedizin

Zellfreie und von Gerinnungsfaktoren freie autologe Blutprodukte haben sich für intrasynoviale Injektionen besonders bei der Behandlung von Osteoarthritis und der Tendovaginitis bewährt. Der IL1-RA besitzt nicht nur antiinflammatorische und schmerzreduzierende Wirkkomponenten, sondern ist auch chondroprotektiv. Eine mehrfache Wiederholung der intrasynovialen Injektion abhängig vom klinischen Bild wird empfohlen. Der Abstand zwischen den Injektionen, die Häufigkeit sowie die zu applizierende Menge sollten dem jeweiligen Fall angepasst werden. Zurzeit gibt es nur klinische Erfahrungswerte, aber keine einheitlichen Vorgaben. Klinischen Erfahrungen nach kann ACS bezüglich der Reduktion des Lahmheitsgrads und der Dauer der erreichten Schmerzfreiheit anderen konventionellen Produkten zur intrasynovialen Behandlung überlegen sein. In-vivo-Studien stellten an künstlich geschaffenen Osteoarthritis-Modellen eine Verbesserung der klinischen Zeichen fest, jedoch ohne signifikante histologischen Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Die ultraschallgestützte intraläsionale Injektion in Sehnen- und Fesselträgerläsionen im frühakuten Stadium wird praktiziert mit dem Ziel, direkte Entzündungsfolgen mit einhergehender Kollagenfaserdesintegration, peritendinösen Schwellungen und einer sich ausweitenden Entzündungskaskade zu reduzieren. Erste Ergebnisse in der Literatur bestätigen dieses Konzept. Bei der Behandlung der oberflächlichen Beugesehne wurde eine signifikante Reduktion der Lahmheit in den ersten 10 Tagen nach Behandlung, und eine reduzierte Schwellung der Beugesehnenregion zwischen 7 und 11 Wochen nach Behandlung aufgezeigt. Im Zeitraum von 11 bis 15 Wochen zeigte sich ultrasonographisch eine signifikante Verminderung des prozentualen Anteiles der Sehnenläsion und eine Erhöhung der Echogenität der Läsion. Histologisch zeigten sich die Tenozyten 5 Wochen nach Injektion stärker spindelförmig. Die Immunohistochemie wies eine signifikante Erhöhung der Kollagen I Expression zwischen 5 und 28 Wochen nach ACS-Injektion nach (Geburek, 2015).

Fazit

Zellfreie Produkte aus Thrombozytenlysaten tragen zur Regeneration durch direkte Bereitstellung von Wachstumsfaktoren bei. Es ist bisher beim Pferd nicht geklärt, in welchem Maße die Wachstumsfaktoren zum Zeitpunkt der Applikation vorhanden sind, noch ob die Zellrückstände einen Einfluss auf die Geweberegeneration haben. Für diese Stoffgruppe gibt es keine gesicherten Erkenntnisse zur klinischen Anwendung bzw. Wirkungsweise beim Pferd, meist werden im Rahmen wissenschaftlicher Untersuchungen Thrombozyten aufgebrochen, um das „volle Potenzial“ zellbasierender autologer Herstellungsverfahren zu prüfen. Wie in vielen anderen Teilbereichen mangelt es an qualitativ hochwertigen, umfassenden Studien für die Pferdemedizin.

Progenitorzellprodukte

Die therapeutische Applikation aufbereiteter Vorläuferzellen ist in der Pferdepraxis unter dem Begriff der „Stammzelltherapie“ bekannt geworden. Allerdings ist es auch hier wichtig, die verschiedenen angewendeten Zellpopulationen voneinander abzugrenzen, da der alleinige Begriff „Stammzelle“ nicht klar definiert ist bzw. es kontrovers diskutiert wird, welche Progenitorzellpopulationen tatsächlich als Stammzellen bezeichnet werden sollten.

Die angewendeten Zellpopulationen unterscheiden sich vor allem in der Art und Weise ihrer Aufbereitung und in ihrem Ursprungsgewebe. Bei letzterem müssen grundsätzlich adulte Gewebe, zu denen per definitionem alle postnatalen, aber auch perinatalen Gewebe zählen, gegen fetale und embryonale Gewebe abgegrenzt werden.

In der Pferdeorthopädie handelt es sich bei der Applikation von Progenitorzellen bzw. Stammzellen in aller Regel um adulte mesenchymale Progenitorzellen. Hierbei wiederum muss zwischen den in Kultur selektierten, expandierten und somit weitestgehend reinen Progenitorzellpopulationen, und den durch Zentrifugationsschritte aufbereiteten Mischpopulationen unterschieden werden. Darüber hinaus wurden erste Studien zur Applikation embryonaler und fetaler Stammzellen beim Pferd durchgeführt, was jedoch zur Zeit für die therapeutische Anwendung in der Praxis noch nicht relevant ist.

Multipotente mesenchymale Stromazellen (MSC)

Definition

Die häufig als mesenchymale Stammzellen bezeichneten MSC werden aus adulten Geweben gewonnen und zeichnen sich durch ihre fibroblastenartige Morphologie aus. Sie wurden von der Internationalen Gesellschaft für Zelltherapie (ISCT) definiert über ihre Fähigkeit zur Plastikadhärenz sowie ihr multi- bzw. tripotentes Differenzierungspotential in Zellen mesenchymaler Gewebe (Adipozyten, Chondrozyten und Osteoblasten) *in vitro*, im Sinne einer funktionellen Charakterisierung. Für humane MSC wurde außerdem ein bestimmtes Muster an Oberflächenantigenen definiert, das MSC charakterisieren soll.

Gewinnung

Gegenüber den embryonalen und fetalen Stamm- bzw. Progenitorzellen sind die aus adulten Geweben gewonnenen MSC zwar bereits weiter ausdifferenziert, haben aber damit gleichzeitig den Vorteil höherer Anwendungssicherheit. Darüber hinaus befinden sie sich gefäßassoziiert in vielen Geweben und Körperflüssigkeiten, was eine einfache Gewinnung autologer Zellen vom Patienten ermöglicht. Für die klinische Anwendung werden meist Knochenmark und Fettgewebe als Zellquelle herangezogen. Während Knochenmark als Quelle für equine MSC zuerst beschrieben wurde, zeichnet sich Fettgewebe durch höhere Ausbeuten an MSC mit guter Qualität aus. Vielversprechende weitere Quellen für MSC sind unter anderem Nabelschnurmateriale und peripheres Blut, die klinische Anwendung erfolgte hier jedoch erst in Einzelfällen. Die Gewinnung von Knochenmark kann unter Sedation und Lokalanästhesie durch Punktion des Sternums oder bei jungen Pferden auch des Tuber coxae erfolgen. Die Entnahme von Fettgewebe erfolgt üblicherweise lateral des Schweifansatzes über einen kleinen Hautschnitt oder per Liposuktion.

Sowohl die Knochenmarkpunktion als auch die Entnahme von Fettgewebe können unter Sedation und Lokalanästhesie durchgeführt werden. In beiden Fällen ist eine streng aseptische Vorgehensweise wichtig, um Kontaminationen der Gewebeproben zu vermeiden.

Im Labor wird durch Zentrifugationsschritte zunächst die mononukleäre Zellfraktion aus den Proben isoliert, aus der dann durch weitere Anzucht die plastikadhärenten MSC selektiert und expandiert werden. Abhängig von der individuellen Zellqualität stehen nach der Aufbereitung aus Knochenmark nach etwa 3–5 Wochen 10 Millionen MSC zur Verfügung, bei Aufbereitung aus Fettgewebe bereits nach etwa der Hälfte dieses Zeitraums. Durch diese Art der Aufbereitung und Anzucht wird eine weitestgehend reine Population an Progenitorzellen in hoher Anzahl erhalten.

Die gewonnenen MSC werden in Flüssigkeit suspendiert, um eine Injektionslösung zu erhalten. Häufig wird hierzu autologes Material wie Knochenmarküberstand, Blutplasma oder Serum verwendet, um den enthaltenen Zellen eine Nährlösung zu bieten und durch die enthaltenen Wachstumsfaktoren den therapeutischen Effekt zu ergänzen. Es besteht außerdem die Möglichkeit, einen Teil der MSC kryokonserviert für eventuelle spätere Applikationen einzulagern.

Wirkungsweise

Ursprünglich wurden MSC vor allem aufgrund ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in Zellen der Binde- und Stützgewebe für den Einsatz in der Orthopädie favorisiert, mit der zugrundeliegenden Hypothese, dass die applizierten MSC durch ihre neue, natürliche, Umgebung zur Differenzierung angeregt werden und daraufhin verlorengegangene Zellen ersetzen und extrazelluläre Matrix produzieren. Wie bereits in ihrer Definition festgelegt, können sich MSC in Chondrozyten und Osteoblasten differenzieren. Außerdem wurde von einigen Autoren auch ihre Differenzierung in Tenozyten beschrieben, was allerdings in vitro ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Stimulanzien erfordert und daher nicht routinemäßig durchgeführt wird.

Interessanterweise sind MSC trotz ihres mesenchymalen Ursprungs darüber hinaus in der Lage, sich in Zellen endo- und ektodermaler Gewebe wie Hepatozyten und Neuronen zu differenzieren. Während einige Autoren die Differenzierung der MSC in den gewünschten Zelltyp auch in vivo in Tiermodellen nachvollziehen konnten, wird der Verbleib der MSC am Wirkort über einen längeren Zeitraum und somit auch ihre Differenzierung als Hauptwirkmechanismus von anderen Autoren in Frage gestellt.

Daneben fanden innerhalb der letzten Jahre die modulatorischen Fähigkeiten der MSC immer mehr Beachtung. MSC kommunizieren über direkte Zell-zu-Zell-Kontakte und die Sekretion von Zytokinen mit anderen Zelltypen und können so großen Einfluss auf entzündliche und degenerative Prozesse nehmen. Zu den wichtigsten bekannten, von MSC synthetisierten Wachstumsfaktoren zählen TGF- β , VEGF und IGF, wodurch proliferations- und differenzierungsfördernde, proangiogenetische sowie antiapoptotische Effekte auf andere Zellen erzielt werden. Außerdem wirken MSC über verschiedene lösliche Faktoren wie Interleukine, Interferone, TNF- α oder Stickstoffmonoxid auf Immunzellen. Während meist die antiinflammatorischen und immunsuppressiven Wirkungen der MSC in den Vordergrund gestellt und therapeutisch genutzt werden, können MSC jedoch bei entsprechender Stimulation auch in einen proinflammatorischen Modus übergehen und selbst Antigene präsentieren. Diese immunmodulatorischen Eigenschaften haben einerseits dazu geführt, dass MSC in der Humanmedizin erfolgreich zur Behandlung immunvermittelter Erkrankungen wie der Graft-versus-Host-Disease eingesetzt werden, andererseits werden sie mittlerweile von Vielen gleichzeitig als wichtigster Wirkmechanismus bei entzündlichen und degenerativen Erkrankungen angesehen.

Außerdem als wichtig für die Wirkung von MSC angesehen ist das „Homing“. Dieser Begriff beschreibt die Eigenschaft der Zellen, im Körper zum Ort des Erkrankungsgeschehens zu migrieren und dort zu verbleiben, was insbesondere bei der in der Humanmedizin häufig praktizierten systemischen Zellapplikation essenziell ist. In der Pferdeorthopädie erfolgt die Applikation von MSC dagegen üblicherweise lokal, beispielsweise intratendinös oder intraartikulär. Systemische Anwendungen von MSC wurden beim Pferd erst in Einzelfällen beschrieben.

Einsatz in der Pferdemedizin

Zu den typischen Indikationen für die Applikation von MSC zählen zuerst Sehnen- und Bänderkrankungen. Hier wurde das Konzept der Applikation von MSC bereits 2003 publiziert, basierend auf der bereits zuvor praktizierten Knochenmarkübertragung. Seither wurden einige experimentelle und klinische Studien zur MSC-Behandlung der oberflächlichen Beugesehne durchgeführt, in denen deutliche Hinweise auf einen positiven Effekt der MSC in der Sehnenheilung vorlagen, während bislang keine unerwünschten Wirkungen berichtet wurden. Das derzeit übliche Therapiekonzept beinhaltet die ultraschallkontrollierte Applikation einer Suspension von 10–20 Millionen autologen MSC mit einem Volumen von 1–2 ml direkt in das aufgelockerte Gewebe innerhalb der Sehnenläsion. Bei weit ausgedehnten Läsionen sollten Zellzahl und Volumen der Suspensionslösung erhöht werden. Dabei ist es sinnvoll, die Applikation im Falle einer akuten Tendinopathie erst nach Abklingen der ersten Entzündungs- und Schmerzreaktion durchzuführen.

Experimentelle Studien zeigten eine sonografisch und histologisch nachweisbare signifikante Verbesserung der Organisation des heilenden Sehngewebes innerhalb der Läsionen gegenüber den Kontrollgruppen 8 bzw. 21 Wochen nach der Behandlung. 21 Wochen nach der Behandlung waren außerdem der Kollagen-I-Gehalt im Vergleich zu den Kontrollen erhöht und der Kollagen-III-Gehalt erniedrigt, was für eine fortschreitende Heilung hin zu gesundem Sehngewebe spricht.

In klinischen Fallstudien, von denen mittlerweile einige weit über 100 MSC-behandelte und nachverfolgte Patienten einschließen konnten, traten nach Wiedereintritt in den Sport nur in 10 bis knapp 30 % der Fälle Rezidive auf. Bei Patienten, die nicht mit MSC behandelt und als Kontrollgruppe herangezogen wurden, lagen die Rezidivraten mit über 50 % deutlich höher. Während sich die oben genannten Studien auf die Behandlung von Tendinopathien der oberflächlichen Beugesehne beziehen und damit in diesem Bereich bereits am meisten Erfahrung vorliegt, konnten außerdem Erkrankungen des Fesselträgers und in Einzelfällen auch anderer Sehnen- und Bandstrukturen mit vergleichbar gutem Erfolg behandelt werden.

Wichtig zu erwähnen ist jedoch, dass die Applikation von MSC bisherigen Ergebnissen zufolge nicht zu einer schnelleren Heilung führt, sondern ihre Qualität verbessert und so vor allem das Risiko von Rezidiven verringert. Um den gewünschten Behandlungserfolg zu erzielen, sollte daher ergänzend unbedingt ein sich langsam aufbauendes Bewegungsprogramm durchgeführt werden. Weiterhin ist zu beachten, dass trotz der allgemein besseren Ergebnisse nach MSC-Applikation Nutzungsdisziplin und Alter der Patienten ebenso wie nach konservativer Therapie einen Einfluss auf das Behandlungsergebnis haben.

Gelenkerkrankungen stellen eine weitere mögliche Indikation für die Applikation von MSC dar, allerdings wurden hierzu bisher erst wenige Studien publiziert. Eine klinische Fallstudie lieferte vielversprechende Ergebnisse, insbesondere für die MSC-Anwendung bei Kniegelenkerkrankungen; hier konnten 29 der 40 Patienten nach MSC-Applikation wieder im Sport eingesetzt werden. In experimentellen Studien konnten zum einen ein erhöhter Aggregegehalt und zum anderen ein verminderter Prostaglandin-E2-Gehalt in mit MSC behandelten Gelenken gefunden werden, allerdings keine weiteren Hinweise auf eine verbesserte Heilung.

Neben der intraartikulären Applikation einer MSC-Suspension besteht bei fokalen Knorpelschäden außerdem die Möglichkeit, während der Arthroskopie die Läsionen mit MSC in einem Fibrinträger aufzufüllen, entsprechend dem Tissue-Engineering-Konzept. Dies führt einer Studie zufolge zu einer Verbesserung gegenüber der Kontrollgruppe in der frühen Heilungsphase; die Ergebnisse 8 Monate nach der Applikation unterschieden sich jedoch nicht mehr signifikant.

Weitere, vermutlich sinnvolle Indikationen für die Applikation von MSC können, unter Berücksichtigung der individuellen Befunde, Verletzungen, Frakturen und Hufrehe sein. Hierzu existieren allerdings noch keine umfassenden Studien, weswegen besondere Sorgfalt bei einer Entscheidung für die ergänzende Behandlung mit MSC geboten ist.

Nukleäre Zellfraktion (NC)

Neben der Applikation der selektierten und expandierten MSC-Fraktion ist auch die Applikation der gesamten im Ausgangsmaterial enthaltenen nukleären Zellfraktion, die lediglich durch Gewebeaufschluss und Zentrifugationsschritte aufbereitet wurde, verbreitet. Obwohl dies häufig ebenfalls als „Stammzelltherapie“ bezeichnet wird und die entsprechenden Produkte mit dieser Terminologie beworben werden, ist zu beachten, dass es sich hier um die Applikation einer Mischpopulation mit sehr geringem Anteil an mesenchymalen Progenitorzellen handelt, was von der Applikation einer reinen MSC-Population abgegrenzt werden sollte. Für dieses besonders in Nordamerika verbreitete Zellprodukt wird meist Fettgewebe, seltener Knochenmark als Ausgangsmaterial verwendet. Da bei der im Falle von Knochenmark zur Zellaufbereitung üblichen Dichtegradientenzentrifugation nicht nur Erythrozyten, sondern auch die Granulozyten abgetrennt werden, ist hier der Begriff mononukleäre Zellfraktion (MNC) korrekter.

Ein potentieller Vorteil von (M)NC-Produkten ist es, dass die Aufbereitung der Zellen je nach angewendetem Protokoll nur wenige Stunden dauert, da die Phase der Selektion und Expansion der MSC-Fraktion wegfällt. Da allerdings die Zellapplikation bei Sehnenerkrankungen direkt im Anschluss an ein akutes Verletzungsereignis ohnehin nicht als sinnvoll angesehen wird, kommt diesem Vorteil meist wenig Bedeutung zu. Ein weiterer Vorteil sind die durch geringeren Arbeits- und Materialaufwand niedrigeren Kosten im Vergleich zu reinen MSC-Produkten.

Ob der therapeutische Effekt der (M)NC allerdings tatsächlich dem der reinen MSC-Fraktion entspricht, ist aufgrund der weitaus geringeren Anzahl an enthaltenen MSC zunächst anzuzweifeln. Denkbar sind allerdings synergistische Effekte der anderen enthaltenen Zellpopulationen, beispielsweise im Rahmen einer Förderung der Neoangiogenese durch endotheliale Progenitorzellen. Erste Studien im Pferdmodell zeigten positive Effekte der (M)NC-Applikation bei der Behandlung experimentell induzierter Sehnenläsionen. Ähnlich wie bei der MSC-Behandlung waren die histologischen Befunde der behandelten Tiere gegenüber der Kontrollgruppe signifikant verbessert. Trotz der in Nordamerika weit verbreiteten therapeutischen Nutzung von NC-Produkten wurden allerdings bislang keine aussagekräftigen Studien zu den klinischen Ergebnissen veröffentlicht.

Knochenmarkkonzentrat, Bone Marrow Aspirate Concentrate (BMAC)

Unaufbereitetes Knochenmark weist im Verhältnis zu seinen wirksamen Bestandteilen ein sehr hohes Volumen auf und neigt zur Bildung von Koageln, was für die direkte klinische Applikation nachteilig ist. Daher wurden Methoden entwickelt, die eine Konzentrierung des Knochenmarks in geschlossenen Systemen mittels speziellen Zentrifugen ermöglichen, wobei eigens für die Spezies Pferd entwickelte Systeme existieren. Das damit gewonnene Bone Marrow Aspirate Concentrate (BMAC) nimmt eine Zwischenstellung zwischen den autologen Blut- und Progenitorzellprodukten ein und wird vor allem in Nordamerika ebenfalls in der regenerativen Pferdemedizin verwendet, sowie in ersten klinischen Studien in der Humanmedizin. Es enthält neben Knochenmarküberstand einen Großteil der im Knochenmark enthaltenen kernhaltigen Zellen (MNC und Granulozyten) sowie Thrombozyten. Somit ist der angenommene Wirkmechanismus ähnlich dem der autologen Blutprodukte, die sich allerdings gegenüber BMAC durch ihre deutlich weniger invasive Gewinnung auszeichnen. Außerdem wird auch den enthaltenen Progenitorzellen Wirkung zugeschrieben.

Da jedoch keine einheitliche Definition der in BMAC enthaltenen Zellkonzentrationen vorliegt, ist es schwierig zu beurteilen, ob potenziell wirksame Konzentrationen an Thrombozyten und Progenitorzellen überhaupt in diesen Produkten enthalten sind. Darüber hinaus finden sich kaum Studien zur Anwendung von BMAC in der Pferdeorthopädie. Eine kürzlich erschienene Veröffentlichung berichtete allerdings positive Ergebnisse nach der Anwendung von BMAC in Kombination mit Mikrofrakturierung zur Therapie von Knorpeldefekten im Pferdmodell. Somit ist BMAC möglicherweise ebenfalls ein vielversprechendes regenerativmedizinisches Therapeutikum für die Pferdepraxis. Weiterführende Studien sind jedoch nötig, um die Wirksamkeit zu bestätigen und die wirksamen Bestandteile des Produkts zu identifizieren.

Zellfreier Knochenmarküberstand, Bone Marrow Supernatant

Zellfreier Knochenmarküberstand wird häufig für die Re-Suspendierung angezüchteter Knochenmark-MSC benutzt, die in Form dieser Suspension angewendet werden. Studien zeigten, dass auch dieses Material günstigen Einfluss auf die Zellproliferation und Tenogenese haben könnte, so dass auch dieses Material ähnlich PRP eingesetzt werden kann.

Tissue Engineering

Tissue Engineering beschreibt die Disziplin der Herstellung von Ersatzgewebe, was in der Regel in Bioreaktorsystemen in vitro erfolgt. Durch die Kombination von Zellen und biologischen oder synthetischen Gerüstsubstanzen unter geeigneter mechanischer und biochemischer Stimulation werden Konstrukte hergestellt, die potenziell in vivo als Gewebeersatz implantiert werden können. Neben Progenitorzellen, die meist leichter zu gewinnen sind, aber noch in den benötigten Zelltyp differenziert werden müssen, kommen auch ausdifferenzierte Zellen zum Einsatz. Ziel ist es, durch die Transplantation von in vitro hergestellten Konstrukten auf die Transplantation allogener Gewebe und Organe sowie auf die Verwendung autologer Gewebe, die immer mit einer Schädigung der Entnahmestelle verbunden ist, verzichten zu können. Derzeit sind allerdings bei der Herstellung vieler Gewebetypen noch zahlreiche Herausforderungen zu überwinden, um die natürlichen Gewebeeigenschaften weitestgehend erreichen zu können, weswegen viele Ersatzgewebe noch nicht Einzug in die klinische Praxis halten konnten.

Für die Pferdeorthopädie interessant sind derzeit vor allem Knorpelkonstrukte, die aus autologen Chondrozyten oder MSC hergestellt werden. Ihre Anwendung wurde umfassend in Großtiermodellen untersucht und ist in der Humanmedizin bereits in klinischer Anwendung. Zwar werden auch beim Tissue Engineering von Knorpelkonstrukten noch nicht alle Eigenschaften von natürlichem Knorpel optimal reproduziert, zumindest ist ihre Entwicklung aber bereits weit genug fortgeschritten, um eine realistische Option für die Behandlung fokaler Knorpeldefekte darzustellen.

Literatur

Die Literatur zu diesem Artikel kann beim Autor erfragt werden.

Kontakt

Prof. Dr. Walter Brehm, Chirurgische Tierklinik, Universität Leipzig,
brehm@vetmed.uni-leipzig.de

Sind Stammzellen oder Zellen zur regenerativen Therapie Arzneimittel im Sinne des Arzneimittelrechtes?

Timo Faltus¹, Walter Brehm²

¹Juristische und Wirtschaftswissenschaftliche Fakultät, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

²Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

1

Zusammenfassung

Zellbasierte Tiertherapien erfahren in der Veterinärmedizin eine stetig steigende Nachfrage. Im Gegensatz zu zellbasierten Therapien im Humanbereich wurden zellbasierte Therapien im Veterinärbereich von der Rechtspraxis bislang wesentlich weniger beachtet. Aufgrund der weithin unbekanntenen Rechtslage werden im Veterinärbereich heute Produkte und Dienste angeboten, die nicht im Einklang mit dem Arzneimittelrecht und dem tierärztlichen Berufsrecht stehen.

Arzneimittelrechtliche Einordnung zellbasierter Tiertherapeutika

Zellbasierte Tiertherapeutika sind Arzneimittel im Sinne des Arzneimittelgesetzes (AMG). Die rechtliche Arzneimitteleigenschaft bestimmt sich im Veterinär- und Humanbereich nach § 2 AMG. Derartige Therapieprodukte sind nach § 2 Abs. 1 AMG Stoffe oder Zubereitungen aus Stoffen, die zur Anwendung im oder am tierlichen Körper bestimmt sind und als Mittel mit Eigenschaften zur Heilung oder Linderung oder zur Verhütung tierlicher Krankheiten oder krankhafter Beschwerden bestimmt sind. Bei zellbasierten Therapieprodukten im Veterinärbereich handelt es sich jedoch nicht um Gewebe oder Gewebezubereitungen im Sinne von § 4 Abs. 30 AMG, da die arzneimittelrechtlichen Gewebevorschriften nur die Gewinnung und Anwendung von Geweben und Gewebezubereitungen am Menschen erfassen.

Notwendigkeit der Herstellungserlaubnis

Die Entnahme der Zellen bei einem Tier sowie die darauf aufbauende Ver- und/oder Bearbeitung dieser Zellen zur Erzeugung eines zellbasierten Therapieproduktes für den Veterinärbereich stellen arzneimittelrechtlich die nach § 13 Abs. 1 AMG grundsätzlich genehmigungspflichtige Herstellung von Arzneimitteln dar. Dagegen sind die §§ 20b, c AMG für die Gewinnung und Verarbeitung von humanen Geweben im Veterinärbereich nicht anwendbar, da sich diese Vorschriften jeweils nur auf menschliche Zellen beziehen. Da die Gewinnung sowie die Ver- und/oder Bearbeitung tierlicher Zellen zu (Veterinär-)Arzneimitteln nach § 13 Abs. 1 AMG erfasst und erlaubnispflichtig ist, müssen diese Vorgänge in Übereinstimmung mit §§ 1, 3 AMWHV unter den Bedingungen der Guten Herstellungspraxis (GMP) durchgeführt werden.

Sowohl für die Zellgewinnung als auch für die Be- und/oder Verarbeitung existieren Ausnahmen von der Genehmigungspflicht. Demnach benötigt der Tierarzt keine behördliche Erlaubnis für die Zellgewinnung bzw. für die Be- und/oder Verarbeitung dieser Zellen und damit für die Herstellung eines zellbasierten Tierarzneimittels, wenn er gemäß § 13 Abs. 2c AMG die zuvor entnommenen Zellen im Rahmen des Betriebs seiner tierärztlichen Hausapotheke unter seiner unmittelbaren fachlichen Verantwortung zum Zwecke der von ihm durchgeführten Behandlung ver- und/oder verarbeitet. Hierbei kommt es nicht darauf an, ob die betreffenden Zellen autolog oder allogene verwendet werden sollen. Daraus folgt aber, dass der Tierarzt eine Genehmigung nach § 13 Abs. 1 AMG benötigt, wenn er die Zellen entnimmt, ver- und/oder bearbeitet und er die Zellen dann aus seinem tierärztlichen Delegationsbereich an eine andere Person abgibt.

Zulassungspflicht für zellbasierte Tierarzneimittel

Tierarzneimittel, ob zellbasiert oder klassisch, sind in Deutschland als Arzneimittel gemäß §§ 2 Abs. 1 AMG; 21 Abs. 1 AMG grundsätzlich zulassungspflichtig, dürfen also nicht ohne vorherige behördliche Genehmigung in den Verkehr gebracht und angewendet werden. Die Erteilung der Zulassung ist dabei unter anderem an die erfolgreiche Durchführung präklinischer und klinischer Studien geknüpft. Allerdings bestehen auch von der Zulassungspflicht Ausnahmen, sodass gegebenenfalls ein Tierarzneimittel ohne Zulassung in den Verkehr gebracht und angewendet werden darf.

Ausnahmen von der Zulassungspflicht bestehen unter anderem gemäß § 21 Abs. 2 Nr. 4 AMG für Arzneimittel, die für Einzeltiere oder Tiere eines bestimmten Bestandes in Apotheken oder in tierärztlichen Hausapotheken hergestellt werden. Allerdings darf diese Ausnahme in Übereinstimmung mit den Wertungen der Regelungen zum Therapienotstand (§ 56a Abs. 2 AMG, s. dazu unten) nur unter den in § 21 Abs. 2a AMG genannten Voraussetzungen genutzt werden. Deshalb dürfen Tierarzneimittel unter anderem nur dann genehmigungsfrei hergestellt und angewendet werden, wenn für die Behandlung ein zugelassenes Arzneimittel für die betreffende Tierart oder das betreffende Anwendungsgebiet nicht zur Verfügung steht und die notwendige arzneiliche Versorgung der Tiere sonst ernstlich gefährdet wäre. Diese therapeutische Bedeutung haben (stamm-)zellbasierte Arzneimittel im Veterinärbereich jedoch (bislang) nicht. Da gegenwärtig zum einen zugelassene klassische Arzneimittel existieren, die heute die notwendige arzneiliche Versorgung der Tiere grundsätzlich sicherstellen, und da selbst ohne zellbasierte Tierarzneimittel keine ernstliche Gefährdung der Patienten vorliegt, gilt daher, dass die genehmigungsfreie Herstellung und zulassungsfreie Anwendung bei Abgabe zellbasierter Arzneimittel an Dritte im Veterinärbereich zumindest gegenwärtig nicht rechtfertigbar ist.

Eine Ausnahme vom Zulassungserfordernis kann aber im Rahmen von zellbasierten Point-of-Care-Modellen (PoC) bestehen. Bei PoC-Modellen finden Zellentnahme, Zellbe-/verarbeitung und Behandlung grundsätzlich innerhalb eines (Tier-)Arztbesuchs statt, während alle diese Vorgänge vom behandelnden Tierarzt selbst durchgeführt werden. (1) Das Zulassungserfordernis nach § 21 Abs. 1 AMG bezieht sich jedoch nur auf Arzneimittel, die in im arzneimittelrechtlichen Sinne den Verkehr gebracht werden. Fehlt es am Inverkehrbringen, wie beispielsweise bei den PoC-Modellen, entfällt die Zulassungspflicht. Ein Inverkehrbringen liegt nämlich nicht vor, wenn der Tierarzt die benötigten Zellen autolog oder allogon selbst gewinnt und das betreffende Tierarzneimittel selbst herstellt und am Tier anwendet. Hier fehlt es für das Inverkehrbringen im Rechtssinne an der Einräumung von Verfügungsgewalt über das betreffende Arzneimittel an eine andere Person als den Tierarzt. (2-4) Diese Ausnahmeregelung macht aber auch deutlich, dass solche zellbasierten Tierarzneimittel, die nicht selbst vom Tierarzt hergestellt werden und die der Tierarzt damit von Dritten bezieht oder an sie abgibt, unabhängig ob der Bezug aus Deutschland erfolgt oder aus dem Ausland, grundsätzlich zulassungspflichtig sind.

Keine Verwendung zellbasierter Arzneimittel im Rahmen des Therapienotstandes bei Tieren, die nicht der Lebensmittelgewinnung dienen

Die Vorschriften über die Anwendung von Arzneimitteln im Rahmen des Therapienotstandes im Sinne von § 56a Abs. 2 AMG lassen keinen Raum für die Verwendung zellbasierter Arzneimittel im Veterinärbereich. Zwar kann der Tierarzt im Einzelfall Arzneimittel, die nicht für das betreffende Anwendungsgebiet und/oder nicht für die betreffende Tierart zugelassen sind, anwenden, abgeben oder verschreiben. Dies gilt aber nur dann, wenn die arzneiliche Versorgung des zu behandelnden Tieres ernstlich gefährdet wäre und durch die notstandsmäßige Anwendung des betreffenden Arzneimittels keine unmittelbare oder mittelbare Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tieren zu befürchten ist. Diese Ausnahmeregelungen finden in der tierärztlichen Praxis für zellbasierte

Tierarzneimittel jedoch keine Anwendung, da die gesetzlichen Voraussetzungen für die Ausnahme nicht erfüllt sind. Hierzu fehlt es in Anbetracht der heute zur Verfügung stehenden klassischen Arzneimittel schon an der ernstlichen Gefährdung der arzneilichen Versorgung des zu behandelnden Tieres.

Zelltherapeutika bei lebensmittelliefernden Tieren

Um die Qualität und Sicherheit der menschlichen Ernährung sicherzustellen, unterliegt die Anwendung von Arzneimitteln bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, strengeren Anforderungen als die Anwendung von Arzneimitteln bei Tieren, die nicht der Lebensmittelgewinnung dienen (vgl. § 56a Abs. 2 S. 2; § 58 AMG). Bei lebensmittelliefernden Tieren dürfen nur Arzneimittel angewendet werden, für die entweder eine positive Rückstandsbewertung vorgenommen wurde (vgl. §§ 56a Abs. 2 S. 2 AMG, sowie die unionsrechtliche Verordnung VO (EU) Nr. 37/2010) oder die als Out-of-Scope-Substanzen im Sinne der unionsrechtlichen VO (EG) Nr. 470/2009 von der Pflicht zur Rückstandsbewertung ausgenommen sind. Diese Regel muss auch für zellbasierte Tierarzneimittel gelten und zwar unabhängig davon, ob solche zellbasierten Tierarzneimittel im arzneimittelrechtlichen Sinne in den Verkehr gebracht werden oder ob es sich um individuell durch Tierärzte hergestellte Tierarzneimittel handelt, da anderenfalls mit zellbasierten Tierarzneimitteln die vorgenannten Sicherheitsgarantien unterlaufen werden könnten. Da derartige Rückstandsbewertungen für zellbasierte Tierarzneimittel jedenfalls bislang nicht vorliegen, und zellbasierte Tierarzneimittel auch nicht als Out-of-Scope gelistet sind, scheidet die Verwendung zellbasierter Tierarzneimittel bei lebensmittelliefernden Tieren gegenwärtig grundsätzlich aus. Eine Ausnahme besteht mittlerweile für die therapeutische Verwendung von Stammzellen, unabhängig davon, ob sie autolog oder allogene verwendet werden sollen, da Stammzellen in die Liste der Out-of-Scope-Substanzen aufgenommen worden sind. Die Out-of-Scope-Regelung darf jedoch nicht damit verwechselt werden, dass unter Umständen eine arzneimittelrechtliche Zulassung für das betreffende Stammzellentherapeutikum notwendig ist, sie entbindet nur von der Rückstandsbewertung.

Kein Import zellbasierter Tierarzneimittel aus dem Ausland

Gegenwärtig ist bei zellbasierten Tierarzneimitteln zu beobachten, dass Tierärzte in Deutschland zunehmend solche Therapieprodukte aus dem Ausland beziehen möchten, um diese in Deutschland anzuwenden. Dieses Vorgehen ist jedoch nicht mit den Vorschriften des Arzneimittelgesetzes vereinbar und ist daher mit Strafbarkeitsrisiken für die betreffenden Tierärzte verbunden. Gemäß § 73 Abs. 1 AMG dürfen in Deutschland zulassungspflichtige Fertigarzneimittel, zu denen die zellbasierten Tierarzneimittel im Falle der nicht bloß individuell durch den Tierarzt hergestellten (PoC-)Arzneimittel zählen, aus dem EU- oder EWR-Ausland nach Deutschland nur verbracht werden, wenn diese Arzneimittel auch in Deutschland zugelassen sind. Bislang sind aber keine zellbasierten Tierarzneimittel in Deutschland zugelassen, sodass eine rechtmäßige Verbringung nicht möglich ist. Darüber hinaus ist die Einfuhr von in Deutschland nicht zugelassenen zellbasierten Fertigarzneimitteln für Tiere nach Deutschland aus Nicht-EU/EWR-Staaten rechtlich nicht zulässig. Zuwiderhandlungen gegen die hier aufgezeigten arzneimittelrechtlichen Vorgaben können strafrechtliche und berufsrechtliche Konsequenzen haben. Dadurch wiederum kann die Zuverlässigkeit des Tierarztes und damit wiederum seine Approbation in Frage gestellt sein.

Literatur

1. Faltus T, Schulz R. Die arzneimittelrechtliche Handhabung zellbasierter Therapien in Point-of-Care-Behandlungsmodellen. PharmR 2015; 37(5) 228-39.
2. BVerwGE 94, 341.
3. OVG NRW, PharmR 1997; 19(5) 239-40.
4. Kügel JW, Krüger C: § 4. In: Kügel JW, Müller RG, Hofmann HP, Herausgeber. Arzneimittelgesetz – Kommentar. 1. Aufl. München: Verlag C. H. Beck; 2012, S. 136, Rdnr. 124. Die Nachweise (2-4) beziehen sich jeweils auf Humanarzneimittel. Für Tierarzneimittel kann jedoch rechtlich nichts anders gelten, da die Begriffe Abgabe/Inverkehrbringen im Arzneimittelgesetz für Tier- und Humanarzneimittel gleich behandelt werden.

Kontakt

Dipl.-Jur., Dipl.-Biol. Timo Faltus, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Juristische und Wirtschaftswissenschaftliche Fakultät, Halle an der Saale
timo.faltus@jura.uni-halle.de

Die klinische Diagnostik bei Erkrankung des M. interosseus medius

Uta Delling

Chirurgische Tierklinik, Leipzig

Erkrankungsformen des Fesselträgers (FTR)

Der M. interosseus medius (Synonym: Fesselträger) ist Teil des FTR-Apparates. Erkrankungen des FTR kann man in Probleme des Ursprungbereichs (FTRU), des FTR-Körpers und den beiden FTR-Schenkeln (FTRS) einteilen; es können auch mehrere Bereiche involviert sein. Die Erkrankung an Vorder- und Hintergliedmaßen werden z.T. prognostisch unterschiedlich bewertet.

Die Entzündungszeichen am FTR sind mitunter minimal und sowohl klinisch als auch mit Hilfe der Bildgebung kaum erkennbar. Sie können aber auch sehr deutlich ausgeprägt sein, d.h. mit einer offensichtlichen Schwellung, fühlbarer Wärme und Druckdolenz assoziiert sein. Erkrankungen des FTR können mit röntgenologisch sichtbaren Veränderungen des Knochens im Ursprungsbereich (Röhrbein) und an den Gleichbeinen einhergehen. Jedoch ist eine Avulsionsfraktur am palmaren proximalen Röhrbein (beim Rennpferd) von der FTRU-Erkrankung zu unterscheiden.

Erkrankungen der distalen Gleichbeinbänder, d.h. der funktionellen Verlängerung des FTR in der Fesselbeuge, werden hier nicht besprochen. Auch alle traumatischen Rupturen des FTR-Apparates einschließlich Gleichbeinfrakturen, die sich Pferde meist im hohen Renntempo zuziehen, sind nicht Teil des Vortrages. FTR-Schäden können auch im Zusammenhang mit Griffelbeinfrakturen bedeutsam sein. Bei einem externen Trauma (Trittverletzung) kann der FTR direkt oder im Zuge der Frakturheilung des Griffelbeins durch den Kallus beeinträchtigt werden. Speziell beim Rennpferd kann eine Fraktur des distalen Drittels der Griffelbeine ein Zeichen für eine chronische FTR(S)-Erkrankung sein (Übermüdungsfraktur der Griffelbeine).

Überbeine (Exostosen) zwischen dem Griffelbein und dem Röhrbein können sich selten auch nach axial ausdehnen. Sie sind dort schwer nachweisbar, können hier aber auf den FTR drücken oder mit diesem verwachsen sein und damit auch ursächlich für eine Lahmheit sein (Engl. blind splints). Bei einigen Rassen, v.a. beim Peruanischen Paso Fino und Andalusier, gibt es eine degenerative Erkrankung des FTR (v.a. FTRS), welche im Gegensatz zur traumatisch erworbenen Form trotz Boxenruhe immer progredient und damit prognostisch infaust einzuschätzen ist. Eine erbliche Prädisposition wird angenommen. Es gibt jedoch Überlegungen, dass auch bei allen anderen Pferderassen eine degenerative Komponente bei FTR-Erkrankungen eine Rolle spielen kann (1).

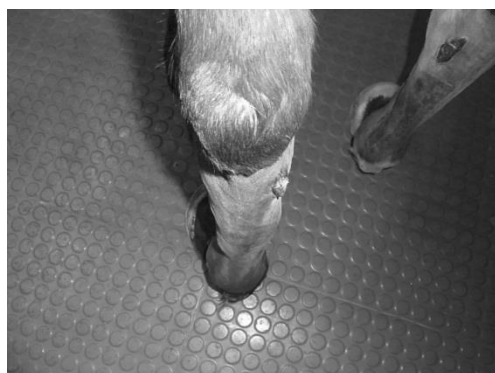


Abb. 1: Dorsalansicht der linken Hintergliedmaße eines Pferdes mit bilateraler, chronischer Erkrankung des Fesselträgerursprungs; beachte die starke Schwellung v.a. distal der Kastanie (medial)

Vorbericht bei Erkrankungen des FTR

FTR-Erkrankungen werden v.a. bei Pferden im aktiven Sport, wie Dressur, Springen und Rennsport, häufig beobachtet. Aber auch bei Pferden, die nicht wettkampfmäßig trainiert werden, kommen diese Erkrankungen vor. Sowohl ein akut aufgetretenes Lahmheitsgeschehen als auch ein schleichend protrazierter Verlauf sind möglich.

Untersuchung in Ruhe: Adspektion und Palpation

Erkrankungen des FTRU können ein- oder beidseitig sein. Selbst bei akuter Erkrankung kann die Schwellung im proximalen Drittel des Röhrbeins nicht offensichtlich sein. Wärme und Schmerz sind bei der Palpation mitunter fühlbar, können jedoch selbst bei akuter Erkrankung fehlen. An den Hintergliedmaßen kann es jedoch zu ausgeprägter Schwellung bei FTRU-Erkrankungen kommen (Abb. 1). Pferde mit einem offenen Sprunggelenkwinkel erscheinen prädisponiert. Mitunter fällt zusätzlich eine Durchtrittigkeit auf, d.h. das Fesselgelenk ist stärker gewinkelt, das Fesselbein nähert sich der Horizontalen (Abb. 2). Oft ist dies mit flachen Trachten, einer langen Zehe und einer ungleichmäßigen Hufform verbunden.

Erkrankungen am FTR-Körper stehen (fast) immer mit Problemen des Ursprungs oder der Schenkel in Verbindung. Eine isolierte Erkrankung des FTR-Körpers wird jedoch beim Rennpferd beschrieben. Zu beachten ist, dass an der angehobenen Gliedmaße der beidseitige digitale Druck auf den FTR-Körper immer eine Reaktion beim Pferd hervorruft.

Die FTRS können uni- und biaxial sowie ein- und beidseitig betroffen sein. Die Umfangsvermehrung der FTRS-Region kann adspektorisch offensichtlich aber auch nur marginal erkennbar sein. Eine gleichzeitig aufgetretene starke Füllung des Fesselgelenks kann beobachtet werden. An den Hintergliedmaßen wird zusätzlich die schon beim FTRU beschriebene Gliedmaßenstellung (offener Sprunggelenkwinkel, Durchtrittigkeit usw.) beobachtet.



Abb. 2: Seitliche Ansicht der Hintergliedmaße eines Pferdes mit bilateraler Erkrankung des Fesselträgerursprungs; beachte den offenen Sprunggelenkwinkel und die starke Durchtrittigkeit im Fesselgelenk v.a. hinten links

Untersuchung in der Bewegung

Im Schritt ist oft keine Lahmheit sichtbar. Jedoch wird eine im Stand vorhandene Durchtrittigkeit bei Lastaufnahme in der Bewegung noch verstärkt. Bei starker Erkrankung kann sich der Fesselkopf soweit herabsenken, dass das Fesselbein unter eine Horizontallinie sinkt.

Im Trab auf hartem Boden kann der Grad der Lahmheit nur angedeutet (1/5) oder bis mittelgradig stark (2 bis 3/5) ausgeprägt sein. Beidseitige Lahmheit ist mitunter schwerer erkennbar. An den Hintergliedmaßen sind FTRU-Erkrankungen auch im chronischen Zustand bei einigen Pferden mit deutlicher Lahmheit verbunden. Die Lahmheit ist auf weichem, tiefem Boden oft stärker ausgeprägt als auf hartem Untergrund.

Die Zehenbeugeprobe führt interessanterweise oft zu einer Verstärkung der Lahmheit. An der Longe ist es (fast) pathognomonisch für FTRU-Schäden v.a. der Vordergliedmaßen, dass sich die Lahmheit verstärkt wenn die erkrankte Gliedmaße außen liegt.

Leitungsanästhesien können hilfreich sein den FTR-Schaden zu diagnostizieren, jedoch ist die Interpretation manchmal nicht einfach und Aussagekraft nicht immer sicher.

Durch die Tiefe-4-Punkt-Anästhesie können, in Abhängigkeit der Injektionsstelle für den N.

palmaris/plantaris, die FTRS vollständig anästhesiert werden. Die Anästhesie kann jedoch, trotz eines nachweislichen Problems im FTRS, auch negativ ausfallen. Paradoxe Weise kann die Tiefe-4-Punkt-Anästhesie jedoch bei Patienten mit FTRU-Problemen teilweise positiv ausfallen. Für dieses Phänomen gibt es keine plausible Erklärung; es wurde eine Fortleitung des Anästhetikums durch Lymphe nach proximal diskutiert, konnte aber nicht sicher bewiesen werden (2). Von manchen Autoren wird auch eine paradoxe Verstärkung einer FTRU-Lahmheit nach mittlerer Palmar-/Plantarnerven-anästhesie (MPA) auf Höhe der Gleichbeinbasis berichtet (3).

Durch die Hohe-4-Punkt-Anästhesie (speziell der Nn. metacarpeus/metatarsus palmaris/plantaris) kann man, je nach Injektionsstelle, den FTRU anästhesieren. Die meisten Kliniker setzen daher diese Anästhesie bewusst distal dieses Ursprungsbereiches.

Der Bereich des FTRU kann auch bewusst direkt infiltriert werden. Dabei werden jedoch die Nn. metacarpeus/metatarsus palmaris/plantaris mit anästhesiert und eine positive Anästhesie ist daher nicht zwingend beweisend für ein Problem im FTRU.

An den Vordergliedmaßen führt die Anästhesie des N. palmaris lateralis auf Höhe des Os carpi accessorium, dessen R. profundus den N. metacarpeus palmaris med./lat. bildet, ebenfalls zur Desensibilisierung des FTRU. Der äquivalente Nerv an der Hintergliedmaße ist der R. profundus des N. plantaris lateralis, welcher auf Höhe des lateralen Griffelbeinköpfchens desensibilisiert wird.

Somit kann man bei negativer Tiefer-4-Punkt-Anästhesie und positiver N. palmaris lateralis (Vordergliedmaßen) bzw. R. profundus des N. plantaris lateralis (Hintergliedmaßen) -Anästhesie (fast sicher) auf ein FTR-Problem schließen.

Weiterhin ist zu beachten, dass es bei Applikation von Lokalanästhetikum in das Interkarpalgelenk, und damit auch in das verbundene Karpometakarpalgelenk, zuverlässig zur Desensibilisierung des benachbarten FTRU kommt. Dies ist auch in umgekehrter Richtung möglich, d.h. Lokalanästhetikum im FTRU-Bereich kann zur Desensibilisierung der Gelenkstrukturen führen. Eine positive Anästhesie muss dementsprechend differenziert interpretiert werden (4). Dies trifft äquivalent für die Hintergliedmaßen auf das Tarsometatarsalgelenk zu (5).

Weiterführende Untersuchung

Ultraschall- und Röntgenuntersuchung sind notwendige Ergänzungen, um die klinische Diagnose zu sichern und das Ausmaß der Erkrankung einzuschätzen. Szintigraphische Untersuchungen sind hilfreich, wenn die Ursache der Lahmheit nicht ausreichend eingegrenzt werden konnte.

Literatur

1. Dyson, S. Is degenerative change within hindlimb suspensory ligaments a prelude to all types of injury? *EVE*. 2010;22:271-274.
2. Nagy A, Bodo G, Dyson SJ, Compostella F, Barr ARS. Distribution of radiodense contrast medium after perineural injection of the palmar and palmar metacarpal nerves (low 4-point nerve block): an in vivo and ex vivo study in horses. *EVJ*. 2010;42:512-518.
3. Dyson SJ, Genovese RL. The suspensory apparatus. In: Ross MW, Dyson SJ. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2. Aufl. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011. S. 738-760.
4. Ford T, Ross M, Orsini P. A comparison of methods for proximal palmar metacarpal analgesia in horses. *Vet Surg*. 1989;18:146-150.
5. Dyson S, Romero JM. An investigation of injection techniques for local analgesia of the equine distal tarsus and proximal metatarsus. *EVJ*. 1993;25:30-35.

Kontakt

Dr. Uta Delling, Chirurgische Tierklinik, Leipzig
delling@vetmed.uni-leipzig.de

Anatomie, Histologie und Ultrastruktur des M. interosseus medius

Christoph K.W. Mülling

Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Leipzig

Einleitung

In der Phylogenese entwickelte sich das Pferd im Verlauf von mehr als 50 Millionen Jahren vom Sohlengänger (Plantigradie) zum Zehenspitzen­gänger (Unguligradie). Die damit verbundene Verlängerung und Aufrichtung der distalen Gliedmaße wurde durch die Entwicklung eines Fesseltrageapparates und die Aufhängung der Zehenspitze in der Hufkapsel (Hufbeinträger) möglich. Der Musculus interosseus medius (tertius) spielt eine zentrale biomechanische Rolle bei der Streckung und für die Funktion der distalen Gliedmaße. Er wurde zu einem überwiegend sehnigen Muskel und ist die biomechanisch zentrale Struktur des Fesseltrageapparates an der distalen Gliedmaße des Pferdes. Über die Gewebzusammensetzung des M. interosseus liegen widersprüchliche Angaben vor. Neuere Arbeiten belegen jedoch ganz klar einen Anteil quergestreifter Skelettmuskultur, der je nach Abschnitt des M. interosseus zwischen 2 und 15%, mitunter sogar bei bis zu 40 % liegt (1, 2, 3, 4). Kenntnisse über Lokalisation und den Anteil der Muskulatur sind von großer Bedeutung für die Diagnostik. Muskulöse Bereiche sind im MRT signalstärker, im CT weniger röntgendicht und im sonografischen Bild hypoechogen (6).

Der Einsatz des Pferdes im Leistungssport aber auch im Breitensport führt zu vielfältigen Erkrankungen und Verletzungen des M. interosseus. Erkrankungen treten signifikant gehäuft im Ursprungsbereich auf und werden oftmals durch Überbelastungen ausgelöst. Sie treten häufiger an der Hintergliedmaße auf und haben dort auch eine schlechtere Prognose als an der Vordergliedmaße (5, 6). Detaillierte anatomische und feinstrukturelle Kenntnisse über die Ursprungsbereich des M. interosseus sind für Diagnostik und Therapie von Erkrankungen dieser Region unbedingt erforderlich.



Abbildung 1: M. interosseus medius an der distalen Vordergliedmaße in verschiedenen Ansichten dargestellt im 3-D Modell des EFFIGIOS Hoof Explorer (www.hoofexplorer.com).

Topografie des M. interosseus medius (Abb. 1. u. 2)

Der M. interosseus medius (tertius) entspringt proximal am Metacarpus/Metatarsus. Er liegt zwischen der tiefen Beugesehne und der palmaren/plantaren Fläche des Röhrebeins. Dort verläuft er als solides Band zwischen dem lateralen und medialen Griffelbein bis zum distalen Drittel des Röhrebeins. Hier teilt er sich in zwei Schenkel auf, die jeweils am lateralen resp. medialen Sesambein ansetzen. Vom Sesambein zieht jeweils einen schräg dorsal verlaufenden Unterstützungsast zur Strecksehne. An den axialen Seite der Griffelbeinköpfe entspringt je ein rudimentärer M. interosseus lateralis und medialis als dünne Bandstruktur, die am Griffelbein entlang bis als bis zum distalen Griffelbeinknöpfchen zieht. Die Endsehne überquert jeweils das Griffelbeinköpfchen und strahlt in die Faszie resp. in das Fesselringband ein (1, 2, 7).

Gliederung und histologische Feinstruktur des M. interosseus (Abb. 2)

Der M. interosseus besteht aus einem Muskelkopf mit Ursprungssehnen, einem Muskelhilus, in den Gefäße und Nerven eintreten, einem Muskelbauch und einem Muskelende mit 4 Endsehnen. Letzteres sind die paarige Ansatzsehne an den Gleichbeinen (Fesselträgersehnen) und die beiden Unterstützungssehnen (-äste) zur Strecksehne (1, 2, 7).

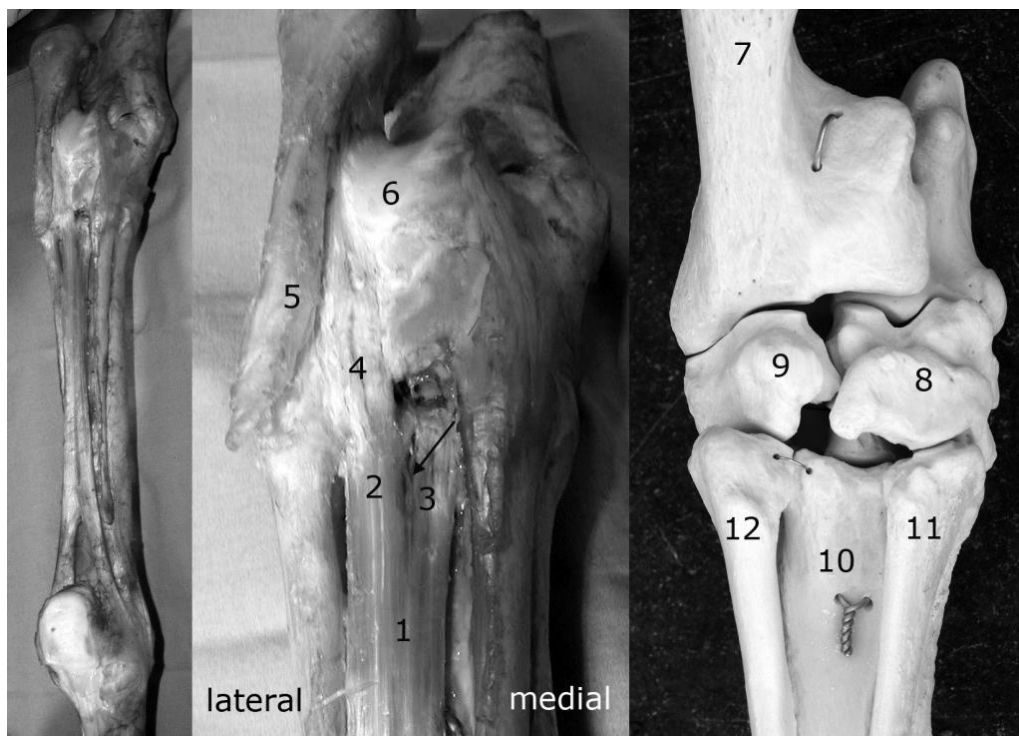


Abbildung 2: M. interosseus medius an der distalen Hintergliedmaße. Links: Übersicht vom Ursprung bis zum Ansatz. Mitte: Ursprünge des M. interosseus. Rechts: Tarsalregion von plantar. 1. M. interosseus (Muskelbauch); 2. Laterale Ursprungssehne; 3. Mediale Ursprungssehne; 4. Proximale laterale lange Ursprungssehne; Pfeil: Muskelhilus; 5. Lig. plantare longum; 6. Gleitfläche auf dem Sustentaculum tali; 7. Calcaneus; 8. Os tarsale I+II; 9. Os tarsale IV; 10. Röhrebein - MT 3; 11. Mediales Griffelbein – MT 2; 12. Laterales Griffelbein – MT4.

Der Kopf des M. interosseus entspringt mit je einer kurzen lateralen und medialen Sehne proximopalmar-/plantar aus dem Röhrein. Hier ist er rein sehnig. An der Hintergliedmaße existiert eine zusätzliche proximale lange Ursprungssehne, die in der älteren Literatur nicht beschrieben ist (1, 2, 3). Diese überlagert und verdeckt die lateral kurze Ursprungssehne am Röhrein. Sie ist 7- 8 cm lang, 8-9 mm breit und 4-5 mm dick. Sie entspringt am Calcaneus und am Lig. plantare longum und zieht axial über das Os tarsale quartum. Sie fusioniert dann am proximalen Rand des Röhreins mit der kurzen lateralen Sehne, die dadurch deutlich verstärkt wird (Abb. 2) (1, 2). Die lange Ursprungssehne bildet im Bereich des 4. Tarsalknochens ein faserknorpeliges Gleitlager aus.

Der Hilus des M. interosseus liegt ca. 1cm distal des Muskelursprungs am Röhrein zwischen der Fusion der lateralen und medialen Ursprungssehne. Hier treten Blutgefäße und ein Ast des N. medianus und des N. ulnaris an der Vordergliedmaße resp. des N. tibialis an der Hintergliedmaße in den Muskel ein. Im Hilusgebiet finden sich eingelagerte Muskelgewebsareale, die im Querschnitt die Form einer abnehmenden (lateral) und zunehmenden (medial) Mondsichel haben. Der Muskelbauch ist durchgehend paarig angelegt. Hier sind die Muskelgewebsanteile in Zick-Zack-Form eingelagert. Proximal im Übergang vom Hilus in den Bauch sind die Muskelfasern am deutlichsten ausgeprägt, der Anteil an Muskulatur ist am größten. Histologisch handelt es sich um quergestreifte Skelettmuskulatur. Dieses ist in lockeres Bindegewebe eingebettet, das Leitungsstrukturen enthält. Die Anzahl der Gefäße und Nerven nimmt von proximal in der Hilusregion nach distal zu den Endschenkeln fortlaufend ab.

Die Muskelenden gehen distal aus dem Muskelbauch hervor. Direkt distal der Aufteilung sind zentral noch Reste von Muskelgewebe vorhanden. Die mittleren und distalen Abschnitte der Fesselträgerschenkel bestehen dann nur aus Sehnengewebe.

Der stark sehnig durchsetzte Musculus interosseus medius des Pferdes ist ein zweiköpfiger Muskel. Das ist eindeutig an den im MRT Bild signalintensiveren paarigen Einschlüssen von quergestreifter Skelettmuskulatur zu erkennen. Es liegt keine vollständige Metaplasie des quergestreiften Muskelgewebes in Bindegewebe vor. Der M. interosseus sollte korrekterweise nicht als reines Band bezeichnet werden. Das abschnittsweise Auftreten von Muskelgewebe in typischer Lokalisation, Konfiguration und Menge muss bei der bildgebenden Diagnostik berücksichtigt werden um Fehlinterpretationen und Fehldiagnosen zu vermeiden.

Literatur

1. Kaminski M. Histologische Untersuchung der Normalstruktur der Beugesehnen und des Fesselträgers beim Pferd. Zürich: Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich; 2006.
2. Schulze T. Magnetresonanztomographische, computertomographische und histologische Untersuchungen zum M. interosseus medius der Beckengliedmaße des Pferdes [Dissertation]. Berlin: Frei Universität Berlin; 2007.
3. Schulze T, Budras K-D. Zur klinisch-funktionellen Anatomie des M. interosseus medius der Hintergliedmaße im Hinblick auf die Insertionsdesmopathie des Pferdes – Kernspin-, computertomographische- und morphologische Untersuchungen. Pferdeheilkunde 2008;24(3):343-350.
4. Weingart I. Untersuchungen zur Innervation und Vaskularisation des M. interosseus medius beim Pferd. Zürich: Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich; 2006.
5. Dyson S, Arthur RM, Palmer SE, Richardson D. Suspensory ligament desmitis. Vet. Clin. North. Am. Equine Pract. 1995;11:177-215.
6. Rikenhuizen AB, Gietemann IV, van den Reijdt TCM. Desmitis des Fesselträgers und Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- und Hintergliedmaße des Pferdes – eine retrospektive Studie über die Erfolge unterschiedlicher Behandlungen in der Praxis. Pferdeheilkunde 2007;23:357-365.
7. Mülling Ch, Pfarrer Ch, Reese S, Kölle S, Budras K-D. Atlas der Anatomie des Pferdes. 7. Auflage. Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover, 2014.
8. Homepage des Hoof Explorer der Firma Effigos: www.hoofexplorer.com

Kontakt

Prof. Dr. Christoph K. W. Mülling, Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Leipzig
c.muelling@vetmed.uni-leipzig.de.

Röntgendiagnostik bei Erkrankung des M. interosseus medius

Kerstin Gerlach, Dagmar Berner

Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Leipzig

Einleitung

Die Röntgenuntersuchung stellt das Mittel der ersten Wahl zur Diagnostik dar. Damit können in chronischen Fällen bei Erkrankungen im Bereich des Ursprungs des Fesselträgers erste Aussagen getroffen werden. Aus diesem Grund sollen Technik und Befunde erläutert werden.

Prinzipien und Befundung

Die dorsopalmar bzw. –plantare Richtung (0°) ist die wichtigste Aufnahme. Zusätzlich kann eine seitliche 90° -Aufnahme angefertigt werden, bei der allerdings die Griffelbeine nicht den entscheidenden Anteil der Röhre überdecken dürfen.

Befundet werden im proximalen Teil der Röhre:

- Sklerosierung
- Homogenität
- Aufhellungslinien

Auf den seitlichen Aufnahmen kann der endostale Kortex bewertet werden:

- ansteigende Dichte
- Zubildungen auch nach palmar/plantar als Enthesiophyten beschrieben (3, 7)

Dyson (2007) empfiehlt ein Minimum von 4 Ebenen für diesen Bereich. Besonders an den Hintergliedmaßen werden die Schrägaufnahmen empfohlen, um Ansatzveränderungen der langen Ursprungssehne am Kalkaneus zu bewerten. Allerdings weisen viele Pferde keine Röntgenveränderungen auf (3, 4).

Ursache der Sklerose sind Enthesiophyten oder endostale Knochenzubildungen. Im Röntgenbild erscheint dies als lokaler Bereich erhöhter Dichte des Knochens oder auch als inhomogenes Muster.

Die chronische Desmitis des Fesselträgerursprungs tritt etwas häufiger hinten als vorn auf (6). Am Hinterbein ist der laterale Anteil häufiger verändert, wohingegen vorn der mediale Teil öfter betroffen ist (1).

Auf Röntgenbildern weisen vertikale oder schräge Aufhellungslinien mit Sklerose auf Ermüdungsfrakturen hin. In diesen Fällen kann sich der Sklerosebereich weiter nach distal ausbreiten (1). Ein schweres Trauma kann zu einer Avulsionsfraktur führen.

Das Anfertigen von Röntgenaufnahmen der kontralateralen Seite wird zum Vergleich empfohlen (1). Allerdings sind ähnliche röntgenologische Veränderungen am kontralateralen Bein auch bei lahmfreien Pferden beschrieben (2, 7), welche die Bewertung erschweren.

Trotzdem besteht zwischen Röntgenveränderungen und Ursprungsdesmopathie der Hintergliedmaße ein signifikanter Zusammenhang. Von 61 geröntgten Pferden konnten bei 3 Knochenfragmente und bei 21 Pferden Zubildungen nachgewiesen werden (6).

Die Sensitivität wird bei der radiologischen Diagnostik als gering angegeben (62 %), die Spezifität deutlich höher (95 %) (5). In eigenen Untersuchungen wurde zusätzlich der Einfluss der Erfahrung des Auswerters festgestellt. Bei Vordergliedmaßen mit und ohne Erkrankungen sind bessere Vorhersagewerte durch Auswertung erfahrener Untersucher zu erreichen (Mageed, unveröffentlicht).



Abb. 1: 0°-Röntgenaufnahme einer Hintergliedmaße eines 16-jährigen Quarter-Horse Wallachs. Chronische Erkrankung im Bereich des Fesselträgerursprungs: Es besteht unregelmäßige Sklerosierung proximal am Metatarsus.

Zusammenfassung

Die Diagnose bei Erkrankungen des Fesselträgerursprungs sollte und kann nicht allein mit Röntgendiagnostik gestellt werden. Trotzdem bleibt die Röntgenuntersuchung das erste diagnostische Verfahren, auch um andere Veränderungen in diesem Bereich auszuschließen.

Es sind mindestens 2 Ebenen nötig, die zielgerichtet nach speziellen diffizilen Veränderungen durchsucht werden sollten.

Trotzdem können mittels Röntgendiagnostik nur bis zu ca. 60 % der Erkrankungen diagnostiziert werden. Der Anteil der richtig als gesund erkannten Gliedmaßen liegt deutlich höher.

Literatur

1. Butler JA, Colles CM, Dyson SJ, Kold SE, Poulos PW. The metacarpal and metatarsal regions. In: Butler JA, Colles CM, Dyson SJ, Kold SE, Poulos PW, Herausgeber. *Clinical Radiology of the Horse*. 3. Aufl. Chichester: Wiley-Blackwell; 2008. S. 189-232.
2. Dyson S. Proximal suspensory desmitis in the hindlimb: 42 cases. *British Veterinary Journal*. 1994;150(3):279–291.
3. Dyson S. Diagnosis and Management of Common Suspensory Lesions in the Forelimbs and Hindlimbs of Sport Horses. *Clinical Techniques in Equine Pract*. 2007;6(3):179–188.
4. Dyson S. Hindlimb lameness associated with proximal suspensory desmopathy and injury of the accessory ligament of the suspensory ligament in five horses. *Equine Vet Educ*. 2014;26(10):538–542.
5. Orsini JA, Norman T, Ross MW, Boston RC. Sensitivity and Specificity of Nuclear Scintigraphy for the Diagnosis of Equine Suspensory Ligament Injuries. *Intern J Appl Res Vet Med*. 2006;4(1):8–14.
6. Rijkenhuizen AB, Gietemann IV, van den Rejd TCM. Desmitis des Fesselträgers und Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- und Hintergliedmaße des Pferdes- eine retrospektive Studie über die Erfolge unterschiedlicher Behandlungen in der Praxis. *Pferdeheilkunde*. 2007;23(4):357–365.
7. Stickle R, Tetens J, Stick J, Rosenstein D. Radiographic diagnosis proximal suspensory desmitis. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 1996;37(2):105–107.

Kontakt

PD Dr. Kerstin Gerlach, Chirurgische Tierklinik , Leipzig
gerlach@vetmed.uni-leipzig.de

Szintigraphie in der Diagnostik der Erkrankungen des M. interosseus medius

Mahmoud Mageed¹, Kerstin Gerlach²

¹Tierklinik Lüsche GmbH, Bakum; ² Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Leipzig

Einleitung

Aufgrund der geringeren Zellularität des M. interosseus medius und der starken Spannungskräfte, die an dessen Ursprung wirken, steht der Knochen im Bereich des Ursprungs unter starker Beanspruchung (1). Basierend auf dem Wolffschen Gesetz modifiziert sich der Knochen, um sich dem Stress der starken Belastung anzupassen. Diesem Anpassungsprozess liegen sowohl anabole als auch katabole Stoffwechselprozesse zugrunde (2). Durch die 4 Zonen im Insertionsbereich kommt es nach Durchtritt einer Mineralisierungsgrenze (Tidemark) durch die 3. Zone in die 4. Zone, dem Knochengewebe. Dort ist sie infolge der gesteigerten Knochenstoffwechselprozesse und der enchondralen Ossifikation akut szintigraphisch darstellbar (3).

Mittels Szintigraphie können somit Informationen über den aktuellen Stand der Knochenumbauprozesse gewonnen werden. Für die Diagnostik von Fesselträgerursprungserkrankungen ist sie daher eine nützliche diagnostische Methode.

Physiologische radiopharmazeutische Anreicherungsmuster

Folgende Standardmuster der radiopharmazeutischen Aufnahme am proximalen Fesselträger werden beschrieben(4):

An den **Vordergliedmaßen** kann auf den lateralen Bildern eine geringgradige fokale Anreicherung des Radiopharmakons zentral im Bereich des Metakarpus beobachtet werden. Auf den von dorsal angefertigten Aufnahmen ist diese Anreicherung medial des Zentrums der Metakarpalregion. Diese Muster der radiopharmazeutischen Aufnahme könnten eine Kombination von Umbauvorgängen des Knochens sein, die durch Kompressionskräfte stimuliert wurden, und solchen, die durch Dehnungskräfte an den Ansatzpunkten verschiedener Bänder (dorsale schiefe Bänder, M. extensor carpi radialis dorsal und der Fesselträgerursprung palmar) entstanden sind. Die Kompressionskräfte, die im dorsalen Kortex des dritten Metakarpalknochens (MCIII) wirken, sind größer als die im palmaren Kortex. Dies ist möglicherweise eine Erklärung für den relativ größeren radiopharmazeutischen Uptake (RU) im Bereich der dorsozentralen Region des proximalen MCIII.

Das seitliche Bild der **Hintergliedmaßen** weist einen geringgradigen RU im zentralen bis plantaren Bereich der proximalen Metatarsalregion auf. Auf der dorsalen Aufnahme zeigt sich der RU im lateralen Bereich dieser Region. Dieses Muster reflektiert wahrscheinlich die Belastung durch Kompressions- und Dehnungskräfte, die hier wirken. Das plantare Band setzt am vierten tarsalen und am vierten metatarsalen Band an, während der Fesselträger proximoplantar des dritten Metatarsalknochens entspringt. Dadurch wirken Dehnungskräfte auf jeden Übergang von Knochen zu Sehne. Es ist möglich, dass diese Dehnungskräfte stärker sind als die am Ansatz des dorsalen tarsalen Bandes, der Musculi fibularis tertius und des M. tibialis cranialis. Diese Variationen zwischen der proximalen metakarpalen bzw. metatarsalen Region können durch unterschiedliche Einwirkung der biomechanischen Kräfte verursacht worden sein.

Pathologische radiopharmazeutische Anreicherungsmuster

Es sind viele Verletzungen im Bereich des Fesselträgerursprungs bekannt. Die bekanntesten sind die Desmitis des proximalen Fesselträgers und stress-induzierte Knochenverletzungen am proximalen palmaren bzw. plantaren Bereich des Metakarpus bzw. Metatarsus, wie beispielsweise Avulsions- oder Stressfrakturen (5, 6).

Das Muster des RU bei einer Desmitis des proximalen M. interosseus medius auf einer lateralen Aufnahme zeigt einen mittelgradigen fokalen RU proximopalmar am MCIII, während in einer dorsalen Aufnahme die RU zentral oder medial zu sehen ist. Aus lateralen Aufnahmen des Hinterbeines war diese fokale mittel- bis hochgradige RU im Bereich des proximoplantaren MTIII zu sehen (7). Der Ursprung des Fesselträgers ist anfälliger für Verletzungen als sein Mittelstück und seine Äste (1). Die Unversehrtheit des Knochenansatzes am M. interosseus medius wird durch die dort wirkenden Kräfte beeinträchtigt, beispielsweise bei Dorsoflexion des Fesselgelenkes und Beugung des Karpus. Eine Faustregel besagt, dass der RU bei einer stress-induzierten Knochenverletzung deutlich intensiver ist als bei einer proximalen Desmitis des Fesselträgers. So zeigt sich beispielsweise eine palmare kortikale Stressfraktur linear, eine weitere Ausbreitung nach proximodistal ist möglich. Eine Avulsionsfraktur hingegen wird durch eine fokale hochgradige ovale oder dreieckige Anreicherung des Radiopharmakons im Bereich des Fesselträgerursprungs charakterisiert (6, 7).

Subjektiv vs. objektiv Analyse von Szintigraphiebildern

Aufgrund der Annahme, dass Pferde bilateral symmetrisch sind, wurde das kontralaterale Bein standardmäßig zum Vergleich genutzt.

Während an den Vorderbeinen symmetrische RU festgestellt wurden, bestand jedoch eine Asymmetrie bei den Hintergliedmaßen. Dies könnte den asymmetrischen Gebrauch der Gliedmaßen, welcher in osteoblastischer Aktivität resultiert, reflektieren. Daher kann der Vergleich einer Region eines Hinterbeines mit der kontralateralen Seite irreführend sein. Es wird empfohlen, den Speicherquotienten anhand der objektiven „Region of Interest“ (ROI) Analyse zu ermitteln. Bei subjektiver Evaluierung dieses Bereiches konnten Pathologien nicht erkannt werden, dies gelang nur mittels einer ROI-Analyse (7). Die ROI sollte mit einer Referenzregion im selben Bein verglichen werden. Damit werden aufnahmetechnisch bedingte Fehler ausgeschlossen. Es wird die Mitte der Röhre als Referenz empfohlen. Diese Region wird kaum durch Weichteilgewebe überlagert. Wenn die Differenz des RU zwischen den ROI mehr als 20 % beträgt, wird generell von einer pathologischen vermehrten pharmazeutischen Aufnahme ausgegangen.

Viele **Artefakte** können einen Einfluss auf das Szintigramm des proximalen Fesselträgers ausüben. Zu diesen zählt auch die Lokalanästhesie. Es wird vermutet, dass dadurch der lokale Blutfluss verändert werden kann. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass beim Setzen einer Lokalanästhesie das Periost beschädigt wird. Es ist daher zu empfehlen, lokale Anästhesien erst nach der Szintigraphie durchzuführen. Da dies in der Regel nicht möglich ist, sollte eine Szintigraphie frühestens sieben Tage nach einer durchgeführten Lokalanästhesie stattfinden. Ein anderes häufiges Artefakt ist die Kontamination durch Urin. Etwa 70 % des radiopharmazeutischen Pharmakons wird innerhalb von 4 Stunden durch den Urin ausgeschieden(3). Es ist daher sehr wichtig, die distale Gliedmaße durch Bandagen und Hufschuhe vor dem Urin zu schützen.

Vor- und Nachteile der Szintigraphie

Durch die Szintigraphie können physiologische Umbauprozesse im Knochen dargestellt werden. Dadurch ist es möglich, den Aktivitätsstatus der Läsion festzustellen und einen therapeutischen Plan sowie eine genaue Prognose zu erstellen.

Die szintigraphische Untersuchung weist eine hohe Sensitivität (90,9 %) und Spezifität (84,1 %) auf (8). Dabei verbessert die Kombination verschiedener Modalitäten das Ergebnis (9).

Allerdings ist die Szintigraphie nicht in der Lage, zwischen einer Desmitis des Fesselträgerursprungs oder einer primären Knochenpathologie zu differenzieren (10). Eine endgültige Diagnose kann daher nicht allein auf Szintigraphiebefunden basieren.

Weitere Nachteile der Szintigraphie bestehen durch die hohen Kosten und die Strahlenbelastung des Personals.

Zusammenfassung

Zusammenfassend ist die Szintigraphie eine sensitive und nützliche diagnostische Methode, um Knochenveränderungen am Fesselträger, insbesondere an dessen Ursprung, zu detektieren. Die Befunde der szintigraphischen Untersuchung müssen durch andere diagnostische Methoden untermauert werden.

Literaturverzeichnis

1. Souza M, van Weeren PR, Van Schie H, Van De Lest C. Regional differences in biochemical, biomechanical and histomorphological characteristics of the equine suspensory ligament. *Equine veterinary Journal*. 2010;42(7):611-20.
2. Frost H. Skeletal structural adaptations to mechanical usage: 1. Redefining Wolff's law: the bone modeling problem. *The Anatomical Record*. 1990;226(4):403-13.
3. Ueltschi G. Zur Diagnose von Interosseusläsionen an der Ursprungsstelle. *Pferdeheilkunde*. 1989;5(2):65-69.
4. Weekes JS, Murray RC, Dyson SJ. Scintigraphic evaluation of the proximal metacarpal and metatarsal regions in clinically sound horses. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2006;47(4):409-16.
5. Gibson K, Steel C. Conditions of the suspensory ligament causing lameness in horses. *Equine Veterinary Education*. 2002;14(1):39-50.
6. Dyson S. Diagnosis and management of common suspensory lesions in the forelimbs and hindlimbs of sport horses. *Clinical techniques in equine practice*. 2007;6(3):179-88.
7. Dyson SJ, Weekes JS, Murray RC. Scintigraphic evaluation of the proximal metacarpal and metatarsal regions of horses with proximal suspensory desmitis. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2007;48(1):78-85.
8. Mageed M., Offhaus J, Winter K, Gerlach K. Inter-observer agreement for diagnosis of proximal metacarpal lameness using radiography and scintigraphy modality. unpublished data
9. Orsini JA, Norman T, Ross MW, Boston RC. Sensitivity and Specificity of Nuclear Scintigraphy for the Diagnosis of Equine Suspensory Ligament Injuries. *Intern J Appl res Vet med*. 2006;4(1):8-14.
10. Lischer CJ, Bischofberger S, Fürst A, Lang J, Ueltschi G. Erkrankungen im Bereich des Fesselträgerursprungs beim Pferd: Eine diagnostische Herausforderung. *Schweiz Arch Tierheilk*. 2006;148(2):86-97

Kontakt

PD Dr. Kerstin Gerlach, Chirurgische Tierklinik , Leipzig
gerlach@vetmed.uni-leipzig.de

Ultraschalldiagnostik am M. interosseus medius

Dagmar Berner, Kerstin Gerlach

Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Einleitung

Erkrankungen des M. interosseus medius (MIO) stellen oft die Ursache von Lahmheiten bei Pferden dar. Am häufigsten können Veränderungen im Ursprungsbereich, gefolgt von Erkrankungen der Endschenkel gefunden werden. Erkrankungen des MIO-Körpers treten außer Rennpferden selten auf.

Ultraschalluntersuchung am belasteten Bein

Der gesamte MIO sollte sonografisch transversal und longitudinal dargestellt werden. Im Transversalschnitt werden die Form und die Abgrenzung zum umliegenden Gewebe beurteilt. Der Faserverlauf sowie der Übergang zum Knochen kann im Longitudinalschnitt dargestellt werden.

Im Ursprungsbereich stellt sich der MIO der Vordergliedmaße als flache bohnenförmige Struktur dar, im weiteren Verlauf wird er rundlich. Der laterale Ursprungsanteil des MIO lässt sich von palmar sonografisch besser darstellen als der mediale. Einerseits ist er schmaler (lateromediale Ausdehnung) als der mediale Anteil; andererseits sind die anderen Sehnenstrukturen im palmaren Bereich des Beines lateral prominenter als medial, so dass zusätzlich eine größere Auflagefläche für den Schallkopf zur Verfügung steht. Auch bei Verwendung einer Vorlaufstrecke kann der MIO nicht vollständig über den palmaren Zugang beurteilt werden. Für eine optimale Darstellung der seitlichen Ränder empfiehlt sich deshalb die Darstellung von lateral sowie medial, dadurch können Randschattenartefakte vermieden werden. Ebenfalls können periligamentöse Gewebzubildungen, die meist an diesen Stellen ausgeprägter sind, optimal beurteilt werden.

Der MIO der Hintergliedmaße ist im Ursprungsbereich dreieckig und liegt näher am lateralen Griffelbein. Im weiteren Verlauf wird er rundlich und bleibt überwiegend lateral der Medianen, somit kann er von plantaromedial am besten dargestellt werden.

Sowohl am Vorder- als auch am Hinterbein teilt sich der MIO im unteren Drittel in seine beiden Endschenkel auf, die dann am jeweiligen Gleichbein inserieren. Deshalb können die jeweiligen Endschenkel am besten über einen seitlichen Zugang eingesehen werden. Veränderungen des Knochens können am besten im Longitudinalschnitt erkannt werden. Dabei sollte darauf geachtet werden, dass der Ultraschall senkrecht zur Knochenoberfläche verläuft um Veränderungen optimal darzustellen.

Ultraschalluntersuchung am entlasteten Bein

An der Vorder- sowie an der Hintergliedmaße kann der MIO selten vollständig mit den oben beschriebenen Techniken dargestellt werden. Um eine größere Auflage für den Ultraschallkopf zu erreichen empfiehlt sich deshalb die Untersuchung am angehobenen Bein weiterzuführen. Dabei können die Beugesehen seitlich verschoben werden und der Ultraschallkopf kann fast direkt auf den MIO aufgesetzt werden. Jedoch sollte bei Verwendung dieser Technik beachtet werden, dass mehr Druck auf den MIO ausgeübt wird und sich dadurch das Bindegewebe zwischen Röhrlbein und MIO schmaler darstellen kann.

Eine weitere Herausforderung bei der sonografischen Untersuchung und Beurteilung des Fesselträgers stellt die unterschiedliche Zusammensetzung aus Sehnen-, Fett- und Muskelgewebe dar. Zusätzlich besitzt das umgebende Bindegewebe eine ähnliche Echogenität wie der MIO. Zur besseren Unterscheidung dieser Strukturen, empfiehlt sich deshalb die Technik des „Off-Angle“-Ultraschalls, die ebenfalls am aufgehobenen Bein durchgeführt wird. Dabei wird der Schallkopf,

nachdem er senkrecht zum Sehngewebe ausgerichtet war, bewusst ein paar Grad abgekippt, so dass sich das Sehngewebe jetzt anechogen darstellt. Die Muskelfasern sowie das Fett bleiben echoreich und können jetzt besser von den Sehnenanteilen differenziert werden. Ebenfalls können mit Hilfe dieser Technik periligamentöse Gewebzubildungen besser erkannt werden, da sich diese weiter echogen darstellen.

Tabelle 1: Übersicht über die Echogenität der verschiedenen Strukturen bei der sonografischen Darstellung in unterschiedlichen Winkeln

	Senkrechter Winkel	Abgekippter Winkel
Sehne	Hyperechogen	Hypoechogen
Muskel	Hyperechogen	Hyperechogen
Fett	Hyperechogen	Hyperechogen
Bindegewebe	Hyperechogen	Hyperechogen
Akute Läsion	Hypoechogen	Hypoechogen
Fibrose	Hyperechogen	Hyperechogen

1

Pathologische Veränderungen

Bei pathologischen Veränderungen kommt es meist zu einer Vergrößerung und Formveränderung des MIO. Dadurch verkleinern sich die Abstände zwischen MIO und Röhrbein sowie dem Unterstützungsband der tiefen Beugesehne. Zusätzlich können eine unscharfe Abgrenzung der Ränder sowie schlecht abgrenzbare Muskel-Fettgewebtsbündel gefunden werden. Läsionen im Bereich des MIO stellen sich immer hypoechogen dar, egal in welchem Winkel sie dargestellt werden. Diese treten im Ursprungsbereich meist dorsal auf und können z. T. kürzer als 1 cm und weniger als 10 % des Querschnitts des MIO betreffen. Im Bereich des Körpers sowie in den Schenkel sind sie meist zentral gelegen. Es sollte jedoch bei der Interpretation berücksichtigt werden, dass der MIO im dorsalen Bereich immer geringgradig echoärmer als im restlichen Abschnitt erscheint. Im Longitudinalschnitt kann eine reduzierte Faserausrichtung ebenfalls hinweisend auf eine Erkrankung sein. Bei chronischen Läsionen treten häufig fibrotische Veränderungen innerhalb der sehnigen Anteile auf, die sich winkelunabhängig immer hyperechogen darstellen. Sollte eine Erkrankung der Fesselträgerschenkel vorliegen, kann eine vermehrte Füllung der gemeinsamen Fesselbeugesehnenscheide auftreten. Sowohl am Röhrbein als auch an den Gleichbeinen können Enthesiophyten oder Avulsionsfrakturen auftreten.

In allen Fällen sollte immer auch das kontralaterale Bein untersucht werden, da Schäden häufig beidseitig auftreten. Jedoch muss beachtet werden, dass sich die Form und Größe auch physiologisch an beiden Gliedmaßen unterscheiden kann. Eine Verlaufskontrolle sollte nach zwei bis vier Wochen erfolgen, da es gerade im Anfangsstadium in einigen Fällen zu einer Vergrößerung der Läsion kommen kann.

Zusammenfassung

Die sonografische Untersuchung stellt ein nicht invasives Verfahren zur Darstellung von Veränderungen des Fesselträgers sowie oberflächlichen Knochenveränderung dar. In Verbindung mit der röntgenologischen Darstellung der Knochen im Ursprungs- sowie Ansatzbereich können sich beide diagnostische Verfahren ergänzen. Bei unklaren Befunden kann eine magnetresonanztomographische Untersuchung weiterhelfen.

Literatur

1. Werpy NM, Denoix JM. Imaging of the equine proximal suspensory ligament. *Vet. Clin. Equine* 2012;28(3):507-525.
2. Ultrasonographic procedure for a complete examination of the proximal third interosseous muscle (proximal suspensory ligament) in the equine forelimbs. *Equine Vet. Educ.* 2008;20(3):148-153.
3. Dyson SJ, Genovese RL: Chapter 72 - The suspensory apparatus. In: Ross MW, Dyson Sj Herausgeber. *Diagnosis and management of lameness in the horse.* 2. Aufl. St. Louis: Elsevier Saunders;S. 738-760.

Kontakt

Dr. Dagmar Berner, Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, ,
dagmar.berner@vetmed.uni-leipzig.de

Magnetresonanztomographie und Computertomographie des M. interosseus medius

Kerstin Gerlach, Dagmar Berner

Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Leipzig

Einleitung

Die Magnetresonanztomographie (MRT) und die Computertomographie (CT) stellen Zusatzuntersuchungen bei Verdacht auf Erkrankungen im Bereich des Fesselträgerursprungs dar.

Beide Methoden haben den Vorteil, dass es sich um Schnittbilddiagnostik handelt, welche überlagerungsfrei in verschiedenen Ebenen eine genaue anatomische Abbildung erlaubt.

Prinzipien und Befundung

Physiologisch erscheinen die Sehnenfasern des Ursprungsbereichs in allen MRT-Sequenzen hypointens mit zentralen hyperintens Muskelfasern. Diese Muskelfasern sind mit Fettzellen und Bindegewebssepten umgeben, die ebenfalls signalreich erscheinen, Nerven und Gefäße eher intermediär. Im Gegensatz dazu stellen sich Sehnenfasern im CT hyperdenser als das Fettgewebe dar, die Unterscheidung zwischen Muskel- und Sehngewebe ist nicht möglich. Ab der Vereinigungsstelle sind die Muskelareale mondsichelförmig angeordnet, sie treten lateral wie eine abnehmende und medial wie eine zunehmende Mondsichel auf. Im weiteren Verlauf erscheinen sie zickzackartig und distal gestaucht, die Muskelbäuche können medial die plantare Oberfläche erreichen. Es bestehen große Variationen, die aber meist immer symmetrisch zur kontralateralen Gliedmaße vorkommen (11).

Im Bereich der Vordergliedmaßen erscheint der mediale Teil flach und der laterale im Querschnitt rundlich. Bei lahmfreien Pferden erscheint der Fesselträger medial kleiner als der laterale (9). Am Hinterbein ist der laterale Teil doppelt so dick wie medial (11). Dort lässt sich ein faserknorpeliges Gleitlager signalschwach in Höhe des 4. Tarsalknochens nachweisen (11).

Beurteilt werden vor allem in transversalen Aufnahmen (1)

- a) Kontur, Größe und Signalintensität des Fesselträgers sowie dessen bindegewebige Abgrenzung zum Knochen (3)
- b) Am Knochen die endostale und palmar/plantare Kontur.

Bei Erkrankung weist der Fesselträger im Ursprungsbereich eine inhomogene Struktur auf, das Fett-Muskelbündel ist meist nicht mehr gut abzugrenzen. Kommt es zu Flüssigkeitseinlagerungen im Bereich des Fett-Muskelbündels, stellt sich dieses signalärmer im MRT und hyperdenser im CT dar. Umgekehrt lassen sich Veränderungen des Sehnenanteiles als signalreiche (MRT) und hypodense Areale (CT) vom gesunden Sehngewebe abgrenzen.

Eine Vergrößerung mit erhöhter Signalintensität kann physiologisch vorkommen, deshalb ist der Vergleich mit der anderen Gliedmaße wichtig (6). Verdickungen allein sind somit als pathologische Befunde nicht ausreichend. Es bestehen große Variationen, schon allein durch unterschiedliche Pferdegrößen bedingt. Aber auch innerhalb der Rassen sind große Variationen nachweisbar (3).

An den Hintergliedmaßen ist weiterhin eine proximale Ursprungssehne bis zum Kalkaneus zu beurteilen (11). Veränderungen dieser Sehne können bei Erkrankungen festgestellt werden (4).

Bei Veränderungen der Kontur des Knochens sowie Sklerosen sind diese durch reduzierte Signalintensität (MRT) bzw. hyperdense Areale (CT) im palmar/plantaren Kortex oder endostal nachweisbar. Durch die höhere Auflösung sind diese in der CT besser zu erkennen. Im Gegensatz dazu kommt es bei Vorliegen eines Knochenödems zu einer Erhöhung des Signals (MRT) in der

fettunterdrückten Wichtung (STIR) (3,6). In der CT-Untersuchung können auch bei Kontrastmittelgabe Knochenödeme nicht erkannt werden.

Allerdings sind die STIR-Sequenzen im Stehen oft wegen Bewegungsartefakten problematisch, dort können Veränderungen auch mit Hilfe der T2* oW-Sequenz erkannt werden.

Im Niederfeld-MRT können manchmal nur Veränderungen in Form und Kontur erkannt werden, nicht die Signalqualität selber (8).

Im Bereich der Vordergliedmaßen ist das Lig. carpi radiatum als Teil der plattenförmigen Verdickung der Kapselfibrosa zu beachten (5).

Im Bereich der Hintergliedmaßen ist die proximale lange Ursprungssehne vom Kalkaneus über den 4. Tarsalknochen bis zur lateralen Ursprungssehne zu beurteilen (7, 11): Diese Sehne erscheint in allen Sequenzen uniform hypointens (11). Veränderungen dieser Sehne konnten ebenfalls als Lahmheitsursache identifiziert werden (4).

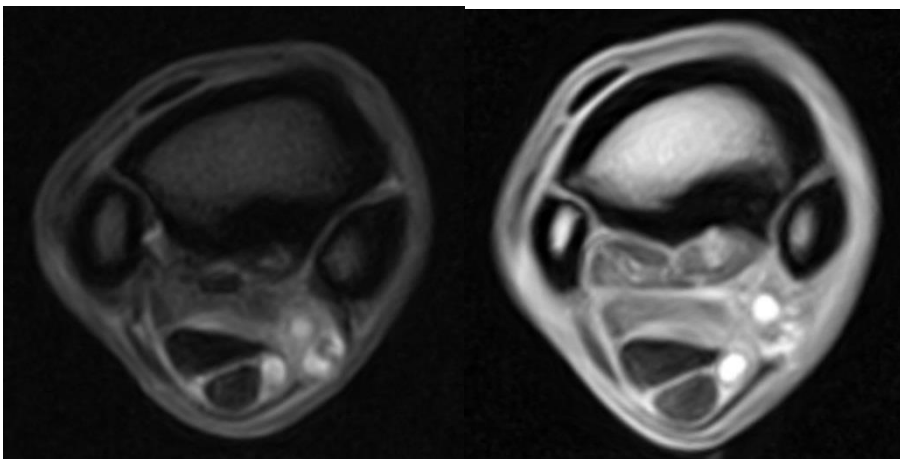


Abb. 1: MRT-Abbildung des rechten Vorderbeines eines 5-jährigen WB Hengstes. Links T2* gewichtete Gradientenechosequenz, rechts T1w Gradientenechosequenz. Der mediale Anteil des Fesselträgers im Bereich des Ursprungs stellt sich in allen Sequenzen mittelgradig vergrößert dar, die Abgrenzung der dorsalen Kontur fehlt. Der angrenzende Metakarpus zeigt in diesem Bereich ein hypointenses Areal, welches bis in die Spongiosa reicht (endostal). Die palmare Kontur des Metakarpus weist knöcherne Ausziehungen auf.

Vor- und Nachteile der beiden Methoden

MRT:

- in Narkose und stehend in Sedierung möglich (kooperatives Pferd)
- besserer Weichteilkontrast
- Knochenabbildung nicht optimal
- durch verschiedene Wichtungen Darstellung akuter Entzündung
- längere Untersuchungszeit

CT:

- bessere Knochenabbildung
- nur in Narkose möglich
- schnellere Untersuchungsmethode
- CT ähnlich in der Darstellung der Muskelfasern, aber unschärfere Kontur
- CT besser in der Darstellung feiner Knochenläsionen (2)
- intrarterielle Injektion von Kontrastmittel nötig

Zusammenfassung

Trotz leichter Nachteile in der Darstellung des Knochens kann die stehende MRT-Untersuchung im Niederfeld empfohlen werden.

Im Vergleich zum Ultraschall konnten mit Hilfe der Hochfeld-MRT sowohl bei lahmen (6) als auch bei lahmfreien Pferden (10, 12) schon geringere Veränderungen des Fesselträgers erkannt werden. Ein Vergleich Niederfeld-MRT mit Ultraschall wurde noch nicht durchgeführt.

Literatur

1. Lempe-Troillet A. Vergleichende magnetresonanztomographische Untersuchung am plantaren Aspekt des Tarsus des Pferdes: sonographische und histologische Korrelation des M. interosseus medius an der Hintergliedmaße des Pferdes. [Dissertation]. Leipzig: Universität Leipzig; 2007.
2. Berner D, Gerlach K, Brehm W, Mülling C, Schöniger S, Lempe-Troillet A. Desmopathy of the front proximal suspensory ligament in conjunction with a metacarpal cortical fracture in a horse: A multi-modality imaging study. *Pferdeheilkunde*. 2015;31(4):352–356.
3. Brokken MT; Schneider RK, Sampson SN; Tucker RL, Gavin PR, Ho CP. Magnetic resonance imaging features of proximal metacarpal and metatarsal injuries in the horses. *Vet Radiol Ultrasound*. 2007;48(6):507–517.
4. Dyson S. Hindlimb lameness associated with proximal suspensory desmopathy and injury of the accessory ligament of the suspensory ligament in five horses. *Equine Vet Educ*. 2014;26(10):538–542.
5. Geburek F. WH. Abklärung der Diskrepanzen in der Nomenklatur von Fesseltrageapparat und Fesselträger an der Vordergliedmaße des Pferdes in Anatomie und Klinik. *Pferdeheilkunde*. 2014;30(2):176–182.
6. Labens R, Schramme MC, Robertson ID, Thrall DE, Redding WR. Clinical magnetic resonance and sonographic imaging findings in horses with proximal plantar metatarsal pain. *Vet Rad Ultrasound*. 2010;51(1):11–18.
7. Lempe-Troillet A, Ludewig E, Brehm W, Budras K, Winter K, Edinger J. Magnetic resonance imaging of plantar soft tissue structures of the tarsus and proximal metatarsus in foals and adult horses. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2013;26(3):192–197.
8. Meehan L, Labens R. Diagnosing desmitis of the origin of the suspensory ligament. *Equine Vet Educ*. 2015:DOI:10.1111/eve.12331
9. Nagy A, Dyson S. Magnetic resonance imaging and histological findings in the proximal aspect of the suspensory ligament of forelimbs in nonlame horses. *Equine Vet J*. 2012;44(1):43–50.
10. Schramme M, Josson A, Linder K. Characterization of the origin and body of the normal equine rear suspensory ligament using ultrasonography, magnetic resonance imaging, and histology. *Vet Rad Ultrasound*. 2012;53(3) 318–328.
11. Schulze T. BKD. Zur klinischen funktionellen Anatomie des M. interosseus medius der Hintergliedmaße im Hinblick auf die Insertionsdesmopathie des Pferdes-Kernspinn-, computertomographische und morphologische Untersuchungen. *Pferdeheilkunde* 2008;24(3):343–350.
12. Werpy NM, Denoix JM, McIlwraith CW, Frisbie DD. Comparison between standard ultrasonography, angle contrast ultrasonography, and magnetic resonance imaging characteristics of the normal equine proximal suspensory ligament. *Vet Rad Ultrasound*. 2013;54(5):536–547.

Kontakt

PD Dr. Kerstin Gerlach, Chirurgische Tierklinik, Leipzig
gerlach@vetmed.uni-leipzig.de

Therapeutische Konzepte bei Erkrankungen des M. interosseus medius

Walter Brehm

Chirurgische Tierklinik, Universität Leipzig

Die Erkrankung des M. interosseus medius betrifft das gesamte paarig angelegte Organ, wobei Erkrankungen des Ursprungs der Muskelbäuche im proximalen Röhrenbereich von Erkrankungen der Muskelbäuche, also des Fesselträgerkörpers, der Endsehnen, also der Fesselträgerschenkel und des Ansatzes dieser Endsehnen an den Gleichbeinen unterschieden werden können. Die korrekte Nomenklatur des M. interosseus medius = Fesselträger (englisch: suspensory ligament = SL) haben Geburek und Wissdorf dargelegt (2):

Anatomie	Klinik
Ursprung des M. interosseus medius:	Fesselträgerursprung (FTU): (englisch: origin of SL)
Pars lateralis: aus dem Lig. carpi radiatum, an den Palmarflächen der Ossa carpalia III und IV, breitflächig proximo-palmar am Os metacarpale III und mit einem kleinen Anteil am Köpfchen des Os metacarpale IV	Pars lateralis: (englisch: lateral lobe of SL)
Par medialis: Aus dem Lig. carpi radiatum, an den Palmarflächen der Ossa carpalia II und III, breitflächig proximo-palmar am Os metacarpale III, mit einem kleinen Anteil am Köpfchen des Os metacarpale II	Par medialis: (englisch: medial lobe of SL)
Mittelfußabschnitt: palmar am Os metacarpale III gelegen	Fesselträgerkörper (FTK): (englisch: body of SL)
Lateraler und medialer Endschenkel: Aufteilung des Mittelfußabschnitts	Äußerer und innerer Fesselträgerschenkel (FTS): (englisch: branches of SL)
Ansatz der Endschenkel: abaxial und proximal am gleichseitigen Sesambein	Fesselträgeransatz (FTA): (englisch: insertion of SL)
Laterale und mediale Unterstützungssehne (Tendines adjuvantes) zur gemeinsamen Strecksehne	Äußere und innere Unterstützungssehne (US) (englisch: dorsal branches of SL)

Die Erkrankung des Ursprungs ist vergesellschaftet mit Veränderungen des Röhrens selbst. Diese können als röntgenologisch wahrnehmbare Sklerosierung oder gar Avulsionsfrakturen imponieren. Durch den Einsatz der Szintigrafie und in letzter Zeit den verstärkten Einsatz der Magnetresonanztomografie wird aber deutlich, dass Erkrankungen des Knochens an dieser Stelle auch vorhanden sein können, ohne dass diese röntgenologisch klar erkannt werden können (1, 4).

Erkrankungen des Körpers des Fesselträgers werden in der Regel sonografisch oder bei der Magnetresonanztomografie festgestellt. Die sonografische Bewertung des Muskelbauchs des M.

interosseus medius fällt jedoch wegen der variablen Anteile an Muskel-, Fett- und Bindegewebe nicht immer leicht und beinhaltet die Gefahr von Fehldeutungen.

Die Fesselträgerschenkel als Endsehnen des M. interosseus medius verhalten sich bei Erkrankung vergleichbar der oberflächlichen und tiefen Beugesehne und sind diagnostisch am besten durch die Ultraschalluntersuchung darzustellen.

Schließlich werden Erkrankungen im Bereich der Insertion der Fesselträgerschenkel an den Gleichbeinen röntgenologisch und sonografisch erfasst und ähneln denen des Ansatzes der tiefen Beugesehne am Hufbein, indem sowohl der Sehnen- als auch der Knochenanteil Schaden nehmen kann.

Die **Behandlung der Erkrankung des M. interosseus medius** muss konsequenterweise möglichst gut an die jeweilig diagnostizierte Erkrankungsform angepasst werden.

Bei der Erkrankung im Bereich des Ursprungs mit Beteiligung des Röhrlbeins sind dementsprechend Maßnahmen geeignet, die auch den Knochen beeinflussen. Dies kann die Verabreichung von den **Knochenstoffwechsel beeinflussenden Medikamenten** wie Tiludronat sein. Der Einsatz von **Stoßwellen** (7) kann Wirkung zeigen. Chirurgisch kann mittels der **Osteostixis** (3) versucht werden, durch Setzen kleiner, frischer Knochenwunden gezielt Heilungsprozesse zu initiieren.

Die Erkrankung des Muskelbauchs kann im akuten Fall durch Ruhe und rehabilitative **Bewegungsprogramme** therapiert werden, wobei im Allgemeinen ein Schrittprogramm von wenigstens 3 Monaten Dauer verschrieben wird. Im Anschluss daran wird für weitere 3 Monate ein aufbauendes Bewegungsprogramm durchgeführt, bis nach 6 Monaten die sportliche Belastung wieder aufgenommen wird. Werden im Muskelbauch strukturelle Defekte festgestellt, folgt daraus der Einsatz **regenerativer Therapieformen**. Hier kommen Injektionen von Blutprodukten wie **ACS, ACP, Thrombozytenkonzentrat oder die Zelltherapie mit MSC** zur Anwendung. Das Postulat eines Kompartiment-Syndroms durch Kompression des krankhaft verdickten Fesselträgerkörpers seitens der umgebenden Faszien hat zur Ergänzung der Therapie durch die **Fasziotomie** geführt, die anfänglich bei hartnäckigen Erkrankungen des M. interosseus der Hintergliedmaße eingesetzt wurde, ggf. in Kombination mit einer **Neurektomie** des den Fesselträgerursprung versorgenden Nervenastes (6).

Erkrankungen im Bereich der Fesselträgerschenkel werden analog der Therapie der Beugesehnen versorgt durch Rehabilitation in Verbindung mit regenerativen (ACS, ACP, MSC) oder auch chirurgischen Maßnahmen (Sehnensplitting).

Bei Erkrankung im Bereich der Insertion des Fesselträgerschenkels am Gleichbein kann wiederum analog der Maßnahmen im Bereich des Ursprungs verfahren werden.

Bei allen Erkrankungsformen der M. interosseus medius kann therapeutisch mit einem **speziellen Hufbeschlagn** mit einem Hufeisen mit verbreiterem und verdicktem Zehenteil bei dünnen und nach hinten schmalen Schenkeln unterstützend eingewirkt werden. Durch die Höherstellung des Zehenteils des Hufes wird die Tiefe Beugesehne leicht angespannt, was zu einer Unterstützung des Fesselkopfes und damit Entlastung des Fesseltrageapparates, also auch des M. interosseus medius, beiträgt. Der Effekt dieses Beschlages wird besonders in weichem Boden greifen. Rehabilitationsmaßnahmen analog dem Verfahren bei Erkrankungen der Oberflächlichen Beugesehne beinhalten eine verlängerte Phase verminderter Belastung mit gradueller Erhöhung der Aktivität. Traditionell werden 3 Monate wenig intensiver Arbeit im Schritt und anschließend eine

Erweiterung des Bewegungsprogrammes bis zu einem Zeitraum von 6 Monaten verordnet. Selbst dieser Zeitraum kann jedoch zu kurz sein, wie von der Erkrankung der Oberflächlichen Beugesehne bekannt ist. Tabelle 1 gibt ein typisches Bewegungsprogramm wieder, wie es nach dem Splitting des Interosseuskörpers empfohlen wird (8). Die Bedeutung der Rehabilitation hebt auch Rijkenhuizen heraus (5).

Rehabilitationsprogramm nach Splitting des Interosseuskörpers (8):

Woche 1–4	absolute Boxenruhe
Woche 5–8	2 x 10 min/d Schritt an der Hand
Woche 9–12	2 x 15 min/d Schritt an der Hand oder 1 x 15 min/d Schritt unter dem Sattel
Woche 13–16	30 min/d Schritt unter dem Sattel, Trab wenn der Heilungszustand des Interosseus dies erlaubt
Woche 17–20	Schritt und Trab unter dem Sattel, wöchentlich verlängerte Trabzeit
Woche 21–24	Schritt, Trab, Galopp und Weidegang abhängig vom Ultraschallbefund und der Lahmfreiheit
Ab Woche 24	Schrittweise Erhöhung des Bewegungsprogrammes bis hin zur normalen Arbeit

Prognose

Bei Erkrankung des M. interosseus hängt die Prognose wesentlich von der Art der Erkrankung und der Nutzung des Pferdes ab. Hier wurde beobachtet, dass Erkrankungen im Bereich der Hintergliedmaße eine weniger günstige Prognose haben als diejenigen der Vordergliedmaße, und dass akute Erkrankungen bei jungen Pferden besser heilen als chronische bei älteren Pferden. Allgemein ist die Prognose vorsichtig bis gut.

Literatur

1. Berner D, Gerlach K, Brehm W, Mülling C, Schöniger S, Lempe-Troillet A; Desmopathy of the front proximal suspensory ligament in conjunction with a metacarpal cortical fracture; *Pferdeheilkunde* 31 (2015) 4 (July/August) 352-356
2. Geburek F, Wissdorf H; Nomenklatur von Fesseltrageapparat und Fesselträger; *Pferdeheilkunde* 2014; 30(2), 176-182
3. Launois T, Desbrosse F, Perrin R; Percutaneous osteostixis as treatment for avulsion fractures of the palmar/plantar third metacarpal/metatarsal bone cortex at the origin of the suspensory ligament in 29 cases; *Equine vet. Educ.* (2003) 15(3) 126-138
4. Lempe-Troillet A, Ludewig E, Brehm W, Budras K-D, Winter K, Edinger J; Magnetic resonance imaging of plantar soft tissue structures of the tarsus and proximal metatarsus in foals and adult horses; *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 05/2013; 26(3); 192-7; DOI:10.3415/VCOT-12-06-0072
5. Rijkenhuizen ABM, Gietemann IV, van der Reijd TCM; Desmitis des Fesselträgers und Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- und Hintergliedmaße des Pferdes - eine retrospektive Studie über die Erfolge unterschiedlicher Behandlungen in der Praxis; *Pferdeheilkunde* 2007; 23(4); 357-365

6. Toth F, Schumacher J, Schramme M, Kelly G; Proximal suspensory desmitis of the hindlimbs; Compendium Equine: Continuing Education for Veterinarians®, September 2009, 308-318; www.CompendiumEquine.com
7. Urhahne P, Röcken M, Gerhards H; Eine klinische Studie zur Behandlung häufiger Erkrankungen des Bewegungsapparates des Pferdes mittels fokussierter extrakorporaler Stoßwellentherapie (ESWT); Pferdeheilkunde 21 (2005) 6 (November/Dezember) 545-550
8. White NA II, Hewes CA; Treatment of Suspensory Ligament Desmopathy; in: Proceedings, 56th Annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners. 2008; 502-507

Kontakt

Prof. Dr. Walter Brehm, Chirurgische Tierklinik, Universität Leipzig
brehm@vetmed.uni-leipzig.de

Der M. interosseus in der klinischen Praxis

Werner Jahn

Pferdeklinik Bargteheide

Um das bestmögliche Ergebnis nach der Behandlung eines Fesselträgerschadens zu erzielen, genügt es nicht den Defekt zu lokalisieren.

Es gehört viel mehr dazu und beginnt mit dem Vorbericht. Das Erkennen und Verstehen der Entstehungsgeschichte des Defektes bei dem einzelnen Patienten ist schon elementar. Eine zentrale Frage ist: Was war der Auslöser des Schadens? Denn es sind verschiedene Ursachen möglich, wie zum Beispiel ein einmaliges Trauma („der Tritt in die Kuhle“) oder ein repetitives Mikrotrauma. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage: Wie war der Boden auf dem das Pferd lief? Ist der Schaden womöglich beim Ausreiten am Strand oder im tiefen Sand entstanden? Ist das Pferd auf einem schlechten Abreiteplatz mit schlammigem Boden intensiv gearbeitet worden? Auch der Beschlag hat Einfluss auf die Verletzung und gehört später natürlich auch zum therapeutischen Gesamtkonzept. Ebenso muss das Verständnis des Reiters für den Grund der Entstehung und die Art der Verletzung geweckt werden, um einen positiven Einfluss auf die Heilung nehmen zu können.

Die Dauer der Verletzung, und ob es sich um die erste Läsion oder einen wiederholten Schaden handelt, muss bei der Behandlung mit berücksichtigt werden. Verständlicherweise haben frische Verletzungen bessere Chancen zu heilen, als ältere Verletzungen oder solche bei denen der Fesselträger schon mehrfach betroffen war.

Die Diagnostik ist dann einfach, wenn im Zusammenhang mit einer Lahmheit ein Bereich des Fesselträgers vermehrt Wärme oder Schwellung aufweist. Druckschmerz oder die Elastizität des Gewebes sollte auf jeden Fall am aufgehobenen Bein geprüft werden. Auch das benachbarte Gewebe wie zum Beispiel Griffelbeine und Gleichbeine sollten in diesem Zusammenhang sorgfältig palpirt werden.

In Bezug auf die Art der Lahmheit können sich Fesselträgerschäden sehr vielfältig zeigen. Deutliche Schäden sind sowohl auf weichem als auch auf hartem Boden sichtbar. Für viele Fesselträgerschäden ist es aber typisch, dass auf hartem Boden keine oder lediglich eine sehr geringgradige Lahmheit erkennbar ist, während an der Longe im weichen Boden die Lahmheit dann deutlich wird, wenn das betroffene Bein außen ist. In schwierigen Fällen ist es möglich, dass die Lahmheit nur bei bestimmten Lektionen, zum Beispiel nur unter dem Reiter oder nur im Mitteltrab sichtbar wird.

Bezüglich der bildgebenden Diagnostik steht die Sonografie an erster Stelle. Die Röntgenuntersuchung sollte nicht vernachlässigt werden, da sie bei Insertionsschäden sowohl am Fesselträgerursprung wie auch an den Gleichbeinen weitere Information liefern kann. Auch zur Beurteilung von eventuell vorhandenen Überbeinen sollte die Röntgenuntersuchung mit herangezogen werden. MRT und CT bieten weitere Möglichkeiten um Begleitschäden zu beurteilen, wie zum Beispiel die Sklerosierung im palmaren / plantaren Bereich des Röhrbeins oder anderweitig nicht darstellbare spitze Exostosen am Griffelbein. Die Szintigraphie ist ein relativ häufig eingesetztes Verfahren. Hiermit können wir immer wieder und insbesondere bei jüngeren Pferden (vier bis sechsjährig) die Lahmheitsursache am Fesselträgerursprung lokalisieren, während in der Sonografie und auf den Röntgenbildern keine Veränderungen erkennbar sind. Es handelt sich dabei offensichtlich um eine besondere Form des Fesselträgerschadens, bei der ausschließlich die Übergangszone zwischen Knochen und Fasergewebe betroffen ist. In diesen Fällen ist die Prognose bezüglich vollständiger Heilung sehr gut und die Rezidivneigung sehr gering.

Ist die Lokalisation und die Art des Defektes abgeklärt, kommt die Qual der Wahl der richtigen Therapie. Neben der eigentlichen Verletzung spielen im Entscheidungsprozess viele andere Faktoren eine Rolle:

- Stellung und Konformation des Pferdes
- Verwendungszweck des Pferdes
- Kompatibilität und finanzielle Möglichkeiten des Besitzers
- Möglichkeiten der regelmäßigen Kontrolle des Heilungsverlauf

Die Vielzahl der verschiedenen Behandlungsmöglichkeiten weist schon darauf hin, dass es nicht nur ein oder zwei Standardbehandlungsverfahren gibt, die den größtmöglichen Erfolg bieten. Im Verlauf der letzten Jahre wurden immer wieder neue Behandlungsverfahren vorgestellt, die besser sein sollten als die bisherigen. Aus meiner mittlerweile über 30-jährigen Erfahrung habe ich die folgenden zu ihrer Zeit jeweils beliebten Therapiemethoden kennengelernt und durchgeführt:

- Brennen, Splitting, scharfe Einreibung
- Implantation von Kohlefaser oder autologem Sehnenmaterial
- Injektion von Hyaluronsäure intraläsional und peritendinös
- ultraschallgeleitetes Microsplitting
- Injektion von A-Cell (Kollagenmatrix aus Schweineharnblase)
- Extrakorporale Stoßwellentherapie (ESWT)
- Injektion von Wachstumsfaktoren
- Injektion von körpereigenen regenerativen Substraten (ACS, IRAP, ACP, PRP, Knochenmarkaspirat, Stammzellen)
- Injektion von „weichteiladaptierter“ Hyaluronsäure
- regenerative Lasertherapie (RLT mit einem hochenergetischen Neodym-Yag Laser)

Bis auf die antiquierten Verfahren wie Brennen, Splitting und scharfe Einreibung findet ein großer Teil der weiteren Verfahren weiterhin Anwendung. Es muss somit zu dem jeweiligen Patienten und seiner Verletzung die jeweils dazu passende Therapie gefunden werden.

In Bezug auf Fesselträgerschäden liegt die tierärztliche Kunst also nicht nur in der Diagnostik, sondern auch in der Auswahl und Anwendung der richtigen Therapie. Die größte Kunst liegt jedoch darin, sich selbst, den Patienten und seinen Besitzer so lange wie möglich zu disziplinieren, damit für die Ausheilung des Schadens ein ausreichend langer Zeitraum gewährleistet ist. Dabei geht es in aller Regel nicht um wenige Wochen, sondern meist um viele Monate. Denn auch wenn ein behandelter Fesselträgerschaden schon nach wenigen Wochen ultrasonographisch gut aussieht, so ist die Rezidivneigung umso geringer je länger das Pferd noch Pause bekommt.

Kontakt

Dr. Werner Jahn, Pferdeklinik Bargteheide
w.jahn@pferdeklunik-bargteheide.de

Diagnostischer Zugewinn der Vollblut-TNF-alpha-Messung in der Abklärung equiner Atemwegserkrankungen

Wieland Schrödl¹, Simon Rütten², Gerald F. Schusser³, Getu Abraham²

¹Institut für Bakteriologie und Mykologie, Universität Leipzig; ²Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie, Universität Leipzig; ³Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig

Präambel

Als eine Ursache für Atemwegserkrankungen des Pferdes können verschiedene Pathogen (Mikroben)-assoziierte-molekulare-Muster/Patterns (PAMPs/MAMPs), wie zum Beispiel LPS, Lipoteichonsäure, Chitin/Glukane (Zellwandbestandteile von Pilzzellwänden) zur Aktivierung lokaler und systemischer Phagozyten, Endothelzellen, Lymphozyten usw. führen. Der Wechselwirkung zwischen PAMP (MAMP) und PRR (Pathogen-erkennende/recognition-Rezeptoren) folgt in aller Regel eine proinflammatorische Reaktion - unter anderem mit einer erhöhten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine, wie TNF-alpha, Interleukin 1 (IL-1), IL-8 und den gegenregulierend wirkenden Faktoren, wie z. B. der IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1RA). Durch die aerogene Aufnahme der PAMPs und die Präsenz diverser Mikroorganismen im oberen Bereich der Atemwege ist der genannte Reaktionsmechanismus einer der ersten immunologischen und ggf. immunpathologischen Reaktionen die bei Atemwegserkrankungen stattfinden.

Zielstellung

Das sich ableitende wissenschaftliche Ziel war, ein Pferdevollblut-Modell zu entwickeln, mit dem die bei entzündlichen Erkrankungen frühzeitig erfolgenden und oftmals entscheidenden proinflammatorischen Reaktionen der PAMP-PRR-Wechselwirkung unter in vitro-Bedingungen nachvollziehbar bestimmt werden können. Mit diesem in vitro-Modell soll die komplexe Immunreaktion auf PAMPs - den in vivo-Verhältnissen entsprechend - bestimmbar sein, aber auch die Wirksamkeit anti-inflammatorischer Substanzen detektiert werden können.

Material und Methoden

Von klinisch unauffälligen Pferden wurde heparinisertes Vollblut entnommen, in Zellkulturmedium verdünnt und in 24-Kavitäten-Zellkulturplatten bei 37°C (5% CO₂) inkubiert. Als PAMP-Modellsubstanz wurde den Vollblutzellkulturen LPS von *Escherichia (E.) coli* zugegeben. Vor und nach LPS-Zugabe wurden in den zellfreien Zellkulturüberständen (ZKÜ) zu verschiedenen Zeitpunkten die TNF-Konzentrationen mit einem dafür etablierten ELISA quantifiziert. In weiteren Versuchen erfolgte der gezielte Zusatz von equinem (rekombinanten) TNF-alpha, als endogenen Wirtsaktivierungsfaktor zur Zellkultur. Dem folgte die quantitative Bestimmung des IL-1RA in den ZKÜ. Als anti-inflammatorisch wirkende Substanzen wurden in diesem Pferdevollblut- in vitro-Modell Hydrocortison und Dexamethason nach LPS-Stimulation untersucht.

Ergebnisse

Wenige Inkubationsstunden nach Zugabe von bakteriellem LPS (*E. coli*) zu dem Pferdevollblut-Zellkulturmedium-Gemisch war eine Erhöhung der TNF-Konzentrationen in den ZKÜ bestimmbar. Dabei korrelierte die TNF-Freisetzung positiv linear mit dem Volumenanteil an equinem Vollblut in Kultur. Zwischen dem Blut verschiedener Pferde bestanden Unterschiede in der LPS-induzierten TNF-Freisetzung. Hydrocortison und Dexamethason reduzierten dosisabhängig die LPS-induzierte TNF-Freisetzung. Equines (rekombinantes) TNF-alpha induzierte nach Zusatz zum verdünnten Pferdevollblut die Freisetzung des equinen IL-1RA während der folgenden Inkubationszeit.

Schlussfolgerungen

Mit dem entwickelten Pferdevollblutkultur-Modell (Testsystem) können die komplexen Wirtsreaktionen auf ein typisches PAMP, wie dem bakteriellen LPS (Endotoxin) über die quantitative TNF-Bestimmung im Zellkulturüberstand in vitro reproduzierbar gemessen werden. Die Zytokin-Release-Kinetik und Zytokin-Wechselwirkungen entsprechen dabei den Verhältnissen in vivo.

Auch die direkte TNF-Wirkung auf equine Blutzellen kann mit diesem in vitro-Testsystem (IL-1RA-Release) quantitativ gemessen werden.

Das etablierte in vitro-Pferdevollblut-Zytokininduktions-Modell ist für folgende wissenschaftliche und klinische Fragestellungen einsetzbar:

1. Beurteilung der equinen Blutzellreaktion auf PAMPs und Charakterisierung des immunmodulatorischen bzw. immunpathologischen Potentials
2. Feststellung atypischer Immunreaktionen bei Patienten und bestimmten Patientengruppen, z. B. Einfluss allergischer, immunsuppressiver oder genetischer Faktoren
3. Testung anti-inflammatorisch wirkender Substanzen
4. Pathogenese- und immunologische Forschung
5. Prüfung von TNF-Inhibitoren

Kontakt

PD Dr. W. Schrödl, Institut für Bakteriologie und Mykologie, Universität Leipzig
schroedl@vmf.uni-leipzig.de

Spezifische nanopartikuläre inhalative Immuntherapie bei Pferden mit COB

Heidrun Gehlen¹, John Klier², Sabine Geis³, Gerhard Winter⁴

¹Klinik für Pferde, allg. Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin; ²Klinik für Pferde der Ludwig Maximilian Universität München; ³Klinik für Pferde, Starnberg; ⁴Institut für Pharmazie und pharmazeutische Entwicklung der Ludwig Maximilians Universität München

Einleitung und Ziel der Studie

Ziel dieser Studie war es, klinische und immunologische Effekte einer inhalativen nanopartikulären CpG Immuntherapie (CpG-GNP=Aminosäuresequenzen Cytosin-Phosphat-Guanin gebunden an Gelatinenapartikel) mit und ohne spezifisch ausgewählten Allergenen bei COB-erkrankten Pferden zu vergleichen.

Humane und equine allergische Atemwegserkrankungen haben in den letzten Jahrzehnten zugenommen und sind, zusammen mit neuen therapeutische Strategien zur Behandlung, ein wichtiger Forschungsbereich. Die Einflussnahme auf immunologischer Ebene mittels Stimulation von regulatorischen T-Zellen (Treg) eröffnet dabei neue Möglichkeiten jenseits der konventionellen symptomatischen Behandlung (1,2,3). Eine spezifische Immuntherapie ermöglicht es, die überschießende körpereigene Immunantwort u.a. durch Stimulation von regulatorischen T-Zellen zu beeinflussen, mit dem Ziel, die Homöostase der gestörten T-Helfer Zell Balance wieder herzustellen.

In mehreren Studien wurde bereits festgestellt, dass CpG-ODN einen Shift von Th2 zu Th1 bewirken und auch weitere positive Effekte in der Reduktion des Allergieschehens haben. Es liegen bereits Studien vor, in denen die Wirksamkeit und die Verträglichkeit der CpG-ODN A 2216 auch bei COB-erkrankten Pferden nachgewiesen wurden (4,5,6,7).

Die Allergeninhalation wurde bereits erfolgreich als lokale Hyposensibilisierung (ASIT=allergenspezifische Immuntherapie) durchgeführt (8). Der Einsatz von Allergenen zusammen mit den CpG-ODN als Adjuvans hat in verschiedenen Studien an Mäusen, Katzen und am Menschen als Hyposensibilisierungstherapien bereits Erfolge erzielt, wurde jedoch bei COB-erkrankten Pferden noch nicht getestet. Es sollte deshalb untersucht werden, ob die kombinierte ASIT-CpG-ODN-Therapie einen deutlich besseren immunologischen Effekt bewirkt als die alleinige CPG-ODN-Anwendung. Des Weiteren sollte gezeigt werden, ob die Therapie auch einen Langzeiteffekt nach Beendigung der Inhalation induzieren kann. Die Inhalation wurde deshalb im Unterscheid zu vorrangegangenen Studien häufiger durchgeführt und die Patienten wurden zusätzlich sechs Wochen nach Therapieende erneut auf einen Langzeiteffekt hin untersucht.

Material und Methoden

Es wurden insgesamt 20 mittelgradig an COB erkrankte Pferde in diese Studie aufgenommen. Bei allen Pferden wurde unmittelbar vor Studienbeginn ein Allergietest (FIT) durchgeführt, um herauszufinden, auf welche Allergene die Pferde sensibel reagierten. Bis auf drei Pferde waren alle auf mehrere Allergene, insbesondere auf Milben (Hausstaubmilbe, Heumilbe, Mehlmilbe) und Schimmelpilzantigene, positiv. Auch auf die eher in den Sommermonaten vorkommenden Allergene, wie Gräser und Baumpollen, sowie insbesondere Raps, reagierten viele Pferde positiv im FIT.

Die Pferde wurden zufällig per Losverfahren in zwei Gruppen eingeteilt. Neun Pferde wurden lediglich mit den CpG-ODN, gebunden an GNP als Trägersystem, inhaliert und bei 11 Pferden wurden zusätzlich (je nach FIT-Ergebnis) zwei spezifisch ausgewählte Allergene inhaliert. Die Pferde wurden insgesamt siebenmal im Abstand von zwei Tagen inhaliert und insgesamt dreimal

untersucht: (I) vor der ersten Inhalation, (II) nach sieben Inhalationen und (III) nach sechs Wochen ohne eine weitere medikamentöse Behandlung oder Haltungsverbesserung. Neben einer klinischen Untersuchung wurden arterielle Blutgase, eine Interpleuraldruckmessung und eine endoskopische Untersuchung mit Untersuchung von Trachealspülproben durchgeführt. Zudem wurden Serum- und Trachealspülproben mittels ELISA auf die Zytokine IL-4, IL-10, IFN- γ und IL-17 quantitativ untersucht. IL-17 wurde dabei lediglich in der Trachealspülprobe untersucht.

Ergebnisse

Die nanopartikuläre Immuntherapie mit Allergenen ergab eine signifikante Verbesserung (um bis zu 80%) der untersuchten pulmologischen Parameter (Atemfrequenz, -typ, Nasenausfluss, Sekretmenge- und Viskosität, neutrophile Granulozyten in den Atemwegen, arterielle Blutgase, AaDO₂). Es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (mit/ohne zusätzliche Allergeninhalation).

Bei der Auswertung der Zytokine zeigte sich, dass IL-4 insgesamt signifikant herunterreguliert wurde. In der Trachealspülprobe lag der Median des Konzentrationsabfalls von Beginn der Studie bis sechs Wochen nach der Inhalation bei 14 von 20 Pferden bei 49,7%. Im Serum konnte man erst in der letzten Probe nach sechs Wochen einen signifikanten Abfall der Konzentration messen. Dieser lag ebenfalls bei 14 von 20 Pferden vor, war aber im Median mit 17,4% eher niedrig. Eine Hochregulation des Th1-Zytokins IFN- γ und des regulatorischen IL-10 war nicht zu erkennen. Beide Zytokinkonzentrationen sanken im Verlauf der Untersuchungen mehr oder weniger stark ab. Der Abfall war bei beiden Zytokinen erst nach sechs Wochen zu verzeichnen. Beim IL-10 konnte man in der lokalen Trachealspülprobe keine einheitliche Entwicklung der Expression erkennen. Bei der Konzentrationsentwicklung des IL-17 war ebenfalls kein einheitlicher Abfall zu erkennen. Eine Korrelation der Zytokine mit dem prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten im TBS lag nicht vor.

Bei keinem der gemessenen Zytokine wurde ein signifikanter Effekt durch die zusätzliche Allergeninhalation nachgewiesen. Somit gaben alle untersuchten Parameter keinen Hinweis darauf, dass die lokale Hyposensibilisierung auf immunologischer Ebene einen positiveren Einfluss auf die COB hatte als die Monotherapie mit CpG-ODN Inhalation.

Das entscheidende Ergebnis dieser Studie war, dass eine immunologische Langzeitwirkung über mindestens sechs Wochen nach verhältnismäßig wenigen Inhalationen mit den CpG-ODN nachgewiesen wurde.

Zusammenfassung

Die nanopartikuläre Immuntherapie zeigte eine signifikante und anhaltende Verbesserung (über sechs Wochen) der entzündlichen und allergischen Parameter der Pferde mit COB und eröffnet damit eine neue therapeutische Strategie jenseits der symptomatischen Behandlung und könnte damit auch für das humane allergische Asthma von großem Interesse sein.

Eine zusätzliche Inhalation mit spezifischen Allergenen erbrachte keine signifikante zusätzliche Verbesserung.

Literaturverzeichnis

1. Henríquez C, Perez B, Morales N, Sarmiento J, Carrasco C, Morán G, Folch H: Participation of T regulatory cells in equine recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 158, 2014. S. 128-134.
2. Kleiber C, McGorum BC, Horohov DW, Pirie RS, Zurbriggen A, Straub R: Cytokine profiles of peripheral blood and airway CD4 and CD8 T lymphocytes in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 104, 2005. S.91-97.
3. Klier J, May A, Fuchs S, Schillinger U, Plank C, Winter G, Gehlen H, Coester C: Immunostimulation of bronchoalveolar Lavage cells from recurrent airway obstruction affected horses by different CpG-

- classes bound to gelatin nanoparticles. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 144, 2011. S.79-87.
4. Klier J, Fuchs S, May A, Schillinger U, Plank C, Winter G, Coester C, Gehlen H: A nebulized gelatin nanoparticle-based CpG formulation is effective in immunotherapy. *Nanopartikeläre Immuntherapie bei Pferden mit Asthma of allergic horses*. *Pharmaceutical Research*. 2012;29;1650-1657.
 5. Klier J, Lehmann B, Fuchs S, Reese S, Hirschmann A, Coester C, Winter G, Gehlen H: Inhalative nanoscale CpG-Immunotheapy is effective in RAO-Affected Horses: Phase I & IIa Study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015; 29;286-293.
 6. Schneberger D, Caldwell S, Singh Suri S, Singh B: Expression of Toll-Like Receptor 9 in Horse Lungs. *Anatomical Record*. 2009;292;1068-1077.
 7. Senti G, Johansen P, Haug S, Bull C, Gottschaller C, Müller P, Pfister T, Maurer P, Bachmann MF, Graf N, Kündig TM: Use of A-type CpG oligodeoxynucleotides as an adjuvant in allergen-specific immunotherapy in humans: a phase I/IIa clinical trial. *Clinical Experimental Allergy*. 2009;39;562-570.
 8. Zwiorek K, Bourquin C, Battiany J, Winter G, Endres S, Hartmann G, Coester C: Delivery by cationic gelatin nanoparticles strongly increases the immunostimulatory effects of CpG oligonucleotides. *Pharmaceutical Research*. 2008;25;551-562.

Kontakt

Prof. Dr. Heidrun Gehlen, Klinik für Pferde, allg. Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin
heidrun.gehlen@fu-berlin.de

Diagnosis and treatment of pulmonary hypertension in horses

Katharyn Mitchell

Clinic for Equine Internal Medicine, Equine Department, Vetsuisse Faculty, University of Zurich (Switzerland).

Definitions:

Pulmonary hypertension (PH): An increase in blood pressure within the pulmonary circulation (pulmonary arteries, capillaries or pulmonary veins) as a result of pre-capillary, capillary or post capillary obstruction to blood flow. Classically, pulmonary hypertension has been divided into five categories based on the underlying primary cause (1).

Type 1: primary pulmonary arterial hypertension (PAH)

Type 2: PH secondary to left heart disease

Type 3: PH secondary to lung disease and/or hypoxia

Type 4: chronic thromboembolic PH

Type 5: unclear, multifactorial PH

Cor pulmonale: Right sided heart enlargement and dysfunction secondary to PH that results from lung disease/hypoxia

Right sided congestive heart failure: This is seen if the compensatory mechanisms of heart disease have been exhausted and the systolic function of the right ventricle starts to fail. Typically, signs of right sided congestive heart failure include jugular vein distension and jugular pulses, ventral oedema, ascites and hepatic congestion.

Overview:

Fortunately, pathological pulmonary hypertension is a relatively uncommon condition in horses (2). The most common and well recognised presentation would be Type 2 PH, seen secondary to left heart disease (2, 3). Less frequently reported is Type 3 PH, seen secondary to severe interstitial pneumonia or in rare cases recurrent airway obstruction (RAO) (4-6). Occasionally, horses kept at high altitudes may develop PH and signs of cor pulmonale from chronic hypoxia (7, 8). It has been documented that transient pulmonary hypertension can occur in horse during strenuous exercise as physiological response to increased stroke volume and may be linked to the pathophysiology of exercise induced pulmonary haemorrhage (EIPH) (9). Very rarely suspected primary PAH has been reported to occur in horses (10).

Horses affected by pulmonary hypertension may show a variety of non-specific clinical signs depending on the underlying primary disease process. Typically, horses can show an elevated respiratory rate and/or effort, cough, prolonged recovery following exercise, poor performance or exercise intolerance. In some cases, EIPH can be detected. If there is right sided congestive heart failure, then jugular vein distension, jugular pulses, ventral oedema and ascites will be present (3). Classically, a definitive diagnosis of pulmonary hypertension is made following right heart catheterisation and pressure measurements obtained from the pulmonary artery. If pulmonic or tricuspid regurgitation is visible during echocardiography, an attempt to estimate the pulmonary and right ventricular pressure gradients can be made from the maximum regurgitant velocity using the modified Bernoulli equation: $\Delta P = 4 * V_{max}^2$. Additionally, evidence of right sided cardiac enlargement, pulmonary artery enlargement (larger than the aorta) and signs of right sided congestive heart failure will support the diagnosis of PH.

Treatment of PH often depends on the underlying cause. If the PH is secondary to left heart disease, the prognosis will depend on response to treatment for the primary heart disease. When PH occurs

secondary to lung disease or hypoxia, if the hypoxia can be reversed and the lung disease treated or managed, then the signs of PH may abate over time (5). Treatments specifically targeting pulmonary artery hypertension in humans and small animals are often cost prohibitive for use in horses and studies into their efficacy are lacking. Horses suffering from PH are not considered safe to ride and if the underlying disease process cannot be sufficiently managed then the prognosis for long term survival should be considered guarded in the majority of cases (11).

References:

1. Rosenkranz S. Pulmonary hypertension 2015: current definitions, terminology, and novel treatment options. *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society*. 2015 Mar;104(3):197-207.
2. Marr CM, Bowen M. *Cardiology of the Horse*. 2nd Edition. Ed: Saunders, Elsevier; 2010.
3. Reef VB, Bain FT, Spencer PA. Severe mitral regurgitation in horses: clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine veterinary journal*. 1998 Jan;30(1):18-27.
4. Johansson AM, Gardner SY, Atkins CE, LaFevers DH, Breuhaus BA. Cardiovascular effects of acute pulmonary obstruction in horses with recurrent airway obstruction. *Journal of veterinary internal medicine*. 2007 Mar-Apr;21(2):302-7.
5. Hanka J, van den Hoven R, Schwarz B. Paroxysmal atrial fibrillation and clinically reversible cor pulmonale in a horse with complicated recurrent airway obstruction. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G, Großtiere/Nutztiere*. 2015 Apr 13;43(2):109-14.
6. Dixon PM. Pulmonary artery pressures in normal horses and in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Equine veterinary journal*. 1978 Jul;10(3):195-8.
7. Bisgard GE, Orr JA, Will JA. Hypoxic pulmonary hypertension in the pony. *American journal of veterinary research*. 1975 Jan;36(1):49-52.
8. Greene HM, Wickler SJ, Anderson TP, Cogger EA, Lewis CC, Wyle A. High-altitude effects on respiratory gases, acid-base balance and pulmonary artery pressures in equids. *Equine veterinary journal*. 1999;31(S30):71-6.
9. Manohar M, Hutchens E, Coney E. Pulmonary haemodynamics in the exercising horse and their relationship to exercise-induced pulmonary haemorrhage. *The British veterinary journal*. 1993 Sep-Oct;149(5):419-28.
10. Gelberg HB, Smetzer DL, Foreman JH. Pulmonary hypertension as a cause of atrial fibrillation in young horses: four cases (1980-1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1991 Feb 15;198(4):679-82.
11. Reef VB, Bonagura J, Buhl R, McGurrin MK, Schwarzwald CC, van Loon G, et al. Recommendations for management of equine athletes with cardiovascular abnormalities. *Journal of veterinary internal medicine*. 2014 May-Jun;28(3):749-61.

Contact information

Dr. Katharyn Mitchell, Clinic for Equine Internal Medicine, Equine Department, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland.

kmitchell@vetclinics.uzh.ch

COPD, COB, RAO, IAD, SPAOPD und Pferdeasthma – was sollen all diese Namen?

Vinzenz Gerber

Institut suisse de médecine équine, Agroscope und Universität Bern, Schweiz

In der englischen Literatur wurde der Begriff „equine asthma“ (Pferdeasthma) kürzlich eingeführt. Dieser Überbegriff ersetzt die im Deutschen gebräuchliche Bezeichnung chronisch-obstruktive Bronchitis (COB) und die aus der Humanmedizin stammende Bezeichnung „chronic obstructive pulmonary disease“ (COPD). Weiter wird neu nach Schweregrad unterschieden, zwischen leichtgradigen „inflammatory airway disease“ und der mittel- bis hochgradigen „recurrent airway obstruction (RAO)“ (Abb. 1).

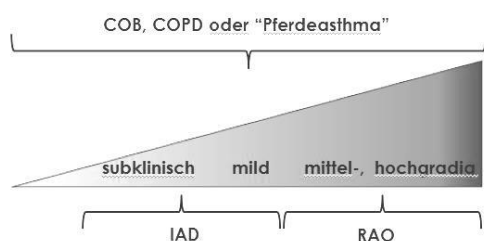


Abbildung 1: Klinisches Spektrum von „Pferdeasthma“ und weitere Bezeichnungen

Alte Begriffe wie „Emphysem“ (viele Missverständnisse) oder „Lungendämpfigkeit“, die sich auf das hochgradige klinische Ende dieses Spektrums beziehen, halten sich z. T. auch noch hartnäckig.

Grundsätzliches zur IAD – „inflammatory airway disease“ (leichtgradige COB)

Die IAD ist durch Leistungsabfall, gelegentlichen Husten, vermehrtes Bronchialsekret und vermehrte Entzündungszellen bei der zytologischen Untersuchung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) charakterisiert und wurde zuerst vorwiegend bei jungen Rennpferden beschrieben. Die IAD entspricht aber, wie oben ausgeführt, grundsätzlich einer geringgradigen COB und kann in diesem Sinne bei jeder Alters- und Gebrauchsguppe von Pferden vorkommen. Pathologisch-anatomisch handelt es sich um eine leichtgradige Bronchitis/Bronchiolitis, die multifaktoriell verursacht ist. Schlechte Lufthygiene im Stall und allgemein v. a. durch staubiges Heu (auch bei Aussenhaltung!), Infektionen und u. U. beginnende Überempfindlichkeitsreaktionen (s. auch unten RAO) sind die häufigsten Auslöser. Nun ist aber die Staubbelastung bei ganz „normaler“, konventioneller Stallhaltung mit Heufütterung und Stroheinstreu oft sehr hoch. Dementsprechend werden viele Pferde als an IAD erkrankt diagnostiziert, wenn sie nach strengen zytologischen Kriterien eingeteilt werden (Tab.1). In konventioneller Stallhaltung ist dann nicht selten die Mehrheit „betroffen“. Die Zytologie ist darum als alleiniges diagnostisches Kriterium problematisch.

Klinische Symptomatik und Bedeutung der IAD

Es gibt gegenwärtig keine Hinweise dafür, dass eine IAD ohne klinische Symptome (Husten, Nasenausfluss) ein erhöhtes Risiko darstellt, sich später zu einer RAO zu entwickeln. Dagegen ist eine IAD mit Nasenausfluss und v. a. mit Husten (auch wenn er nur „ab und zu“ auftritt), wenn das Symptom länger als einen Monat andauert, als Warnsignal für eine zukünftige Verschlechterung und ein erhöhtes RAO-Risiko, zu werten. Bei der Beurteilung der IAD als Ursache für eine

Leistungsverminderung ist v. a. die Disziplin, also die Anforderungen an die aerobe Leistungskapazität, ausschlaggebend. Z. B. ist für ein Rennpferd, das eine maximale aerobe Leistung über 2400 m erbringen muss, eine subklinische IAD viel eher relevant, als für ein Sportpferd in einer technischen Disziplin wie Springen oder Dressur. Dabei ist eine vermehrte Schleimmenge (Rennpferd ab Grad 2 von 5, Sportpferd erst ab Grad 3 von 5) als Anzeichen für eine Leistungseinschränkung wohl wichtiger als die Prozente der Entzündungszellen in der BALF.

Tabelle 1: Charakteristika und Unterscheidungsmerkmale von IAD und RAO, „Pferdeasthma“ und COB

IAD \cong leichtgradige COB / „Pferdeasthma“	RAO \cong mittel bis hochgradige COB / „Pferdeasthma“
jede Altersgruppe	ältere Pferde (meist > 7 Jahre)
Ursachen: unklar, multifaktoriell: Umwelt/Infekt?	Ursachen: Umwelt, „Allergie“ (Hypersensitivität) insbesondere auf Heu- und Einstreustaub
Klinik: Leistungseinbuße, Schleimansammlung in der Trachea (Grad \geq 2/5), Hyperreaktivität (übermäßige Reaktion auf Reize; diagnostisch z. B. mit Histaminbronchoprovokation)	Klinik: deutliche Leistungseinbuße, Hyperreaktivität, cholinergischer Bronchospasmus, reversible Obstruktion mit sichtbar erschwelter Atmung in Ruhe. Schleimansammlung in der Trachea (endoskopisch sichtbare Schleimmenge, meist Grad \geq 3/5)
Zytologie: Entzündungsparameter*: vermehrte Neutrophile (>5-10 %), Eosinophile (>1-5 %) und/oder Mastzellen (>2-5 %)	Zytologie: Entzündungsparameter*: deutliche neutrophile (>25%**) Entzündung

* Prozentangaben beziehen sich auf BALF- (nicht TBS-) Zytologie

Diagnose der IAD

Bei unbefriedigender Leistung mit Verdacht auf IAD müssen zuerst immer auch andere Erkrankungen, die zu Leistungsverminderung führen, wie Erkrankungen der oberen Luftwege, muskuloskeletale und Kreislaufleiden, systematisch ausgeschlossen werden. Da die klinische Untersuchung wenig ergiebig ist, sollten die Patienten bronchoskopiert und Tracheobronchialsekret (TBS) oder besser BALF zytologisch untersucht werden. Die Diagnose IAD stützt sich gemäß der internationalen Konvention insbesondere auf den Nachweis vermehrter BALF-Entzündungszellen (> 5 % neutrophile Granulozyten, > 2 % Mastzellen, >1 % Eosinophile).

Grundsätzliches zur RAO „recurrent airway obstruction“ (mittel- bis hochgradige COB)

Im Gegensatz zur IAD hat die RAO eine gesicherte genetische Grundlage. Sie tritt darum manchmal familiär gehäuft auf und betrifft typischerweise Pferde im besten Alter oder ältere Tiere (meist > 6 Jahre.).

Die Dyspnoe und die zugrunde liegende Lungenfunktionseinschränkung werden zu einem großen Teil durch die Lumeneinschränkung hervorgerufen: sie sind durch Schleimhautschwellung, Sekretansammlung und Bronchokonstriktion mit „air trapping“ („reversibles Emphysem“) verursacht und darum reversibel. Normalerweise ist also nur ein kleiner Anteil der Veränderungen (Wandverdickung, „airway remodelling“) irreversibel.

Exazerbationen können z. B. anlässlich einer Exposition mit allergenem Heustaub auftreten. Typischerweise erscheinen die Pferde bei Weidehaltung im Sommer gesund, während sie bei Heufütterung und Stallhaltung im Winter hochgradig erkranken. Nicht allzu selten gibt es aber auch

Fälle, die diesem Schema nicht entsprechen. Diese zeigen v. a. im Frühling und Sommer, und wenn sie vermehrt draußen sind, Symptome. In den süd-östlichen USA und mit möglicherweise steigender Tendenz auch in Europa gibt es die „summer pasture associated pulmonary disease“ (SPAOPD), die abgesehen davon, dass die Exazerbationen im Frühling/Sommer und auf der Weide auftreten, mit der RAO identisch ist. Meist lässt sich bei SPAOPD kein bestimmtes Allergen (z. B. Pollen) als Ursache feststellen. Die Heuelimination bleibt bis zum Beweis des Gegenteils die wichtigste Maßnahme.

Klinische Symptomatik und Diagnose der RAO

Die RAO ist mithilfe einer ausführlichen Anamnese und der klinischen Symptomatik in den meisten Fällen leicht zu diagnostizieren.

Die wichtigsten Charakteristika, chronischer Husten, Leistungseinschränkung und Dyspnoe mit angestrenzter Expirationsphase, sowie die neutrophile Entzündung und Schleimansammlung in den Luftwegen lassen sich gut dokumentieren. Auch die Lungenüberdehnung ist mittels Grenzperkussion (oder Ultraschall) zuverlässig zu diagnostizieren. Die typische RAO ist eine nicht infektiöse Bronchitis/Bronchiolitis. Entsprechend wird sie nicht von Fieber begleitet, und Veränderungen im Blutbild fehlen oder sind diskret wie Anstiege von Fibrinogen oder Serum Amyloid A bei akuter Exazerbation.

Nasenausfluss kann in Ruhe fehlen; nach der Arbeit beobachtet man im typischen Fall einen weißlichen, von Bläschen durchsetzten und mukopurulenten Ausfluss. Die Bronchiolitispatienten husten oft im Stall anlässlich der Fütterung und in Anfällen. Wichtig ist das Kardinalsymptom der Dyspnoe, welche die RAO klar von der leichtergradigen IAD abgrenzt: Die Pferde zeigen fast ausnahmslos eine erschwerte Atmung bei anfänglich wenig erhöhter Atemfrequenz. Die angestrenzte Expiration verläuft gut sichtbar unter Beteiligung der Bauchmuskulatur in zwei Phasen (doppelschlägige Atmung; „Dampfbinne“) bis zu ausgeprägter Nüstern- und Afteratmung. Während Lungenfunktionsmessungen meist nur in der Forschung einsetzbar sind, lässt sich die Lungenfunktionseinschränkung mittels der Blutgasuntersuchung (verminderter arterieller Sauerstoffpartialdruck, paO_2) relativ praxisnah dokumentieren.

Das Auskultationsgeräusch ist meist deutlicher als beim gesunden Pferd. In Zweifelsfällen sollte während einer künstlich forcierten Atmung (z. B. Rückatmung in Plastiksack) die Lunge auskultiert werden. Ein feinblasiges Rasseln und gelegentlich giemende Auskultationsgeräusche finden sich bei zähem Sekret, respektive bei Bronchospasmen.

In atypischen Fällen, insbesondere wenn sie nicht oder nur schlecht auf die Behandlung ansprechen, ist außerdem auf klinische Hinweise für seltene Differentialdiagnosen und Komplikationen zu achten. Dazu gehören z. B. Lungenfibrosen/interstitielle Pneumopathien (z. B. EHV-5 Infekt), Bronchiektasien, destruktives alveoläres Emphysem mit irreversibler Lungenerweiterung oder Lungenhochdruck und Cor pulmonale. Bei solchen Patienten kann eine radiologische Untersuchung des Thorax sehr aufschlussreich sein.

Literatur

Die Literatur zu diesem Artikel kann beim Autor erfragt werden.

Kontakt

Prof. Dr. Vinzenz Gerber, Institut suisse de médecine équine ISME, Vetsuisse Fakultät, Universität Bern und Agroscope, Schweiz
info.bern@ismequine.ch

Möglichkeiten und Grenzen der Arzneitherapie bei obstruktiven Atemwegserkrankungen des Pferdes

Getu Abraham

Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie, Universität Leipzig

Obstruktive Atemwegserkrankungen beim Pferd (wie die sog. Recurrent Airway Obstruction, RAO) sind oft multifaktoriell bedingte Ventilationsstörungen und zählen weltweit zu den häufigsten chronischen Krankheiten und führen zu massiven Leistungsdepressionen sowie Wirtschaftsverlusten. Die Behinderung des Luftstroms entsteht durch die Einengung des freien Querschnitts im alveolo-bronchialen System. Sekretstau, Ödembildung in der Bronchialwand oder verstärkte Kontraktion der glatten Atemwegsmuskulatur verringern überproportional das Bronchiallumen. Diese nachteilig veränderten Strömungsverhältnisse können vor allem in der Expirationsphase klinisch beobachtet werden. Die zunehmenden Strömungswiderstände führen zu einem allmählich steigenden Residualvolumen der Lunge, d.h. es bleibt immer mehr Luft in der Lunge zurück, die Alveolen und Bronchiolen werden überbläht und bleiben am Ende starr. In Folge dessen entwickelt sich ein Lungenemphysem mit irreversiblen Schädigungen und strukturellen Veränderungen der Alveolen und Bronchiolen, die mit einer erheblichen Beeinträchtigung der Lungenfunktion einhergehen. In-vitro-Untersuchungen weisen darauf hin, dass mechanische Kompressionskräfte, die während einer Bronchokonstriktion entstehen, ein von einer Entzündung unabhängiges Remodelling der Luftwege induzieren können.

Bei RAO des Pferdes besteht die Möglichkeit der Behandlung darin, die Bronchokonstriktion und die Entzündung aufzuhalten sowie die mukoziliäre Clearance zu verbessern. Im Allgemeinen ist die RAO allerdings eine schlecht behandelbare Erkrankung und bei vielen adulten Pferden wird keine vollständige RAO-Kontrolle erwirkt. Das liegt zum einen daran, dass die Auslöser aus der Umwelt stammen und vielfältig sind, und zum anderen, dass der RAO möglicherweise ursächlich auch eine allergische Erkrankung zugrunde liegt. Der Hauptumweltfaktor, die Haltung, scheint von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung der Erkrankung zu sein. Nach heutiger Auffassung ist bei RAO die chronische Entzündung der Atemwege eine Ursache, die auch für die Symptome verantwortlich gemacht wird. Akute Episoden oder Exazerbationen sind zwar durch verschiedene Auslöser wie Anstrengungen oder Infektionen bedingt, der Charakter der Inflammationsreaktion ist jedoch unabhängig vom Auslöser weitgehend identisch. Eine Vielzahl von Entzündungszellen insbesondere T-Zellen und Neutrophile Granulozyten, aber auch Fibroblasten, Epithelzellen und ggf. Mastzellen spielen eine wichtige Rolle in der Ausbildung dieser Entzündungsreaktion. Die therapeutischen Strategien fokussieren sich daher auf drei Säulen: Umweltkontrolle, medikamentöse Symptomtherapie und direkte Antagonisierung der bei RAO beteiligten Entzündungszellen.

Folgende Therapieziele sollen in Abhängigkeit von der Ausprägung und den Begleiterkrankungen des Pferdes definiert werden:

- Vermeidung akuter und chronischer Krankheitserscheinungen
- Normalisierung der Lungenfunktion und Reduktion der bronchialen Hyperreagibilität
- Vermeidung einer Progredienz der Erkrankung
- Reduktion der RAO-bedingten Letalität
- Vermeidung unerwünschter Arzneimittelwirkungen

Neben der medikamentösen Therapie sind präventive und nicht-medikamentöse Maßnahmen unverzichtbare Maßnahmen der RAO-Behandlung. Hierzu gehören insbesondere Maßnahmen zur Prävention von Umweltfaktoren, wie Heustaub, Schimmelpilzsporen und andere allergen wirkende organische und anorganische Partikel der Stallluft, die möglicherweise

Überempfindlichkeitsreaktionen des Immunsystems bei RAO hervorrufen können. Die Umstellung auf Offenstallhaltung oder die Haltung auf der Weide sowie die regelmäßige und kontrollierte Bewegung in risikoarmer Umgebung kann zur Lufthygiene beitragen, wobei diese Maßnahmen nur saisonabhängig angewendet werden können.

Die medikamentöse RAO-Therapie ist empfohlen, wenn eine zeitnahe Verbesserung der Stallluft nicht implementiert werden kann und die Tiere schwerwiegende klinische Symptome der Erkrankung zeigen. Nach wissenschaftlicher Evaluation der RAO-Behandlungsmethoden werden die Bronchodilatation und die Entzündungshemmung in den unteren Atemwegen als prinzipielle Therapieziele angesehen. Bronchospasmolytika (synonym Bronchodilatoren) wurden zur Asthmatherapie beim Menschen entwickelt und beeinflussen den Tonus der Atemwegsmuskulatur über das autonome Nervensystem. Der basale Tonus der glatten Atemwegsmuskulatur ist im Wesentlichen durch den Nervus vagus (Parasympathikus) via cholinerge Rezeptoren und zu geringem Anteil durch den Sympathikus via adrenerge Rezeptoren kontrolliert. Bronchospasmolytika bewirken eine Entspannung der glatten Atemwegsmuskulatur bei RAO oder humanem Asthma durch Stimulation der β_2 -Rezeptoren. In der Humanmedizin werden Bronchodilatoren im Wesentlichen per inhalationem eingesetzt, und beim Pferd nur oral oder parenteral. Zur Anwendung bei diesem Tier ist nur das langwirksame Clenbuterol (Ventipulmin®) zugelassen. Allerdings lässt die Wirkung von Clenbuterol nach langzeitiger Anwendung (ca. nach zwei Wochen) aufgrund der Abnahme der β_2 -Rezeptorfunktion und -expression (Toleranzentwicklung) in den Glattmuskel- und Atemwegsepithelzellen nach. Um den Wirkungsverlust auszugleichen muss daher die Dosis des β_2 -Agonisten erhöht werden. Unter Umständen kann diese systemische Monotherapie die Krankheitssymptome und die Prognose verschlechtern. Der inhalative Applikationsweg wird bei Asthmatherapie bevorzugt, da hierüber hohe lokale Wirkstoffkonzentrationen in Bronchien und Bronchiolen erreicht werden und weniger systemische Nebenwirkungen auftreten, jedoch gibt es keine solche in der Veterinärmedizin zugelassenen inhalativen β_2 -Agonisten.

Glucocorticoide werden seit 1950 zur Behandlung von Asthma bronchiale des Menschen und als Mittel der ersten Wahl zur Entzündungshemmung verwendet. In der Veterinärmedizin sind sie auch zur Behandlung von RAO des Pferdes unverzichtbar geworden. Diese Arzneimittel werden bei der RAO-Therapie vorwiegend als add-on-Therapie zu Clenbuterol eingesetzt, jedoch nicht in Form einer Fixkombination. Ex-vivo-Untersuchungen haben gezeigt, dass die Applikation beider Arzneimittelgruppen in Kombination das Nutzen-Risiko-Verhältnis verbessert. Bei Tieren sind orale Glucocorticoide Mittel der Wahl. Dagegen werden die Fixkombinationen (β_2 -Agonisten mit Glucocorticoiden) zur Asthmabehandlung in der Regel als Inhalationstherapie eingesetzt. Die therapeutische Bedeutung inhalativer Formulierungen (sowohl als Mono- als auch als Kombinationsformulierung) ist in der Veterinärmedizin zur Anwendung beim Pferd noch nicht ausreichend wissenschaftlich evaluiert. Bisher beschränkte sich das Spektrum der Arzneitherapie auf die seit Jahren existierenden Arzneimittel. Da eine Zulassung neuer Wirkstoffe und Therapieregime zur Behandlung der RAO jedoch nicht in Sicht ist, ist es dringend notwendig die bestehenden therapeutischen Möglichkeiten besser an die individuellen Bedürfnisse der RAO-Patienten anzupassen.

Im Zentrum der aktuellen pharmakologischen Forschung liegt die direkte Beeinflussung der immunologischen Zellen, die durch Freisetzung von Entzündungsmediatoren essentiell an der Induktion und Aufrechterhaltung der RAO beteiligt sind. Vereinzelt wurden bereits Zytokin-Modulatoren, Lipooxygenase-Inhibitoren und Mastzellstabilisatoren bei RAO-Pferden getestet, jedoch konnte deren therapeutische Wirksamkeit objektiv und wissenschaftlich noch nicht belegt werden.

Durch neue Entwicklungen und Grundlagenforschungen wird es zunehmend besser gelingen, die Behandlung konkret dem vorliegenden RAO-Phänotyp anzupassen und somit mit höherer Wahrscheinlichkeit eine langfristige Kontrolle der Erkrankung mit vollständiger Symptombefreiheit zu erwirken.

Kontakt

Prof. Dr. Getu Abraham, Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie,
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
gabraham@vetmed.uni-leipzig.de

Therapie der tiefen Thoraxverletzungen beim Pferd

Anton Fürst, Michelle Jackson, Felix Theiss

Klinik für Pferdechirurgie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich

Einleitung

Thoraxverletzungen können oberflächlich sein und lediglich eine einfache Wundversorgung benötigen, oder auch so tief reichen, dass Rippen, Pleurahöhle, Lunge, große Gefäße oder auch das Herz betroffen sein können. Das Mediastinum unterteilt den Thorax in eine rechte und linke Höhle, wo bei es bei Pferden häufig im kaudoventralen Bereich kleine Fenestrations aufweist, was bei Verletzungen beachtet werden muss. Tiefe Thoraxverletzungen können einerseits durch die Entstehung eines Pneumothorax vitale Funktionen von Herz und Lunge beeinträchtigen, andererseits können Infektionen wie Pleuropneumonien sekundär auftreten (1). Andere Komplikationen sind ein subkutanes Emphysem, Osteomyelitis oder Fistelbildung. Die häufigste Ursache von penetrierenden Thoraxverletzungen sind Kollisionen mit festen Gegenständen wie Äste von Bäumen und Büschen, Zaunbestandteile der Paddocks und der Weiden oder auch Hörner von anderen Tieren. Sehr häufig spricht man auch von Pfählwunden. In diesem Beitrag sollen die Untersuchung und das Management von Pferden mit tiefen Thoraxverletzungen näher beschrieben werden.

Untersuchung der Patienten

Jede Verletzung im Bereich des Thorax muss als potentiell gefährlich betrachtet werden. Die Untersuchung muss rasch und gezielt erfolgen, weil jeder Zeitverlust das Risiko von schweren Komplikationen für das Pferd erhöht. Ähnlich wie auch für andere Verletzungen ist es nicht möglich von außen zu sagen, wie tief die Verletzung ist und welche weiteren Strukturen betroffen sind. Nicht immer ist das Vorhandensein eines Fremdkörpers offensichtlich. Der Patient soll zuerst aus der Ferne betrachtet werden, um das Atemmuster zu evaluieren. Bei der Auskultation muss besonders gut darauf geachtet werden, ob die Atemgeräusche in allen Regionen die gleiche Intensität besitzen. So sind die Atemgeräusche bei einem Pleuralerguss in der Regel ventral und bei einem Pneumothorax dorsal gedämpft. Durch eine sorgfältige Palpation der Wunde und des Thorax kann eine subkutane Luftansammlung erfasst werden. Eine gleichzeitige Verletzung der Lunge lässt sich am Austritt von blutigem Schaum aus der Wunde und aus der Nase erkennen (2). Mittels Blutgasanalyse kann die Sauerstoffsättigung im Blut ermittelt werden. Die radiologischen und ultrasonographischen Untersuchungen bringen viele interessante und wertvolle Informationen. Die Techniken dazu werden unter anderem in der Arbeit von Gehlen et al. ausführlich beschrieben (3). Mittels der Thorakoskopie kann die Pleurahöhle weiter sehr gut evaluiert werden. Die Untersuchungen von Scharner haben gezeigt, dass auch bei Patienten mit Beeinflussung der Lungenfunktion eine Thorakoskopie am stehenden sedierten Pferd sicher durchgeführt werden kann (4). Auch die Bauchhöhle muss sehr genau untersucht werden, da tiefe Thoraxverletzungen auch Abdominalorgane verletzen können (5).

Allgemeine Grundsätze zur Therapie

Pferde mit tiefen Thoraxverletzungen müssen rasch an eine Klinik überwiesen werden, da Stichverletzungen im Bereich des Rumpfes zu lebensbedrohlichen Zuständen führen können. Als erstes muss die Herz-Kreislauffunktion stabilisiert und eine fast immer vorhandene Ateminsuffizienz therapiert werden. Fremdkörper dürfen unter keinen Umständen ohne besondere Vorkehrungen entfernt werden. Eine adäquate Schmerztherapie, allenfalls inkl. lokaler Anästhesie der

Interkostalnerven, ist essentiell. Die Wunde muss genau auf das Vorhandensein eines Fremdkörpers untersucht werden. Bei der Wundspülung muss ein weiteres Eindringen von Fremdmaterial in die Pleuralhöhle verhindert werden. Die vakuumassistierte Wundbehandlung scheint bei Thoraxwunden sehr gut zu funktionieren. Aufgrund des erhöhten Anästhesie-Risikos von diesen Patienten sollte die Therapie möglichst am stehenden Pferd vorgenommen werden. Es ist zu beachten, dass auch stumpfe Verletzungen am Rumpf zu schweren Veränderungen wie Zwerchfellruptur, Rippenfraktur oder Lungenkontusion führen können.

Verschiedene Komplikationen von tiefen Thoraxverletzungen

Subkutanes Emphysem

Tiefe Verletzungen im Bereich der Brust wie auch der Achsel können zu einem ausgedehnten subkutanen Emphysem führen (Abb. 1). Während der Bewegung des Pferdes wird Luft in die Wunde angesaugt und anschliessend über Muskelkontraktionen weiter in der Unterhaut verteilt. Das subkutane Emphysem kann sich sehr weit ausdehnen und bis zur Schulter, dem Rumpf und selbst bis zur Kruppe reichen. Ein geringes subkutanes Emphysem führt zu keinen weiteren Komplikationen, während ein starkes Emphysem selbst die Atmung beeinträchtigen kann. In schweren Fällen, wenn der Druck gross genug ist, dass Gas über das Mediastinum in die Pleuralhöhle dringt, kann sich aus einem subkutanen Emphysem ein Pneumothorax entwickeln (6). Solche Pferde müssen deshalb gut überwacht werden. Diese subkutane Luftansammlung kann das Legen eines Venen-Katheters, wie auch die Durchführung einer Tracheotomie sehr stark erschweren. Um eine weitere Luftansammlung zu verhindern, sollte die Wunde wenn möglich nach einer guten Reinigung verschlossen und die Bewegungen des Pferdes limitiert werden. Es kann mehrere Wochen dauern, bis die Luft resorbiert wird (1).

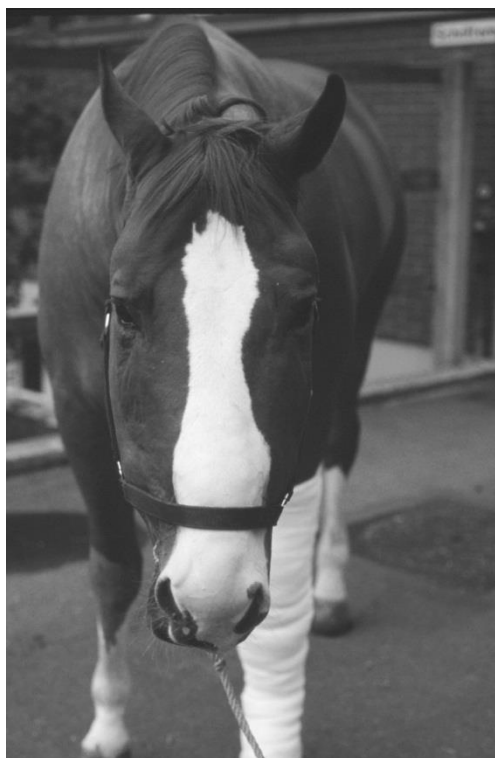


Abb. 1 Beispiel eines subkutanen Emphysems nach einer Brustverletzung

Pneumothorax

Unter einem Pneumothorax verstehen wir eine Luftansammlung innerhalb der Pleurahöhle, wobei beim Pferd anatomisch bedingt meist ein beidseitiger Pneumothorax vorliegt. Neben tief perforierenden Thoraxverletzungen können auch Verletzungen der Trachea, der Lunge oder des Oesophagus zu einem Pneumothorax führen, oder er kann als Folge einer Pleuropneumonie oder eines subkutanen Emphysems auftreten. Die betroffenen Pferde zeigen Tachypnoe, Dyspnoe und Unruhe sowie eine allenfalls von außen sichtbare Ausdehnung des Brustkorbes. Im klassischen Fall sind die physiologischen Lungengeräusche im dorsalen Bereich vermindert oder fehlen ganz (7). Man unterscheidet zwischen einem offenen (Defekt in der Brustwand) und einem geschlossenen (Defekt im Lungenparenchym) Pneumothorax. Der gefährlichste Pneumothorax ist der Spannungspneumothorax, wo es infolge einer Ventilwirkung zu einem hohen Druck innerhalb der Pleurahöhle kommen kann (7). So werden einerseits die Lungen komprimiert und andererseits die Gefäße und das Herz einem erhöhten Druck ausgesetzt, was zu einer Tachykardie, Hypoxämie oder sogar Schockzustand führen kann. Radiologisch kann man einen Pneumothorax und dessen Ausmaß sehr sicher erkennen und beurteilen (Abb. 2), während die ultrasonographische Diagnose einem geübten Auge vorbehalten ist.

Pferde mit einem Pneumothorax müssen als Notfallpatienten sehr rasch behandelt werden. Bei allen Pferden müssen die Wunden nach allen Regeln der Kunst verschlossen werden. Zusätzlich soll den Pferden Sauerstoff mit einem Flow von 5 bis 15 Liter verabreicht werden. Nach dem Wundverschluss und der Stabilisation des Patienten kann die Luft im Thorax durch Einführen eines Katheters zwischen dem 11. und 15. Interkostalraum mittels einer großen Spritze oder einer Pumpe abgesaugt werden. Dies darf nicht zu schnell geschehen, um die Entstehung eines Lungenödems zu verhindern. Bei einem Spannungspneumothorax ist es von Vorteil, den Katheter zu belassen, damit zu einem späteren Zeitpunkt wieder Luft aspiriert werden kann.



Abb. 2 Typische große Brustverletzung mit unklarer Beteiligung der Pleurahöhle

Pleuropneumonie

Tiefe Thoraxverletzungen können auch zu einer Pleuropneumonie führen. Diese Pferde zeigen nebst Dyspnoe und Schmerzen im Thoraxbereich meist auch eine erhöhte Körpertemperatur. Die Diagnose wird mittels Thorakozentese und zytologischer Untersuchung des Ergusses gestellt. Unter Ultraschallkontrolle wird meist im 7. Interkostalraum, ca. 7 cm dorsal des Olekranons, punktiert. Pleuropneumonien müssen sehr sorgfältig behandelt werden. Neben einer systemischen Behandlung mit Breitbandantibiotika ist eine Wund- und Thoraxdrainage von größter Bedeutung. Dies kann mittels eines Thoraxkatheters erreicht werden. Auch kann eine offene Thoraxspülung oder

auch –drainage erforderlich werden. Ein Thoraxdrain wird zwischen dem 6. und 9. Interkostalraum unter Ultraschallkontrolle eingeführt und ein Heimlichventil eingesetzt. Zur besseren Fixierung kann der Drain zuerst 1-2 Interkostalräume subkutan geschoben werden.

Rippenfrakturen

Rippenfrakturen können durch Kollisionen mit anderen Gegenständen oder auch infolge von Schlagverletzungen entstehen. Bei Fohlen werden Rippenfrakturen häufig kurz nach der Geburt diagnostiziert. Rippenfrakturen können einerseits die Atmung der Pferde beeinträchtigen und andererseits durch die scharfen Enden zu Verletzungen des Brustfells und der Lunge, aber auch des Herzens oder Zwerchfells führen. Infolge von Blutgefäßverletzungen kann es auch zu einem Hämothorax kommen. Betroffene Patienten zeigen je nach Ausmaß der Verletzung eine lokale Schwellung, Schmerzhaftigkeit und weitere Symptome wie Brustwandflattern (flail chest). Rippenfrakturen können ultrasonographisch sehr sicher diagnostiziert werden (8).

Therapeutisch müssen die frakturierten Rippen wie auch die sekundären Komplikationen berücksichtigt und behandelt werden. Eine Sequesterbildung mit daraus resultierender Fistelbildung kann auftreten. Bei adulten Pferden können die frakturierten Rippen kürettiert und teilweise auch entfernt werden.

Bei Fohlen werden die Rippenfrakturen in der Regel stabilisiert, damit die Atmung verbessert und mögliche Komplikationen verhindert werden können. Dazu werden kleine Platten mit sehr kurzen Schrauben wie das 2.4 Unilocksystem oder auch andere Methoden verwendet (9).

Zwerchfellsruptur

Rupturen des Zwerchfells können infolge eines stumpfen oder auch direkten Traumas erfolgen. Die Diagnose einer Zwerchfellsruptur ist schwierig zu stellen und meist ist nebst Röntgenaufnahmen eine diagnostische Laparoskopie oder eine Thorakoskopie erforderlich. Eine genaue Anamnese ist wichtig. Die betroffenen Pferde zeigen ausser Dyspnoe und abnormen Auskultationsbefunden zusätzlich Koliksymptome unterschiedlichen Grades.

Die Therapie muss ebenso meist chirurgisch erfolgen. Dazu kann der Zugang mittels Thorakoskopie, Laparoskopie oder einer Laparotomie gewählt werden (10).

Schlussfolgerung

Bei Pferden mit Dyspnoe muss differentialdiagnostisch zwischen einem Pleuralerguss, einem Pneumothorax und einer hochgradigen Pneumonie unterschieden werden. Alle diese Krankheiten können auch durch eine tiefe Thoraxverletzung entstehen. Mittels Röntgen, Ultraschall und Thorakozentese inkl. Zytologie kann die Diagnose bestätigt und die entsprechende Therapie eingeleitet werden.

Literatur

1. Sprayberry KA, Barrett EJ. Thoracic trauma in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2015;31(1):199-219.
2. Frey K. Nicht übertragbare Krankheiten der Pleura und der Brusthöhle. In Dietz O, Huskamp B, Herausgeber. *Handbuch der Pferdepraxis.* 3. Aufl. Georg Thieme Verlag; 2006. S. 337
3. Gehlen H, Niedermaier G, May A. Was bringt die Röntgen- und Ultraschalluntersuchung bei Lungenerkrankungen des Pferdes? *Pferdeheilkunde* 2009;25(4):288-301.
4. Scharner D. Thorakoskopische Untersuchungen beim Pferd - Indikationen in sechs Fällen. *Praktischer Tierarzt* 2012; 93(10):916-921
5. Lavery S, Lavoie JP, Pascoe JR, Ducharme N. Penetrating wounds of the thorax in 15 horses. *Equine Vet J.* 2010;28(3):220-224.

6. Hance SR, Robertson JT. Subcutaneous emphysema from an axillary wound that resulted in pneumomediastinum and bilateral pneumothorax in a horse. *J Am Vet Med Assoc.* 1992;200(8):1107-10.
7. Boy MG, Sweeney CR. Pneumothorax in horses: 40 cases (1980-1997). *J Am Vet Med Assoc.* 2000;216(12):1955-9.
8. Jean D, Picandet V, Macieira S, Beauregard G, D'Anjou MA, Beauchamp G. Detection of rib trauma in newborn foals in an equine critical care unit: a comparison of ultrasonography, radiography and physical examination. *Equine Vet J* 2007; 39(2):158-63.
9. Bellezzo F, Hunt RJ, Provost R, Bain FT, Kirker-Head C. Surgical repair of rib fractures in 14 neonatal foals: case selection, surgical technique and results. *Equine Vet J.* 2004;36(7):557-62.

Kontakt

Prof. Dr. Anton Fürst, Pferdeklinik der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich, Schweiz
afuerst@vetclinics.uzh.ch

Management von DDSP

Christoph J. Lischer

Freie Universität Berlin

Die Instabilität des weichen Gaumens ist die häufigste dynamische Obstruktion der oberen Atemwege. Typischerweise wölbt sich der kaudale Teil des weichen Gaumens in den Nasopharynx und behindert dadurch den normalen Luftstrom. Mit zunehmender Instabilität kann sich der kaudale Teil des weichen Gaumens dorsal über den Kehldeckel verlagern (Dorsal Displacement of the soft Palate = DDSP), was die Obstruktion der oberen Atemwege noch weiter verstärkt. DDSP kommt bei vielen Pferderassen vor (geschätzte Prävalenz ca. 1-2%), ist aber bei Rennpferden besonders häufig. Typischerweise tritt die Verlagerung intermittierend während der Arbeit auf. Seltener ist sie persistierend, wenn das Gaumensegel schon im Ruhezustand über dem Kehldeckel liegt und sich nicht spontan oder nach dem Schluckakt zurückverlagert.

Die genaue Aetiopathogenese ist noch nicht geklärt. Als mögliche Faktoren werden neuromuskuläre Dysfunktionen, Entzündungen oder Infektionen, sowie anatomische Abnormalitäten und Variationen von Larynx und Pharynx genannt. Die Position des Larynx in Relation zum Zungenbein ist hier von besonderem Interesse. Z. B. war bei Pferden mit DDSP das Basihyoid weiter nach ventral verlagert als bei nicht betroffenen Pferden. Die Kopf/Hals Position scheint die Inzidenz von DDSP auch zu erhöhen. Es wird spekuliert, dass eine starke Kopf/Hals Flexion den Kehlkopf nach kaudal zieht und den Unterdruck erhöht. Diese Kombination soll eine Verlagerung des Gaumensegels begünstigen. DDSP wird auch immer häufiger als Komplikation nach chirurgischer Versorgung von anderen Erkrankungen der oberen Atemwege beobachtet.

Die Diagnose wird via Endoskopie gestellt, wo der Kehldeckel nicht sichtbar ist, weil er vom Gaumensegel überdeckt ist. Betroffene Pferde schlucken oft, was zu einer temporären Korrektur der Situation führt. Die Endoskopie wird entweder in Ruhe oder in Bewegung durchgeführt. Bei der Ruheendoskopie ist eine vorhandene Dorsalverlagerung des Gaumensegels ein relativ verlässlicher positiver Test für ein DDSP. Eine normale Position des Kehldeckels ist jedoch ein sehr schlechter negativer Indikator für ein DDSP.

In jedem Fall ist der Goldstandard eine Videoendoskopie des Pferdes in Arbeit. Die grösste diagnostische Sicherheit wird erreicht, wenn es gelingt den Zustand der maximalen Leistung herbeizuführen unter Berücksichtigung der Geschwindigkeit, der Dauer, des Zaumzeuges, und der Kopf/Hals-Haltung. Oft gelingt das mit dem Over-ground Endoskop unter dem Reiter bzw. am Sulky besser als mit dem Pferd auf dem Laufband. Ultraschall und Röntgen sind sinnvolle Hilfsmittel, um die relative Position von Kehlkopf und Basihyoid zu dokumentieren und gegebenenfalls andere Abnormalitäten zu erkennen.

Wie bei jeder Krankheit ist es dringend notwendig jede mögliche Ursache zuerst zu behandeln. Typischerweise sind das Entzündungen bzw. Infektionen der oberen Atemwege, die mit Ruhe, Entzündungshemmern, und gegebenenfalls Antibiotika behandelt werden. Strukturelle Veränderungen wie zum Beispiel Abszess, Zysten oder Verletzungen erfordern unter Umständen zusätzliche Behandlungsmassnahmen.

Erst wenn die medikamentelle Behandlung erfolglos ist und keine strukturellen Abnormalitäten vorliegen, erfolgt die spezifische Behandlung des DDSP.

Nasenbänder, Zungenbänder und verschiedene Gebisse zeigten bisher keinen nachweisbaren Erfolg bei der Behandlung von DDSP. Als einzige nicht chirurgische Methode scheint jedoch der an der ventralen Seite des Kehlkopfes angebrachte Kehlkopf-Zungenbein-Halteapparat einen positiven

Einfluss zu haben. Mit diesem Gerät wird der Kehlkopf während der Belastung nach dorsal und rostral verlagert.

Die heute am weitesten verbreitete und besten akzeptierte chirurgische Therapie des DDSF ist die Verlagerung des Kehlkopfes nach dorsal und rostral (Laryngeal tie forward). Bei dieser Methode wird der Kehlkopf mit einem nichtresorbierbaren starken Faden zwischen Zungenbein und Thyroid nach rostral und dorsal gezogen. Die gleichzeitige Myektomie des M. sternohyoideus und M. sternothyroideus ist optional. Nach der Operation erhält das Pferd 4-6 Wochen Boxenruhe und kontrollierte Bewegung im Schritt. In dieser Zeit wird Futter und Wasser in Schulterhöhe des Pferdes angeboten. Danach wird das Training mit zunehmend gesteigerter Intensität wieder aufgenommen. Die Erfolgsrate der Operation erreicht 80% und die Komplikationsrate und Nebenwirkungen für das Pferd sind minimal.

Kontakt

Prof. Dr. Christoph J. Lischer, Klinik für Pferde, Freie Universität Berlin
christoph.lischer@fu-berlin.de

Sinuszysten beim Pferd - Fortschritte in der Diagnostik (CT und Endoskopie) und Therapie

Michael Nowak, S. Schulte - Bahrenberg

Pferdeklinik Duisburg

Sinuszysten stellen mit ca. 15% der Sinuserkrankungen nach den primär bakteriell bedingten und dentogenen Sinusitiden die drittgrößte Gruppe der Pathologien in der Nasenhöhle/Nasennebenhöhle des Pferdes dar. Sinuszysten fallen in der Regel klinisch erst durch Sekundärsymptome (einseitiger Nasenausfluss, Umfangsvermehrung im Angesicht, Stridor) auf. Deshalb werden sie häufig erst spät diagnostiziert. In der Literatur hat die röntgenologische Untersuchung gegenüber der Endoskopie einen deutlich höheren Aussagewert. Noch präzisere Erkenntnisse liefert bislang nur die CT-Untersuchung. Unter den therapeutischen Verfahren hat es in den letzten ca. 15 Jahren zunächst einen Wandel von der Behandlung in Allgemeinnarkose hin zur Stehendbehandlung gegeben.

Die Behandlungen selbst werden durch sog. „Flap“-Operationen (großzügige Eröffnung der Schädeldecke auf Höhe der Stirnmuschelhöhle) durchgeführt. Ein zweiter Eingriff im Stehen durch den gleichen „Flap“ ca. 3-7 Tage nach der Erstoperation soll die Erfolgsrate deutlich verbessern. Die vollständige Entfernung der Zysten kapsel ist keine zwingende Voraussetzung für die erfolgreiche Behandlung einer Sinuszyste.

Nur in wenigen Einzelfallberichten wird bisher auf die Möglichkeit der transnasalen endoskopisch gesteuerten Behandlung mittels Laser oder chirurgischen Instrumenten verwiesen. Die Angaben in der Literatur zur Prognose sind unterschiedlich. Die Angaben zur Rezidivrate schwanken ca. zwischen 5 – 30%.

Dieser Vortrag hat folgende Zielsetzungen:

1. Eine Abkehr von der Allgemeinnarkose hin zur Stehendbehandlung zu unterstützen.
2. Den Wert der transnasalen Sinus-Endoskopie („TSE“) als wichtiges Hilfsmittel in der Diagnostik, Therapie und der Nachversorgung der Patienten heraus zu streichen.
3. Den Mehrwert computertomographischer Untersuchungen für die Behandlung aufzuzeigen.
4. Einen Hinweis zu geben, dass die vollständige Entfernung einer Zyste nicht das primäre Ziel bei der Behandlung sein muss.
5. Durch Fallbeschreibungen aus dem eigenen Patientengut die Möglichkeiten des minimal invasiven Vorgehens zu veranschaulichen.

Diagnostik

1. Endoskopie

Die gewöhnlich durchgeführte endoskopische Untersuchung der Nasenhöhle mittels Bronchoskop beschränkt sich auf die Darstellung des gemeinsamen Nasengangs, auf Anteile des unteren und mittleren Nasengangs sowie der mittleren Nasenmuschelhöhle und geringer Anteile des Ethmoids.

Mit der Entwicklung der transnasalen Sinus-Endoskopie (TSE n. Nowak) beim Pferd haben sich neue Welten eröffnet hinsichtlich der Befunderhebung im Bereich der Nasenhöhle, Nasennebenhöhlen und deren vorgeschalteten Nasenmuschelbereiche, den sogenannten „rostralen Abteilungen“ der unteren und oberen Nasenmuschel.

Diese Technik ermöglicht im Zusammenspiel mit anderen bekannten diagnostischen Verfahren am Kopf des Pferdes wie Röntgen, CT, MRT, Ultraschall, Maulhöhlenuntersuchung, eine wesentlich höhere Informations-/Befunddichte. Es erhöht das Verständnis über die pathologischen Abläufe und

erlaubt zudem minimal-invasivere therapeutische Eingriffe am stehenden Pferd nebst der Möglichkeit einer wesentlich effizienteren post-operativen Nachversorgung und Kontrolle der Patienten im Vergleich zur röntgenologischen Kontrolluntersuchung. Dies gilt auch und insbesondere bei der Diagnostik und Therapie von Sinuszysten beim Pferd.

Abweichungen von der anatomisch-physiologischen Norm werden mittels der transnasalen Sinus-Endoskopie (TSE n. Nowak) erfasst. Dies betrifft:

1. räumliche Veränderungen. Bei Zysten sind dies in der Regel rundliche Zubildungen von wenigen Millimeter-Größe in der Sinusschleimhaut bis hin zu vollständigen Verlegungen von Nasengängen und der Verdrängungen von Gewebestrukturen außerhalb der Zyste (u.a. Nasenmuschelanteile, Ethmoid, Backenzahnwurzeln, Canalis infraorbitalis, Auge, Aperturen).
2. die „TSE“ ermöglicht zudem die Beurteilung der Schleimhäute: u.a. Farbe, Gefäßdarstellung, Schwellung, Sekretion.
3. mittels Tastsonden kann die Elastizität der Wand der Umfangsvermehrung (derb-fest, weich beweglich) erprobt werden.

Die gewonnenen Informationen helfen im Zusammenhang mit den anamnestischen Angaben, der klinischen und radiologischen Untersuchung:

1. Den Verdacht oder gar die Diagnose einer Sinuszystenerkrankung zu stellen
2. Das weitere Vorgehen festzulegen:
 - a. zunächst die Behandlung mit abschwellenden (und schleimlösenden) Medikamenten oder
 - b. die Festlegung weiterer diagnostischer Verfahren: mikrobiologische Probenentnahme, Ultraschall (bei Umfangsvermehrung und Druckschmerz am Kopf), CT-Untersuchung im Stehen, (MRT in Allgemeinnarkose?)
 - c. die Wahl der therapeutischen Maßnahmen im Stehen: entweder transnasal endoskopische Sinus-Chirurgie („TESS“) oder via Trepanation oder via „Flap“-Operation, (Stehend-Operation oder Op. in Allgemeinnarkose)

2. Computertomographie

Bei dem Verdacht auf das Vorliegen einer Sinuszyste ist eine CT-Untersuchung in den meisten Fällen zu empfehlen. Weder die radiologische Untersuchung noch die transnasale Sinus-Endoskopie sind in der Lage, das vollständige räumliche Ausmaß und die potenziellen „Kollateralschäden“ in der Klarheit darzustellen wie es eine computertomographische Untersuchung vermag. Bei Verzicht auf ein CT ist sowohl die bestmögliche Wahl des therapeutischen Vorgehens wie auch die Prognose eingeschränkt. Last but not least kann die in der Literatur angegebene Rezidivrate durch den Einsatz des CTs gesenkt werden.

Chronische Sinuszysten haben die Tendenz, die natürlichen Abflusswege aus den Nasennebenhöhlen durch eine Entzündung/Ödemisierung der Sinusschleimhaut zu verschließen. Dadurch kommt es nicht selten zu einer sekundären Sinusitis (klinisch: in aller Regel eher weißliches Sekret, ohne Geruch!). Im CT-Bild erscheinen die Nasennebenhöhlen / Nasenmuscheln dann generalisiert verdichtet. Ein solches CT-Bild korrekt zu befunden und zu interpretieren ist weitaus schwieriger als zu vermuten. Differenziert werden muss die primäre Zyste von sekundär erkrankten Anteilen wie der Nasenhöhle/Nasennebenhöhlen/Nasenmuscheln, dem Auge, der Backenzähne, des Infraorbitalkanals und weiteren Zysten usw. Dies gelingt im CT selbst mit Hilfe der Möglichkeit der Messung der Hounsfield-Einheiten nicht immer einfach. Zu empfehlen ist stets die Durchführung und Befundung eines CT im Knochen- und Weichteilmodus. Dabei gilt es besonderes Augenmerk auf den Nasenmuschelknochen bzw. Entzündungsanzeichen wie unregelmäßige Verdickungen des Nasenmuschelknochens zu legen. Sie geben Hinweise auf die Chronizität, die Möglichkeiten zur

Fensterung einer Zyste bei transnasalem endoskopischen (TSE) oder chirurgischem (TESS) Zugang, die Abheilungsdauer und Risiken sowie potenziellen Komplikationen.

Eine wesentliche Verbesserung in der CT Diagnostik bringt eine zusätzlich zum nativen CT durchgeführte CT Untersuchung NACH Ablassen der gesamten Sinusflüssigkeit. Durch diese Maßnahme wird die Sinuszystenwand sicher beurteilbar und sie lässt sich von sekundären Veränderungen (z.B. sekundär erkrankten Sinusanteilen oder weiteren Sinuszysten) besser abgrenzen.

Diese Maßnahme führen wir mittlerweile regelmäßig in Fällen durch, bei denen wir durch unsere diagnostischen Voruntersuchungen (Nativ-CT, Endoskopie, Röntgen, Ultraschall, Maulhöhlenuntersuchung, „An“-Behandlung mit abschwellenden Medikamenten) keine sichere Aussage / Befundung vornehmen können. Dadurch konnten wir unsere therapeutische Vorgehensweisen präoperativ wesentlich besser entscheiden, was letztlich auch zu besseren Resultaten führt (weniger invasives Arbeiten, besseres kosmetisches Resultat).

Therapie

1. Prä-operative medikamentelle Behandlung

Einige Sinuszysten zeigen ein progressives Wachstum. Dabei können Sie angrenzende Strukturen, (auch knöcherne) verlagern. Dies führt teilweise zu groben Änderungen der physiologischen anatomischen Verhältnisse, was wiederum bedeutsam ist 1. für die endoskopische Untersuchung/Befundung und 2. letztlich auch für den Behandlungsweg! Darüber hinaus können Strukturen zerstört oder abgebaut werden, z.B. die äußere Maxillawand (Druckatrophie). Diesen Umstand kann man sich zu Nutze machen, um eine Punktion einer Zyste im Stehen durchzuführen (zytologische/bakteriologische Untersuchung, s. oben CT Untersuchung nach Ablassen des Zysteninhaltes). Durch die räumliche Ausdehnung einer wachsenden Zyste kommt es zudem zu sekundären Entzündungen gesunder Sinusareale mit teils erheblichen Schleimhautanschwellungen. Diese führen zum Verschluss der natürlichen Aperturen, wodurch sekundäre Sinusitiden mit Nasenausfluss auftreten. Dies ist neben einer sichtbaren äußerlichen Umfangsvermehrung am Angesicht ein Anzeichen für den Pferdebesitzer, ihren Tierarzt zu konsultieren. In diesen Fällen ist eine prä-operative medikamentelle Behandlung mit Corticosteroiden und Schleimlösern sinnvoll. Dadurch kann es gelingen, die Abflusswege zu öffnen. Auf diesem Wege kann man im Röntgenbild, bei der endoskopischen Untersuchung und im CT eine bessere Einschätzung bzgl. der Lokalisation und des Ausmasses der primären Zyste erhalten. Zudem kann sich das Allgemeinbefinden des Pferdes spürbar bessern.

2. Transnasale endoskopische Sinus Chirurgie („TESS“)

Allgemeines

Im Fall einer notwendigen Sinuszystenbehandlung wird (immer noch) die operative Entfernung der Zyste vielfach in Allgemeinnarkose und Seitenlagerung durchgeführt. Als Zugang wird entweder ein Knochen-Flap auf Höhe der Stirnmuschelhöhle für die kaudalen Nasennebenhöhlen oder ein kombinierter Zugang über der rostrale und kaudale Kieferhöhle dorsal der Crista facialis angelegt. Dabei ist es das Ziel, die Zyste vollständig zu entfernen.

Zu dem oben genannten Vorgehen ergeben sich heutzutage Alternativen.

Grundsätzlich lassen sich die meisten Operationen am Kopf heutzutage unter Sedation im Stehen durchführen. Die Pferde tolerieren den Eingriff unter Einhaltung einiger Grundregeln im Stehen sehr gut:

1. Dauertropf-Infusion
2. Lokale Anästhesie inkl. Vasokonstriktion: 1. bei transnasalem Zugang: in die Zystenwand; 2. bei äußerem Zugang: subkutan zur Trepanation und anschließend in die Zystenwand
3. Nerven-Anästhesie : N. ethmoidalis, N. maxillaris /infraorbitalis

Der eleganteste Weg zur Behandlung von Sinuszysten ist zweifelsohne ein transnasal endoskopischer Zugang. Voraussetzung für derlei Eingriffe sind:

1. Sehr gute Kenntnisse der physiologischen Anatomie der Nasenhöhlen / Nasennebenhöhlen / Nasenmuscheln
2. Erfahrungen mit potenziellen anatomischen Gegebenheiten bei chronischen Erkrankungen der Nasenhöhle / Nasennebenhöhlen
3. Technische Gerätschaften/Personal:
 - a. im Durchmesser unterschiedlich große Endoskope mit Arbeitskanal; und verschiedenen Arbeitsinstrumenten (Biopsiezange, Injektionskanüle, Faszangenzangen, Druckspülung und Druckluft via Arbeitskanal)
 - b. ein Diodenlaser (mind. 20, besser 30 Watt Ausgangsleistung) mit unterschiedlichen Faserstärken (entsprechend der Durchmesser der Arbeitskanäle der Endoskope) und einem fokussierten wie auch radiärem Laserstrahl
 - c. HF-Chirurgie Gerät und Instrumente für einen trans-endoskopische Einsatz
 - d. Spezial-Instrumente für einen externen (separaten), neben dem Endoskop geführten transnasalen Einsatz / Zugang: Rongeuere, Sonden, Faszangenzangen, Schere, Spülinstrumente etc.
 - e. Absauggerät
 - f. 1-2 Monitore zur Darstellung entsprechender CT-Bilder in 3 Schnittebenen (transversal, coronal, sagittal), ein transnasal endoskopisches Bild der Voruntersuchung und ein endoskopisches „Live“-Bild der Operation
 - g. Für diese Eingriffe sind mind. 3, besser 4 Personen notwendig (ein Operateur, ein Endoskopieführer, ein Anästhesist, OP-Assistent)
 - h. OP-ständer mit separater Kopfaufgabe oder Kopfhalterung
4. Dauertropfinfusion zur i.v. Sedation und Schmerzausschaltung

Das Ziel des operativen Eingriffs bei transnasalem Zugang ist NICHT die vollständige Entfernung der Zystenwand. Vielmehr soll die Zystenwand (nach Möglichkeit) „großzügig“ gefenestert werden, um im Idealfall eine dauerhafte Belüftung und einen Abflussweg für das Sekret der verbliebenen Zystenwand zu erlangen. Unsere Erfahrungen zeigen u.a., dass

1. es innerhalb von 4-12 Wochen zu einer (nahezu) vollständigen Einstellung der Sekretbildung in der verbliebenen Zystenwand durch die sekretbildenden Becherzellen kommt. Gelingt dies, kommt es selbst bei erneutem postoperativen Verschluss der Wundöffnung nicht zu einem Rezidiv.
2. die verbliebene Zystenwand sich postoperativ verkleinert /zusammenzieht.
3. die Zystenkapselfür nur an Ihrem Ursprungort eine flächige Verwachsung aufweist, der Großteil der Kapsel hingegen lediglich durch einzelne bindegewebige „Fäden“ mit der Sinusschleimhaut verankert ist. Diese „Fäden“ lassen sich mittels Diodenlaser ohne Komplikationen transnasal endoskopisch postoperativ durchtrennen. Dadurch kann die restliche Zyste noch weiter einfallen.
4. es sinnvoll ist, die Sinuszysten frühzeitiger aufzuspüren, damit die Sekundärschäden (Zerstörung von Gewebe durch den raumfordernden Prozess [betroffen sind häufiger das Auge, das Siebbein, der Sinus conchae medius, der Infraorbitalkanal, die Aperturen, die Nasengänge], sekundäre Sinusitiden, sekundäre Schäden, insbesondere Ausbildung von Mykosen durch fehlerhafte Behandlungen - für das betroffene Pferd vermieden werden.
5. das Wissen allgemein zu den Sinuszysten uns noch sehr gering erscheint. Dieses Wissen könnte in näherer Zukunft durch die vermehrte klinische Anwendung der transnasalen SinusEndoskopie („TSE nach Nowak), die vermehrte Nutzung von Kopf-CTs und unter

Hilfestellung von Anatomen, Histologen, Pathologen und Immunologen erheblich verbessert werden.

Die transnasale endoskopisch gesteuerte Fensterung der Zystenwand ist je nach Lage und Ausmass der Zyste/n operativ anspruchsvoll. Die großen Vorteile dieser Technik liegen jedoch auf der Hand, u.a.:

1. ein perfektes kosmetisches Resultat
2. ein äußerst gewebeschonender Eingriff
3. alle Vorteile einer Stehendoperation gegenüber einer Operation in Allgemeinanästhesie
4. mit zunehmender Routine geringere Risiken und Komplikationsraten als bei Trepanation oder Flap-Operationen
5. Eingriffe auch bei alten Pferden sicher möglich

Bei den von uns auf diese Weise durchgeführten Eingriffen stand die „Machbarkeit“ im Vordergrund. Die Ergebnisse sind sehr ermutigend. Das Ziel einer geringeren Traumatisierung und einer Schonung gesunden bzw. sekundär betroffenen/erkrankten Gewebes ist zweifelsohne erzielt worden. Eine Kostenreduzierung lässt sich unseres Erachtens durch diese Technik nur im Einzelfall erreichen. Eine Verkürzung der Rekonvaleszenzzeit ist zunächst kein primäres Ziel unserer Arbeit gewesen, lässt sich mit zunehmender Routine aber wahrscheinlich erreichen.

3. Trepanationen (Schlüsselloch-Technik) statt „Flap“-Operationen

In einigen Fällen ist ein transnasal endoskopischer Eingriff zur Entfernung einer Sinuszyste nicht oder nicht allein möglich. Für all diese Fälle kann eine (zusätzliche) Trepanation oder minimal-invasive Sinusbohrung für die Behandlung von Sinuszysten sowohl zu diagnostischen Zwecken als auch zum therapeutischen Vorgehen sinnvoll und ausreichend sein anstelle einer „Flap“-Operation. Beide Techniken sind auch am stehenden Patienten durchführbar.

Die Trepanation lässt sich auch als Schlüsselloch-Technik (ähnlich einer Arthroskopie oder Laparoskopie) mittels eines kleineren Endoskopzugangs (6-8mm Bohrung) und einem zweiten (Instrumenten-/Trepan-) Zugang bequem am stehenden Pferd durchführen. Die in unserer Klinik durchgeführten Eingriffe bei Vorliegen der Diagnose: Sinuszysten werden entweder nur transnasal endoskopisch oder via Trepanation / Schlüsselloch-Technik durchgeführt. Der Vorteil liegt in der kleineren Wundfläche und eine oszillierende Säge wird nicht benötigt. Dieser Zugang über die äußere Schädeldecke bedingt, dass in jedem Fall für eine Abflussöffnung in die Nasenhöhle gesorgt werden muss, entweder über die natürlichen Öffnungen (Aperturen) oder das Anlegen einer separaten Öffnung, z.B. durch die Fensterung einer Nasenmuschel.

Wir haben festgestellt, dass es sinnvoll sein kann, nach dem Ablassen des Zysteninhalts einige Tage zu warten unter einer entzündungshemmenden und ggfls. antibiotischen Therapie. Bereits in den ersten 5-7 Tagen nach der Fensterung treten deutliche Abschwellungen ein. Die Vorteile:

1. Die natürlichen Abflusswege werden frei
2. Es kann in der Folge ein transnasal endoskopischer Weg zur Fensterung vorgenommen werden
3. Durch die Abnahme der Schwellung und Entzündung der Zystenkapself wird das Anlegen einer künstlichen Öffnung über eine Trepanationsöffnung erleichtert.

Der intraoperative Einbau eines Sinusspülschlauchs erfolgt nicht regelmäßig. Er richtet sich nach den individuellen Gegebenheiten bei jedem Patienten, u.a. nach den Sekundärerkrankungen.

In unser Patientengut sind ganz unterschiedliche Fälle eingeflossen, u.a.: eine Ethmoidzyste, eine Zyste zwischen dem Oberkieferbackenzahn 207/208, zwei große Zysten mit Ursprung aus dem

Sinus conchae ventralis mit unterschiedlicher Ausprägung in die Nasen-/Nasennebenhöhlen und unterschiedlichem therapeutischen Vorgehen, zwei Zysten der vorderen Nasennebenhöhlen, eine primäre und eine sekundäre Stirnhöhlenzyste (die primäre Zystenerkrankungen mit multiplen Zystenanlagen in den kaudalen Nasennebenhöhlen beiderseits; die sekundäre Zystenbildung auf Grund einer vorbehandelten schweren chronisch dentogen Sinusitis), multiple Zysten der vorderen und hinteren Nasennebenhöhlen. Jeder einzelne Fall musste individuell therapiert werden. U.E. ist die Behandlung von Sinuszysten nach „Schema F“ nicht zielführend. Die Gefahr eines Rezidivs wäre deutlich höher.

Unser Fazit:

1. Das bisherige Procedere bei Vorliegen von Sinuszysten muss kurz- bis mittelfristig grundlegend überdacht werden, angefangen von der (Erst-)Diagnostik über die Therapie bis hin zur Nachbehandlung und den Verlaufskontrollen.
2. Mittelfristig (über die nächsten 10 Jahre) wird es zu einer Umstellung der Operation von der Allgemeinnarkose hin zur Operation im Stehen kommen.
3. Mittelfristig wird es zu Therapieumstellungen kommen hin zu minimal invasiven Verfahren wie der transnasalen endoskopischen Sinus-Chirurgie und der Schlüsselloch-Technik bei Zugang über die Schädeldecke (Trepanation/Bohrung)
4. Mittelfristig haben wir die Chance, ein besseres Verständnis zur Entstehung und Ausprägung von Sinuszysten zu erlangen, u.a. durch die Möglichkeit der transnasalen Sinus-Endoskopie, des CT-Einsatzes im Stehen und, vorausgesetzt andere Fakultäten haben ausreichend Interesse, u.a. Anatomie, Pathologie, Histologie, Immunologie, das Thema mit zu begleiten.

Kontakt

Dr. Michael Nowak, Pferdeklīnik Duisburg GmbH
nowak@pferdeklīnik-duisburg.de

EHV-Latenz - der Nachweis

Lutz Göhring

Ludwig-Maximilians-Universität München

Persistent infection is a common feature of most, if not all herpes viruses. A persistent infection is a live-long engagement between the virus and its host. In herpes viruses there are two phases to this infection: a lytic phase of short duration with rapid replication often at a body location that allows short-distance transfer into a new member of the species, and a silent, inapparent or latent phase of long duration often in neural parenchyma or lymphoid tissue. Parenchyma where latency is established is functionally connected with the lytic site of infection.

Already during the early onset of a lytic infection following horizontal infection, some virus retreats in the tissue of latency. Latency is defined as non-replicative and silent, and can best be described with a status of hibernation. During latency few copies of viral DNA can be detected in a cell in combination with mRNA transcripts of the immediate-early (IE) and early (E) gene, but no products of translation, i.e. viral protein can be found. Furthermore, transcripts of the late (L) gene are absent. The dogma for years has been that latency is an immunologically silent period, where little to none activity of the immune system is noticeable. However, for some (human) herpes viruses it has been shown now that there is constant vigilance of the immune system and definitely a role for the immune system to prevent latent virus from reactivation and recrudescence.

EHV-1 is known to cause severe outbreaks of abortion and/or myeloencephalopathy. Starting point of an outbreak is a single horse in which EHV-1 reactivates from latency into a productive stage of replication with subsequent shedding. While the percentage of latent infected horses is estimated to be as high as 80 – 90%, although regional differences may exist, reactivation/recrudescence has to be a very rare event based on the infrequency of these outbreaks. However, control of the process of reactivation/recrudescence would be highly desirable for effective outbreak prevention. A balanced combination of viral, host and environmental factors are considered responsible to keep virus in its latent location and at par; however, very little is known about latency and recrudescence of EHV-1. Purpose of this presentation is to summarize the known and lesser known facts on EHV-1 latency and to show obstacles of diagnostics.

Kontakt

Prof. Dr. Lutz Göhring, Klinik für Pferde, Ludwig-Maximilians-Universität München
goehring@pferd.vetmed.uni-muenchen.de

What's new in colic surgery and postoperative care?

Nathaniel A. White

Marion duPont Scott Equine Medical Center, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, Virginia Tech (United States)

Lactate measures in horses with colic

Lactate as a single measurement it is not always predictive of survival during colic since resuscitation may successfully alter the blood volume and perfusion. In a recent report measurement of lactate after recovery from anesthesia indicated a significant increased risk of complications after surgery when post recovery lactates were > 6.5 mmol/L (1). Horses with a lactate concentration of > 7 mmol/L after recovery had 11.27 times the risk of death than those with a lower lactate concentration.

Serial measurements of peritoneal fluid lactate can help classify disease severity. In a study by Peloso and Cohen peritoneal fluid lactate concentrations were significantly increased one to six hours after the initial measurement of peritoneal fluid lactate concentrations in horses with strangulating lesions compared to non-strangulating lesions (2). Horses with a peritoneal fluid lactate concentration increase from less than 4.0 mmol/L to more than 4.0 mmol/L had a 61.7 greater chance of having a strangulating lesion.

Risk of recurrent colic

Horses experiencing a colic episode are approximately 3 times more likely to suffer another episode compared to a horse that never had colic. The annual rate for recurrent colic can be as high as 50% when considering both owner and veterinarian reported colic (3). There is a higher risk for horses with dental problems or horses that crib-bite or "windsuck". In this particular study 12.5% of horses with recurrent colic episodes required surgery.

Mechanical injury to the intestine

Local inflammation of the intestine including neutrophil migration into the serosa and altered motility has been observed in rats and humans after intestinal manipulation. Serosal and mucosal irritation of the large colon caused migration of granulocytes toward the lumen and increased neutrophil migration in the submucosa and serosa (4). Furthermore, experimental manipulation of the small intestine increased colonic mucosal eosinophilic infiltration.

Use of Lidocaine

Lidocaine was protective for intestinal permeability when combined with flunixin meglumine (5). Increased contractility in intestinal smooth muscle was detected during in vitro experimental ischemia-reperfusion (6,7). Neutrophil migration was also decreased with lidocaine combined with flunixin meglumine (8). Although studies suggest a decrease in POI, transit time is increased in normal horses treated with a CRI. Additionally somatic analgesia occurs during lidocaine infusion whereas there is less benefit with visceral pain. Lidocaine use during anesthesia can decrease the amount of anesthetic required during surgery. Recovery from anesthesia in horses receiving lidocaine can have a decreased quality of recovery (9).

Intestinal anastomosis

In an in vitro experiment bursting pressures or intraluminal diameter were not significantly different when comparing an in vitro single continuous Lembert suture pattern to a two-layer closure combining a simple continuous and Cushings pattern (10-12). In vitro comparison of a single

Lembert, double layer Lembert or Gambee suture or Cushing suture found that the pressure causing leakage was higher in the single layer Lembert. When the same suture techniques were compared in clinical cases with comparable diseases, postoperative outcome for ileus and survival were not different (13). Survival after stapled vs. hand-sewn jejunocostomy was not different although there were more complications following stapled anastomosis (14).

Adhesion prevention

Carboxymethylcellulose administered intraperitoneally at surgery prevents experimentally induced adhesions and clinical cases treated with intraperitoneal carboxymethylcellulose had significantly better survival compared to non-treated horses (15). Intraperitoneal Peridan[®] concentrate (brown Seaweed Chorda filum) has been proposed to decrease adhesion formation and has been shown to be safe in horses with colic including no adverse effects on bowel or linea alba adhesions (16). One study by Klohnen found increased adhesions in horses treated with intra-abdominal carboxymethylcellulose 24.6% versus 3.6% (17). Postoperative lavage to float the intestine can be used to prevent adhesions. This requires infusion of 10 liters of warm lactated Ringer's solution with subsequent drainage (18).

Incisional infections

The frequency of abdominal incision infection after surgery for colic ranges between 7% and 37% of cases. The risk is increased with repeat celiotomy (19). Variable risk factors have been identified including duration and severity of colic, fever, endotoxemia, suture pattern and surgical trauma. A recent study concluded that shaving the incision site increases the risk of infection while use of an abdominal bandage decreases risk (20). Use of a stent bandage has been shown to decrease infection (21).

Feeding after colic

During the immediate postoperative period less energy is expended for digestion or as much as a 15-20% decrease from the energy required during basal stall rest. The best type of feed or feeding time for a horse after severe distention or abdominal surgery for obstruction or strangulation has not been scientifically determined. Grains or sweet feed is avoided for 10-14 days to decrease the risk of excess fermentation causing gas production and concern for abrupt changes in intestinal flora by providing too much soluble carbohydrate, thereby increasing the risk of colic, diarrhea or laminitis.

After surgery for small intestinal disease, water is not offered until gastric reflux has ceased, there is evidence of intestinal motility, and absorption of fluid from the intestine can be documented. Prior to feeding offering one liter of water (6-8 swallows) every hour until the horse is no longer thirsty can help determine if forage can be fed. Hay or a pellet feed is then offered at 0.5 to 1 pounds every 3 hours increasing over 24-48 hours when ad lib hay or a specific amount of feed pellets equal to the basal energy requirements. Experience suggests that small amounts fed at frequently timed intervals prevents overload of the intestine, stimulates motility and allows for early detection of problems such as ileus or obstruction.

After surgery for large colon disease, water can usually be offered immediately unless there is evidence of shock or lack of intestinal motility. Grass hay, alfalfa hay or fresh grass is routinely fed from 6-12 hours after surgery. Alfalfa hay is favored by many clinicians for its palatability, high energy, protein content and laxative effect. Initially feeding 0.5 to 1 pound of hay every 3 hours allows monitoring of intake and response of intestinal motility. Ad lib feeding can usually be started 24 hours after the initial offering.

Nutrition and Antibiotics

The microbiome is known to change in horses with colic (22). Whether this is cause or effect is not known. Antibiotic administration also changes the microflora in the feces with proliferation of pathogens (23). Administration of ceftiofur and trimethoprim-sulfadiazine significantly decreased cellulolytic microbes by 99%. Ceftiofur treated horses had 75% fewer lactobacilli than controls. Treated horses also shed more salmonella than controls. Antibiotics had no effect on *Clostridium perfringens* where as *Clostridium difficile* increased 104 cfu/g with the antibiotic challenge. In another study fever is often present in the immediate postoperative period, but it is not frequently associated with infection (24). Antibiotic use should be reserved for horses with a true risk of infection.

References

1. McCoy AM, Hackett ES, Wagner AE, et al. Pulmonary gas exchange and plasma lactate in horses with gastrointestinal disease undergoing emergency exploratory laparotomy: a comparison with an elective surgery horse population. *Vet Surg* 2011;40:601-609.
2. Peloso JG, Cohen ND. Use of serial measurements of peritoneal fluid lactate concentration to identify strangulating intestinal lesions in referred horses with signs of colic. *J Am Vet Med Assoc* 2012;240:1208-1217.
3. Scantlebury CE, Archer DC, Proudman CJ, et al. Recurrent colic in the horse: incidence and risk factors for recurrence in the general practice population. *Equine Vet J Suppl* 2011:81-88.
4. Hopster-Iversen C, Hopster K, Staszuk C, et al. Influence of mechanical manipulations on the local inflammatory reaction in the equine colon. *Equine Vet J Suppl* 2011:1-7.
5. Cook VL, Jones Shults J, McDowell M, et al. Attenuation of ischaemic injury in the equine jejunum by administration of systemic lidocaine. *Equine Vet J* 2008;40:353-357.
6. Guschlbauer M, Hoppe S, Geburek F, et al. In vitro effects of lidocaine on the contractility of equine jejunal smooth muscle challenged by ischaemia-reperfusion injury. *Equine Vet J* 2010;42:53-58.
7. Tappenbeck K, Hoppe S, Reichert C, et al. In vitro effects of lidocaine on contractility of circular and longitudinal equine intestinal smooth muscle. *Vet J* 2013;198:170-175.
8. Cook VL, Jones Shults J, McDowell MR, et al. Anti-inflammatory effects of intravenously administered lidocaine hydrochloride on ischemia-injured jejunum in horses. *Am J Vet Res* 2009;70:1259-1268.
9. Valverde A, Gunkelt C, Doherty TJ, et al. Effect of a constant rate infusion of lidocaine on the quality of recovery from sevoflurane or isoflurane general anaesthesia in horses. *Equine Vet J* 2005;37:559-564.
10. Mendez-Angulo JL, Ernst NS, Mudge MC. Clinical assessment and outcome of a single-layer technique for anastomosis of the small intestine in horses. *Vet Rec* 2010;167:652-655.
11. Lee W. In vitro comparison of one-layer (continuous Lembert) versus two-layer (simple continuous /Cushing) hand-sewn end to end jejuno-ileal anastomosis in normal equine small intestine. . Proc 10th International Equine Colic Research Symposium 2011;pp 59.
12. Sherlock C, Lee W, Mueller PO, et al. Ex vivo comparison of three hand sewn end-to-end anastomoses in normal equine jejunum. *Equine Vet J Suppl* 2011:76-80.
13. Close K, Epstein KL, Sherlock CE. A retrospective study comparing the outcome of horses undergoing small intestinal resection and anastomosis with a single layer (Lembert) or double layer (simple continuous and Cushing) technique. *Vet Surg* 2014;43:471-478.
14. Freeman DE, Schaeffer DJ. Comparison of complications and long-term survival rates following hand-sewn versus stapled side-to-side jejunocecostomy in horses with colic. *J Am Vet Med Assoc* 2010;237:1060-1067.
15. Fogle CA, Gerard MP, Elce YA, et al. Analysis of sodium carboxymethylcellulose administration and related factors associated with postoperative colic and survival in horses with small intestinal disease. *Vet Surg* 2008;37:558-563.
16. Morello S, Southwood LL, Engiles J, et al. Effect of intraperitoneal PERIDAN concentrate adhesion reduction device on clinical findings, infection, and tissue healing in an adult horse jejunojejunostomy model. *Vet Surg* 2012;41:568-581.

17. Klohnen A. New approach to the detection of incisional site infection in horses after colic surgery. 10th International equine colic research symposium 2011;59.
18. Hague BA, Honnas CM, Berridge BR, et al. Evaluation of postoperative peritoneal lavage in standing horses for prevention of experimentally induced abdominal adhesions. *Vet Surg* 1998;27:122-126.
19. Dunkel B, Mair T, Marr CM, et al. Indications, complications, and outcome of horses undergoing repeated celiotomy within 14 days after the first colic surgery: 95 cases (2005-2013). *J Am Vet Med Assoc* 2015;246:540-546.
20. Gerard MP. Evaluation of risk factors for development of incisional complications following exploratory celiotomy for colic: 170 cases (2003-2005). 10th International Equine Colic Research Symposium 2011;141.
21. Tnibar A, Grubbe Lin K, Thuroe Nielsen K, et al. Effect of a stent bandage on the likelihood of incisional infection following exploratory celiotomy for colic in horses: A comparative retrospective study. *Equine Vet J* 2013;45:564-569.
22. Weese JS, Holcombe SJ, Embertson RM, et al. Changes in the faecal microbiota of mares precede the development of post partum colic. *Equine Vet J* 2014.
23. Harlow BE, Lawrence LM, Flythe MD. Diarrhea-associated pathogens, lactobacilli and cellulolytic bacteria in equine feces: responses to antibiotic challenge. *Vet Microbiol* 2013;166:225-232.
24. Freeman KD, Southwood LL, Lane J, et al. Post operative infection, pyrexia and perioperative antimicrobial drug use in surgical colic patients. *Equine Vet J* 2012;44:476-481.

Contact address

Professor Emeritus, Nathaniel A. White, Marion duPont Scott Equine Medical Center
nawhite2@vt.edu.

Lumeneinengende anale / perianale Prozesse beim Pferd – klinische Beispiele

Wolfgang Scheidemann

Tierklinik Domäne-Karthaus, Dülmen

1

Der *Canalis analis* mit dem After (*Anus*) bildet das nach außen hin offene Ende des Darmrohres. Unmittelbar kranial des Afters befindet sich eine Erweiterung – die *Ampulla recti*. Der dehnbare After sorgt mit seinen inneren und äußeren Schließmuskeln aus quer- bzw. glatter Muskulatur für den ordentlichen, luftdichten Verschluss des Darmes nach außen. Im Bereich des kurzen Analkanals geht die drüsenhaltige Schleimhaut des Darmrohres in ein Plattenepithel und anschließend in die äußere, feinbehaarte und pigmentierte Haut des Afterkegels über.

Je nach Fütterung (abhängig u.a. von Volumen, unverdaulichen Futterstoffen, Wassergehalt, Bewegungsbeanspruchung etc.) variiert die täglich abgesetzte Kotmenge beim ausgewachsenen Großpferd zwischen 25 und 50 kg.

Bei der Ingestapassage durch den letzten Teil des Darmrohres können unterschiedliche Störungen auftreten, die auf Erkrankungen im Anal – bzw. Perianalbereich zurückzuführen sind. Es handelt sich dabei i.e.L. um mechanische oder funktionelle Beeinträchtigungen, die intra- bzw. extraluminale oder auch nervalen Ursprungs sein können.

Klinische Symptome äußern sich - je nach Schweregrad und Dauer der Erkrankung - durch

- (sich allmählich entwickelnden) verminderten, verzögerten oder auch sistierenden Kotabsatz, verbunden mit Schmerzäußerungen (Koliksymptomatik, *Tenesmus ani*).
- Absatz von unterschiedlich strukturiertem Kot, der Beimengungen wie z.B. Geosedimente, Fremdkörper, Blut, Schleim o.Ä. aufweisen kann.
- Inappetenz, Fieber, Peritonitis.
- Die Untersuchung der Analregion erfolgt klassisch per adspersionem, durch transrektale bzw. digitale Palpation sowie endoskopisch oder auch ultrasonographisch.

Im Vergleich zu zahlreichen Erkrankungen des großen Darmkonvolutes treten Störungen im Anal-, Peri-analbereich viel seltener auf, dennoch müssen sich TÄ mit Erkrankungen, wie z.B.

- angeborene Fehlbildungen
- Neoplasien, z.B. Plattenepithelkarzinom, Melanom, Papillom, Lipom
- oberflächlich bzw. tiefe Entzündungen mit/ohne Abszessbildung
- anorektale Lymphadenopathien
- Verletzungen (Geburten, Traumata, sadistische Manipulationen,...)
- Zysten
- Erkrankungen neurogenen Ursprungs
-

in der Praxis bzw. Klinik diagnostisch wie therapeutisch auseinandersetzen.

Literatur

Die Literatur zu diesem Manuskript kann beim Autor erfragt werden.

Kontakt

Dr. Wolfgang Scheidemann, Tierklinik Domäne-Karthaus, Dülmen
dr.scheidemann@tierklinik-karthaus.de

Peritonitis as a Reason for Equine Colic-A Retrospective Study of 34 Cases (2005-2015).

Mohammed Adam, Gerald F. Schusser

Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Peritonitis is a life-threatening inflammation of the peritoneal membranes in horses, represents 9% of colic horses and 16% of chronic colic horses, characterised by hyperemia, increased peritoneal permeability and exudation (suppurative, haemorrhagic or fibrinous) that can be caused by infectious or non-infectious agents and can be primary or secondary, acute or chronic, septic or aseptic, diffuse or local. Secondary peritonitis, due to strangulation, gastric ulceration, gastrointestinal infection, inflammation, neoplasia or perforation; urogenital injuries; iatrogenic causes (liver biopsy, uterine biopsy, castration), is more common than primary peritonitis in horses (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). The etiology and clinical, laboratory findings and outcome of 34 horses diagnosed with peritonitis were reviewed retrospectively. At presentation, the horses were between 5 weeks and 25 years old (median 11.6 years) and the duration of acute colic was 2 – 24 hours, and 2 – 8 days for chronic cases. 21 out of 34 horses (61.8%) did not survive. 18 out of 34 horses developed septic peritonitis, of which 13 horses (72%) did not survive, 9 of non-survived horses showed moderate to high grade of colic symptoms. The majority of septic peritonitis cases (13/18) were caused by perforation of abdominal viscera, in addition to intestinal volvulus (2/18), unknown causes (2/18) and oophoritis (1/18). Bacteria have been isolated from 6 of 29 (20.7%) peritoneal fluid samples, five of them were gram negative bacteria, and one was gram positive bacterium. Parasitic worms contributed to 3 of 5 colon perforation. Gastric rupture has been found as a cause of septic peritonitis in 5 horses. In conclusion, peritonitis because of perforated abdominal viscera, abdominal surgery or abdominal organ infections are associated with high mortality rates (76.2%).

References

1. Browning A. (2005) Diagnosis and management of peritonitis in horses. In *Pract.* 27, 70 – 75
2. Dyke T., MacLean A. and Church S. (1993) A retrospective review of cases referred for examination and treatment of colic in adult horses. I. Aetiology of colic. *Aust Equine. Vet.* 11, 135 – 137
3. Hall T. (2015) Disorders of the peritoneum in horses. In: *Large Animal Internal Medicine.* 5th ed. Smith B. (ed.) Elsevier Mosby, St. Louis, MO, USA, 723 – 728
4. Henderson I., Mair T., Keen J., Shaw D. and McGorum B. (2008) Study of the short- and long-term outcomes of 65 horses with peritonitis. *Vet. Rec.* 163, 293 - 297
5. Hillyer M. and Wright, C. (1997) Peritonitis in the horse. *Equine vet. Educ.* 9, 136 – 142
6. Javiskas L. (2010) Peritonitis In: *Equine Internal Medicine.* 3rd ed. Reed S., Bayly W., Sellon D. (eds.), Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, 895 - 899
7. Mair T. and Hillyer M. (1997) Chronic colic in the mature horse: a retrospective review of 106 cases. *Equine Vet. J.* 29, 415 – 420

Kontakt

Mohammed Adam, Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig
adam@vetmed.uni-leipzig.de

Microbiome of an elite athlete: The Thoroughbred racehorse.

Chris Proudman¹, Alistair Darby², John Hunter³, Ebony Escalona⁴, Joy Leng¹

¹School of Veterinary Medicine, University of Surrey (UK); ²Centre for Genomic Research, University of Liverpool (UK); ³Gastroenterology Research Unit, Addenbrooke's Hospital, Cambridge (UK); ⁴Imperial College London, South Kensington Campus, London (UK).

Background

The horse is a hindgut fermenter that has evolved to survive on a low-energy, high-fibre diet. Caecal and colonic microbiota are critical to the digestion of structural carbohydrate and production of short chain fatty acids as an energy source. The bacterial communities of the caecum and colon have a critical role to play in the normal physiology of the horse. Understanding bacterial community structure, response to dietary change and perturbation associated with disease will be important advances in equine healthcare.

Traditional culture-based methods of studying intestinal bacteria are severely limited due to the difficulty of culturing anaerobic organisms. The diversity and variability of human intestinal microbiota is starting to be explored using molecular genetics. It is estimated that up to 5,000 phylogenetically distinct microbes may contribute to the human microbiome and up to 75% of these are not detectable by culture-based methods (1). The application of 16S metagenomic profiling (next-generation sequencing, NGS) to studying the human gut microbiome has led to rapid advances in our understanding of this complex ecosystem. The application of NGS methods to studies of the equine intestinal microbiome is becoming increasingly affordable and is starting to yield important results.

This presentation will explore emerging evidence of the microbial community structure in a well-defined and highly homogeneous equine population- the Thoroughbred racehorse.

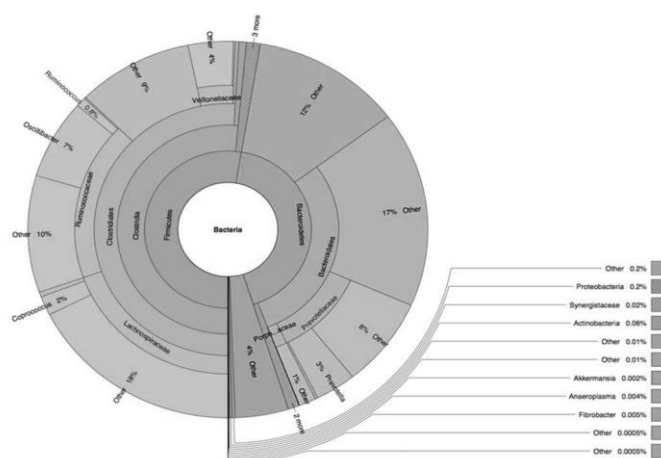


Figure 1. Diagrammatic representation of the faecal microbiome of normal Thoroughbred racehorses. Relative abundance data represents the mean of 8 horses.

The normal intestinal microbiome

In this study we use 454 pyrosequencing of 16S rRNA genes to characterize the microbiome of 8 Thoroughbred (Tb) racehorses. Faecal samples were collected from 8 castrated, Tb racehorses in full training. Amplicons for the V1-V3 region of the gene were multiplexed and sequenced on the 454

resulting in ~25,000 reads per sample. The communities were composed of an equal balance between Bacteroidetes and Firmicutes with a ~5% contribution from other bacterial phyla. The number of observed OTUs sharing $\geq 97\%$ nucleotide sequence identity in human faeces has an upper range of 2000 OTUs (2), in our racehorse population the observed range was between 6000 – 8000 OTUs. This difference in diversity in the horse gut was driven by the large number of singleton OTUs present in the horse gut communities. A diagrammatic representation of the mean community taxonomic profile is shown in figure 1.

In a separate study four horses were sampled weekly for a period of 12 weeks. 16S rRNA gene sequencing was again used to characterize the taxonomic structure of gut bacterial communities in individual horses across this time period. In all four animals studied community structure remained stable at the taxonomic level of class, with only minor fluctuations in relative abundance.

Response to dietary supplementation

In a further study we use 454 pyrosequencing of 16S rRNA genes to characterize the microbiome of 8 Thoroughbred (Tb) racehorses before and after six weeks of daily dietary supplementation with an amylase-rich malt extract (3). The supplement was designed to enhance pre-caecal digestion of hydrolysable carbohydrate, thus reducing the amount reaching the caecum. Horses showed no significant change in the number of OTUs observed after diet supplementation, but significant changes in the relative abundance of both Bacteroidetes and Firmicutes families, such as Prevotellaceae and Veillonellaceae, were observed. The observed increase in Veillonellaceae after supplementation is of particular interest due to its association with lactate buffering in the caecum and colon.

Dysbiosis associated with disease

NGS approaches have also been used to describe the dysbiosis associated with colitis in horses. In particular the alteration in Firmicutes: Bacteroidetes ratio was shifted towards a predominance of Bacteroidetes. We have conducted a case-control study of equine grass sickness using NGS (Illumina MiSeq) to characterize the faecal microbiome. We detected a highly significant decrease in alpha diversity in grass sickness cases compared to controls and a similar shift in Firmicutes: Bacteroidetes ratio to that observed for colitis.

Conclusions

The application of high throughput sequencing technology to studies of the equine intestinal microbiome is beginning to clarify our understanding of this complex microbial ecosystem. Descriptions of “normal” microbiomes are emerging for different types of horse, including the Thoroughbred, and we are starting to understand normal variation. Associations between alterations in the microbiome and disease are beginning to be recognized. Work to determine the functional significance of observed changes is now needed in order to formulate hypotheses about beneficial interventions.

References

1. Zoetendal EG, Rajilic-Stojanovic M, de Vos WM. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut*. 2009; 57, 1605-1615
2. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012; 486, 222-227
3. Proudman CJ, Hunter, JO, Darby AC, Escalona EE, Batty C and Turner C. (2015) Characterisation of the faecal metabolome and microbiome of Thoroughbred racehorses. *Eq. vet. J.* doi: 10.1111/evj.12324

4. Costa MC, Arroyo LG, Allen-Vercoe E, Staïmpfli HR, Kim PT, et al. (2012) Comparison of the faecal microbiota of healthy horses and horses with colitis by high throughput sequencing of the V3-V5 region of the 16S rRNA gene. PLoS ONE 7: e41484. doi:10.1371/journal.pone.0041484

Contact address

Prof. Dr. Chris Proudman, School of Veterinary Medicine, University of Surrey (UK)
c.proudman@surrey.ac.uk

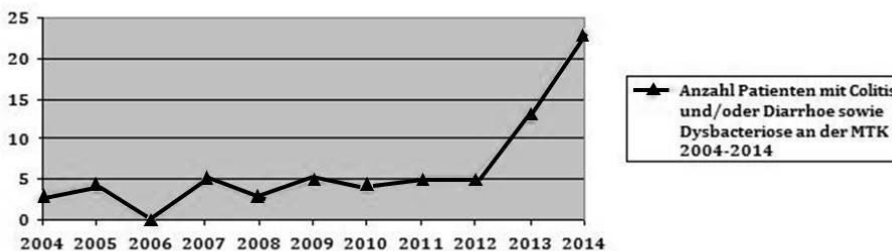
Mikrobiota beim Pferd unter Antibiotikatherapie und Fütterung von Huminsäuren

Nicole Graneß¹, Monika Krüger², Alexander Swidsinski³, Gerald F. Schusser¹

¹Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ²Albrecht Daniel Thaer-Institut, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ³Molekulargenetisches Labor, Gastroenterologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Einleitung

Die retrospektive Analyse der Daten des Patientengutes der Medizinischen Tierklinik auf Anzahl der Patienten mit den Diagnosen Colitis und Dysbacteriose zeigten eine Zunahme von Durchfallerkrankungen in den letzten 3-4 Jahren (Abb.1). Es fehlen derzeit immer noch die Erkenntnisse einerseits zur quantitativen und qualitativen Zusammensetzung der normalen mikrobiellen Darmflora beim Pferd und andererseits der Veränderung bei akuter Colitis. (1) Bekannt ist, dass pathogene Bakterien wie *Salmonella* spp., *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* und einige Stämme von hämolysierenden *Escherichia coli* schwere Colitis hervorrufen können. Mikrobielle Dysbalancen, d.h. ein stärkeres Wachstum opportunistischer Darmbakterien gegenüber der Normalflora, sind als mit auslösender Faktor anzunehmen. Einige wenige Untersuchungen (1) zeigten bereits eine Prädominanz von zellulolytischen Bakterien wie *Ruminococcus* spp. sowie der Familien der Abteilung Firmicutes, wie *Lactococcus*, *Lactobacillus* und *Bacillus* und der Ordnung Clostridiales zugehöriger Familien Eubacteriaceae, sowie der bereits erwähnten Ruminococcaceae und scheint für das Pferd als Dickdarmfermentierer und Verwerter von hauptsächlich Rau- und Grünfutter nicht untypisch. Zusammenfassend wird die intestinale Mikrobiota bestehend aus hundert verschiedenen Bakterienspezies charakterisiert, von denen mehr als 99% Anaerobier sind. (2)



Mikrobielle Dysbalancen infolge antibiotischer Behandlung sind für Tetracykline, Makrolide und Lincosamide bereits beschrieben und als Antibiotika-assoziierte Diarrhoe (AAD) bekannt sowie vereinzelt für andere Antibiotika wie Trimethoprim-Sulfadiazin und Ceftiofur (3) oder Penicillin (4) getestet. Wobei nur HARLOW et. al (3) eine Erniedrigung der Anzahl an zellulolytischen Bakterien sowie der Gattung *Lactobacillus* unter Antibiotikabehandlung festgestellt hat.

Die in dieser Studie verwendeten Huminsäuren (Colhumin®) besitzen, neben außerdem enthaltenem Topinambur sowie Leinsamen, floraregulierende Eigenschaften (5), schützen die Schleimhaut (6, 7), absorbieren toxische Substanzen (6, 8, 9) und weisen zusätzlich eine adstringierende (10) und antibakterielle Wirkung auf, die VOIGT und BERGMANN (5) in vitro bei *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella cholerae suis* und *Staphylococcus aureus* nachgewiesen haben.

Ziel der Studie

Darlegung von Veränderungen der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der mikrobiellen Darmflora bei durchfallkranken, antibiotisch behandelten Pferdepatienten im Vergleich zur Darmflora darmgesunder Pferde. Mit Hilfe des Präbiotikums Colhumin® sollen die zellulolytischen und anaeroben Gram-negativen Bakterien stabilisiert und somit den möglichen Folgen einer antibiotischen Therapie auf den Magen-Darm-Trakt durch Floraschutz vorgebeugt werden.

Material und Methoden

Als Kontrollgruppen wurden darmgesunde Pferde gewählt, die mit Heu gefüttert wurden (Gruppe 1). Zudem wurde einem Teil dieser Gruppe das Präbiotikum angeboten, daher ergab sich eine nochmalige Untergliederung in Gruppe 1.1. ohne Colhumin®-Fütterung und Gruppe 1.2. mit Colhumin®-Fütterung. In Gruppe 2 und 3 wurden Pferde mit bakteriell bedingten Krankheiten und Antibiotikatherapie zusammengefasst. Die Pferde in Gruppe 2 erhielten kein Präbiotikum und in Gruppe 3 erfolgte die Fütterung des Präbiotikums Colhumin®.

Die Fütterung mit Colhumin® erfolgte über 7 Tage 1x täglich in einer Dosierung 1,5g/kg KGW.

Das Pharmawerk Weinböhla sorgte dankenswerterweise für die Bereitstellung des Präbiotikums Colhumin®.

Bei Aufnahme der Pferdepatienten in die Medizinische Tierklinik erfolgte eine gründliche Anamnese bzgl. der Futterzusammensetzung im Heimatstall. Im Untersuchungszeitraum erfolgte die Fütterung grundsätzlich mit Heu in bedarfsgerechten Mengen. Die Proben zur Bestimmung der fäkalen Mikrobiota des Enddarmkotes wurden am Tag der Einlieferung bzw. Tag 0 (= einen Tag vor Fütterungsbeginn) sowie am 3., 5. und 7. Tag der Behandlung/Fütterung gesammelt. Bei Aufnahme des Patienten und Hinweisen auf sensorisch veränderten Kot, wurde eine bakteriologische Untersuchung auf pathogene Keime durchgeführt. Alle Kotproben werden rektal entnommen, ca. 1 g in Carnoy-Lösung verbracht, bei Zimmertemperatur gelagert und gesammelt zur Untersuchung in das Molekulargenetische Labor für polymikrobielle Infektionen und mukosale Pathogene/-Gastroenterologie der Charité Berlin geschickt. Die Sondierung der Proben erfolgte mittels FISH (Fluoreszenz in situ Hybridisierung).

Erste Ergebnisse

Bisher wurden mit FISH rund 30 Kotproben von Pferden untersucht.

Es wurden die zur Normalflora zählenden Ruminokokken, apathogene Anaerobier wie *Clostridium coccooides*, Eubacterium-Arten, Bifidobakterien sowie Akkermansia-Arten, als hauptsächlich Anerobier, gefunden.

Festgestellt wurde, dass

- a) bei antibiotisch behandelten Pferden (ohne Präbiotikum), sowie mit Dysbacteriose die Keimzahl von apathogenen Anerobiern wie Bifidobakterien sowie Akkermansia-Arten, außerdem auch Ruminococcus flavefaciens und Clostridium coccooides niedriger lag als bei Pferden mit physiologischer Kotkonsistenz und Darmgesundheit.
- b) sich die Koloniezahl bei den Bifidobakterien-Arten sowie Ruminococcus flavefaciens (als zellulolytische Bakterienart) unter Colhumin® und Antibiotikatherapie wieder stabilisiert im Vergleich zu den darmgesunden Pferden und der Gruppe mit Antibiotikatherapie und ohne Colhumin®-Fütterung.
- c) die Koloniezahlen der Eubacterium-Arten bei allen darmerkrankten Pferden im Vergleich zu den darmgesunden Pferden erhöht sind.
- d) sich bei der Fütterung des Präbiotikums Colhumin® die Kotkonsistenz bereits innerhalb 24 h zur physiologischen geballten Form ändert.

Diskussion

Im Gegensatz zu HARLOW et al. (3), die bei der Behandlung mit Trimethoprim-Sulfadiazin oder Ceftiofur eine signifikante Reduktion der zellulolytischen Bakterien feststellten, traten diese Effekte bei uns bisher nur zum Teil auf (*Ruminococcus flavefaciens*). Durch das Präbiotikum Colhumin® konnte diese Bakterienspezies unter Antibiotikatherapie stabilisiert werden. Zur Objektivierung und zum Herausstellen signifikanter Unterschiede werden derzeit noch mehr Probanden-Ergebnisse benötigt. Inwieweit auch Rückschlüsse von der fäkalen Flora auf Veränderungen in der intestinalen Flora gezogen werden können, ist noch unklar. Die Charakterisierung der intestinalen mikrobiellen Flora wäre wünschenswert, die Probenentnahme bei Equiden ist derzeit in diesem Bereich jedoch nur postmortal möglich. Die Substrataufnahme hat einen großen Einfluss auf die mikrobielle Zusammensetzung im Magen-Darm-Trakt. Über die Versuchszeiträume erfolgte die Fütterung grundsätzlich nur mit Heu, aber mit verschiedenen Heu-Chargen, weshalb Veränderungen der Mikrobiota durch die Heuzusammensetzung nicht ausgeschlossen werden können. Geachtet wurde auf eine einwandfreie sensorische Qualität des Heus. Die Futterzusammensetzung im Heimatstall wurde erfragt und eine erste Kotprobe vor Aufnahme rektal entnommen.

Literatur

1. Costa, M. C., Weese, J. S. The equine intestinal microbiome, Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases. 2012; 13(1): 121–128
2. Jones, R.L. Clostridial enterocolitis. Veterinary clinics of North America Equine practice 2000; 16: 471-485
3. Harlow B.E., Lawrence L.M., Flythe M.D. Diarrhea-associated pathogens, lactobacilli and cellulolytic bacteria in equine feces: Responses to antibiotic challenge. Veterinary Microbiology 2013; 166 (1-2): 225-232
4. Grønvold, A.-M. R. Fecal microbiota of horses in the clinical setting: potential effects of penicillin and general anesthesia, Veterinary microbiology 2010; 145 (3-4): 366–372
5. Voigt, A., u. D. Bergmann, Antibakterielle Prüfung von Huminsäuren. unveröffentl. Gutachten 1977, VEB Tierarznei Weinböhla zit. nach K. Stein (1994)
6. Golbs, S. Experimentelle Untersuchungen zur pharmakologischen Wirksamkeit und zur Pharmakodynamik von Huminsäuren unter besonderer Berücksichtigung koergistischer Effekte und ihrer therapeutischen sowie prophylaktischen Wirkung bei Schweinen [Dissertation]. Leipzig, Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät; 1983.
7. Götze, T. Untersuchungen zur Verteilung von Huminsäuren (Natriumhumat, Huminsäurekonzentrat und Sulumin) sowie Carbo medicinalisR und AdsorganR im Rattendarm [Diplomarbeit]., Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; 1986.
8. Kühnert, M. et al. Pharmakologisch-toxikologische Eigenschaften von Huminsäuren und ihre Wirkungsprofile für eine veterinärmedizinische Therapie. Dtsch. tierärztl. Wschr., 1989; 96, 3-10
9. Stein, K. Vergleichende Untersuchungen zu ausgewählten pharmakologischen und toxikologischen Eigenschaften verschiedener Huminsäurenprodukte [Dissertation]. Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; 1994.
10. Eichendörfer, D. Eigenschaften und Zusammensetzung des Moorbades. 1978; Therapiewoche 28, 1223-1229

Kontakt

Nicole Graneß, Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig
nicole.graness@vetmed.uni-leipzig.de

Konservative Therapie und Prognose der Dickdarmverlagerung

Gerald F. Schusser, Christiane Müller, Annette Zeyner

Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Bevor eine Therapie einsetzt, ist die Pathogenese der Dickdarmverlagerungen wichtig: Eine kraftfutterreiche Fütterung und zweimalige Fütterung (früh und abends) sind Risikofaktoren der Entstehung von erhöhter intestinaler Gasbildung (Methan, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Kohlendioxid). Die Gasansammlung erfolgt beim Blinddarm im Blinddarmkopf, so dass der überhängende Teil des Blinddarmkopfes in einer Einrollbewegung das Ostium caecocolicum schlitzförmig nach ventral zieht und so eine Entgasung in das Kolon verhindert und eine Blinddarmtympanie entsteht. Die Gasentwicklung im Colon ascendens geschieht ähnlich. Die Gasentwicklung innerhalb des Darmlumens erzeugt einen statischen Auftrieb, der stets größer wird desto voluminöser der tympanisierte Darmteil wird. So können Dickdarmverlagerungen auch beim stehenden Pferd, bei normaler Brust-Bauch-Lage oder in Seitenlage entstehen. Die linken Längslagen des großen Kolons können zwischen Bauchwand und Milz nach dorsal wandern. Die zweite Möglichkeit ist die Einwanderung der Beckenflexur in einen dorsokaudal gerichteten Trichter, gebildet durch das medial gelagerte Milz-Magen-Band, die lateral befindliche Milz, das ventral gespannte Milz-Nieren-Band und dorsal durch die Bauchwand und die linke Niere. Die rechtsdorsale Verlagerung der gesamten Lagen des großen Kolons kann von medial her passieren, so dass die Beckenflexur entgegengesetzt dem Uhrzeigersinn lateral des Blinddarmes nach kranial wandert. Die zweite Möglichkeit ist die Wanderung der Beckenflexur nach links lateral und kranial im Uhrzeigersinn und die Wanderung geht weiter nach rechts zwischen Blinddarm und Bauchwand nach kaudal. Die Tympanie in der ventralen und die sekundäre Verstopfung der rechten dorsalen Kolonlängslage im stenostenotischen Teil kann auch eine Torsion begünstigen. Die dritte mögliche Verlagerung des großen Kolons ist die Retroflexio coli. Beide Formen der Verlagerung entstehen aufgrund der intestinalen, überhöhten Gasansammlung. Die Torsio coli entsteht infolge der strukturierten Ingestaansammlung in der linken dorsalen Längslage und gleichzeitiger Gasansammlung in der linken ventralen Längslage mit statischer Auftriebskraft. So kann eine Längstorsion der linken Längslagen entstehen. Die so entwickelte, stenostenotische Aufgasung bewirkt in der Folge die Weiterwanderung der Torsionsstelle bis zu der Anheftungsstelle mit der dorsalen Bauchwand im Bereich der rechten dorsalen Längslage des großen Kolons. Die Verlagerung der linken Längslagen über das Milz-Nieren-Band ist rektal zu diagnostizieren. Bei der rechtsdorsalen Verlagerung befindet sich der Blinddarm (spürbare Taenia caeci ventralis) medial. Bei der Torsio coli (totalis) könnte die ödematöse Darmwand, die mittels Ultraschall über 1 cm objektivierbar ist, tastbar sein.

Die Therapie: 20 mg Metamizol/kg i.v. oder 1,1 mg Flunixin meglumin/kg i.v. Der Magen muss sondiert werden und jeglicher Mageninhalt möge herausgespült werden. Eine Dauerinfusion möge das Flüssigkeitsdefizit beheben: Die Therapie: 20 mg Metamizol/kg i.v. oder 1,1 mg Flunixin meglumin/kg i.v. Der Magen muss sondiert werden und jeglicher Mageninhalt möge herausgespült werden. Eine Dauerinfusion möge das Flüssigkeitsdefizit beheben:

$$\frac{(\text{gemessene Hk} - \text{normaler Hk } 40) * 100}{(\text{normaler Hk } 40)} = \text{Prozent des Flüssigkeitsdefizites.}$$

Ein erwachsenes Pferd besitzt 9 % der Körpermasse Blutvolumen: bei 500 kg = 45 Liter Blut.

Beispiel: $\frac{(52 - 40) \cdot 100}{(40)} = 30\%$ von 45 Liter fehlen, d. h. 13,5 Liter Elektrolytlösung müssen infundiert werden. Die kontinuierliche Elektrolytinfusion in der Menge von 50 ml/kg KM/Tag muss auch weiter erfolgen. Nahrungskarenz ist während der Therapie erforderlich.

Erfolgt kein weiterer Anfall von Kolik und die Peristaltik und Kotabsatz normalisieren sich, dann ist die Prognose insbesondere bei Pferden mit Verlagerung der linken Längslagen des großen Kolons über das Milz-Nieren-Band gut! Bei keiner Besserung nach Erstbehandlung und kontinuierlicher Kolik trotz des Analgetikums auch eines starken Analgetikums, muss der Überbringer aufgeklärt werden, dass eine Indikation zur Operation besteht!

Tabelle 1: Vergleich klinischer und labormedizinischer Parameter von Pferden mit konservativer oder chirurgischer Behandlung der Dickdarmverlagerung

	n	Alter in Jahren	Kolikdauer in Std.	Kolikgrad	Herzfrequenz pro min	Hämatokrit in l/l
Konservative Therapie der Dickdarmverlagerung	362	9 (6,15)	7 (4,11)	ggr 33% mgr 62% hgr 5%	48 (40,60)	0,35 (min 0,33; max. 0,52)
Operative Therapie der Dickdarmverlagerung	145	8 (5,11)	7 (5,12)	ggr 33% mgr 62% hgr 5%	56 (44,68)	0,37 (min 0,34; max. 0,70)

Literatur

1. Kopf N (1985): Über die Entstehung der Darmverlagerungen des Pferdes. Pferdeheilkunde 1, 131-148.
2. White N.A. et al. (2008): The equine acute abdomen. Teton New Media, Jackson, WY, USA.

Kontakt

Prof. Dr. Gerald F. Schusser, Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig
schusser@vetmed.uni-leipzig.de

Graduierung der Nekrose am ischämischen Darm

Maïke Breitenstein¹, Tobias Theuß², Heinz-Adolf Schoon², Rosa Barsnick³, Ulrich Walliser³, Wolfgang Scheidemann⁴, Astrid Bienert⁵, Donandt Dietz⁶, Guido Stadtbäumer⁷, Heinrich Werhahn⁸, Helmut Hell⁹, Gerald Fritz Schusser¹

Unterstützt durch die Gesellschaft für Pferdemedizin (Geschäftspräsident Dr. Eberhard Schüle)

¹Medizinische Tierklinik, Klinik für innere Krankheiten der Pferde, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ²Institut für Veterinär-Pathologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ³Pferdeklinik in Kirchheim; ⁴Tierärztlich Klinik Domäne Karthaus; ⁵Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Pferde; ⁶Pferdeklinik München-Riehm; ⁷Pferdeklinik in Telgte; ⁸Klinik für Pferde in Sottrum; ⁹Pferdeklinik Seester

Der Strangulationsileus ist eine häufige Ursache für lebensbedrohliche Koliken bei Pferden. Im Falle einer Operation entscheidet der Chirurg anhand von Darmwandfarbe, -dicke und -motilität, Länge des betroffenen Darmteils und Lokalisation der Strangulation, inwieweit die Darmvitalität beeinträchtigt ist und eine Resektion notwendig und erfolgversprechend ist. Diese prognostische Einschätzung stellt für den Chirurgen eine besondere Herausforderung da, denn neben dem Initialschaden muss auch der Reperfusionsschaden berücksichtigt werden. Hinsichtlich der Interpretation der Darmvitalität gibt es viele Grenzfälle, bei denen makroskopisch keine eindeutige Prognosestellung möglich ist. Eine histologische Untersuchung der geschädigten Darmwand sollte durchgeführt werden, um die makroskopischen Befunde zu untermauern und die Entscheidung des Chirurgen zu objektivieren. In einer klinischen Feldstudie wurden Proben geschädigter Darmabschnitte von Pferden mit Strangulationsileus histologisch untersucht und der ischämische Schaden anhand verschiedener Parameter dokumentieren. Hierfür wurden Darmproben von insgesamt 89 Pferden ausgewertet, davon 70 Pferde mit Dünndarm- und 11 Pferde mit Dickdarmstrangulation. Um von dem histologisch ermittelten Schädigungsgrad Rückschlüsse auf die Prognose ziehen zu können, wurden die Pferde anhand des klinischen Ausgangs in Gruppen eingeteilt: ohne Operationsversuch euthanasiert (Gruppe I), intraoperativ euthanasiert (Gruppe II), verstorben nach durchgeführter Resektion (Gruppe III) und Überlebende (Beobachtungszeitraum entsprach dem Klinikaufenthalt von mindestens 10 Tagen) nach erfolgreich durchgeführter Resektion (Gruppe IV). Histologisch wurden Epithelschaden, Blutung und Entzündung für jede Probe graduert, außerdem wurden Darmwanddicke und Interstitium-Krypten-Verhältnis gemessen. Der Schaden des Epithels wurde zunächst mit Hilfe der Graduierung nach Van Hoogmoed et al. (2004) beurteilt. Nach dieser Einteilung erhielten 52 (74,3%) der untersuchten Dünndarmproben (n=70) den maximalen Schädigungsgrad von 5/5. Eine feinere Abstufung der Schädigung wurde mit Hilfe eines Graduierungssystem erreicht, das die Ausprägung des Epithelschadens insbesondere im Kryptenbereich detaillierter wiedergibt. Hierzu wurden die Zotten in zwei (luminale Zotte, basale Zotte), die Krypten in drei Beurteilungsebenen geteilt (luminale Krypte, zentrale Krypte, basale Krypte) und für jede Ebene eine eigene Epithelschadensgraduierung von 0-5 vorgenommen. Nach diesem Schema konnte der Schaden der 52 Dünndarmproben, die nach Van Hoogmoed et al. (2014) den Schadensgrad 5/5 erhielten, weiter differenziert werden. Bei 36 dieser Pferde zeigte sich ein Schaden an <50% der Kryptenzellen (Epithelschaden mittlere Krypte <3), bei 16 dieser Pferden waren >50% der Kryptenepithelzellen beschädigt (Epithelschaden mittlere Krypte ≥3). Es konnte bestätigt werden, dass der Epithelschaden an der Zottenspitze beginnend in Richtung Kryptenbasis weiter fortschreitet. Der Grad der Blutung wurde in vier Darmschichten (Lamina propria mucosae, Tela submucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa) von 0-4 beurteilt. Die Entzündung wurde in der

Lamina propria mucosae und der Tela submucosa graduiert, dabei wurde zwischen Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten einerseits und eosinophile Granulozyten andererseits unterschieden. Die Gruppen unterschieden sich hinsichtlich ihres Epithelschadens, der Blutungen und der Entzündung nicht signifikant. Das Verhältnis zwischen Interstitium und Krypten in der Lamina propria mucosae wurde mit Hilfe von Flächen- und Streckenmessungen ermittelt. Die Streckenmessungen wurden auf drei verschiedenen Ebenen (Krypte luminal, Krypte zentral, Krypte basal) durchgeführt und jeweils mit den Ergebnissen aus der Flächenmessung verglichen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass zur Messung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses anstelle der aufwändigen Flächenmessung auf die einfachere Streckenmessung in der Mitte der Krypte zurückgegriffen werden kann.

Um histologisch anhand der Schadensausprägung im ischämischen Darmgewebe eine Aussage bezüglich der Prognose oder der Notwendigkeit einer Resektion treffen zu können, bedarf es noch weiterer Studien. Die hier durchgeführte Untersuchung ergab zwischen den überlebenden und den euthansierten Pferden keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Schadensausprägung. Mögliche Gründe hierfür können im Rahmen einer klinischen Feldstudie vielfältig sein, zum Beispiel kann der Dehydrationsgrad des Pferdes zu einer klinischen Verschlechterung und schließlich zur Euthanasie führen. Der für den Chirurgen makroskopisch erkennbare Schaden der Darmschleimhaut konnte histologisch nachvollzogen werden. In 24,6% der Fälle konnte die Notwendigkeit einer Resektion des betroffenen Dünndarmabschnittes eindeutig bestätigt werden.

Kontakt

Maike Breitenstein, Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig
breitenstein.maike@web.de

Charakterisiert das Adrenomedullin den Schock bei Pferden mit Strangulationsileus?

Gábor Köller, Gerald F. Schusser

Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät Universität Leipzig

Einleitung

Adrenomedullin (AM) ist ein vasodilatatives Polypeptid, welches von Endothelzellen der glatten Muskulatur und dem Nebennierenmark produziert wird (1). Es besitzt inotrope Eigenschaften und ist an der Regulation der Durchblutung beteiligt (2). Zu Beginn einer Sepsis bei Menschen und Ratten steigt die Konzentration von AM schnell an, führt zu einem verringerten arteriellen Blutdruck und erhöht die Herzleistung und das Schlagvolumen (3). Ursachen, die eine Hochregulation von AM hervorrufen, sind Sepsis, SIRS (systemic inflammatory response syndrom) und Endotoxinschock (3). In all diesen Fällen besteht eine Endotoxämie. In einem Rattenmodell ließ sich die AM-Expression durch Injektion von Endotoxinen auslösen (1,4). Ziel dieser Untersuchung war es, die AM-Konzentration von Pferden mit Erkrankungen, die zu einer Endotoxämie führen, zu bestimmen.

Material und Methoden

Aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät an der Universität Leipzig wurden 23 Fälle aus den Jahren 2014 und 2015 herausgesucht, die aufgrund einer Magen- bzw. Darmruptur oder einem Strangulationsileus eine Endotoxämie entwickelten (Gruppe E). Zusätzlich wurden sechs Pferde mit Obstipation der linken ventralen Längslage des großen Kolons ohne Anzeichen einer Endotoxämie in Gruppe K zusammengefasst.

Die Bestimmung von Gesamteiweiß (TP), Eisen (Fe), Bilirubin, Aminoaspartat-Transferase (AST), γ -Glutamyl-Transferase (GGT), Glutamatdehydrogenase (GLDH) und Alkoholdehydrogenase (ADH) im Serum erfolgte mit dem Analysesystem Cobas C311 (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) und den entsprechenden Testbesteckten (Roche Diagnostics, Mannheim). Hämatologische Parameter wie, Hämatokrit, Thrombozyten- und Leukozytenzahl, wurden mit dem Hämatologiesystem Advia 120 (Siemens Healthcare Diagnostics, Fernwald) bestimmt. Die Bestimmung von AM erfolgte mit einem kompetitiven ELISA für equines AM (USCN, Wuhan, China). Für die statistische Auswertung der Daten wurde das Softwarepaket R verwendet (5).

Ergebnisse und Diskussion

Signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe K und der Gruppe E konnten bei den Parametern in Tabelle 1 festgestellt werden. Die anderen gemessenen Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tabelle 1: Laborwerte der Gruppen K und E sowie deren Signifikanzen zwischen beiden Gruppen

Parameter	Gruppe K Median (1. und 3. Quartil)	Gruppe E Median (1. und 3. Quartil)	Signifikanz (p)
HK (l/l)	0,325(0,31; 0,40)	0,54 (0,50; 0,57)	0,001
Puls (1/min)	46 (36; 52)	84 (78; 96)	0,002
ADH (U/l)	29,3 (21,9; 31,7)	68,1 (46,0;86,1)	0,022
Fe (μ mol/l)	27,8 (19,5; 34,6)	15,5 (9,6; 21,66)	0,019
GGT (U/l)	148,1(50,2;182,3)	25,9 (14,5; 51,0)	0,004
Laktat (mmol/l)	1,84 (1,36; 2,31)	8,09(5,12; 13,26)	0,001

Die Pferde der Gruppe E zeigten zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung eine höhere Pulsfrequenz als die Pferde der Gruppe K. Auch der Hämatokrit war in Gruppe 2 signifikant erhöht. Aufgrund der, mit einer intestinalen Ischämie einhergehenden Hypoxie, ist die Laktatkonzentrationen in der Gruppe E deutlich höher als in Gruppe K. Ein weiterer Marker für die intestinale Ischämie ist die ADH (6), die ebenfalls in der Gruppe E deutlich erhöht ist. Die in der Gruppe E erniedrigte Eisenkonzentration entsteht durch einen Mangel des Transportproteins Transferrin während einer Endotoxämie-/Entzündungsreaktion. Aufgrund der klinischen Diagnose und den gefundenen labormedizinischen Unterschieden zwischen beiden Gruppen, ist davon auszugehen, dass bei den Patienten der Gruppe E eine Endotoxämie vorlag. Allerdings konnte zwischen der Gruppe E (AM-Konzentration Median: 16,5 ng/l; 1./3.Quartil: 10 ng/l; 28,7 ng/l) und der Gruppe K (AM-Konzentration Median: 11,5 ng/l; 1./3.Quartil: 10 ng/l; 16,7 ng/l) kein signifikanter Unterschied der AM-Konzentration festgestellt werden ($p=0,655$). Im Gegensatz zum Menschen und Labortieren, wie Ratten und Mäusen, scheint AM bei erwachsenen Pferden keine signifikante Verbindung zu einer Endotoxämie bzw. Septikämie zu bestehen. Auch die beobachtete Hochregulation von AM durch eine Hypoxie bei Ratten (4) scheint bei Pferden mit Strangulationsileus bzw. Magen- oder Darmruptur keine Rolle zu spielen. Dies steht im Einklang mit einer Untersuchung der AM-Konzentration bei septikämischen Fohlen, bei denen ebenfalls kein signifikanter Unterschied der AM-Konzentration zwischen septischen und nichtseptischen Fohlen beobachtet werden konnte (2).

Literatur

1. Kishikawa H, Nishida J, Ichikawa H, Kaida S, Morishita T, Miura S et al. Lipopolysaccharides stimulate adrenomedullin synthesis in intestinal epithelial cells: release kinetics and secretion polarity. *Peptides* 2009; 30(5):906–12.
2. Toth B, Slovis NM, Constable PD, Taylor SD. Plasma adrenomedullin concentrations in critically ill neonatal foals. *J. Vet. Intern. Med.* 2014; 28(4):1294–300.
3. Wang P. Adrenomedullin and cardiovascular responses in sepsis. *Peptides* 2001; 22(11):1835–40.
4. Agorreta J, Zulueta JJ, Montuenga LM, Garayoa M. Adrenomedullin expression in a rat model of acute lung injury induced by hypoxia and LPS. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular Physiology* 2005; 288(3):L536-45.
5. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2013. Available from: URL:<http://www.R-project.org/>.
6. Megid Goma NA, Köller G, Fritz Schusser G. Clinical evaluation of serum alcohol dehydrogenase activity in horses with acute intestinal obstruction. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2011; 21(3):242–52.

Kontakt

Dr. Gábor Köller, Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
koeller@vetmed.uni-leipzig.de

Präanalytik - Fehlerquellen bei der Entnahme, Aufbewahrung und Transport von Blut- und Harnproben

Esther Humann-Ziehank

Klinik für kleine Klauentiere, Forensische Medizin und Ambulatorische Klinik, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Die enorme technische Entwicklung hat im Bereich der klinischen Labordiagnostik in der letzten Zeit umfangreiche Veränderungen und Fortschritte ermöglicht. Sowohl der Probenumfang als auch die analytischen Standards haben sich im Zuge dieser Entwicklung deutlich erhöht. Auch wenn heutzutage in kürzester Zeit Untersuchungsergebnisse „schwarz auf weiß“ vorliegen, ist zu bedenken, dass zahlreiche Faktoren das Ergebnis variieren können.

Ein erheblicher Einfluss auf das Untersuchungsergebnis findet bereits in der präanalytischen Phase statt, also vor der eigentlichen Untersuchung der Probe im Labor. Studien aus der Humanmedizin zeigen, dass Mängel in der Probengewinnung, Behandlung und Lagerung bis zu 90 % der Fehler im gesamten diagnostischen Prozess ausmachen (1). Die präanalytische Phase in der Veterinärmedizin umfasst: Auswahl geeigneter Parameter, Tierausswahl und tierspezifische Einflussgrößen, Auswahl des Antikoagulans (sofern mit Plasma gearbeitet wird), Blutentnahme, mögliche Kontamination, Beschriftung und Lagerung der Probe, Transport der Probe zum Labor sowie Vorbereitung der Probe für den analytischen Prozess. Im Folgenden sollen einige wichtige Punkte herausgestellt werden:

Tierspezifische Einflussgrößen

Eine große Vielfalt an tierspezifischen Einflussgrößen müssen im diagnostischen Prozess berücksichtigt werden, von denen hier nur einige genannt werden können: Ein Beispiel für einen altersbezogenen Parameter ist die Alkalische Phosphatase, die bedingt durch hohes Knochenwachstum physiologisch höhere Aktivitäten bei Jungtieren zeigt. Lipidämie stört photometrische Untersuchungsmethoden. Hohe Gehalte an freien Fettsäuren konkurrieren mit Bilirubin um die Aufnahme in die Hepatozyten und können dadurch besonders beim Pferd einen sogenannten Inanitionsikterus auslösen. Endoparasiten setzen unter Umständen die Plasma-Protein-Konzentration herab, Dehydration kann diese dagegen relativ erhöhen. Blutparasiten können die Plasma-Glukose-Konzentration im unzentrifugierten Blut durch fortlaufende Glykolyse erniedrigen (2). Chronobiologische Rhythmen, z.B. für bestimmte Hormone, sowie Fütterungszeitpunkte (z.B. für Glukose, β -Hydroxybutyrat) sollten beachtet werden. Zu Reduzierung tageszeitassoziierter Variationen sollte insbesondere bei Verlaufsuntersuchungen mit wiederholter Probenentnahme jeweils die gleiche Tageszeit zur Beprobung gewählt werden.

Antikoagulanzen

Häufig passen die gewünschte Untersuchung und das verwendete Antikoagulans nicht zusammen. Die Verwendung von Serum oder Plasma für klinisch-chemische Laborparameter wird immer wieder kontrovers diskutiert. Viele Routineparameter sind aus Heparin-Plasma gut bestimmbar. Unterschiede der Konzentrationen verschiedener Parameter in Serum und Plasma resultieren vorwiegend aus dem Verbrauch von Fibrinogen und der Lyse von Blutzellen während des Gerinnungsprozesses. Die Entscheidung, Serum oder Plasma zu gewinnen, sollte sich unbedingt an den Methoden und Referenzwerten des Untersuchungslabors orientieren. EDTA wird in der Regel für hämatologische sowie für molekularbiologische Untersuchungen (z.B. Genotypisierung) verwendet. Die Gerinnungshemmung erfolgt über Chelatbildung mit Calciumionen, daher sind Calcium sowie weitere zweiwertige Ionen zumindest mit Routinemethoden aus EDTA-Plasma nicht korrekt messbar.

Die Probenröhrchen sollten generell bis zu der aufgedruckten Marke mit Blut gefüllt werden, da nur dann das korrekte Mischungsverhältnis Blut-Antikoagulans gewährleistet wird. Heparin sollte nicht als Antikoagulans für PCR-Untersuchungen genutzt werden, da analytische Interferenzen bestehen können (3).

Blut und Hargewinnung

Ein Venenstau sollte nicht länger als 1 Minute erfolgen. Kurzzeitige Veränderung der Körperposition, z.B. Aufstehen direkt vor der Blutentnahme, sollte vermieden werden. Stress generell sowie auch eine Fixation sind zwar häufig unvermeidbar, führen aber zum Beispiel zu Anstiegen von Hämatokrit, Lactat und Glukosekonzentrationen in der Probe. Für anorganisches Phosphat wurde sogar eine Beeinflussung durch den Ort der Blutentnahme (*V. jugularis/V. coccygea*) beim Rind beschrieben (4). Zur Vermeidung von in-vitro Hämolyse muss die Blutaspiration ohne exzessiven Unterdruck erfolgen. Ein Schütteln der Probe sollte unbedingt vermieden werden, die Mischung mit einem Antikoagulans wird durch vorsichtiges Schwenken erreicht. Serumröhrchen aus Plastik müssen, anders als die früher noch häufiger verwendeten Glasröhrchen, ebenfalls mehrmals vorsichtig geschwenkt werden, danach müssen die Proben mindestens 30 min bei Raumtemperatur erschütterungsfrei stehen.

Harnproben sollen in einem speziellen Harnbecher/-röhrchen (ggf. mit Stabilisator) gewonnen und aufbewahrt werden. Bei Spontanharn sollte der Mittelstrahlurin aufgefangen werden. Während bei Spontanharn mit Kontamination durch die Schleimhäute der distalen Harnröhre und äußerem Genitalbereiche zu rechnen ist, besteht beim Katheterharn die Gefahr der Kontamination durch Blutungen. Die Untersuchung des Harnstatus mittels chemischer Harnuntersuchung oder Teststreifen (ungenau) sollte innerhalb von 2h erfolgen. Längere Lagerung ohne Kühlung führt z.B. zum Abbau von Glucose und zum Anstieg des pH.

Kontamination

Neben echten Verschmutzungen wurden auch Kontaminationen der Probe durch das Material der Probenröhrchen beschrieben: Die Verschlusskappen setzten in diesem Fall Zink frei und erhöhten so erheblich die Serum-Zn-Konzentration (5). Wird aus einem permanenten Venenzugang eine diagnostische Probe entnommen, muss eine laufende Infusion mindestens 1-2 Minuten vor der Blutentnahme gestoppt werden. Vor der eigentlichen Probe sollten zwei zu verwerfende Proben entnommen werden, um eine Kontamination mit Resten der Infusion/ Spülflüssigkeit zu vermeiden (6).

Beschriftung

Einer der häufigsten präanalytischen Fehler ist die unzureichende Beschriftung der Proben. Barcodesysteme erleichtern heutzutage zum Teil die Zuordnung. Andernfalls ist es ratsam, bei Probenentnahmen von mehreren Tieren die Röhrchen einfach nur fortlaufend gut lesbar zu beschriften (z.B. 1-10) und zusätzlich eine Liste mit der Zuordnung Röhrchennummer – Tieridentifikation mitzuschicken. Dieses System ist sehr zeitsparend für das Laborpersonal, da handgeschriebene Nummern auf den Röhrchen oft verschmutzt und unleserlich sind und zu falschen Zuordnungen führen können.

Aufbewahrung

Plasma und Serum sollte innerhalb einer Stunde nach Probenentnahme zentrifugiert und in ein neues Gefäß überführt werden, da ansonsten Glykolyse und die Freisetzung v.a. von Kalium und einigen Enzyme aus den Erythrozyten die Messergebnisse verändern können. Plasma/Serum sollte im Kühlschrank aufbewahrt werden, dagegen ist für die Hämatologie eine Aufbewahrung bei Raumtemperatur (2 Tage) vorzuziehen. Das Einfrieren von Serum oder Plasma (-20°C/ -80°C/

flüssiger Stickstoff) ist für viele Untersuchungen möglich, wiederholtes Auftauen/Einfrieren der gleichen Probe ist jedoch dringend zu vermeiden. Beim Auftauen ist darauf zu achten, dass z.B. für Kalium und Natrium erhebliche Konzentrationsgradienten innerhalb der Probe entstehen, sie müssen vor der Analyse daher sehr sorgfältig gemischt werden. Generell variiert die Lagerungsfähigkeit je nach Parameter und Labormethode und sollte mit dem Untersuchungslabor abgestimmt werden. Gute Anhaltspunkte sind zudem von der WHO publiziert worden (7).

Transport

Grundsätzlich sollten die Blutproben keinen starken Erschütterungen ausgesetzt werden. Die vollständige Befüllung der Probenröhrchen ist dabei ein Faktor zur Verminderung von Turbulenzen und nachfolgender Hämolyse. Ein Postversand von unzentrifugierten Proben, sollte nach Möglichkeit unterbleiben. Falls Probenentnahme und Versand zeitlich planbar sind, sollte der Wochenbeginn gewählt werden, um Zustellungsverzögerungen übers Wochenende zu vermeiden. Korrekter Verschluss und Verpackung der Probengefäße sowie eventuelle Zugabe von Kühlelementen ermöglichen, dass die Proben in brauchbarem Zustand im Labor ankommen. Eine Übersicht zur Präanalytik ist unter (8) zu finden.

Literatur

1. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(4):358-365.
2. Burkhard MJ, Garry F. Artfactual hypoglycemia associated with hemotrophic mycoplasma infection in a lamb. *Vet Clin Pathol* 2004;33:244-248.
3. Beutler E, Gelbart T, Kuhl W. Interference of heparin with the polymerase chain reaction. *Biotechniques* 1990;9(2):166.
4. Montiel L, Tremblay A, Girard, V, Chorfi Y. Preanalytical factors affecting blood inorganic phosphate concentration in dairy cows. *Vet Clin Pathol* 2007; 36: 278-280.
5. Keyzer J, Oosting E, Wolthers B, Muskiet F, Hindriks F, van der Slik W. Zinc in plasma and serum: influence of contamination due to the collection tubes. *Pharmacy World & Science* 1983;5:248-251.
6. Ponto LL, Graham MM, Richmond JC, Ward CA, Clermont DA, Schmitt BA, Clark J, Conklin A, Weldon L, Watkins GL, Madsen MT, Hichwa RD. Contamination levels in blood samples drawn from the injection intravenous line. *Mol Imaging Biol* 2002;4:410-414.
7. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigation & stability of blood, plasma and serum samples. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2002. http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_DIL_LAB_99.1_Rev.2.pdf
9. Humann-Ziehank E, Ganter M. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. *ANIMAL* 2012; 6:1115–1123

Kontakt

PD Dr. Esther Humann-Ziehank, Klinik für kleine Klauentiere, Forensische Medizin und Ambulatorische Klinik, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
esther.humann-ziehank@tiho-hannover.de

Diagnostisches Update zur Beurteilung der Insulinsensitivität beim Pferd

Katja Roscher

Klinik für Pferde, Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen

Störungen in den Regulationsmechanismen des Insulinhaushaltes sind bei Pferden und Ponys eine wichtige Prädisposition für die Entstehung einer Hufrehe. So ist eine bestehende Insulinresistenz (IR) neben der Adipositas und der Prädisposition zur Hufrehe eine der drei grundlegenden Komponenten der Definition des equinen metabolischen Syndroms (EMS) (1). IR bedeutet, dass insulinsensitives Gewebe, insbesondere Muskulatur, Fettgewebe und die Leber, eine verminderte Reaktion auf Insulin zeigen. Dies führt zu einer verminderten Aufnahme von Glukose in insulinsensitive Körperzellen, einer vermehrten Glukosesynthese in der Leber sowie einer vermehrten Lipolyse. Der Zusammenhang von Hufrehe und Insulin wird seit den 80iger Jahren des vorigen Jahrhunderts beschrieben (2). Bei klinisch unauffälligen Ponys und Trabern wurde in experimentellen Studien gezeigt, dass eine Dauerinfusion von hohen Dosen Insulin unter Aufrechterhaltung eines physiologischen Blutglukosespiegels (3, 4) sowie eine Dauerinfusion von Glukose (5) zu den klinischen bzw. histologischen Veränderungen einer Hufrehe führen. Ungeklärt sind hierbei noch immer die vollständigen pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen einer Hyperinsulinämie und den Veränderungen an der Huflederhaut. Ebenso ist ungeklärt, ob die Hyperinsulinämie alleinig durch vermehrte Sekretion des Pankreas oder auch verminderten Abbau in der Leber verursacht wird, und ob die Hyperinsulinämie primär Ursache oder Folge der IR ist. Abgeleitet aus experimentellen Untersuchungen an Mäusen ist möglicherweise eine genetische Prädisposition die Ursache für eine abnorme Insulinausschüttung nach der Nahrungsaufnahme mit daraus folgender Entstehung der IR (6).

Als Goldstandard für die Insulinmessung im Blut gilt der Radioimmunoassay (RIA), ebenfalls etabliert für Pferde sind Messungen mittels Chemilumineszenz-Immunoassay (CLA) oder ELISA (7). Insulinkonzentrationen über 20 $\mu\text{U/ml}$, gemessen morgens zwischen acht und zehn Uhr nach ca. sechsstündiger Nüchternphase (letzte Raufuttergabe von 1-2 kg um 22 Uhr des Vortages), gelten als Hinweis auf das Vorliegen einer IR (1). Die Sensitivität der einmaligen Nüchtern-Insulinbestimmung ist jedoch relativ niedrig. Dies bedeutet, dass auch Pferde mit geringgradiger Dysregulation unter diesem sogenannten "cut-off" von 20 $\mu\text{U/ml}$ liegen können (8). Darüber hinaus ist die Insulinkonzentration im Blut u.a. abhängig von Rasse, Alter, Trainingszustand, Stress, sowie insbesondere dem Zeitpunkt und der Zusammensetzung der Futterration, so dass dynamische Tests zum Nachweis einer Dysregulation des Insulinhaushaltes ratsam sind (1). Sowohl einmalige Bestimmung als auch dynamische Tests sollten jedoch nicht bei Pferden mit akuten Schmerzen oder akuten systemischen Entzündungen durchgeführt werden, da in beiden Situationen eine vorübergehende Hyperinsulinämie und Dysregulation des Insulinhaushaltes vorliegen kann.

Als Goldstandard für die dynamische Testung zum Nachweis einer IR bzw. der Ermittlung der Insulinsensitivität beim Pferd gelten der Hyperinsulinämische-euglykämische Clamp-Test (HEC) sowie der frequently sampled i.v.glucose tolerance test (FSIGTT) - beide sind in der täglichen Praxis jedoch impraktikabel. Aus diesem Grund wurden weniger zeit- und materialaufwändige Verfahren etabliert. Hierbei wird die Ausschüttung von Insulin auf die Gabe großer Mengen Glukose (oder anderer wasserlöslicher Kohlenhydrate), gegebenenfalls mit zusätzlicher Verabreichung von Insulin, oder die Regulation der Blutglukose auf die Verabreichung von Insulin bewertet.

Das Consensus Statement des American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) zum EMS aus dem Jahr 2010 empfiehlt als dynamischen Test den kombinierten Glukose-Insulin-Toleranztest (cGIT) (1). Hierbei werden nach ca. achtstündiger Nüchternphase morgens 150 mg/kg KGW Dextroselösung als Bolus (< 1 Minute) unmittelbar gefolgt von 0,1 IE/kg KGW Insulin intravenös verabreicht. Bei gesunden Pferden wird nach 45 Minuten die Ausgangskonzentration der Blutglukose wieder erreicht und die Insulinkonzentration liegt unter 100 $\mu\text{U/ml}$ (9).

Bei den auf alleiniger Gabe von Glukose beruhenden Tests werden 1 bzw. 1,5 g/kg KGW Glukose mit wenig gehäckseltem Raufutter (10, 11) oder 0,15 ml/kg KGW Karo™ Light Syrup (8) verabreicht. Abhängig von der Rasse werden bei klinisch unauffälligen Equiden nach der Verabreichung von Glukose nach 120 Minuten Insulinwerte von 100 $\mu\text{U/ml}$ in der Regel nicht überschritten (10, 11), 60 Minuten nach der Gabe von Karo™ Light Syrup sind es 60 $\mu\text{U/ml}$ (8). Die Pferde und Ponys hatten in den jeweiligen Studien über Nacht freien Zugang zu Heu und Wasser.

Beim Insulin-Toleranztest (ITT) wird in der vereinfachten Variante 30 Minuten nach intravenöser Verabreichung von 0,1 IE/kg KGW Insulin die Konzentration der Blutglukose gemessen. Diese liegt bei insulinsensitiven Pferden mindestens 50% unter der Ausgangskonzentration (12).

Im klinischen Alltag erscheint folgendes Vorgehen sinnvoll: Bei Pferden mit rezidivierender Hufrehe sowie generalisierter oder lokalisierter Adipositas kann zunächst die Insulinkonzentration im Blut nach mehrstündiger Nüchternphase bestimmt werden. Liegt diese deutlich über 20 $\mu\text{U/ml}$ ist eine IR wahrscheinlich. Bei niedrigen Konzentrationen sollte ein dynamischer Test (cGIT) durchgeführt werden. Beide Tests sollten nicht bei Patienten mit akuten Schmerzen und akuten systemischen Entzündungen, möglichst unter Vermeidung von erhöhtem Stress, durchgeführt werden.

Die therapeutische Konsequenz besteht in jedem Fall in einer Reduktion des Körpergewichtes durch angepasste Fütterung und wenn möglich vermehrter Bewegung.

Literatur

1. Frank N, Geor RJ, Bailey SR, Durham AE, Johnson PJ. Equine metabolic syndrome. *Journal of veterinary internal medicine* 2010; 24(3):467–75.
2. Coffman JR, Colles CM. Insulin tolerance in laminitic ponies. *Canadian journal of comparative medicine: Revue canadienne de medecine comparee* 1983; 47(3):347–51.
3. Laatsch MA de, McGowan CM, Sillence MN, Pollitt CC. Equine laminitis: induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine veterinary journal* 2010; 42(2):129–35.
4. Asplin KE, Sillence MN, Pollitt CC, McGowan CM. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Veterinary journal* 2007; 174(3):530–5.
5. Laatsch MA de, Sillence MN, McGowan CM, Pollitt CC. Continuous intravenous infusion of glucose induces endogenous hyperinsulinaemia and lamellar histopathology in Standardbred horses. *Veterinary journal* 2012; 191(3):317–22.
6. Frank N, Tadros EM. Insulin dysregulation. *Equine veterinary journal* 2014; 46(1):103–12.
7. Öberg J, Bröjer J, Wattle O, Lilliehöök I. Evaluation of an equine-optimized enzyme-linked immunosorbent assay for serum insulin measurement and stability study of equine serum insulin: *Comparative Clinical Pathology*. *Comp Clin Pathol* 2012; 21(6):1291–300.
8. Frank N, Geor R. Current best practice in clinical management of equine endocrine patients. *Equine Veterinary Education* 2014; 26(1):6–9.
9. Eiler H, Frank N, Andrews FM, Oliver JW, Fecteau KA. Physiologic assessment of blood glucose homeostasis via combined intravenous glucose and insulin testing in horses. *American journal of veterinary research* 2005; 66(9):1598–604.
10. Bamford NJ, Potter SJ, Harris PA, Bailey SR. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. *Domestic animal endocrinology* 2014; 47:101–7.

11. Borer KE, Bailey SR, Menzies-Gow NJ, Harris PA, Elliott J. Effect of feeding glucose, fructose, and inulin on blood glucose and insulin concentrations in normal ponies and those predisposed to laminitis. *Journal of animal science* 2012; 90(9):3003–11.
12. Bertin FR, Sojka-Kritchevsky JE. Comparison of a 2-step insulin-response test to conventional insulin-sensitivity testing in horses. *Domestic animal endocrinology* 2013; 44(1):19–25.

Kontakt

Dr. Katja Roscher; Klinik für Pferde, Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen
Katja.Roscher@vetmed.uni-giessen.de

Mengenelemente im Plasma? Wie gut wird die Versorgung reflektiert?

Ellen Kienzle

Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik, Ludwig-Maximilians-Universität München

Bei Tierhaltern besteht oft die irrige Vorstellung, man könne anhand einer Blutanalyse die Versorgung mit Mengenelementen beurteilen. Dies ist nur sehr eingeschränkt möglich. Der Gehalt im Plasma wird zum Teil sehr strikt reguliert, z.B. bei Calcium vor allem über Parathormon und Calcitonin, bei Natrium über Aldosteron, Renin und Angiotensin. Erhebliche Veränderungen im Gehalt des Plasmas an Calcium, Magnesium, Phosphor, Natrium, Kalium und Chlorid hätten erhebliche, zum Teil lebensbedrohliche klinische Folgen. Deshalb macht die Bestimmung dieser Elemente im Plasma zur Überprüfung der Ernährung weniger Sinn als im Kontext einer klinischen Behandlung wie z.B. der Verabreichung von Infusionen bei Kolikern. Bei wissenschaftlichen Untersuchungen mit variierender Mengenelementzufuhr ist es durchaus möglich, Fütterungseffekte im Plasma darzustellen, z.B. einen postprandialen Anstieg. Allerdings liegen in solchen Studien i.d.R. alle Werte im Referenzbereich. Mittels einer Einzelprobe sind diese Effekte nicht darstellbar. In diesem Zusammenhang sei auch darauf verwiesen, dass die Aussagekraft einer Probe von einem Einzeltier in vielen Fällen deutlich geringer ist als mehrere Proben von einer Tiergruppe oder von Verlaufsuntersuchungen.

Zwischen den Mengenelementen gibt es allerdings erhebliche Unterschiede hinsichtlich der Aussagekraft einer Blutprobe.

Beim Calcium ist die Aussagekraft von Blutproben hinsichtlich der nutritiven Calciumversorgung sehr gering. Natürlich würde sich eine Hypocalcämie bei einer laktierenden Stute oder einem Koliker im Plasma zeigen, dann ist i.d.R. aber bereits ein klinisches Problem vorhanden. Eine chronische Fehlversorgung mit Calcium zeigt sich aufgrund der bekannten Regulationsmechanismen aber nicht bzw. erst im Endstadium, wenn bereits andere Schäden z.B. am Skelett eingetreten sind. Hypercalcämie ist eher ein Hinweis auf eine Nierenerkrankung als auf Calciumübersorgung. Sofern nutritiv bedingt, kommt sie durch die Aufnahme von exzessiven Mengen an Vitamin D-wirksamen Metaboliten zustande, z.B. durch Aufnahme von Goldhafer oder Überfütterung mit vitaminhaltigen Ergänzungen. Beim Phosphor ist die Aussagekraft etwas höher, sehr hohe und sehr niedrige Phosphoraufnahme kann sich im Plasma zeigen, besonders wenn gleichzeitig das Calcium/Phosphor-Verhältnis unausgeglichen ist (<1:1 oder > 3:1). Zu beachten ist, dass Fohlen höhere Phosphorwerte haben als adulte Pferde. Akutes Nierenversagen, Rhabdomyolyse, Enterocolitis und extreme Belastungen können Hyperphosphatämie bedingen. Nutritiv kann diese durch exzessive Aufnahme Vitamin D-wirksamer Substanzen ausgelöst werden. Hypophosphatämie kann durch chronische Nierenerkrankungen bedingt sein. Der Magnesiumgehalt im Plasma ist weniger stark reguliert als Calcium und Phosphor, hier spiegeln sich Extreme der nutritiven Versorgung wieder. Kolik, Durchfall oder Endotoxämie können Hyper- oder Hypomagnesiämie verursachen. Ältere Pferde haben niedrigere Normalwerte als Fohlen. Der Natriumgehalt im Plasma ist zur Diagnose der Natriumunterversorgung mit dem Futter nicht geeignet. Eine längerfristige Mangelversorgung führt zur Reduktion des extrazellulären Volumens, nicht aber zur Reduktion des Plasmanatriumgehaltes. Hyponatriämie kann Folge verschiedener Erkrankungen sein z.B. Nierenerkrankungen, Blasenruptur, Darmverdrehungen, Durchfall und Aszites. Hypernatriämie kann durch exzessive Kochsalzaufnahme zustande kommen, vor allem in Kombination mit Wasserrestriktion, oder auch bei Fohlen. Dann sind aber klinische Erscheinungen (ZNS-Störungen)

1

zu erwarten. Ein Überkonsum von Kochsalz bei ausreichender Wasserversorgung führt in aller Regel nicht zur Hypernatriämie. Wassermangel kann Hypernatriämie zur Folge haben. Cushing kann ebenfalls zur Hypernatriämie führen. Für Chlorid gilt ähnliches.

Kalium ist im Plasma weniger stark reguliert als Natrium. Es würde theoretisch Fehlversorgungen anzeigen können. Allerdings nimmt das Pferd über Gras und dessen Konserven, die in der Pferdefütterung unabdingbar sind, in aller Regel reichlich Kalium auf, so dass ein nutritiver Kaliummangel nur unter experimentellen Bedingungen zu erwarten ist. Eine kritische Überversorgung durch Pflanzenmaterial ist auch bei starker Kalidüngung unwahrscheinlich. Kalisalze zeichnen sich durch einen recht bitteren Geschmack aus, so dass Überversorgung durch Mineralprodukte ebenfalls wenig wahrscheinlich ist. Deswegen ist sowohl die Hypo- als auch die Hyperkaliämie unter Praxisbedingungen in aller Regel nicht nutritiv bedingt. Veränderungen können durch sehr starke Anstrengungen mit entsprechenden Schweißverlusten bedingt sein. Eine Reihe klinischer Erkrankungen wie z.B. Muskelstoffwechselstörungen, Durchfall oder Nierenerkrankungen können den Plasmakaliumwert ebenfalls verändern. Last but not least ist eine Erhöhung des Kaliumwertes möglich, wenn das Plasma hämolytisch ist oder wenn die Abtrennung des Plasmas zeitlich verzögert erfolgt, da dann Kalium aus den Erythrozyten austreten kann.

Als Fazit kann gesagt werden, dass die Bestimmung von Mengenelementen im nutritiven Kontext weit weniger Aussagekraft besitzt als bei klinischen Erkrankungen. Insbesondere die langfristige Über- oder Unterversorgung kann sehr viel besser mittels einer Rationsberechnung abgeschätzt werden. Ein Ausschluss von nutritiven Fehlversorgungen an Mengenelementen mittels einer Blutprobe ist nicht möglich.

Literatur

1. Vervuert I, Kienzle E: Assessment of nutritional status from analysis of blood and other tissue samples. In: Geor R, Harris PA, Coenen M. Herausgeber. Equine applied and clinical nutrition. Saunders, Elsevier; 2013. pp. 425-442

Kontakt

Prof. Dr. Ellen Kienzle, Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik, Oberschleißheim
kienzle@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Ein Update zur Schilddrüsendiagnostik

Kerstin Fey

Klinik für Pferde, Innere Medizin, Justus-Liebig-Universität Gießen

Einleitung

Die Schilddrüse des Pferdes gibt oft Anlass zu tierärztlichen Untersuchungen, da Vergrößerungen dieses Organs vor allem bei älteren Tieren häufig vorkommen: so wurden bei 100 zufällig aufeinander folgenden Sektionen bei erwachsenen Pferden lediglich 34 Schilddrüsen als makroskopisch und histologisch normal befundet (10). Ob in vivo ein oder beide Lobi sich tatsächlich vergrößert haben oder dem Besitzer lediglich auffallen, da umgebende Strukturen atrophiert sind, lässt sich meist mittels klinischer und sonografischer Untersuchung gut differenzieren (9). Hyper- bzw. neoplastische Veränderungen können mittels Sonografie in solide, zystische und/oder inhomogene Tumore eingeteilt werden. Die Sonografie erleichtert zudem eine gezielte Biopsie-Entnahme, die für eine nähere Bestimmung der vielfältig möglichen Tumorformen erforderlich ist.

Erstaunlicherweise sind diese häufigen, meist ein- oder gelegentlich auch beidseitigen Umfangsvermehrungen der Thyreoidea bei Pferden fast nie mit Störungen der endokrinen Aktivität der Schilddrüse verbunden. Und ob mit oder ohne Kropfbildung: Endokrine Störungen mit primärer Ursache in der Schilddrüse sind beim Pferd insgesamt sehr selten.

Hormone der Thyreoidea

Die Schilddrüsenhormone beeinflussen den Energieumsatz der Gewebe in vielfältiger Weise. Ihre korrekte Konzentration und Funktion sind vor allem bei der fetalen und neonatalen Organogenese von überlebenswichtiger Bedeutung. In den Geweben der Körperperipherie am wirksamsten ist das Triiodthyronin (T3), welches aus dem im Blut in deutlich höheren Konzentrationen vorliegenden Thyroxin (T4=Tetraiodthyronin=Levothyroxin) abgespalten wird. Die Produktion beider Hormone in der Schilddrüse sowie die Umwandlung des T4 in das wirksamere T3 wird durch das thyreoideastimulierende Hormon (TSH=Thyreotropin) reguliert. TSH stammt aus thyreotropen Zellen der Pars distalis der Adenohypophyse. Seine Freisetzung in den Blutkreislauf wird wiederum durch ein Releasing Hormon, das TRH (Thyreoliberin=Protirelin) gesteuert.

Negative feed-back Mechanismen und eine Vielzahl weiterer Einflussfaktoren wie u.a. Glukokortikoide, Leptin und Zytokine passen die Hormonaktivität an den Bedarf an. Die im Blut messbaren Konzentrationen von T3 und T4 unterscheiden sich, je nachdem ob sie spezifisch oder unspezifisch an Bluteiweiße gebunden sind oder frei vorliegen. Insbesondere die Gesamtkonzentrationen werden also von den entsprechenden Eiweißkonzentrationen beeinflusst, aber u.a. auch von Futtermittelaufnahme, Medikamenten, körperlicher Belastung und Trächtigkeit. Daher gelten einmalige Bestimmungen der basalen Schilddrüsenhormone als nicht ausreichend, um etwas über die Funktion der equinen Schilddrüse aussagen zu können; hierfür sind Funktionstests notwendig.

Hyperthyreose beim Pferd

Bei Schilddrüsenüberfunktion würde u.a. Hyperaktivität mit übermäßig gesteigertem Energie- und Nährstoffumsatz erwartet, der trotz gutem Appetit insgesamt zum Gewichtsverlust führt. Nach Recherche der Autorin sind lediglich zwei Einzelfallberichte mit umfangsvermehrter Schilddrüse sowie klinisch und labordiagnostisch nachweisbarer Hyperthyreose bei erwachsenen Pferden publiziert: ein Adenom bei einem 23jährigen Quarterhorse (1) und ein Adenokarzinom bei einem 21jährigen Araber (8). Es ist also beim Pferd extrem selten, dass Neoplasien der Schilddrüse

1

übermäßig endokrin aktiv sind. Aber auch andere Ursachen für Hyperthyreosen, wie z.B. die Bildung von intrinsisch aktiven Autoantikörpern gegen TSH-Rezeptoren (Morbus Basedow) oder eine Schilddrüsenautonomie, wie sie beim Menschen besonders in Jodmangelgebieten gesehen wird, sind beim Pferd nicht dokumentiert. Die Aufnahme bzw. Verabreichung größerer Iodmengen scheint zwar auch beim Pferd zur Kropfbildung zu führen, ist aber dann wohl nicht mit einer Hyper- sondern (ebenfalls sehr selten dokumentiert) mit einer Hypothyreose verbunden (4).

Physiologischerweise finden sich hohe Werte der Schilddrüsenhormone in Trächtigkeit, im Fetus und bei Neonaten. Bei klinischem Verdacht auf eine Hyperthyreose und basal erhöhten T3 und T4 Werten kann ein T3 Suppressionstest die Diagnose sichern (1). Bei normaler Regulation sollte nach (mehrtägiger) T3 Injektion das T4 erniedrigt sein; lässt sich das T4 nicht supprimieren, so gilt dies als Bestätigung der Hyperthyreose. Die T3 Suppression ist beim Pferd als Test aber nicht weiter evaluiert. Zudem steht ein parenteral zu verabreichendes T3 nach Kenntnis der Autorin nicht zur Verfügung.

Hypothyreose

Vorangeschickt sei, dass eine durch Iodmangel hervorgerufene Hypothyreose unter Feldbedingungen nicht gezeigt werden konnte (7). In Analogie zu anderen Tierarten bzw. des Menschen wird bei einer Unterfunktion der Schilddrüse klinisch auch bei adulten Pferden Lethargie und Gewichtszunahme bei Bradykardie und Untertemperatur erwartet. Von der Messung niedriger Konzentrationen an Schilddrüsenhormonen wird relativ häufig berichtet, insbesondere im Zusammenhang mit dem equinen metabolischen Syndrom oder der Dysfunktion der Pars intermedia der Hypophyse (PPID). Ebenso wie das von Hilderbran et al. 2014 auch bei Pferden beschriebene „Nonthyroidal Illness Syndrome“ (NTIS) beruhen die niedrigen T3 und evtl. auch T4 Konzentrationen aber fast nie auf primären Problemen in der Schilddrüse, sondern diese sind eine Folge der aufgrund der Grunderkrankung gestörten Regulation der Hormonsekretion. Die erniedrigten Hormonwerte bei den klinisch schwer kranken Patienten mit NTIS sind beim Menschen prognostisch aussagekräftig, führen aber nicht zur Supplementierung von Schilddrüsenhormon. Um einen Funktionsmangel der Schilddrüse selbst nachzuweisen, ist ein Stimulationstest erforderlich. TSH wäre für die direkte Stimulierung der Schilddrüse ideal, ist aber sehr teuer. Daher wird üblicherweise ein TRH-Stimulationstest (TRH Ferring) eingesetzt. Das intravenös verabreichte TRH (1 mg/Großpferd bzw. 0,5 mg/Pony) muss zunächst an der Hypophyse zu einer Freisetzung von TSH führen und erst dieses steigert dann die T3 und T4 Konzentrationen im peripheren Blut. Zwei Stunden nach der TRH-Applikation ist der Höchstwert des T3 erreicht und vier Stunden nach TRH jener des T4 – im Vergleich zu den Basalwerten sollten sich die Konzentrationen beider Hormone dann jeweils verdoppelt haben. An größeren Pferdezahlen erfolgte Tests verdeutlichen allerdings, dass nicht alle gesunden Pferde diese Anstiege zeigen (3); wie so häufig müssen auch diese Testergebnisse im Zusammenhang mit dem jeweiligen Patienten und seiner klinischen Symptomatik interpretiert werden.

Ein ungenügender oder nicht vorhandener Anstieg der Schilddrüsenhormone nach TRH-Gabe bedeutet, dass entweder die Hypophyse oder die Schilddrüse zu wenig stimulierbar ist. Insbesondere bei PPID Patienten dürften niedrig bleibende T3 und T4 Werte ganz überwiegend durch die durch das Adenom beeinträchtigte Hypophyse bedingt sein. Wird die Grunderkrankung erkannt und behandelt, so ist zu erwarten, dass sich auch die TSH Konzentration wieder normalisiert (2). Leider stehen zur Messung von TSH keine Routinetests zur Verfügung. Beim equinen metabolischen Syndrom (EMS) sollten physiologische Stimulationswerte erreicht werden – die mancherorts erfolgende Gabe von Schilddrüsenhormon wird die Tiere zwar aufgeregter und unruhiger machen, hat aber mit der ursächlichen Therapie nichts zu tun.

TRH-Stimulationstest mit Messung des ACTH

Als Möglichkeit, eine PPID zu diagnostizieren wird in neuerer Zeit der TRH-Stimulationstest vorgeschlagen, bei dem aber anstelle der Schilddrüsenhormone das ACTH gemessen wird (5). Offenbar löst das Releasing Hormon nicht nur die spezifisch eine Freisetzung des TSH aus der Hypophyse aus, sondern stimuliert auch die Sekretion von ACTH. Bei PPID liegt ein im Vergleich zu gesunden Pferden sowohl 10 als auch 30 Minuten nach TRH Injektion (1 mg/Pferd bzw. 0,5 mg/Pony) ein signifikant höherer ACTH Wert im Blut vor. Ob dieser Test für eine frühzeitige PPID Diagnose (ganzjährig) besser geeignet ist als die bislang üblichen (ACTH Basalwert, Dexamethason-Suppressionstest) muss allerdings durch weitere vergleichende Untersuchungen belegt werden.

Literatur

1. Alberts MK, McCann JP, Woods PR. Hemithyroidectomy in a horse with confirmed hyperthyroidism. *J Am Vet Med Assoc* 2000 Oct; 217(7):1051-1054
2. Beech J, Boston R, Lindborg S. Comparison of cortisol and ACTH responses after administration of thyrotropin releasing hormone in normal horses and those with pituitary pars intermedia dysfunction. *J Vet Intern Med* 2011 Nov-Dec;25(6):1431-8
3. Breuhaus BA. Disorders of the equine thyroid gland. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2011 Apr;27(1):115-28
4. Doria RGS, Canola PA, Ribeiro G, Di Filipo PA, Dias DPM, Valadão CAA. Equine iatrogenic hypothyroidism due to iodine excess: case report. *Arquivo Brasileiro Medicina Vet Zootecnia* 2008 Jun;60(3):521-524
5. Durham AE, McGowan CM, Fey F, Tamzali Y, van der Kolk JH. Pituitary pars intermedia dysfunction: Diagnosis and treatment. *Equine vet Educ* 2014 Apr;26(4):216-223
6. Hilderbran AC, Breuhaus BA, Refsal KR. Nonthyroidal illness syndrome in adult horses. *J Vet Intern Med.* 2014 Mar-Apr;28(2):609-17
7. Medica P, Fazio E, Cravana C, Ferlazzo A. Influence of endemic goitre areas on thyroid hormones in horses. *Animal* 2011 Jan;5(1):82-87
8. Ramirez S, McClure JJ, Moore RM, Wolfsheimer KJ, Stephen D, Gaunt SD, Mirza MH, Taylor W. Hyperthyroidism associated with a thyroid adenocarcinoma in a 21-year-old gelding. *J Vet Intern Med* 1998 Nov-Dec;12(6):475-477
9. Rathmanner M and Rijkenhuizen ABM. Ultrasonography of the upper cervical region (EUCR) in the horse. *Pferdeheilkunde* 2012 Sept-Oct;28(5):575-582
10. Schlotthauer DF. The incidence and types of disease of the thytoid gland of adult horses. *J Am Vet Med Assoc* 1931;78:211-218

Kontakt

Prof. Kerstin Fey, Klinik für Pferde, Innere Medizin; Justus-Liebig-Universität Gießen
kerstin.fey@vetmed.uni-giessen.de

Jodversorgung beim Pferd: Welche diagnostischen Parameter sind sinnvoll?

Ellen Kienzle

Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik, Ludwig-Maximilians-Universität München

Pferde sind vor allem gegen Jodübersorgung empfindlich. Diese wird i.d.R. durch Zufütterung jodhaltiger Ergänzungen, insbesondere durch Algenprodukte verursacht. Nachstehende Tabelle zeigt eindrücklich, dass eine kritische Übersorgung von einer bedarfsdeckenden Aufnahme nur anhand des Jodgehaltes im Urin unterschieden werden kann. Es ist empfehlenswert, entweder Creatinin im Urin zusätzlich zu bestimmen, oder das spezifische Gewicht, um Fehler durch eine besonders hohe oder geringe Harnproduktion auszuschließen.

Tabelle 1: Parameter des Jodstoffwechsels in Abhängigkeit von der Jodversorgung (Engelschalk 2001)

Jodaufnahme in µg/kg KM	3,2	23,2	43,2	83,2	3,2
Als Mehrfaches des Bedarfs	1fach	7fach	13fach	26fach Kritische Übersorgung	1fach
Plasma					
T3, ng/dl	89,3±26,2	84,6±27,2	78,9±29,2	81,2±34,2	75,1±26,2
T4, µg/dl	1,9±0,4	1,5±0,3	1,4±0,4	1,5±0,4	1,7±0,4
FT3 pg/ml	3,4±1,1	2,9±0,8	2,9±0,9	2,6±0,9	2,4±0,7
FT4 ng/dl	1,2±0,4	1,1±0,3	1,1±0,2	0,9±0,2	1,1±0,4
Proteingebundenes Jod µg/dl	2,5±0,4	2,8±0,7	2,9±0,5	2,7±0,7	2,4±0,6
Urin					
Jod µg/l	237±335 ^a	1100±338 ^{ab}	2195±1222 ^b	5040±1059 ^b	180±78 ^a
Jod/Creatinin µg/g	109±133 ^a	820±324 ^{ab}	1550±631 ^b	2742±935 ^b	85±33 ^a

Mittelwerte in einer Reihe, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$), in Reihen ohne Kennzeichnung gab es keine signifikanten Unterschiede

Literatur

1. Engelschalk, B. Untersuchungen zur Jodversorgung des Pferdes [Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2001.

Kontakt

Prof. Dr. Ellen Kienzle, Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik, Oberschleißheim
kienzle@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Wie gut reflektieren die Kupfer-, Zink- und Selengehalte im Blut die entsprechende Versorgung beim Pferd?

Ingrid Vervuert

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Einleitung

Die adäquate Zufuhr von Spurenelementen ist für die Erhaltung der Gesundheit und für das Erbringen von Leistung unabdinglich in der Pferdefütterung. Ein nicht unerheblicher Anteil an Spurenelementen wie z.B. Eisen oder Mangan wird bereits über das Grundfutter wie z.B. Heu bedarfsdeckend abgedeckt, wohingegen die Zufuhr an Kupfer oder Zink über das Grundfutter häufig nicht eindeutig einzuschätzen ist, da die Gehalte sehr variabel sein können (Tabelle 1).

Tabelle 1: Spurenelementgehalte im Pferdeheu (LUFÄ Nordwest, Angaben in Mittelwerten und Schwankungsbreiten)

Parameter (mg/kg TS)	2013 (n = 132)	2014 (n = 31)	Zielwert (mg/kg TS)	Bedarf (mg/kg KM ^{0,75})(1)
Kupfer	6 (2,3-39,8)	5,8 (2,9-49,6)	8-12	1-1,1
Zink	34 (11-111)	30,4 (12-116)	30-80	4-4,5
Mangan	173 (26-762)	163 (21-870)	50-80	4-4,5
Eisen	305 (63-2097)	303 (45-2682)	50-80	4-5

Die Selen-Aufnahme hingegen wird in der Regel ohne Supplementierung über ein Ergänzungs- oder Mineralfutter immer bedarfsunterschreitend sein (Selen-Bedarf 0,01-0,015 mg/kg KM^{0,75}), da die meisten Futtermittel wie z.B. Heu oder Gras, aber auch Getreide nur einen sehr geringen Selen-Gehalt aufweisen (2).

Aus diesem Grunde stellt sich die Frage, ob die Gehalte an Kupfer, Zink oder Selen im Blut geeignet sind, um die Versorgungssituation mit den entsprechenden Spurenelementen adäquat beim Pferd beurteilen zu können?

Kupfer (Cu)

Der Referenzbereich im Plasma bzw. Serum, der eine adäquate Cu-Versorgung adulter Pferde reflektieren soll, wird mit 50-150 µg/dl (7,87-23,6 µmol/l) angegeben. In den wenigen Studien, in denen der Zusammenhang zwischen der Cu-Aufnahme und den Cu-Gehalten im Plasma bzw. Serum beim Pferd bzw. Fohlen überprüft wurde, konnte allerdings kein eindeutiger Zusammenhang zur Cu-Fütterung und den resultierenden Cu-Gehalten im Blut dargestellt werden. Deutlich wurde in diesen Untersuchungen aber, dass Cu im Plasma bzw. Serum stark altersabhängig ist. Fohlen in den ersten Lebenswochen weisen Cu-Gehalte im Plasma auf, die nur zwischen 15-30 µg/l (2,36-4,7 µmol/l) liegen, wobei es keinen Zusammenhang zur Cu-Versorgung der tragenden bzw. laktierenden Stute gibt (3). Ein enger linearer Zusammenhang besteht allerdings zur Cu-Aufnahme und den Cu-Gehalten in der Leber. Ähnlich wie bei anderen Tierarten wie z.B. dem Wiederkäuer wird auch beim Pferd Cu in der Leber gespeichert (4). Des Weiteren gibt es einen linearen Zusammenhang zur Cu-Versorgung der tragenden Stute und dem transplazentaren Cu-Transport in die fötale Leber. Fohlen, bei denen die Mutterstuten während der letzten Trächtigkeitsmonate bedarfsangepasst mit Cu versorgt wurden, wiesen deutlich höhere Cu-Gehalte in der Leber zum Zeitpunkt der Geburt auf als Fohlen, bei denen die tragenden Stuten keine Cu-Zulage erhielten (4). Hervorzuheben ist in diesem

Zusammenhang auch, dass die Stutenmilch nicht durch die Cu-Versorgung der tragenden bzw. laktierenden Stute beeinflusst werden kann. Unabhängig, ob die Stute marginal oder deutlich über den Bedarf mit Cu versorgt wird, die Cu-Gehalte in der Stutenmilch sind mit <1 mg/kg Milch immer sehr niedrig (5), und decken den Cu-Bedarf des Fohlens nicht ab.

Aufgrund der Speicherbarkeit von Cu in der Leber kann spekuliert werden, dass kurz- bis mittelfristige Engpässe in der Cu-Versorgung nicht über die Plasma bzw. Serum Cu-Gehalte reflektiert werden, so dass vermutlich allenfalls eine langfristige (über Monate) marginale Cu-Versorgung über die Cu-Gehalte im Plasma bzw. Serum festgestellt werden kann. Ähnliches ist auch für die deutliche Überversorgung mit Cu abzuleiten.

Zink (Zn)

Bei gesunden Pferden wird im Plasma bzw. Serum ein Referenzbereich von 40-170 µg/dl (6-26 µmol/l) für eine adäquate Zn-Versorgung angegeben. Studien beim Pferd belegen einen Zusammenhang zur Haltung (Weide vs Stall) oder verschiedenen Erkrankungen und den Zn Gehalten im Plasma bzw. Serum. Gesunde Pferde, die ausschließlich auf der Weide gehalten werden, weisen in der Regel niedrigere Zn-Gehalte im Blut auf als Pferde unter Stallhaltungsbedingungen. Aber auch bei Erkrankungen werden, trotz adäquater Zn-Zufuhr, häufig erniedrigte Zn-Gehalte im Plasma oder Serum beobachtet. So wurden z.B. bei Islandpferden, die mit einer ausgeprägten Form des Sommerekzems auffielen, niedrigere Plasma Zn-Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Islandpferden gemessen (6), oder aber auch im Verlauf von fieberhaften Infektionen kam es zu einem Abfall der Serum Zn-Gehalte bei Vollblütern (7). In Bezug auf die Fütterung besitzen die verwendeten Zn-Verbindungen einen erheblichen Einfluss auf die Plasma bzw. Serum Zn-Spiegel. Während man für Zn-Sulfat, Zn-Chelat oder Zn-Laktat einen dosisabhängigen Effekt auf die Serum Zn-Gehalte bei Ponys feststellen konnte, gibt es keinen dosisabhängigen Effekt für Zn-Oxid (8), welches vermutlich mit dem Problem zusammenhängt, dass Zn-Oxid nur sehr schlecht absorbiert wird. Des Weiteren wird zumindest bei anderen Tierarten ein erheblicher Antagonismus des Zn mit anderen Mengen- und Spurenelementen beobachtet. Beim Schwein kann es z.B. selbst bei adäquater bis hoher Zn-Aufnahme bei gleichzeitig sehr hohen Ca-Gehalten in der Ration zur Parakeratose kommen, so dass hier die Reduktion der Ca-Zufuhr und weniger die Erhöhung der Zn-Aufnahme das maßgebliche Ziel der Modifikation ist. Inwieweit Ähnliches auch für das Pferd zutrifft, muss zurzeit allerdings offen bleiben. Um die Zn-Versorgung adäquat beurteilen zu können, sollten die absolute Höhe als auch die eingesetzten Zn-Verbindungen aus den Ergänzungs- und Mineralfuttermitteln kontrolliert werden, des Weiteren sind Antagonisten wie z.B. erhöhte Ca-Gehalte in der Ration zu beachten. Ergänzend sind die Plasma bzw. Serum Zn-Gehalte zu überprüfen, hier sind aber erhebliche Variationen aufgrund der Haltung und dem Gesundheitszustand zu berücksichtigen.

Selen (Se)

Die Bestimmung der Se-Konzentration im Plasma oder Serum eignet sich zur Beurteilung der aktuellen Se-Versorgung beim Pferd. Die Se-Konzentration im Plasma bzw. Serum korrespondiert dabei mit der aktuell aufgenommenen Se-Menge und Veränderungen in der Se-Zufuhr werden innerhalb weniger Tage im Plasma bzw. im Serum reflektiert (9). In Abhängigkeit von der Se-Verbindung können z.T. moderat höhere Se-Werte im Plasma bzw. Serum bei der Supplementierung organischer im Vergleich zu anorganischen Se-Verbindungen beobachtet werden (10). Der Referenzbereich im Plasma bzw. Serum, der eine adäquate Se-Versorgung adulter Pferde reflektiert, wird mit 70-200 µg/l (0,9-2,54 µmol/l) angegeben. Auf eine marginale Versorgungslage mit Se weisen Plasma bzw. Serum Se-Gehalte <70 µg/l hin. Zu beachten ist ein altersabhängiger Effekt bei den Referenzwerten, bei Fohlen ist eine ausreichende Versorgung mit Se bei Plasma bzw. Serum Se-Konzentrationen zwischen 50 und 90 µg/l (0,64-0,9 µmol/l) zu erwarten.

Neben der Bestimmung der Se-Konzentration im Serum oder Plasma kann die Aktivität der Se-abhängigen Glutathionperoxydase (Se-GPx-1) im Vollblut, einem wichtigen funktionellen Enzym des Selen, als Kriterium zur Beurteilung des Se-Status beim Pferd herangezogen werden (11). Die Aktivität der Se-GPx-1 reflektiert die längerfristige Se-Versorgung zum Zeitpunkt der Se Inkorporation in die Erythrozyten während der Erythropoese. In Abhängigkeit der Lebensdauer der Erythrozyten kann dies mehrere Wochen bis Monate zurückliegen. Se-GPx-1 Aktivitäten im Vollblut zwischen 50 und 150 U/g Hämoglobin reflektieren ohne Altersdifferenzierung einen adäquaten Se-Status.

Bei dem Verdacht der chronischen Se-Intoxikation sind auch die Se-Gehalte in Hufhorn und Haaren diagnostisch von Bedeutung, da ein erheblicher Anteil des überschüssigen Se im antagonistischen Austausch zum Schwefel in das Keratin des Hufhorns und Haaren eingelagert wird (Tabelle 2, 12).

Tabelle 2: Se in verschiedenen Substraten nach dem Absetzen (Tage) einer Se-haltigen Fehlmischung (chronische Se-Intoxikation) beim Pferd (12)

Substrat	1.	24.	79.	134.	Referenz
	Nach dem Absetzen der Se-haltigen Fehlmischung (Tage)				
Plasma (µg/l)	307	213	138	162	70-200
Mähne, Spitzen (mg/kg TS ¹)	n. U.	0,3	0,64	n. U.	<0,3
Mähne, Wurzel (mg/kg TS)	n. U.	n. U.	2,63	n. U.	<0,3
Hufhorn (mg/kg TS)	n. U.	n. U.	1,7	n. U.	<0,2

¹TS = Trockensubstanz, ²n. U. = nicht untersucht

Zusammenfassend ist eine Kombination aus der Bewertung der Se-Aufnahme aus den Ergänzungs- und Mineralfuttermitteln und der Se-Konzentration im Plasma bzw. Serum zur Beurteilung der aktuellen Se-Versorgung sinnvoll, wohingegen der Se-Status durch die Se-GPx-1 im Vollblut eine wertvolle Ergänzung darstellt, insbesondere bei einer unregelmäßigen Se-Zufuhr.

Literatur

1. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. DLG Verlag. 2014.
2. Vervuert I, Stoebe S. Selen beim Pferd im Spannungsbogen zwischen marginaler und toxischer Versorgung. Pferdespiegel. 2013; 16(1):27-31.
3. Pearce SG, Grace ND, Firth EC, Wichtel JJ, Holle SA, Fennessy PF. Effect of copper supplementation on the copper status of pasture-fed young Thoroughbreds. Equine Vet J. 1998; 30(3):201-10.
4. Pearce SG, Grace ND, Wichtel JJ, Firth EC, Fennessy PF. Effect of copper supplementation on the copper status of pregnant mares and foals. Equine Vet J. 1998; 30(3):200-3.
5. Breedveld L, Jackson SG, Baker JP. The determination of a relationship between the copper, zinc and selenium levels in mares and those in their foals. Equine Vet Sci. 1988; 378-82.
6. Kolm G, Helsberg A, Gemeiner M. Variations in the concentration of zinc in the blood of Icelandic horses. Vet Rec. 2005; 549-51.
7. Murase H, Sakai S, Kusano K, Hobo S, Nambo Y. Serum zinc levels and their relationship with diseases in racehorses. J Vet Med Sci. 2013; 75(1):37-41.
8. Wichert B, Kreyenberg K, Kienzle E. Serum response after oral supplementation of different zinc compounds in horses. J Nutr. 2002; 132:1769S-70S.
9. Stowe HD, Herdt TH. Clinical Assessment of selenium status of livestock. J Anim Sci. 1992; 70:3928-33.

10. Montgomery JB, Wichtel JJ, Wichtel MG, McNiven MA, McClure JT, Markham F, Horohov DW. Effects of selenium source on measures of selenium status and immune function in horses. *Can J Vet Res.* 2012; 76:281-91.
11. Vervuert I, Coenen M, Höltershinken M, Venner M, Rust P. Aktuelle Befunde zur Beurteilung der Selenversorgung beim Pferd. *Tierarztl Prax.* 2000; 28:172-7.
12. Coenen M, Landes E, Assmann G. Selenium toxicosis in the horse-case report. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 1998; 80:158-62.

Kontakt

PD Dr. Ingrid Vervuert, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik,
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

Mythos Kryptopyrrolurie aus Sicht der Diagnostik und Fütterung

Katja Roscher¹ und Ingrid Vervuert²

¹Klinik für Pferde, Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen

²Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Zunehmend werden im Pferdebereich tätige Tierärzte mit der Krankheit Kryptopyrrolurie (KPU) konfrontiert. Hierbei soll es sich um eine Stoffwechselstörung handeln, bei der im Urin vermehrt Pyrrole ausgeschieden werden. Ihren Ursprung nimmt die vermeintliche Erkrankung Mitte des vorigen Jahrhunderts. Hier wurde bei Menschen mit psychiatrischen Erkrankungen im Urin ein Stoff beschrieben, der mit Ehrlich-Reagenz (p-Dimethylaminobenzaldehyd) zu einer Blauverfärbung der Probe führt (1). Aufgrund der Färbung wurde die Substanz als Mauve-Faktor benannt und die Erkrankung in der Folge als Malvaria bezeichnet (2). Einige Jahre später wurde der Mauve-Faktor von Irvine zunächst als Kryptopyrrol (3) später als Hydroxyhemopyrrolenon (4) identifiziert. Andere Untersucher konnten diese und ähnliche Substanzen im Urin nicht nachweisen (5). C.C. Pfeiffer und seine Mitarbeiter postulierten in dieser Zeit, dass die übermäßig produzierten Pyrrole einen Komplex mit Vitamin B6 und Zink bilden würden und die klinische Symptomatik auf einen extremen Mangel dieser beiden Substanzen zurückzuführen sei (6). Ein chemischer Nachweis des Komplexes wurde nie erbracht. Diese Vermutungen begründen bis heute die Diagnostik und Therapie der KPU. Zu denen beim Menschen beschriebenen Symptome gehören Nahrungsmittelintoleranzen, Mund- und Körpergeruch, schlechte Traumerinnerung, weiße Flecken auf den Fingernägeln, sonnenempfindliche Haut und vieles mehr (7). Erkrankungen wie Autismus, Alzheimer, Schizophrenie, Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) und Allergien werden von einigen Vertretern der orthomolekularen Medizin bis heute auf eine KPU zurückgeführt (8). Beruhend auf Empfehlungen von Pfeiffer besteht die Therapie der KPU zumeist aus hohen Dosen Vitamin B6 und Zink, häufig in Kombination mit weiteren Vitaminen, Spurenelementen und anderen so genannten "Mikronährstoffen". Hierbei liegen die empfohlenen Mengen zum Teil erheblich über den von der europäischen Nahrungsmittelsicherheit (EFSA) angegebenen tolerierbaren täglichen Dosen (8). Standardmethoden für den Nachweis von Pyrrolen oder Pyrrolkomplexen existieren nicht, in der Literatur finden sich keine evidenz-basierten Daten über intra- und interindividuelle Schwankungen und Studien an größeren Populationen gesunder sowie kranker Menschen. Die Kommission "Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin" des Robert-Koch-Institutes kommt in einer Stellungnahme von 2007 zu dem Schluss, dass Herkunft und chemische Identität der Substanzen nicht geklärt, eine eventuell erhöhte Ausscheidung solcher Substanzen keiner Erkrankung zugesprochen werden könne und dass einer darauf beruhenden Diagnose und Therapie jegliche wissenschaftliche Grundlage fehle (8).

Und beim Pferd? Eine Google-Suche mit den Schlagworten "KPU Pferd" bringt fast 10.000 Treffer, wissenschaftliche Literatur findet sich jedoch keine. Zu den beschriebenen Symptomen und Krankheiten gehören unter anderem ADHS, Sommerekzem, chronische Bronchitis, Equines metabolisches Syndrom, Headshaking, Hufrehe und vieles mehr. KPU oder inzwischen auch HPU (Hämopyrrolaktamurie) wird hierbei auch als genetisch determinierte Entgiftungsschwäche bezeichnet, auch hier fehlen jegliche wissenschaftliche Belege (9). Neben der Untersuchung auf Kryptopyrrole oder Hämopyrrolaktam wird bei Pferden die Untersuchung auf Indikan im Urin empfohlen. Dies soll ein Hinweis auf eine bestehende Dysbiose im Darm mit der Folge einer vermehrten Pyrrolausscheidung sein (10). Wissenschaftliche Belege für diese Aussagen sind hier

1

ebenfalls nicht zu finden. In Anlehnung an die therapeutischen Empfehlungen für vermeintlich betroffene Menschen wird zumeist eine Versorgung mit Vitamin B6 und Zink angeraten.

Als zusätzliche Problematik bei Pferden mit vermeintlicher KPU werden von den Befürwortern unter anderem Fehler in der Fütterung postuliert, die zu einer Dysbiose führen. Neben einer hohen Kraffuttergabe und einer zu geringen Heuaufnahme werden aber auch die Fütterung von Rübenschnitzeln, Heu- und Luzernehäckseln oder Heulage als nicht adäquate Pferdefuttermittel postuliert. Es ist unumstritten, dass eine stärkereiche Fütterung und ein Mangel an Raufutter zu Dysbiosen beim Pferd führen können, diese können dann ggf. in der Tat zu einem Mangel an B-Vitaminen führen, aber niemals isoliert nur zu einem Vitamin B6-Mangel. Des Weiteren ist zu unterstreichen, dass die mikrobiellen Fermentationsvorgänge durch die Fütterung von Rübenschnitzeln, Luzerne oder Heulage im Vergleich zu Heu nicht nachteilig beeinflusst werden (11). Im Gegenteil, zum Teil besitzen Rübenschnitzel und Luzerne deutlich bessere Fermentationseigenschaften als Heu. Auch der vielfach postulierte Zinkmangel, der häufig anhand einer Zinkbestimmung im Serum diagnostiziert wird, lässt keinen Rückschluss auf das Vorkommen einer KPU zu. Um die Zinkversorgung adäquat beurteilen zu können, sollten die absolute Höhe als auch die eingesetzten Zink-Verbindungen aus den Ergänzungs- und Mineralfuttermitteln kontrolliert werden, des Weiteren sind Antagonisten wie z.B. erhöhte Calcium-Gehalte in der Ration zu beachten (12). Diese Faktoren beeinflussen maßgeblich den Zinkstatus beim Pferd, lassen aber wiederum keinen Rückschluss auf das Vorkommen einer KPU zu.

Zusammenfassend ist zu unterstreichen, dass Fütterungsfehler zu Dysbiosen führen können, die neben anderen gesundheitlichen Störungen auch in einer unzureichenden mikrobiellen Synthese von B-Vitaminen resultieren können. Und auch die nicht bedarfsangepasste Zufuhr mit Zink sollte selbstverständlich vermieden werden.

Ein Zusammenhang zwischen der vermeintlichen Erkrankung KPU/HPU und den genannten Fütterungsfehlern entbehrt jedoch jeglicher Grundlage.

Literatur:

1. Irvine DG. Apparently non-indolic Ehrlich-positive substances related to mental illnesses. *Journal of neuropsychiatry* 1961; 2:292–305.
2. Hoffer A, Osmond H. Malvaria: A New Psychiatric Disease. *Acta psychiatrica Scandinavica* 1963; 39:335–66.
3. Irvine DG, Bayne W, Miyashita H, Majer JR. Identification of kryptopyrrole in human urine and its relation to psychosis. *Nature* 1969; 224(5221):811–3.
4. Irvine DG. Hydroxy-hemopyrrolenone, not kryptopyrrole, in the urine of schizophrenics and porphyrics. *Clinical chemistry* 1978; 24(11):2069–70.
5. Gendler PL, Duhan HA, Rapoport H. Hemopyrrole and kryptopyrrole are absent from the urine of schizophrenics and normal persons. *Clinical chemistry* 1978; 24(2):230–3.
6. Pfeiffer CC, Sohler A, Jenney CH, Iliev V. Treatment of Pyroluric Schizophrenia (Malvaria) With Large Doses of Pyridoxine and a Dietary Supplement of Zinc. *Orthomolecular Psychiatry* 1974; 3(4):292–300.
7. Pfeiffer CC. *Nutrition and mental illness: An orthomolecular approach to balancing body chemistry.* Rochester, Vt.: Healing Arts Press; 1987.
8. Die (Krypto-)Pyrolurie in der Umweltmedizin: eine valide Diagnose? Mitteilung der Kommission "Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin". *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2007; 50(10):1324–30.
9. www.kpu-pferd.de.
10. www.sension-gmbh.de

11. Vervuert I. Welche Risiken bergen Heulagen oder Grassilagen für Pferde? Praktischer Tierarzt. 2015; 96(2):159-162.
12. Vervuert I. Wie gut reflektieren die Kupfer-, Zink- und Selengehalte im Blut die entsprechende Versorgung beim Pferd? Leipziger Tierärztekongress 2016, in press.

Kontakt

Dr. Katja Roscher, Klinik für Pferde, Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen

Katja.Roscher@vetmed.uni-giessen.de

PD Dr. Ingrid Vervuert, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät; Universität Leipzig

Ingrid.Vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

Impact of Diet on Microbial Profile in Equine Faeces

Julliard Véronique and Grimm Pauline

AgroSup Dijon, Dijon (France).

It is commonly observed in the field that what the horse eats affects its faeces in terms of colour, consistency or odour. It has also been shown experimentally that what the horse eats can impact its faecal microbial profile. What these microbial changes mean regarding the horse's nutritional or health status is not fully understood and must be used cautiously. Based on published data and ongoing research, this paper intends to discuss this issue.

I - Microbial profile in the horse faeces

The equine faeces host a wide variety of microorganisms: protozoa, bacteria, bacteriophages, fungi and archaea have been discovered successively (1). In terms of concentration and of number of genera, bacteria and bacteriophages account for the largest communities (table 1). The bacterial profile of faeces has been the most extensively studied especially within the last five years based mainly on the use of 16S rDNA methodology.

The bacterial community is dominated by the phyla *Firmicutes*, *Verrucomicrobia* and *Bacteroidetes*. Fibrolytic bacteria which role is crucial in breaking down the dietary parietal carbohydrates are represented in both the *Firmicutes* and *Bacteroidetes*. Fibrolytic species *Fibrobacter succinogenes* and *Ruminococcus flavefaciens* have been identified in the horse faeces and it was suggested that *F. succinogenes* had a higher activity (2). Amylolytic species are dominated by *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *Lactobacillus hayakitensis*, *L. equigenerosi* and *L. equi* (1).

Studies using culture-independent methodology report large numbers of unclassified bacterial genera and have limited ability to detect bacterial species and strains. In addition the studies of protozoa, bacteriophages, fungi and archaea are still rare. This underlines how incomplete our knowledge on the microbiota composition is today.

Inter-horse variation of the faecal microbiota has often been reported and was recently explicitly highlighted (3). Despite this significant individual difference, it is clearly established that the antecaecal microbiota contrasts from the large intestinal and faecal one. Within the large intestine, studies using dependant cultural methods to determine protozoal and bacterial distribution and counts (Adam 1951, Moore & Dehority, 1993 cited in (1);(4)) concluded that the microbiota was compartment-specific with a clear separation at the pelvic flexure. This was recently confirmed in studies using 16S rDNA technique (5,6).

Table 1: Overview of the hindgut microbial profile (from (1))

	Protozoa	Bacteria	Fungi	Bacterio-phages	Archaea
1st mention in the literature	1843	1911	1961	1970	1996
Number (mL ⁻¹)	10 ⁴ - 10 ⁶ cells	10 ⁷ up to 10 ¹¹ cells	10 ² - 10 ⁴ zoospores	10 ³ - 10 ¹¹ phages	10 ⁵ cells
Morphology	Ciliate	Cocci or bacilli	Globus or rhizoid thallus	Long flexible irretractable tail	
Number of genera	31	60	4	69	2

II - Changes of the faecal microbial profile due to the diet

The impact of three feeding practices has been studied on the faecal bacterial profile.

A recent study highlighted that faecal bacterial diversity increased within four days when horses were suddenly turned from a diet comprising 65 % ensiled chaffed Lucerne and 35% cracked maize grain out to pasture. Rapid changes in the structure of the faecal bacterial community were also observed (7).

The beneficial use of prebiotic, probiotic or enzyme has been tested on the faecal bacterial profile. When horses were supplemented with 8g of fructooligosaccharides (FOS), a decrease of *Escherichia coli* population was observed in their faeces whereas faecal lactobacilli enumeration did not change (8). *Saccharomyces cerevisiae* supplementation was associated with an increase of lactobacilli and streptococci populations when low quality grass hay was fed (9). The faecal bacterial profile was different after 6 weeks of supplementation with amylase-rich malt extract: Bacteroidales, Prevotella, Veillonellaceae (members of the lactate-utilising bacteria) and Ruminococcus increased (6).

The proportion of Non Structural Carbohydrate is the most studied feeding practice. The bacterial diversity was lower in horses fed ensiled conserved forage-grain diet than in horses grazing only pasture (7). A diet rich in NSC also caused modification of the bacterial structure in the faeces. Using cultural techniques, an increase of the faecal amylolytics (lactobacilli and streptococci) was often reported when horses were fed concentrate ((10, 11); Willing et al., 2009 cited in (1)), as well as an increase of the lactate-utilisers (11,12). No change was observed on the faecal cellulolytics (4, 11-13). Recent studies using molecular technics reported a lower abundance of bacteria belonging to the order Clostridiales, including bacteria of the family Lachnospiraceae (5, 7) known as butyrate producers.

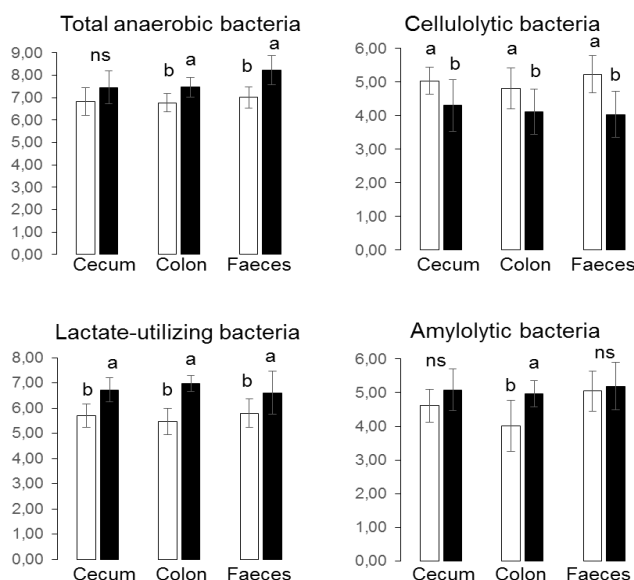


Figure 1: Effect of a change from 100% hay (□) to 57% hay+43% barley (■) on the concentration of bacterial populations in the cecum, the right ventral colon and the faeces

III - Faecal microbial profile as biomarkers

Faecal samples are easy non-invasive means of evaluating faecal microbial profile. However the data provided may not represent what happens in the upper segments of the large intestine. To our knowledge only three papers were specifically designed to measure the impact of a starchy diet versus fibrous diet on the bacterial profile of the hindgut and the faeces: a pioneer study compared the effect of fibre rich pellets and straw or cereal rich pellets and meadow hay on the cecum, right ventral and left dorsal colon, and faeces bacterial profile (4). The diet had a strong influence on cellulolytics and lactate-utilisers concentrations in the caecum and colon but none in the faeces.

Later, another study compared the influence of 100% hay diet versus 70% hay - 30% concentrate diet on the cecal, right ventral colonic and faecal ecosystem (11). No change was reported for cellulolytics but faecal and colonic concentrations of amylolytics (lactobacilli, streptococci) and lactate-utilisers increased similarly when hay was fed with concentrate. Recently in a PhD project we conducted new trials to confirm this hypothesis. When the diet changed from 100 % hay to 57% hay – 43% barley, the cellulolytics concentration decreased and the amylolytics, lactate-utilizers and total anaerobes concentrations increased in the caecum, colon and faeces (Fig.1). The variations in cellulolytics, amylolytics and lactate-utilisers concentrations observed in the faeces were well correlated with those seen in the caecum or colon (Table 2).

Table 2: Correlations between bacteria in the cecum/colon and faeces

		Total anaerobics	Cellulolytics	Lactate-Utilizers	Amylolytics
Cecum vs Faeces	<i>r</i>	0.37	0.62	0.51	0.49
	<i>P</i>	0.075	0.001	0.011	0.015
Colon vs Faeces	<i>r</i>	0.39	0.46	0.46	0.45
	<i>P</i>	0.060	0.024	0.025	0.027

r: Pearson correlation coefficient; *P*: associated *P*-value

Take home message

The knowledge of the faecal microbiota is still incomplete.

The diet induces variations of the bacterial profile in the faeces in a similar way as in the large intestine. Faecal bacterial profile could be a relevant biomarker to diagnose dysbiosis in the large intestine, and thus to prevent appearance of disease.

References

1. Sadet-Bourgeteau S, Julliard V. La diversité de l'écosystème microbien du tractus digestif équin. INRA Prod Anim. 2012;25(5):407-18.
2. Shepherd ML, Ponder MA, Burk AO, Milton SC, Swecker WS. Fibre digestibility, abundance of faecal bacteria and plasma acetate concentrations in overweight adult mares. J Nutr Sci. 2014;3:e10.
3. Blackmore TM, Dugdale A, Argo C, Curtis G, Pinloche E, Harris PA, et al. Strong stability and host specific bacterial community in faeces of ponies. PLoS one. 2013;8(9).
4. de Fombelle A, Varloud M, Goachet A-G, Jacotot E, Philippeau C, Drogoul C, et al. Characterisation of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses fed two distinct diets. Anim Sci. 2003;77:293-304.

5. Dougal K, de la Fuente G, Harris PA, Girdwood SE, Pinloche E, Geor RJ, et al. Characterisation of the faecal bacterial community in adult and elderly horses fed a high fibre, high oil or high starch diet using 454 pyrosequencing. *PLoS one*. 2014;9(2):e87424.
6. Proudman C, Hunter J, Darby A, Escalona E, Batty C, Turner C. Characterisation of the faecal metabolome and microbiome of Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J*. 2014.
7. Fernandes KA, Kittelmann S, Rogers CW, Gee EK, Bolwell CF, Bermingham EN, et al. Faecal Microbiota of Forage-Fed Horses in New Zealand and the Population Dynamics of Microbial Communities following Dietary Change. *PLoS one*. 2014;9(11):e112846.
8. Berg EL, Fu CJ, Porter JH, Kerley MS. Fructooligosaccharide supplementation in the yearling horse : effects on fecal pH, microbial content, and volatile fatty acid concentrations. *J Anim Sci*. 2005;83:1549-53.
9. Furtado CE, Barboza ED, Brandi RA, Ribeiro LB, Oliveira AAMdA. Use of yeast in equine fed diets with hay with different nutritional qualities. *Rev Bras de Zootecn*. 2010;39(10):2194-9.
10. van den Berg M, Hoskin SO, Rogers CW, Grinberg A. Fecal pH and microbial populations in thoroughbred horses during transition from pasture to concentrate feeding. *J Equine Vet Sci*. 2013;33(4):215-22.
11. Julliard V, Goachet A-G, editors. Fecal microflora as a marker of cecal or colonic microflora in horses ? *Equine science society*; 2005 May 31-June 3; Arizona: The equine science society.
12. Muhonen S, Wartena F, Wesker A, Julliard V, Ellis A, Longland A, et al. Effect of three different forage-based diets on microbial flora, pH and viscosity of the equine hindgut. Ellis AD, Longland AC, Coenen M, Miraglia N, editors. 2010:196-8.
13. Murray J-AM, Longland A, Moore-Colyer M, Dunnett C. The effect of feeding a low-or high-starch diet on equine faecal parameters. *Livest Sci*. 2014;159:67-70.

Contact address:

Professor Véronique Julliard, AgroSup Dijon
v.julliard@agrosupdijon.fr

Haaranalysen zur Beurteilung der Nährstoffversorgung?

Manfred Coenen

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Universität Leipzig

Einleitung

Kontinuierlich werden dem Nährstoffpool des Organismus Baustoffe entnommen, um den Aufbau von Haar und Huf zu unterhalten. Neben dem Keratin selbst wird ein lipidreiches, als Haartal oder Sebum bezeichnetes Substrat über die holokrinen Haartaldrüsen an die Hautoberfläche abgegeben und dem Haar als eine Art Firnis zugefügt. Es ist naheliegend, dass die Verfügbarkeit der Baustoffe variieren kann und, da im Falle eines Mangels andere Funktionen als die der Keratinbildung Vorrang haben, das Haar wie auch der Talg quantitativen und qualitativen Änderungen unterworfen sein kann. Unterschiede in der Beschaffenheit des Haares und seine Empfindlichkeit gegenüber den Umweltbedingungen waren vor rd. 230 Jahren Voraussetzung zum Bau des ersten zuverlässigen Hygrometers durch Saussure (Historisches Lexikon der Schweiz).

Obwohl das unversehrte Haarkleid oder eine sogenannte Haarpracht seit alters her als Ausdruck der Gesundheit verstanden wird, ist in der Medizingeschichte der Beschaffenheit des Haares als Indikator von Erkrankungen – anders als beim Harn – kaum Bedeutung zugeschrieben worden; vielmehr ist das Haar in frühen Hochkulturen zu chirurgischen Zwecken genutzt worden. Unstrittige Bedeutung hat das Haar inklusive des anhaftenden Sebums für forensische oder anders begründete Untersuchungen zur Klärung von evtl. lang zurückliegenden Todesfällen

Haarkleid und Haarzusammensetzung

Nach Untersuchungen an wachsenden Warmblutfohlen variiert die Haarmenge um 95 g/m²; für Großpferde (400, 500 u. 600 kg KM) ergeben sich bei einer Körperoberfläche von 4,6, 5,3, 6 m² Haarmengen von 440, 507 und 570 g. Das Wachstum von Mähnen und Schweifhaaren beläuft sich auf rd. 24 mm/Monat.

Der Energieumsatz im Haarfollikel und der Einbau von Kohlenhydratgerüsten bedingt, dass im Verhältnis der natürlichen Isotope im Haar die jeweilige Umwelt gespiegelt wird, was für epidemiologische Betrachtungen von Bedeutung ist. Das Haar besteht nur zu rd. 5 % aus anorganischen Stoffen. Bei den Aminosäuren sind quantitativ Glutaminsäure, Serin sowie die S-haltigen Aminosäuren herausragend. Dem Cystin kommt hierbei für die Festigkeit vermutlich eine größere Bedeutung zu als dem Methionin, dass wiederum die entscheidende Größe im Futterprotein darstellt. Wenngleich ein Mangel an Aminosäuren, insbesondere an Methionin die Haarbildung limitiert, ist die Wahrnehmung dieser Bedingung aufgrund anderer Anzeichen (Gewichtsverlust, Plasmaalbumin ↓) nicht auf eine Haaranalyse angewiesen. Eine proteinreiche Fütterung scheint die Entwicklung des Klauen- und Hufhorns zu beschleunigen; unklar ist, ob dies auch für das Haarwachstum zutrifft. Die Versorgungsempfehlungen für dünn darmverdauliches Rohprotein beim Pferd schließen die Anforderungen für die Synthese des Keratins ein. Der hohe Anteil der S-haltigen Aminosäuren am Keratin erklärt die hohen Schwefelkonzentrationen im Haar wie auch im Hufhorn (Tab.1). Auffällig ist der hohe Chloridgehalt im Haar, der wie auch die Kalium- und Natriumgehalte mit dem Feuchtegehalt des Haares korrespondieren dürften. Mit Ausnahme von Eisen scheinen die Elementgehalte im Haar bei forcierter Aufnahme anzusteigen, im Falle eines Mangels allerdings auch vermindert zu sein. Unter dem Aspekt der diagnostischen Verwertung bestehen belastbare Beziehungen zwischen Aufnahme und Gehalt im Haar für Kupfer und Zink. Auch die konkurrierenden Bedingungen zwischen Kupfer und Molybdän werden im Haar gespiegelt: Cu↓ bei Mo↑. Da jedoch bei einem Befund im Haar, der eine Supplementierung anzeigen könnte, die nutritive Seite ohnehin

einer Bewertung bedarf, um zielgerichtete Eingriffe in die Zufuhr vornehmen zu können, ist der Wert einer Haaranalyse begrenzt.

Tab. 1: Anorganische Stoffe im Haar des Pferdes und mögliche nutritiv bedingte Veränderungen

Analyt	Einheit	Wert	Veränderung	Ursache
S	mg/g	30,3	↑↓	Supplementierung / Mangel an S-haltigen AS
Cl		4,28	?	
K		1,11	?	
Ca		1,30	↑	
Na	µg/g	407	↑	Supplementierung
P		303	↑	
Mg		196	↑	
Zn		158	↑↓	Supplementierung / Mangel
Fe		45,3		
Cu		6,75	↑↓	Supplementierung / Mangel
Mn		2,43	↑	Supplementierung
Se		0,58	↑↓	Supplementierung, Intoxikation / Mangel
Co		0,17	↑	Supplementierung
Al		70,5	↑	Umwelt-bedingte Anreicherung / Vergiftung
Br	22,4			
Pb	0,55			
Cr	0,37			
Hg	0,23			
Cd	0,018			

Im Falle einer kritisch hohen Aufnahme (z.B. Selen) oder Kontamination des Futters mit Schwermetallen kommt es zu entsprechenden Anreicherungen im Haar, die auch diagnostisch verwertbar sind bzw. forensisch von Interesse sind.

Pharmakologisch wirksame Substanzen mit entsprechender systemischer Verteilung können auch im Sebum oder im Haar selbst vorkommen; Dies betrifft Stoffe, pflanzlicher Herkunft (z.B. Hordenin), vor allem jedoch therapeutisch verwendbare Stoffe, die dem Start eines Leistungspferdes möglicherweise entgegenstehen. Der Nachweis dieser Stoffe (z.B. Clenbuterol) ist vergleichsweise einfach, allerdings ist die Beurteilung einer verbotenen Substanz im Haar hinsichtlich Zeitpunkt und Menge schwierig, da die Transferraten in das Haar und das Haarwachstum unbekannt sind.

Unklar sind die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen erhöhten Gehalten von Zink, Natrium, Calcium im Haar sowie eines erhöhten Quotienten von Zn:Cu im Haar bei Pferden mit kardialen Arrhythmien. Hierbei handelt es sich offenbar nicht um einen nutritiv bedingten Effekt, sondern eine Umverteilung, deren Ursachen und Bedeutung der Klärung harren. Interessant ist jedoch das möglicherweise vorhandene Potential, der genannten Veränderungen, das Risiko von Herzrhythmusstörungen anzuzeigen.

Schlußfolgerung

Das Haar spiegelt allgemein die Energie- und Nährstoffzufuhr wieder. Nährstoffmängel sind in der Regel auch an der Beschaffenheit des Haarkleides – wenngleich meist unspezifisch – und auch an der chemischen Zusammensetzung des Haares erkennbar. Der diagnostische Wert einer

Haaranalyse ist allerdings begrenzt, u.a. da Futteranalysen und Rationsplanungen eine umfassendere Bewertung der Versorgung zulassen.

Von hohem Wert sind Haaranalysen bei der Kontrolle von pharmakologisch wirksamen Stoffen und in Fällen, in denen der Verdacht einer Vergiftungen *intra vitam* oder auch *post mortem* zu klären ist. Toxine pflanzlicher Herkunft sind hierbei nicht von Interesse, sondern Schwermetallverbindungen einschließlich Selen und desgleichen die aromatischen, teils chlorierten Kohlenwasserstoffe.

Im klinischen Umfeld, insbesondere bei „Vorsorgeuntersuchungen“ von Leistungspferden kann sich die Haaranalyse (Cu, Zn, Na, Ca) als früher Indikator für Störungen der Herzfunktion als hilfreich erweisen.

Literatur

Die Literatur zu diesem Manuskript kann beim Autor erfragt werden.

Kontakt

Prof. Dr. Manfred Coenen, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Universität Leipzig
coenen@vetmed.uni-leipzig.de

Änderungsbedarf bei den „Leitlinien Tierschutz im Pferdesport“

Andreas Franzky, Angela Schwarzer

Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e. V. (TVT), Bramsche

„Der Blick darauf, wie die Reiter, von der untersten Ebene bis zur Olympiaklasse, mit ihren Pferden umgehen, was Trainer diesen Reitern vermitteln, wird mit Sicherheit ganz entscheidend für die Bewertung des Pferdesportes in den kommenden Jahren sein. Es ist nicht zu erwarten, dass die Gesellschaft ihre Anforderungen an den Umgang mit Tieren in allen anderen Bereichen erheblich steigert, und gerade beim Pferdesport nicht nachzieht. Alle Beteiligten werden sich damit auseinandersetzen müssen, dass der Pferdesport zukünftig sehr viel kritischer hinterfragt wird.“

Dieses Zitat der Juristin und ehemaligen Weltklasseleichtathletin Sylvia Schenk stammt von der 3. Bildungskonferenz der FN (Deutsche Reiterliche Vereinigung e. V.) im Jahre 2010 und hat nichts von seiner Aktualität und Bedeutung verloren.

Nicht nur der Sport, auch der Umgang mit Pferden steht seit vielen Jahren immer wieder in der öffentlichen Kritik, wobei die Bilder von blutenden Pferden, blauen Zungen oder aufgerollten Hälsen selbst erfahrene Kenner des Turniersportes betroffen machen. Es ist dabei unerheblich, ob die Kritik zu Recht oder zu Unrecht geübt wird, ein Makel bleibt immer zurück, denn das Internet vergisst nichts mehr.

Zwar hat der Gesetzgeber die Pferde durch das Tierschutzgesetz weitestgehend gut geschützt, ein Gesetz kann aber nie als ein umfassendes und abschließendes Regelwerk angesehen werden, schon gar nicht, wenn es gleichzeitig für alle Tierarten gelten soll. Zur Verifizierung und Auslegung der verschiedenen z. T. sehr allgemein gehaltenen Anforderungen und unbestimmten Rechtsbegriffe haben sich daher Leitlinien des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und Merkblätter fachlich ausgerichteter Organisationen (z. B. der TVT) bei vielen Tierarten etabliert.

Sie werden von Behörden, Staatsanwaltschaften und Gerichten mittlerweile regelmäßig zur Konkretisierung einzelner Forderungen des Tierschutzgesetzes herangezogen. Dabei haben Leitlinien, wenn sie vom BMEL selbst initiiert, moderiert und herausgegeben werden, einen besonderen Stellenwert.

Es waren letztlich auch öffentlich gewordene Missstände, die das BMEL 1992 veranlasste, eine Gruppe von Sachverständigen damit zu beauftragen „Leitlinien Tierschutz im Pferdesport“ zu erarbeiten.

Leider haben die Pferdesportverbände die Chance nicht genutzt, die Einhaltung der Leitlinien in eigenen Ethik-, Wettkampf- und Rechtsordnungen verbindlich zu verankern. Sie wurden stets als bedeutungslos und unverbindlich abgetan.

Mittlerweile haben die anderen Leitlinien des BMEL zur „Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ nach ihrer Überarbeitung 2009 eine immer größere Bedeutung erlangt, da sie durchaus von Gerichten als antizipiertes Sachverständigengutachten zur Entscheidungsfindung in Straf- und Verwaltungsgerichtsverfahren herangezogen werden.

Dabei würdigen Gerichte die vom BMEL herausgegebenen Leitlinien dahingehend, dass sie von Sachverständigen unterschiedlicher Interessen erarbeitet wurden, dass alle betroffenen Verbände angehört wurden und ausreichend Zeit hatten, sich einzubringen, dass die Leitlinien einvernehmlich angenommen wurden und sich letztlich keiner gerichtlichen Anfechtung aussetzen mussten.

Die bestehenden „Leitlinien Tierschutz im Pferdesport“ sind zwar etwas in die Jahre gekommen, aber dadurch keineswegs nicht mehr aktuell. Viele der darin aufgestellten Forderungen sind immer

noch zutreffend, sie lassen sich heute aber viel einfacher erklären und begründen, da sie sich auf wissenschaftliche Erkenntnisse zurückführen lassen.

Der „Arbeitskreis Pferd“ der TVT hat daher ein Positionspapier zu den Leitlinien Pferdesport erarbeitet. Ziel sollte es sein, die bestehenden Leitlinien durch eine konstruktive Überarbeitung und Kommentierung zu bestärken. Dabei wurden nicht nur aktuelle wissenschaftliche Untersuchungen, u. a. zum Lernverhalten, sondern auch die rechtliche Entwicklung des Tierschutzes inkl. neuerer Rechtsprechung berücksichtigt.

Schwerpunkte des Positionspapiers der TVT:

Schon der geänderte Titel „Leitlinien zur Nutzung von Pferden unter Tierschutzgesichtspunkten“ soll klarstellen, dass nicht nur Pferde, die unter die Wettkampfordnungen der Pferdesportverbände fallen, von den Leitlinien angesprochen werden, sondern auch die große Mehrheit der Nutzer, die ihre Pferde zur Freizeitgestaltung und/oder für sportliche Aktivitäten ohne Verbandsregularien, sowie gewerbsmäßig einsetzen.

Das Tierschutzgesetz fordert in seinen allgemeinen Vorschriften des § 2, dass jeder, der mit Tieren umgeht, entsprechende Kenntnisse (Theorie) und Fähigkeiten (Praxis) haben muss. Das ist bei allen Disziplinen der Nutzung, des Reit- und Fahrportes sowie bei allen Ausbildungsstadien und -methoden eine Grundvoraussetzung. Dazu zählen auch Ausbildungsschritte bzw. Nutzungsrichtungen bei denen Pferde nicht geritten sondern vom Boden aus „genutzt“ werden.

Insbesondere beim Lernverhalten sind viele neue Erkenntnisse zu berücksichtigen. Dazu war es wichtig, Kapitel z. B. zur „klassischen und operanten Konditionierung“ einzufügen. Eine Kommunikation zwischen Mensch und Pferd wird nur dann erfolgreich sein, wenn die Informationen in einer für das Pferd verständlichen Form vermittelt werden. Für ein erfolgreiches Training sind die zeitliche Nähe von Reizen und Reaktion und die dadurch ausgelösten Emotionen (angenehm / unangenehm) entscheidend für die Etablierung bestimmter Verhaltensreaktionen.

So muss auch das immer noch sehr häufig zu beobachtende Bestrafen eines Pferdes nach einer missglückten Dressurprüfung oder einem fehlerhaften Parcours als ungeeignet für Korrekturzwecke angesehen werden. Je weiter Ursache und Maßnahme auseinander liegen, desto weniger wird das Pferd die Strafe verstehen und umso eher muss von einer tierschutzwidrigen Handlung gesprochen werden.

Ausbildungsmethoden, die auf positiver Verstärkung beruhen, wie man dies z.B. aus dem sog. „Clickertraining“ bei Hunden kennt, sind auch bei der Pferdeausbildung möglich, werden aber noch so gut wie gar nicht eingesetzt.

Im Grunde beginnt eine pferdegerechte Ausbildung bereits im Fohlenalter und nicht erst beim Anreiten. So sollte die allgemeine Erziehung schon frühzeitig durch den regelmäßigen Kontakt von Mensch zur Mutterstute und dem Fohlen erfolgen. Vertrauensbildende Maßnahmen, wie das Anfassen, das Anlegen des Halfters, das Führen, das Anheben der Beine sind für die weitere psychische Entwicklung des heranwachsenden Pferdes von großer Bedeutung. Auch wenn sich dies in einigen Zuchtbetrieben schon etabliert hat, wird dem vertrauensfördernden Umgang mit den Fohlen noch viel zu wenig Bedeutung zugemessen.

Insbesondere wirtschaftliche Gründe sind immer noch für den möglichst frühen Beginn von Ausbildung und Einsatz bei Wettbewerben und Verkaufsveranstaltungen maßgeblich. Über Angaben zum Trainingsbeginn und Einsatzalter sowie über die zumutbaren Belastungen in den einzelnen Ausbildungsabschnitten gibt es unterschiedliche Auffassungen. Aus Gründen des Tierschutzes muss die spätere geistige und körperliche Unversehrtheit des Pferdes im Vordergrund stehen. Das Tierschutzgesetz (§ 3) verbietet es, einem Pferd Leistungen abzuverlangen, denen es wegen seines Zustandes offensichtlich nicht gewachsen ist oder die offensichtlich seine Kräfte übersteigen. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit weiterer Auswertungen empirischer Erfahrungen sowie gezielt wissenschaftlicher Forschungsbedarf.

Auch die Rahmenbedingungen für Training und Wettbewerb müssen sich an den Bedürfnissen der Pferde orientieren. Viele Pferdesport- und -showveranstaltungen werden heute unter hohem technischen Aufwand (z. B. Beleuchtung, Beschallung) zuschauer- und medienwirksam präsentiert. Beschallungen können dabei Lautstärken erreichen, die sich im Schmerzbereich der Pferde befinden. Ohrstöpsel oder Ohrenkappen sind als Maßnahmen nicht tolerierbar.

Vor dem Hintergrund, dass einige Turnierpferde oft wochenlang von einem Turnier zum nächsten fahren, sind auch Einschränkungen bei der Unterbringung und beim Freilauf kritisch zu beurteilen.

§ 3 Nr. 1 b Tierschutzgesetz verbietet es, an einem Tier im Training oder bei sportlichen Wettkämpfen oder ähnlichen Veranstaltungen Maßnahmen, die mit erheblichen Schmerzen, Leiden oder Schäden verbunden sind, anzuwenden. Auch das Training und die Ausbildung müssen diese Anforderungen erfüllen (§ 3 Nr. 5).

Die in den Regelwerken der Pferdesportverbände festgelegten Vorgaben, welche Hilfsmittel und Manipulationen in Wettkampf oder Training erlaubt, bzw. verboten sind, müssen als nicht ausreichend angesehen werden.

So wird das Reiten in Hyperflexion („Rollkur“), wenn auch zeitlich begrenzt, immer noch auf den Vorbereitungsplätzen der Turniere toleriert. Scharfe Gebisse (z. B. Gliederketten) und Zäumungen oder das Festbinden der Zunge werden damit gerechtfertigt, die Pferde sonst nicht beherrschen zu können, die Frage nach einer möglichen falschen Ausbildung stellt sich in der Regel nicht. Der „akustische Peitschenknall“ beim Ziehen der Ohrstöpsel bei Trabern auf der Zielgeraden scheint sich durch keine Begründung fachlich rechtfertigen zu lassen.

Pferde müssen immer „funktionieren“, und damit dem so ist, wird auch vor gravierenden Eingriffen in Ernährung (z.B. Entzug von Wasser und Raufutter) und die körperliche Unversehrtheit (z. B. chemische Kastration, Rosseunterdrückung) ohne Berücksichtigung der individuellen Indikation nicht Halt gemacht.

Welches Ziel sollen die Leitlinien haben:

In einer gesellschaftlichen Diskussion, in der der Umgang mit Tieren und deren Nutzung immer kritischer und vehementer in Frage gestellt wird, muss auch die grundsätzliche Einstellung zu sogenannten „Luxustieren“ hinterfragt werden. Mit bzw. durch Pferde Geld zu verdienen ist nicht verwerflich, jedoch sind die Mittel und Wege im Sinne des steigenden gesellschaftlichen Bewusstseins für ethische und moralische Anforderungen an den Tierschutz - der immerhin ein Staatsziel ist - stetig neu zu bewerten. Der ökonomische Zweck heiligt nicht nur in diesem Falle sicher nicht die Mittel. Der Pferdesport muss sich in allen Disziplinen dieser gesellschaftlichen Diskussion stellen. Natürlich können nicht nur beim verbandsregulierten Turniersport, sondern bei jeder Form des Umgangs und der Nutzung von Pferden Fehler gemacht werden, die tierschutzrelevant sein können.

Die vom BMEL herausgegebenen Leitlinien zur „Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ und zum „Tierschutz im Pferdesport“ müssen in einem synergistischen Zusammenhang gesehen werden. Sie dienen in erster Linie jedem, der mit Pferden umgeht, als gesicherte Informationsquelle zur Wissensvermittlung sowie zur Selbstkontrolle. Sie können fachfremde Institutionen, wie z. B. Behörden, Gutachter, Staatsanwaltschaften und Gerichte sachkundig machen, sowie für die erforderliche Konkretisierung des § 2 des Tierschutzgesetzes herangezogen werden. Nicht zuletzt sind die Leitlinien Pferdesport geeignet, um die häufig emotional geführte Debatte zu einer artgemäßen und verhaltensgerechten Nutzung von Pferden zu versachlichen. Sie repräsentieren den aktuellen Diskussionsstand zum Tierschutz bei der Haltung, der Nutzung und dem Umgang von bzw. mit Pferden. Es wird empfohlen, die Leitlinien nach dem Vorliegen weiterer wissenschaftlich belegter Ergebnisse regelmäßig fortzuschreiben.

Die TVT möchte mit ihrem Positionspapier eine konstruktive Diskussion über Tierschutz im Pferdesport und bei der Nutzung von Pferden anregen und hofft, dass das BMEL die Initiative ergreift, die Leitlinien zeitnah zu überarbeiten.

Kontakt

Dr. Andreas Franzky, Leiter Arbeitskreis Pferde, Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e. V. (TVT),
Bramsche
franzky@tierschutz-tvt.de

Bewertungskriterien artgerechter Ställe für Pferde in Gruppenhaltung

Annette Wagener-Kettler

Laufstall-Arbeits-Gemeinschaft für artgerechte Pferdehaltung e.V., Bergkirchen

Die Laufstall-Arbeits-Gemeinschaft für artgerechte Pferdehaltung e.V. (LAG e.V.) zertifiziert seit mehr als 25 Jahren artgerechte Pferdehaltungen nach einem empirisch entwickelten und laufend an den aktuellen Kenntnisstand angepassten Bewertungskatalog. Die Kriterien sind von den Bedürfnissen der Pferde abgeleitet.

Die Bedürfnisse der Pferde

Pferde sind unter natürlichen oder naturnahen Bedingungen in hierarchisch organisierten Gruppen lebende Pflanzenfresser, die viele Stunden am Tag mit der Nahrungsaufnahme beschäftigt sind und dabei, je nach Nahrungsangebot, weite Strecken zurücklegen. Sie zeigen ein für Beutetiere typisches Flucht- und Wächterverhalten und verfügen über eine hervorragende Thermoregulationsfähigkeit.

Demnach definiert die LAG e.V. die Bedürfnisse der Pferde folgendermaßen (Abb.1):

Lauftier, Dauerfresser, Herdentier, Wächter, Klimawiderständler und Frischluftler (1).

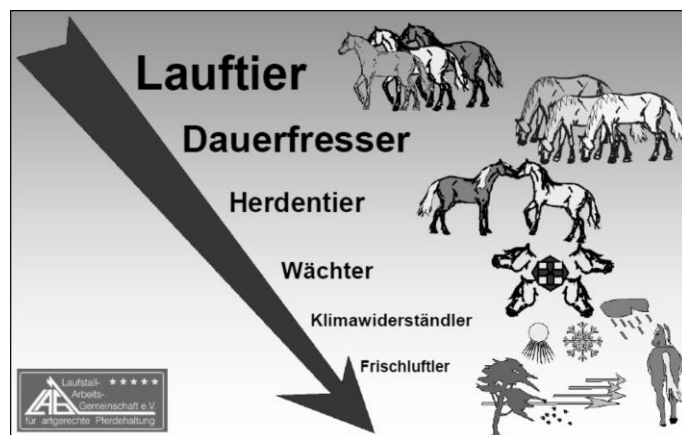


Abb. 1: Bedürfnisse der Pferde

Haltungssysteme für die Gruppenhaltung

Das Stallsystem (Tab.1) soll den Pferden das Zusammenleben in der Gruppe, ausreichend Bewegungsanreiz und -möglichkeit, naturnahe und gesunderhaltende Futter- und Wasseraufnahme sowie das Erleben von Witterungsreizen und Umwelteindrücken ermöglichen. Auch muss es über geeignete, ausreichend bemessene überdachte Rückzugs- und Ruheräume verfügen.

Daraus leitet sich das Laufstallkonzept ab, in dem die Pferde durch die räumliche Trennung der Funktionsbereiche Ruhen, Fressen und Trinken in einem möglichst großzügig bemessenen Auslauf zur Bewegung animiert werden.

In solchen Systemen werden täglich bis zu 8 km zurückgelegt. Durch Rundläufe, Einwegführungen oder automatische Abrufstationen für z.B. Kraftfutter lässt sich die Bewegung auf bis über 11 km täglich steigern (2). Die LAG e.V. spricht hierbei von Bewegungsställen.

Tabelle 1: Bewertungskatalog der LAG e.V. (3)

Bewertungs-Katalog der Pferde-Haltungs-Systeme unter Berücksichtigung der Eigenarten des Pferdes						
	Lauftier	Dauerfresser	Herdentier	Wächter	Klimawiderständler	Frischlüftler
	Bewegungsmöglichkeiten	kleiner Magen langer Darm	soziale Bedürfnisse	Sinnestätigkeiten	Thermoregulationssystem, Hautaktivität	empfindliches Atemorgan, Stoffwechsel
Gruppenhaltungen						
Weide / Wald usw. o. Zufütterung
Weide / Wald usw. m. Zufütterung
Laufstall m.Weideg.o.Auslauf, o.Zufütterung
Laufstall m.Weideg.o.Auslauf ,m.Zufütterung
Bewegungsstall
Laufstall Tränke +Futterplatz außen
Laufstall Futterplatz außen
Laufstall Tränke außen
Offenstall
Offenstall mit Türen
Innenbucht-Stall

• = ca.20 % vom angenommenen Idealzustand des jeweiligen Haltungs-Systems werden erreicht,

..... = ca. 100 % werden erreicht

- bei "Lauftier" bedeutet: das Pferd kann **zumindest** halbtägig in einen Auslauf
- bei "Dauerfresser" bedeutet: **mindestens** 2-malige Fütterung/Tag plus Futter-Stroh-Einstreu
- bei "Herdentier" bedeutet: **mindestens** Sicht-,Hör- u. Geruchskontakt zum Nachbarpferd
- bei "Wächter" bedeutet: Sicht-, Hör- u. Geruchskontakt **mindestens** halbtägig zur Umwelt
- bei "Klima-Widerständler": verschließbarer Kaltstall, **mindestens** halbtags offen
- bei "Frischlüftler": Pferd kann **mindestens** halbtags Kopf in die Frischluft stecken

Kriterien für die Praxis der artgerechten Pferdehaltung in der Gruppe

Ein sehr wichtiges Kriterium - unabhängig vom Stallsystem - ist ausreichend Platz, die LAG e.V. empfiehlt 100 m² Auslauffläche und 10 m² strukturierte Liegefläche pro Pferd. Der Auslauf muss mindestens so weit befestigt sein, dass alle Pferde trockenen Hufes ruhen, fressen und trinken

können. Die Liegefläche muss trocken und weich sein, die Einstreu sollte möglichst nicht zum Fressen anregen. Engstellen und Sackgassen müssen unbedingt vermieden werden.

Fütterungseinrichtungen müssen so bemessen sein, dass auch rangniedrige Pferde ihr Futter in Ruhe aufnehmen können. Grundfutter sollte möglichst immer zugänglich sein, Intervalle ohne Grundfutter dürfen eine Dauer von vier Stunden nicht überschreiten.

Es sollte für je maximal 15 Pferde eine beheizbare Tränke mit ausreichendem Wasserzufluss vorhanden sein, aus der die Pferde in freien Zügen selbstständig Wasser aufnehmen können (z.B. Schwimmer- oder Waagentränke). Diese muss frei zugänglich platziert werden. Alle den Pferden zur Verfügung stehenden Einrichtungen müssen hygienisch einwandfrei sein und dürfen keine Ammoniakbelastung aufweisen. Stalleinrichtung und Zäune müssen möglichst verletzungssicher sein.

Auf Weiden muss, außer bei stundenweisem Weidegang, Witterungsschutz und Trinkwasser zur Verfügung stehen. Dies kann auch durch direkten Zugang zum Stallbereich gewährleistet werden.

Literaturverzeichnis

1. Ullstein jun., H: Natürliche Pferdehaltung. Müller Rüschnikon Verlags AG, Cham; 1996. S. 20.
2. Bachmann, I: Agroscope Transfer Nr. 36. Avenches; September 2014. S. 7-9 .
3. Ullstein jun., H: Natürliche Pferdehaltung. Müller Rüschnikon Verlags AG, Cham; 1996. S. 88.

Kontakt

Annette Wagener-Kettler, Laufstall-Arbeits-Gemeinschaft für artgerechte Pferdehaltung e.V.,
Bergkirchen
annette.wagener-kettler@lag-online.de

Aktuelle Tierschutzprobleme in der Gruppenhaltung von Pferden

Margit H. Zeitler-Feicht

Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan,
Lehrstuhl für ökologischen Landbau, AG Ethologie, Tierhaltung und Tierschutz

Einleitung

Die Gruppenhaltung von Pferden, insbesondere im Mehrraum-Außenlaufstall mit Auslauf (Offenstall mit getrennten Funktionsbereichen) ist seit einigen Jahren im Zunehmen begriffen. Der Trend ist zu begrüßen, denn diese Haltungsform bietet den Pferden weitgehend artgemäße Haltungsbedingungen. Allerdings ist bei allen Gruppenhaltungsverfahren im Vergleich zur freien Wildbahn das Platzangebot beschränkt. Zudem kann die Gruppenzugehörigkeit von den Pferden nicht frei gewählt werden und über den Zugang zu den Ressourcen (Futter, Wasser, Witterungsschutz) bestimmt der Mensch. Deshalb stellt diese Haltungsform an den Betriebsleiter besonders hohe Anforderungen. Ohne fachgerechtes Management, ohne ausreichend Fläche sowie bei Konzeptionsfehlern sind heftige soziale Auseinandersetzungen vorprogrammiert. Mögliche Folgen sind Verletzungen und Benachteiligungen insbesondere im Fütterungs- und Liegebereich (Zeitler-Feicht und Prantner 2000, Fader und Sambras 2004, Fürst et al. 2006, Zeitler-Feicht et al. 2006, Streit et al. 2008, Niederhöfer 2009, Hartmann 2010, Flauger 2011).

Zu tierschutzrelevanten Situationen kann es nach Zeitler-Feicht (2012) kommen, wenn

- das Flächenangebot unzureichend ist,
- die Konzeption der Anlage (Sackgassen, Engpässe etc.) nicht pferdegerecht ist,
- Bauteile und Einrichtungsgegenstände verletzungsträchtig sind,
- Ressourcenverknappung (Futter, Wasser, Liegefläche, Witterungsschutz) besteht,
- die Neuintegration nicht fachgerecht durchgeführt wird,
- keine Möglichkeit zur Separierung einzelner Tiere vorhanden ist
- sowie Fehler bei der Gruppenzusammenstellung gemacht werden.

Nachfolgend sollen aktuelle Forschungsbefunde zum Einsatz von Abrufautomaten für Kraft- und Raufutter sowie von Liegematten unter dem Aspekt des Tierschutzes vorgestellt werden. Diese finden in modernen Mehrraum-Außenlaufställen mit Auslauf (z.B. Aktivstall, Bewegungsstall) derzeit immer häufiger Verwendung.

1. Fütterungseinrichtungen

Das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL 2009) empfiehlt in den Leitlinien zur Pferdehaltung Fressstände zur individuellen Fütterung von Pferden in Gruppenhaltung. Diese ermöglichen eine arttypische synchrone Nahrungsaufnahme. Demgegenüber erlauben Abrufstationen für Kraft- und Raufutter nur ein asynchrones Fressen, was das Risiko für Auseinandersetzungen im Fressbereich erhöht. Aus diesem Grund erschien es dringend erforderlich, die Neuentwicklungen auf dem Sektor der Abrufautomaten zur Fütterung von Pferden in Gruppenhaltung unter Tierschutzaspekten zu überprüfen.

Hierfür wurden zwei repräsentative Studien an insgesamt 567 individuell unterschiedenen Pferden in 42 Offenlaufställen, die deutschlandweit verteilt lagen, durchgeführt. In der ersten Untersuchung sollte die mögliche Stressbelastung und das Verletzungsrisiko der Pferde im Fressbereich von Fressständen und von Abrufstationen miteinander verglichen werden. In der zweiten Untersuchung wurde die Ausführung der Abrufautomaten unter dem Aspekt der

Tiergerechtigkeit überprüft (Streit et al. 2008a, Streit et al. 2008b, Zeitler-Feicht et al. 2010, Zeitler-Feicht et al. 2011).

Fazit der ersten Untersuchung war, dass sowohl die Fütterung in Fressständen als auch die Fütterung mithilfe von Automaten jeweils Vor- und Nachteile haben. Es wurde jedoch nachgewiesen, dass es bei Abrufstationen zu signifikant mehr Drohgesten mit und ohne Verletzungsgefahr kommt, sowie signifikant öfter Verdrängungs- und Meidereaktionen auftreten, als bei Fressständen. Wegen der Vorteile für die Pferdegesundheit bezüglich kleiner Futterportionen und hohem Bewegungsanreiz sind Abrufstationen dennoch zu empfehlen, allerdings nur bei entsprechenden betrieblichen Voraussetzungen und guter fachlicher Praxis. In Anbetracht des erhöhten Risikos für negative Interaktionen erscheint es jedoch sinnvoll, die Futtevorlage auf 10 Mahlzeiten je Tag zu beschränken, zumal dies auch dem natürlichen Fressrhythmus von Pferden entspricht (Zeitler-Feicht 2010, Meyer und Coenen 2014). Unabhängig vom Fütterungssystem traten die wenigsten Auseinandersetzungen auf, wenn die Pferde täglich etwa 1,5 kg Heu pro 100 kg Körpermasse erhielten bei zusätzlicher ad Libitum Fütterung von Stroh.

Fazit der zweiten Untersuchung war, dass bei Abrufautomaten Durchlaufstationen tiergerechter sind als Rücklaufstationen. Als nicht tiergerecht erwiesen sich Stationen mit stromführender Austreibhilfe. Die weiteren Unterschiede in der Bauausführung der derzeit auf dem Markt befindlichen Futterabrufstationen für Pferde dürften eher von untergeordneter Bedeutung sein. Dies gilt vor allem vor dem Hintergrund, dass das Flächengebot und die Konzeption der Offenstallanlage sowie das Management die überprüften Kriterien zur Tiergerechtigkeit maßgeblich beeinflussen.

Anhand bisheriger Untersuchungen leiten sich die in Tabelle 1 gegebenen Empfehlungen für die Gestaltung des Fressbereichs bei Abrufstationen ab.

Tab. 1: Empfehlungen für Abrufstationen in der Gruppenhaltung von Pferden (Pirkelmann et al. 2008, Streit et al. 2008 a/b, Zeitler-Feicht et al. 2010, Zeitler-Feicht et al. 2011)

- Schutz des Pferdes durch Trennwände über die gesamte Körperlänge
- Trennwände mit Sichtkontakt zu den anderen Pferden
- Durchlaufstationen mit separatem Ein- und Ausgang
- Eingangssperre für eine stressfreie Futteraufnahme
- Ausgang mit Rücklaufsperre
- Ausgang in einen anderen Funktionsbereich
- Ausreichende Ausweichmöglichkeiten für rangniedere Tiere
- Räumliche Trennung von Kraftfutter- und Heuautomaten
- Maximal je 10 Kraft- und Raufutterrationen je Tier und Tag
- $\geq 1,5$ kg Heu pro 100 kg KM je Pferd und Tag
- Stroh zur freien Verfügung (synchrones Fressen)
- Individuelles Anlernen der Pferde am Automaten

2. Liegefläche und Liegematten

Das Liegeverhalten von Pferden in der Gruppenhaltung ist von zahlreichen Einflussfaktoren abhängig. Zu diesen gehören u.a. die Größe der angebotenen Liegefläche sowie deren Ausführung. In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass ein zu geringes Flächenangebot bzw. reduzierte Ausweichmöglichkeiten in einer Gruppenhaltung dazu führen, dass rangniedere Tiere signifikant weniger oft bzw. überhaupt nicht zum Abliegen kommen (Zeitler-Feicht und Prantner 2000, Fader und Sambras 2004) sowie Stress (Niederhöfer 2009) und das Verletzungsrisiko erhöht sind (Zeitler-Feicht et al. 2006, Zeitler-Feicht 2008, Zeitler-Feicht et al. 2012, Obergfell et al. 2013). Deshalb fordert das BMEL (2009), dass eine ausreichend groß bemessene, trockene und verformbare Liegefläche sicherzustellen ist, damit alle Pferde gleichzeitig in Seitenlage liegen können. Diese sollte bei allen Gruppenhaltungsverfahren (Einraum-/Mehrraum Innen-/Außen Laufställe) mindestens $\geq (2 \times Wh)^2/\text{Pferd}$ betragen. Nur im Mehrraum-Außenlaufstall mit Auslauf genügt eine Liegefläche von $\geq 3,0 \times Wh^2/\text{Pferd}$.

Fazit der Untersuchung von Zeitler-Feicht et al. (2012) war jedoch, dass erst bei einer mehr als doppelt so groß bemessenen Liegefläche als vom BMEL (2009) gefordert, rangniedrige Pferde sich genauso oft und lange in alle Liegepositionen ablegen wie die ranghöheren Tiere. Bei einer Liegefläche gemäß dem Mindestrichtwert des BMEL (s.o.) ruhten rangniedrige Tiere signifikant weniger oft und signifikant kürzer in der Seitenlage. Es wird für die Praxis die Empfehlung ausgesprochen, dass eine deutlich größer bemessene Liegefläche zur Verfügung gestellt werden sollte, um rangbedingte Benachteiligungen zu vermeiden. Der Mindestrichtwert des BMEL (2009) darf unter Tierschutzaspekten keinesfalls unterschritten werden.

Tab. 2: Empfehlungen für den Liege- und Ruhebereich in der Gruppenhaltungen von Pferden (Muggenthaler et al. 2010, Muggenthaler 2011, Obergfell et al. 2013, Baumgartner et al. 2014)

- Liegefläche sollte größer als der Mindestwert (BMEL 2009) sein:
 - a) Einraum- bzw. Mehrraum Innen- bzw. Außen-Laufställe: $> (2 \times Wh)^2/\text{Pferd}$
 - b) Mehrraum-Außenlaufstall mit Auslauf: $> 3 \times Wh^2/\text{Pferd}$
- Fachgerechte Konzeption der Liegehalle (keine Sackgassen, keine Engpässe, mindestens zwei Durchgänge oder offene Frontseite)
- Strukturierung der Liegehalle mit Raumteilern
- Nicht fressbare Einstreu (z.B. Sägespäne) in der Liegehalle
- Liegematten mit Minimaleinstreu „überzuckern“
- Fütterung von Stroh außerhalb der Liegehalle (Fress-, Auslaufbereich)
- Trockene Sandplätze (rund gewaschen, ohne Lehmantel) zum Liegen im Auslauf
- Zusätzlicher offen gestalteter Unterstand zum Liegen im Auslauf

In modernen Mehrraum-Außenlaufställen mit Auslauf werden die Liegehallen immer öfter mit Liegematten ausgestattet werden. Erste Studien ergaben, dass diese unter dem Aspekt der Tiergerechtigkeit kritisch zu betrachten sind (Krapp 2007, Hauschildt 2008; Muggenthaler et al. 2010).

Muggenthaler et al. (2010) sowie Muggenthaler (2011) überprüften in zwei Offenlaufställen mit guter fachlicher Praxis das Ausruhverhalten der Pferde in Abhängigkeit vom Liegeflächenmaterial sowohl durch Präferenztest (Sägespäne versus Gummimatten) als auch bei alleiniger Präsenz von Liegematten. Fazit der Untersuchungen war, dass Pferde eine mit Spänen eingestreute Liegefläche eindeutig bevorzugen. Tiere, die keine Vorerfahrung mit Liegematten hatten, vermieden es über die Gesamtdauer des Wahlversuchs (10 Wochen) sich auf diese abzulegen. Allerdings ruhten Pferde mit jahrelanger Liegemattenerfahrung vergleichbar oft und lange auf Matten wie auf Späneestreu. Somit dürfte nach einer gewissen Zeit eine Gewöhnung an Gummimatten möglich sein. Es wird gefolgert, dass ein fachgerechtes Management (u.a. sukzessives Anlernen der Pferde an Liegematten in der Integrationsbox, Anbieten von Liegealternativen) von größter Bedeutung ist.

In einer weiterführenden Untersuchung kamen Baumgartner et al (2014) zu dem Fazit, dass Liegematten, die mit minimaler Späneestreu versehen sind, unter dem Aspekt der Tiergerechtigkeit eine mögliche Alternative zu reiner Späneestreu darstellen. Darüber hinaus wird die Empfehlung gegeben in Gruppenhaltungen einen weiteren, möglichst langgestreckten Unterstellplatz als zusätzliche Liegefläche anzubieten.

Zusammenfassung

Mehrraum-Außenlaufställe mit Auslauf (z.B. Aktivstall, Bewegungsstall) werden derzeit häufig mit Abrufautomaten für Kraft- und Raufutter sowie mit Gummimatten im Liegebereich ausgestattet. Nach aktuellen Forschungsbefunden eignen sich sowohl Fressstände als auch Abrufautomaten für die Gruppenhaltung von Pferden. Für letztere wird wegen des erhöhten Risikos für Auseinandersetzungen (hohe Besuchsfrequenz) empfohlen die Futtermenge auf 10 Mahlzeiten je Tag zu beschränken. Abrufautomaten in Form von Durchlaufstationen erwiesen sich als tiergerechter als Rücklaufstationen. Als nicht tierschutzkonform wurden Abrufstationen mit stromführender Austreibhilfe eingestuft. Bezüglich der Größe der Liegefläche ergab sich, dass der Mindestrichtwert des BMEL (2009) unter Tierschutzaspekten keinesfalls unterschritten werden darf. Liegematten sind nur in Kombination mit minimaler Späneestreu als ausreichend tiergerecht einzustufen.

Literatur

Das Literaturverzeichnis ist beim Verfasser erhältlich.

Kontakt

Dr. Margit H. Zeitler-Feicht, AG Ethologie, Tierhaltung und Tierschutz, TU München-Weihenstephan, Freising
Zeitler-Feicht@wzw.tum.de

Untersuchungen zu Pferdelaufställen unter dem Aspekt des Zusammenhangs zwischen Haltung und Gesundheit

Anna-Caroline Wöhr und Barbara Szivacz

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

1. Einleitung

Als „Partner“ des Menschen hat das Pferd verstärkt einen emotionalen Stellenwert, der den Halter verführt, die Lebensbedingungen dieses Partners mit menschlichem Bedürfnishintergrund zu sehen. Einzelboxenhaltung in beheizten Stallungen kommt dem eigenen Bedürfnis nach Komfort entgegen und so wird vergessen, welche Bedürfnisse das Pferd an seine Haltung stellt: Bewegungsfreiheit, Fluchttiere, Sozialkontakte, Licht, Luft und Klimareize, sowie beinahe ständige Verfügbarkeit rohfaserreichen Futters. Die konsequente Nichterfüllung dieser Grundbedürfnisse hat zu zahlreichen „Zivilisationskrankheiten“ und Verhaltensstörungen geführt, die in vielen wissenschaftlichen Arbeiten untersucht worden sind. Sie belegen den schädlichen Einfluss von nicht artgemäßer Pferdehaltung auf die Gesundheit und das Wohlbefinden der Pferde. Doch lassen diese Erkenntnisse auch den Umkehrschluss zu, dass diese „modernen Pferdekrankheiten“ durch Verbesserung der Haltung geheilt oder zumindest gelindert werden können?

2. Haltungsbedingte Erkrankungen, Verhaltensstörungen und Verletzungen

Haltungsfehler und die daraus resultierenden gesundheitlichen Folgen für das Pferd liegen oft Jahre auseinander. Darum ist für Stallbetreiber wie Pferdebesitzer ein ursächlicher Zusammenhang meist nicht erkennbar.

Im Zusammenhang mit der Frage, ob bestehende haltungsbedingte Erkrankungen durch Verbesserung der Haltung positiv beeinflusst werden können, wurden im Rahmen einer Online-Umfrage 600 Pferdebesitzer zu den Haltungsbedingungen und Gesundheitsstatus ihres Pferdes befragt. Die Umfrage richtete sich ausschließlich an Pferdebesitzer, die ihr Pferd in einem Betrieb eingestellt hatten, der durch den Verein 'Laufstall-Arbeits-Gemeinschaft' (LAG) positiv bewertet wurde. Als Mindestanforderung galt der unbeschränkte Zugang zu einem Auslauf. 98,2 % der Pferde lebten im Herdenverband. Unterteilt wurden die Gruppen in Pferde, die „aus der Box“ (44 %, 243/553) oder aus einem „Gruppenlaufstall (GLS)“ (39 %, 216/553) in den LAG-Betrieb eingestellt wurden sowie in eine Gruppe, die schon immer im LAG-Betrieb aufgestellt war („kein Wechsel“; 17 %, 94/553).

Es wurde die Prävalenz (Prävalenz = Anzahl der zum Untersuchungszeitpunkt Kranken / Anzahl der in die Untersuchung einbezogenen Individuen) zu den fünf Problembereichen Husten, Störungen des Verdauungs- bzw. Bewegungsapparates, Verletzungen und unerwünschte Verhaltensweisen erhoben. Außerdem wurde gefragt, wie sich das Verhalten bzw. die Neigung zu Erkrankungen verändert hätte, seit das Pferd in den LAG-Betrieb umgestellt wurde.

Verbesserungen wurden vor allem bei Problemen mit dem Atmungs- (52,9 %), Verdauungs- (55,7 %) und Bewegungsapparat (45,3 %) bemerkt. Das Verhalten besserte sich bei 53,9 % der Tiere. Die Neigung zu Verletzungen verbesserte sich nur um 28,4 %. Eine vergleichende Betrachtung der Prävalenzen (Tab. 1) zeigt z.B., dass die 'Laufstallpferde' signifikant seltener beim Husten beobachtet ($p = 0,002$) werden oder seltener unerwünschte Verhaltensweisen ($p = 0,003$) zeigen.

Tabelle 1: Prävalenzunterschiede hinsichtlich der vorherigen Haltungsform

Prävalenz der Störungen des ...	aus Box vs. Wechsel aus Gruppenlaufstall	aus Box vs. kein Wechsel	Wechsel aus Gruppenlaufstall vs. kein Wechsel
...Atmungsapparates	a	b	-
...Verdauungsapparates	-	b	a
...Bewegungsapparates	b	b	-
Verletzungen	-	b	b
benötigte noch nie einen TA	-	b	b
unerwünschte	a	b	-
- nicht signifikant; a = signifikant, $p \leq 0,05$; b = signifikant, $p \leq 0,01$			

Von 534 Pferdebesitzerinnen gaben 71 % (379/534) an, ihr Pferd zeige keine unerwünschten Verhaltensweisen, während 29 % (155/534) Verhaltensauffälligkeiten nannten. Die Auswertung des Vorkommens unerwünschter Verhaltensweisen in Abhängigkeit vom ursprünglichen Haltungssystem (Tab. 2) zeigt, dass die Gruppe „aus Box“ einen signifikant höheren Anteil ($p = 0,023$) an Pferden hatte, die unerwünschte Verhaltensweisen zeigen, im Vergleich zu Pferden, die aus einem Gruppenlaufstall kamen oder im Vergleich zu der Gruppe „kein Wechsel“. Auch die Veränderung unerwünschter Verhaltensweisen in Abhängigkeit von der vorherigen Aufstallungsart zeigt, dass sich unerwünschte Verhaltensweisen eher bei Pferden der Gruppe „aus Box“ (73,5 %, 64/87) besserte als bei der Gruppe „aus GLS“ (60 %, 30/50). Diese Unterschiede sind nicht signifikant ($p = 0,168$).

Tabelle 2: Häufigkeit unerwünschter Verhaltensweisen (ohne im LAG-Stall neu aufgetretene Fälle, Einfachnennung) in Bezug zur vorherigen Haltungsform

		zeigt unerwünschtes Verhalten	kein unerwünschtes Verhalten	gesamt
aus Box	Anzahl	87 ^{a,b}	145	232
	%	34,5 %	65,5 %	
aus GLS	Anzahl	50 ^{a,c}	154	204
	%	24,5 %	75,5 %	
kein Wechsel	Anzahl	18 ^{b,c}	80	98
	%	18,4 %	81,6 %	

^a „aus Box“ vs „aus GLS“ $p = 0,023$; ^b „aus Box“ vs „kein Wechsel“ $p = 0,003$; ^c „aus GLS“ vs „kein Wechsel“ $p = 0,232$

Die verschiedenen genannten Verhaltensweisen, die Häufigkeiten sowie die Veränderung nach Umstallung sind in Abbildung 1 dargestellt.

Geht man nun der Frage nach, wie sich die Veränderung der Verhaltensweisen auswirkt, seit dem das Pferd umgestallt wurde, zeigt sich, dass fast jeder dritte (29,4 %, 157/534) angab, das Pferd wäre ausgeglichener. Eine Verbesserung des Sozialverhaltens beobachteten 4,5 % (24/534), als „rittiger“ bezeichnen 3,9 % (21/534) der Teilnehmer ihr Pferd und 3,4 % (18/534) bemerkten eine gesteigerte Selbstsicherheit. Betrachtet man die Verbesserungsraten, wird deutlich, dass bei Pferden aus Boxenhaltung die Verbesserungsraten höher sind, als bei Pferden die bereits davor in einem Gruppenlaufstall standen. Deutlich signifikant sind diese Unterschiede bei Husten ($p=0,001$) und Störungen des Bewegungsapparates ($p=0,0001$).

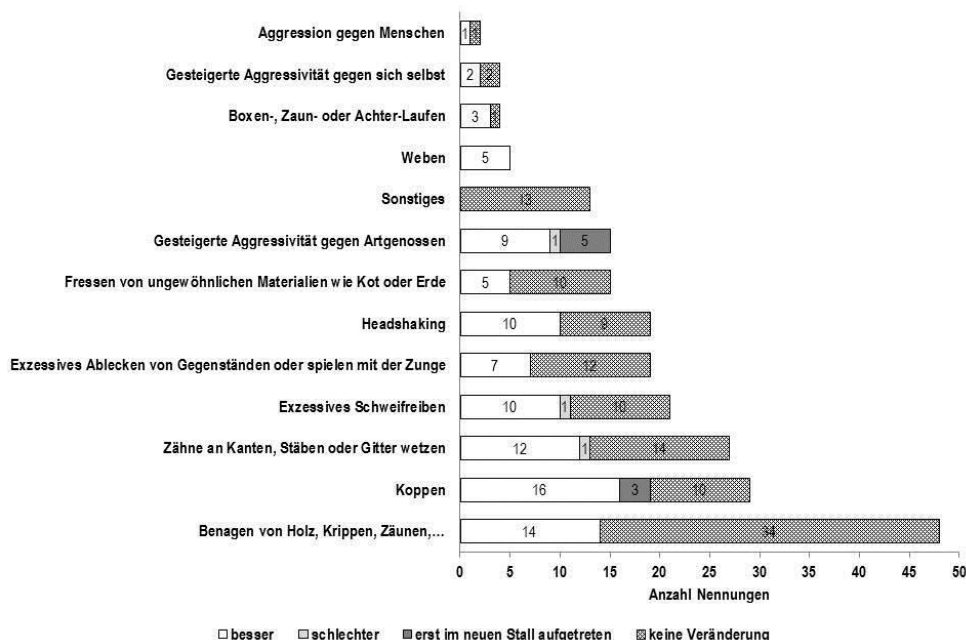


Abbildung 1: Häufigkeit der unerwünschten Verhaltensweisen (221/543; Mehrfachnennungen waren möglich) sowie Veränderung nach Umstallung in LAG-Betrieb

3. Pferdehaltungssysteme: Begriffe und Definitionen

Im Bereich der Pferdehaltung werden oft unterschiedliche Bezeichnungen für die verschiedenen Haltungssysteme verwendet. Grundsätzlich ist zwischen Einzelhaltung und Gruppenhaltung zu unterscheiden. Definitionen zu den Haltungssystemen finden sich u.a. in

1. der Richtlinie für die Haltung von Pferden des Bundesamts für Veterinärwesen der Schweiz (BVET 2001)
2. den „Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV 2009), Deutschland, die sich an die Gliederung der Haltungsverfahren durch den „Nationalen Bewertungsrahmen Tierhaltungsverfahren“ des Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (KTBL 2006) anlehnt
3. dem Stallbewertungskatalog der Laufstall-Arbeits-Gemeinschaft (LAG, 2007)

Es hat sich gezeigt, dass die Bezeichnungen teilweise missverständlich und auch sehr lang sind (z.B. Einraum-Außenlaufstall mit Auslauf) und auch der Begriff 'Laufstall' gibt wenig Aufschluss über die tatsächliche Haltungsform. Damit sind sie für den täglichen Sprachgebrauch unpraktisch.

Um die Begrifflichkeiten einfacher und transparenter zu gestalten, müssen die drei relevanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Haltungstypen berücksichtigt werden:

1. Einzel- oder Gruppenhaltung
2. Stallhaltung oder Haltung mit ständig frei zugänglichen Auslauf
3. voneinander getrennt gelegene Funktionsbereiche

Dementsprechend muss ein eindeutiger Begriff diese drei Aspekte berücksichtigen. Aus Tabelle 3 wird deutlich, dass als Laufställe im eigentlichen Sinne somit nur die Offenlaufbox, der Offenlaufstall sowie der Innenlaufstall bezeichnet werden können.

Tabelle 3: Empfohlene Begriffe zur Bezeichnung von Pferdehaltungssystemen

	Begriff	Definition
Einzelhaltung	Innenbox	Einzelbox in einem Stallgebäude ohne für das Pferd nutzbare Öffnung nach draußen
	Außenbox	Einzelbox in einem Stallgebäude mit einem ständig geöffneten Fenster, durch welche das Pferd Kopf und Hals nach draußen richten kann
	Offenbox	Einzelbox MIT ständig zugänglichem, direkt angrenzenden Auslauf
	Offenlaufbox	Einzelbox MIT ständig zugänglichem, direkt angrenzenden Auslauf über den die verschiedenen Funktionsbereiche (z.B. Fress-, Trink-, Ruhebereich) erreichbar sind
Gruppenhaltung	Innenlaufstall	Gruppenlaufstall OHNE direkt angrenzendem Auslauf
	Offenstall	Gruppenlaufstall MIT ständig zugänglichem, direkt angrenzenden Auslauf
	Offenlaufstall	Gruppenlaufstall MIT ständig zugänglichem, direkt angrenzenden Auslauf, über den die verschiedenen Funktionsbereiche erreichbar sind

4. Schlussfolgerungen

Die eingangs gestellte Frage, ob „moderne Pferdekrankheiten“ durch Verbesserung der Haltung geheilt oder zumindest gelindert werden können, kann an Hand der vorliegenden Ergebnisse bejaht werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die Umstallung aus Boxenhaltung in einen Offenlaufstall besonders positiv auf den Atmungs- und Bewegungsapparat sowie das Verhalten auswirkt. Jedoch können unnötig häufige Stallwechsel hinsichtlich der Gesundheit des Verdauungsapparates und dem Auftreten von Verletzungen nicht empfohlen werden. Eigene Untersuchungen zeigen, dass insbesondere ein Stallwechsel als einer der häufigsten Risikofaktoren für das Auftreten von REM-Schlafmangel und atonischer Kollapse beim Pferd verantwortlich gemacht werden kann, da die Pferde sich nicht mehr ablegen.

Kontakt

Dr. Anna-Caroline Wöhr, Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung;
Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
woehr@lmu.de

Aggressionslevel und Platzangebot bei Pferden

Konstanze Krüger^{1,2}, Kim Fuchs¹, Kristina Hinz¹, Johanna Lindner¹, Caroline Manschel¹, Katja Pohl¹, Lea Preisendanz¹, Serena Sennet¹, Daniela Töpfer¹, Simone Weil¹, Vanessa Weiß¹, Johannes Wittum¹, Barbara Benz¹

¹Pferdewirtschaft, Hochschule für Wirtschaft und Umwelt Nürtingen- Geislingen; ²Zoologie I, Universität Regensburg

Die Gruppenhaltung bei Pferden wird immer beliebter. Eine gelungene Gruppenhaltung bietet den Pferden gute Möglichkeiten zur Befriedigung ihrer Grundbedürfnisse nach Bewegung, Sozialkontakt, Fressen und Ruhen in der Gruppe, sowie gute Luft und viel Licht (9). In den „Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten, 2009“ des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz wird angeraten, Pferde in der Gruppe zu halten, wann immer es möglich ist. Generell sei jedes Pferd für eine Gruppenhaltung geeignet (1). Des Weiteren wird auf die Problematik geringen Platzangebotes und eingeschränkter Ausweichmöglichkeiten in Gruppenhaltungen hingewiesen. Das Platzangebot sollte in Gruppenausläufen 150m² für zwei Pferde und 40m² für jedes weitere Pferd nicht unterschreiten. Weiterhin wird angeraten, gerade in der Gruppenhaltung besonderes Augenmerk auf die Möglichkeiten der Befriedigung der Grundbedürfnisse für alle Gruppenmitglieder zu legen (1). Um dies zu gewährleisten, werden mitunter aufwändige Stallhaltungskonzepte angeboten. Gruppenhaltungen in Mehrraum- Außenlaufställen mit und ohne Bewegungskonzept sowie mit und ohne Fütterungsautomation (1) erobern den Markt. Es stellt sich die Frage wie gut die Haltungskonzepte die Deckung der Grundbedürfnisse der Pferde ermöglichen. Für die Messung dieses Sachverhalts gibt es ein eindeutiges Maß: Können einzelne oder mehrere Gruppenmitglieder ihre Grundbedürfnisse nicht mehr decken, so steigt der Aggressionslevel und das Verletzungspotential der Pferde in der Gruppe (4). In der Tat scheinen Aggressionen in der Gruppenhaltung der Pferde linear mit der Reduktion des Platzangebots anzusteigen. Erst wenn ein Platzangebot von 330m² pro Pferd und mehr angeboten werden, sinkt der Aggressionslevel gegen null (2). Hier sollen nun weitere Studien vorgestellt werden, die den Zusammenhang der Stallhaltungskonzeption und /oder das Platzangebot mit einer Erhöhung des Aggressionslevels in der Gruppenhaltung von Pferden beleuchten.

Pferdegruppen

In den unten dargestellten Studien werden Pferde in Laufstallhaltungen, oder Pferde in Laufstallhaltung und Boxenhaltung mit Gruppenweidegang verglichen.

Verhaltensweisen

Für die Studien wurde agonistisches (aggressives) Verhalten ohne Körperkontakt (Beißdrohungen, Schlagdrohungen und Treiben), agonistisches Verhalten mit Körperkontakt (Beißen, Schlagen) sowie submissives Verhalten (Rückzüge) ausgezählt. Einige Studien zählten affiliatives Verhalten (Zusammenstehen, miteinander Fressen, soziale Fellpflege, Spielverhalten und Annäherung ohne Reaktion des Partners) aus (7).

Vergleich der Interaktionen von Pferden in Boxenhaltung mit Weidegang und Pferden in Offenstallhaltung (3)

Ziel dieser Studie war es festzustellen, ob sich die Interaktionen von Pferden in Boxenhaltung mit Gruppenauslauf (3 Wallache, 1 Hengst) und in Laufstallhaltung (6 Wallache, 2 Hengste) sowohl in

der Anzahl der affiliativen und agonistischen Verhaltensweisen pro Pferd und Stunde unterscheiden. Boxenpferde tauschten in der limitierten Zeit, die sie gemeinsam auf der Weide verbrachten, im Vergleich zu den Offenstallpferden sowohl mehr affiliative als auch agonistische Verhaltensweisen pro Stunde aus. Die affiliativen Verhaltensweisen Zusammenstehen, miteinander Fressen, soziale Fellpflege, Spielverhalten und Annäherung ohne Reaktion des Partners und die agonistischen Verhaltensweisen Beißdrohen und Verfolgen traten bei den Boxenpferden signifikant häufiger auf (Mann-Whitney-U-Exact-Tests: $N = 12$, alle $p < 0,05$). Die Hengste bissen signifikant häufiger als die Wallache (Mann-Whitney-U-Exact-Test: $N = 12$, $p = 0,04$). Möglicherweise leben Pferde in Boxenhaltung mit Gruppenweidegang in der limitierten gemeinsamen Weidezeit ihre Bedürfnisse intensiver aus. Ob die erhobenen Ergebnisse verallgemeinert werden können, muss in einer größer angelegten Studie überprüft werden.

Fallstudie zum Platzangebot, Verhalten und Wohlbefinden der Pferde (*Equus caballus*) in Mehrraum-Außenlaufställen mit Auslauf und Bewegungsställen (8)

Die Verhaltensbeobachtungen dieser Studie erfolgten an 112 Pferden in fünf Mehrraum-Außenlaufställen mit Auslauf und fünf Bewegungsställen. Bei vermehrtem Platzangebot sank das agonistische Verhalten in Bewegungsställen außerhalb des Fressbereiches (Spearman Rang-Korrelationstest, $N = 54$, $r_s = -0,295$, $p = 0,02$). Weiterhin sank das agonistische Verhalten mit Verletzungsrisiko (Schlagen und Beißen) mit zunehmender Stallgröße (überdachte Fläche und Auslauf) in beiden Haltungsverfahren. Wird die Fütterung in den Bewegungsställen betrachtet, so ist die Transponderfütterung in Kombination mit Ad-libitum-Fütterung aufgrund des deutlich geringeren, agonistischen Verhaltens beim Fressen, der reinen Transponderfütterung vorzuziehen (Wilcoxon-Test für, $N_1 = \text{Transponder}$, $N_2 = \text{Transponder und ad libitum}$, $W = 560$, $p \leq 0,001$).

Einfluss verschiedener Faktoren auf das Verhalten von Pferden in Gruppenhaltung an einer zeitgesteuerten Raufuttereinrichtung (6)

Diese Studie verglich das agonistische Verhalten mit und ohne Körperkontakt von 128 Pferden in zehn Laufstallhaltungen der Firma Hit. Es handelte sich um Gruppen gemischten Geschlechts. Die Ställe wiesen eine ähnliche Konzeption auf und waren alle mit einer Hit Rollraufe ausgestattet. Während der Fütterung hatte nur die Größe der Pferdeguppen einen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der agonistischen Verhaltensweisen. Je größer die Gruppe, desto weniger Interaktionen fanden während der Fütterung statt (Spearman Rangkorrelationstest: $N = 128$, $r_s = -0,503$, $p < 0,001$). In manche Gruppen erhielten die Pferde je länger sie in der Gruppe waren deutlich weniger aggressive Verhaltensweisen (Betrieb 10: Spearman Rangkorrelationstest: $N = 19$, $r_s = -0,656$, $p = 0,002$). Weiterhin wiesen Pferde in größeren Gruppen mehr Verletzungen auf (GzLM: $N = 128$, $z = 5,44$, $p < 0,001$). Auch mit der Anzahl der Fütterungen pro Tag stieg die Anzahl der Verletzungen (GzLM: $N = 128$, $z = 2,37$, $p = 0,018$). Zusätzlich stieg mit vermindertem Platzangebot pro Pferd im Auslauf die Anzahl der Verletzungen (GzLM: $N = 128$, $z = -5,39$, $p < 0,001$). Die Größe des Liege- und des Fressbereichs blieb ohne Einfluss.

Warteverhalten vor computergesteuerten Fütterungseinrichtungen eines Aktivstalls (5)

In dieser Studie wurde erhoben, ob Pferde in der Wartesituation vor dem Zugang zu computergesteuerten Futterautomaten Stress empfinden. Es handelte sich um eine Fallstudie an 27 Pferden gemischten Geschlechts in einem Schauer Aktivstall. Die Studie dokumentierte die sensorische Lateralität, sowie die Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität der Pferde. Pferde zeigten erhöhte Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität ($p < 0,05$) und eine erhöhte sensorische Lateralität in den Wartesituationen ($p < 0,001$). Jedoch zeigten gleich viele Pferde einen Vorzug der linken und rechten Sinnesorgane. Sollten die Pferde Stress empfunden haben, würde eine signifikante linksgerichtete sensorische Lateralität für mehrere Tiere erwartet (Roger 2010). Die

Autorinnen folgern aus den Ergebnissen, dass Pferde zwar in der Wartesituation vor den Fütterungsautomaten erregt waren, aber keinen Stress empfanden. Die Erregung könnte auf die für Pferde unnatürliche Situation des Wartens auf Futter zurück zu führen sein. Dies wird auch durch die Beobachtung bestätigt, dass Pferde in den Wartesituationen nur selten agonistische Ohrstellungen, mit beidseitig zurück gelegten Ohren, zeigten.

Fazit

Das Platzangebot in Gruppenhaltungen scheint ein Haupteinflussfaktor auf die Aggression zwischen Gruppenmitgliedern zu sein. Interessanterweise scheint das Platzangebot in den Fress- und Liegebereichen nicht so wichtig zu sein, wie das Platzangebot im Auslaufbereich. Planungsfehler wie Engpässe und Möglichkeiten Futterautomaten zu monopolisieren steigern das aggressive Verhalten der Pferde in Fress- und Liegebereichen mehr als das Platzangebot an sich. Pferde können für den Zugang zu Ressourcen (Futter, Wasser, Liegemöglichkeiten) die temporäre Nähe anderer Pferde dulden, wenn einzelne Tiere die Ressource nicht monopolisieren können und es nicht zu einer mangelhaften Deckung der Grundbedürfnisse anderer Gruppenmitglieder kommt. Ein genügendes Platzangebot im Auslauf, und somit Rückzugmöglichkeiten für jedes Gruppenmitglied, scheint jedoch eminent wichtig zu sein, um den Aggressionslevel und das Verletzungsrisiko in der Gruppe zu reduzieren. Der Gruppenauslauf sollte 330 m² pro Pferd nicht unterschreiten.

Literatur

1. BMELV. Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutz Gesichtspunkten, Bonn, 2009.
2. Flauger B, Krueger K. Aggression level and enclosure size in horses (*Equus caballus*). *Pferdeheilkunde*, 2013; 29(4), 495–504.
3. Fuchs K, Götz K, Manschel K, Pohl L, Preisendanz L, Weil S, Weiß V, Wittum J, Krueger K. Vergleich der Interaktionen von Pferden in Boxenhaltung mit Weidegang und Pferden in Offenstallhaltung. *Göttinger Pferdetage'13*, 2013.
4. Fürst A, Knubben J, Kurtz A, Auer J, Stauffacher M. Pferde in Gruppenhaltung: Eine Betrachtung aus tierärztlicher Sicht unter besonderer Berücksichtigung des Verletzungsrisikos. *Pferdeheilkunde*, 2006; 22, 254 - 258.
5. Hinz K, Sennet S, Maros K, Krueger K. Waiting behaviour in front of computerized feeding systems in active stables - Effects on heart rate, heart rate variability and sensory laterality in horses. *Darmstadt: KTBL Schriften*, 2015.
6. Lindner J. Einfluss verschiedener Faktoren auf das Verhalten von Pferden in Gruppenhaltung an einer zeitgesteuerten Raufuttereinrichtung [Bachelorarbeit]. *Nürtingen, HfWU Nürtingen-Geislingen*, 2015.
7. McDonnell SM, Haviland JCS. Agonistic Ethogram of The Equid Bachelor Band, in: *Applied Animal Behaviour Science* 43, 1995
8. Töpfer D, Wolter R, Krüger K. Fallstudie zum Platzangebot, Verhalten und Wohlbefinden der Pferde (*Equus caballus*) in Mehrraum-Außenlaufställen mit Auslauf und Bewegungsställen. *Darmstadt: KTBL Schriften*, 2014.
9. Wille M. Einzelhaltung versus Gruppenhaltung - ein Vergleich zweier Pferdehaltungssysteme unter dem Aspekt des Wohlbefindens [Dissertation], *TU München*, 2011.

Kontakt

Prof. Dr. Konstanze Krüger, HfWU Nürtingen-Geislingen, Nürtingen
Konstanze.Krueger@hfwu.de

Gruppenhaltung von Pferden unter Berücksichtigung der Fressplatzgestaltung

Angela Schwarzer

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhaltung und Tierhygiene, Veterinärwissenschaftliches Department, Ludwig-Maximilians-Universität München

1

1. Einleitung

Die Gruppenhaltung von Pferden nimmt seit einigen Jahren vor allem im Freizeitreiterbereich immer weiter zu, da sie prinzipiell eine tiergerechte Haltungsform darstellt. Neben dem Platzangebot (Auslauf und Liegeflächen), der Gruppenzusammenstellung und der fachgerechten Eingliederung neuer Herdenmitglieder, ist die Gestaltung der Fütterungseinrichtungen entscheidend für den Erfolg dieser Haltungsform. Die Anlage muss so konzipiert sein, dass zum einen das Verletzungsrisiko durch agonistische Verhaltensweisen minimiert wird. Zugleich müssen alle, also insbesondere auch rangniedrige Pferde, stressfrei Futter und Wasser aufnehmen können.

2. Grundsätzliches zur Fütterung

Pferde sind als Steppenbewohner an die Aufnahme von nährstoffarmem Futter über einen langen Zeitraum des Tages hinweg gewöhnt. Das heißt, sie verbringen 12 - 14 (max. 18) Stunden des Tages mit Fressen. Dabei wird mit gesenktem Kopf in langsamer Vorwärtsbewegung gegrast. Fütterungseinrichtungen sollten daher grundsätzlich eine physiologische Fresshaltung mit gesenktem Kopf ermöglichen. Pferde legen nur selten Fresspausen von mehr als drei bis vier Stunden ein, soweit ihnen dies ermöglicht wird. Synchrones Fressen unter Einhaltung der rangabhängigen Sozialabstände entspricht dem natürlichen Verhalten. Der Abstand beträgt üblicherweise mind. ein Meter. Nur befreundete Pferde fressen Kopf an Kopf. Da ranghohe Pferde grundsätzlich Vorrang beim Fressen und Trinken haben, muss gewährleistet sein, dass auch rangniedrige Pferde stressfrei genügend aufnehmen können. Insbesondere im Fressbereich darf es keine Engstellen oder Sackgassen geben, aus denen es keinen Fluchtweg gibt.

3. Raufen

Bodennahe Raufen können zur Fütterung von Pferdegruppen empfohlen werden, sofern sie verletzungssicher konstruiert sind. Für die Abmessungen können die „Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ des deutschen Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aus dem Jahr 2009 herangezogen werden (1). Für jedes Pferd sollte ein Fressplatz zur Verfügung stehen, um das Risiko, das von einer Ressourcenverknappung ausgeht, zu vermindern. In einer Studie wurde nachgewiesen, dass in Situationen mit Futtererwartung die Anzahl der Drohgesten und das Verletzungsrisiko signifikant anstieg (2).

Insbesondere leichtfuttrige Ponys neigen bei einer ad libitum Fütterung zum Verfetten. Andererseits sind Fresspausen, die länger als vier Stunden andauern aus ethologischer Sicht negativ zu beurteilen. Eine praktikable und tierfreundliche Möglichkeit diesen Widerspruch aufzulösen, besteht in einer Verlängerung der Fresszeiten durch technische Maßnahmen. Es wird empfohlen „Sparraufen“ einzusetzen. Dazu können entweder Heunetze über die Raufen gespannt (Abb. 1) oder die Stababstände verkleinert werden. In Studien konnte gezeigt werden, dass die Fresszeit an derart gestalteten Sparraufen doppelt so lange war, wie an herkömmlichen Raufen (3). In der Praxis ist auf die regelmäßige Überprüfung und ggf. Reparatur der Netze zu achten, da Netze mit großen Löchern ihre Funktion nicht mehr uneingeschränkt erfüllen.

Eine andere Möglichkeit stellen Sparraufen dar, die sich automatisch zeitgesteuert öffnen und schließen und so den Pferden lediglich stundenweise zur Verfügung stehen.



Abb. 1: Heuraufe mit Futterspernetz (Maschenweite 4 x 4 cm) – Durch die großen Löcher wirkt das Netz nur noch bedingt als „Fressbremse“ und sollte repariert werden.

4. Fressstände

In Fressständen kann Rau- und/oder Kraftfutter gefüttert werden. Vorteilhaft ist die Möglichkeit, alle Pferde gleichzeitig zu füttern, wodurch Unruhe und Futterneid vermieden werden. Die Hinweise zu Bauausführungen und Maßen in den „Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ des BMEL sollten beachtet werden, um das Verletzungsrisiko bei Auseinandersetzungen zu vermindern (1). Es hat sich bewährt, zunächst Heu und anschließend Kraftfutter vorzulegen. Jedoch ist eine individuelle Heufütterung schwierig, da ranghohe Pferde rangniedrigere Tiere herausdrängen und deren Portion fressen können. Ähnliches gilt für die Aufnahme von Kraftfutter. Werden Pferde aus diesem Grund während der Fütterung in den Fressständen eingesperrt, darf dies aufgrund des Verletzungsrisikos nur unter Aufsicht geschehen.

5. Computergesteuerte Futterabrufstationen

Es befinden sich sowohl Kraftfutter- als auch Grundfutterautomaten (Heudosierer) im Handel. Jedes Pferd trägt einen Chip (in der Mähne oder am Halfter), in den die individuelle Futterration programmiert ist. Diese wird an den automatischen Abrufstationen ausgelesen. In der Regel teilen sich 15 - 30 Pferde einen Kraftfutterautomaten, bzw. drei bis vier Pferde eine Heuabrufstation. Das bedeutet, es können nicht alle Gruppenmitglieder gleichzeitig fressen. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Installation von Heuräumen, die nur durch Selektionstore erreichbar sind, die ebenfalls mit den Chip gesteuert werden. Damit eine synchrone Nahrungsaufnahme möglich wird, können Heudosierer mit frei zugänglichen Heu- oder Strohraufen kombiniert werden. Durch die individuelle Programmierung der Fresszeit an den Heudosierern bzw. der Aufenthaltsdauern in Heuräumen, die durch Selektionstore zugänglich sind, wird eine individuelle Fütterung auch in der Gruppenhaltung möglich.

Wissenschaftliche Studien zeigten, dass es in Offenställen mit Abruffütterung signifikant häufiger zu Verdrängungen, sowie Drohgesten mit und ohne Verletzungsgefahr kam, als in Offenlaufställen mit konventionellen Fressständen. Die Stressbelastung der Pferde wurde jedoch als zumutbar eingestuft, da die Anzahl der Auseinandersetzungen insgesamt gering und die Herzfrequenz der

einzelnen Tiere nahezu immer im physiologischen Bereich war, sowie keine fütterungsassoziierten Hautverletzungen auftraten (4). Vorteile der Abrufstationen sind kleine, häufige Futterportionen in Verbindung mit einem hohen Bewegungsanreiz (4, 5). In einer weiteren Studie wurden daher Abrufstationen unterschiedlicher Bauart miteinander verglichen. Dabei stellte sich heraus, dass „Durchlaufstationen“ pferdegerechter sind als „Rücklaufstationen“. War eine Eingangssperre vorhanden, wirkte sich diese positiv auf die Pferde in der Futterstation aus, da sie ungestört fressen konnten. Bei den wartenden Pferden vor der Station waren jedoch vermehrt Auseinandersetzungen zu beobachten. Es sollten daher genügend Raufutterfressplätze vorhanden sein, um die Pferde zu beschäftigen und die durch Futtererwartung entstehende Übererregung zu mindern.

Eine stromführende Austreibhilfe verkürzte zwar die Zeit der einzelnen Pferde in der Station, hatte aber keinen signifikanten Einfluss auf die Aufenthaltsdauer im gesamten Fütterungsbereich (3). Eine weitere Studie zeigte, dass der Einsatz einer Austreibhilfe nur einen kurzfristigen Effekt hatte (6). Die durchschnittliche Parkzeit (Zeit im Futterautomaten ohne Futteranrecht) war bereits nach zwei Wochen nicht mehr signifikant geringer als dies zuvor ohne den Einsatz elektrische Austreibhilfe der Fall war.

Tabelle 1: Empfehlungen zur Gestaltung von Futterabrufstationen (modifiziert nach 3)

Körperlange Trennwände mit Sichtkontakt zu anderen Pferden
Durchlaufstation mit separatem Ein- und Ausgang
Eingangssperre sowie Rücklaufsperre (Pendeltüre)
Ausweichmöglichkeit für rangniedrige Pferde
Räumliche Trennung von Kraffutter- und Heuautomaten
Max. je 10 Kraft- bzw. Raufutterportionen/Tier/Tag
Stroh ad libitum, ca. 1,5 kg Heu pro 100 kg Pferd/Tag
Individuelles Anlernen der Pferde an den Automaten
Ausgang in anderen Funktionsbereich

Nach Zeitler-Feicht et al. hatte auch der Faktor „Betrieb“ einen signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit von Droh- und Unterlegenheitsgesten, so dass ein professionelles Betriebsmanagement Voraussetzung für eine erfolgreiche Gruppenhaltung mit computergesteuerten Abrufstationen darstellt. Um Auseinandersetzungen zu minimieren, sollten die in Tabelle 1 vorgestellten Empfehlungen zu Gestaltung von Abrufstationen eingehalten werden.

Literatur

1. BMEL Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (Hrsg). Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten, 2009
2. Zeitler-Feicht M-H, Westphal M, Dempfle L. Agonistische Verhaltensweisen von Pferden in Offenlaufställen unter besonderer Berücksichtigung der Unterlegenheitsgesten. Proceedings der 38. Internationalen Arbeitstagung Angewandte Ethologie bei Nutztieren der DVG FG Verhaltensforschung; 23.- 25.11.2006; Freiburg/Breisgau. S. 147-156
3. Zeitler-Feicht M-H, Streit S, Dempfle L. Tiergerechtigkeit von Futterabrufstationen in der Gruppenhaltung von Pferden. Teil 2: Abrufautomaten im Vergleich. Tierärztliche Praxis Großtiere 2011(1):33-40
4. Zeitler-Feicht M-H, Streit S, Dempfle L. Tiergerechtigkeit von Futterabrufstationen in der Gruppenhaltung von Pferden. Teil 1: Fressstände versus Abrufautomaten. Tierärztliche Praxis Großtiere 2010(6):363-70

5. Hoffmann G, Bentke A, Rose-Meierhofer S, Berg W, Mazetti Pand Hardarson G-H. Influence of an active stable system on the behavior and body condition of Icelandic horses. *Animal* 2012;10(6):1684-93
6. Gülden A, Gauly M, Troxler J. Die computergesteuerte Kraftfutterstation für Pferde in Gruppenhaltung – Der Einfluss einer Austreibhilfe auf den Fütterungsablauf. *Proceedings der 43. Internationalen Arbeitstagung Angewandte Ethologie bei Nutztieren der DVG FG Ethologie und Tierhaltung*; 17.-19.11.2011; Freiburg/Breisgau. S. 213-222

Kontakt

Dr. Angela Schwarzer, FTA für Verhaltenskunde, Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung, Veterinärwissenschaftliches Department, Ludwig-Maximilians-Universität München

Angela.Schwarzer@lmu.de

Bewertung von Offenställen für Pferde aus Sicht des Halters

Tanja Romanazzi

Gut Heinrichshof, Großröhrsdorf

Ein Pferdehalter muss verschiedene Ziele im Auge haben. Er möchte eine optimale Pferdehaltung anbieten, muss jedoch auch die wirtschaftliche Seite betrachten. Finanzieller Aufwand und benötigte Arbeitszeit müssen sich in machbaren Grenzen halten.

Ich möchte mich in diesem Vortrag auf zwei Kernprobleme der Offenstallhaltung konzentrieren: der Heufütterung und den Liegeflächen. Diese beiden Aspekte führen im negativen Fall zu den größten gesundheitlichen Problemen bei den Pferden, sie beeinflussen entscheidend das wirtschaftliche Ergebnis des Betreibers und es sind die Hauptsorgen möglicher Einsteller.

Heufütterung im Offenstall

Das Pferd als Dauerfresser sollte keine längeren Fresspausen machen müssen. Trotzdem dürfen die Pferde nicht verfetten und die Fütterung darf nicht zu zeitaufwendig sein. In der Praxis sieht man verschiedene Varianten:

Heu ad libitum

Diese Fütterung ist für den Betreiber am einfachsten. Man kann ganze Großballen vorlegen und es braucht nicht täglich gefüttert zu werden. Die Pferde haben keine erzwungenen Fresspausen und sind somit sehr entspannt. Wenn genügend Fressplätze vorhanden sind, gibt es kaum Futtermeid.

Mögliche Probleme und Lösungen:

- Die Pferde fressen zuviel und verfetten. 20 bis 25 kg Heu pro Pferd und Tag sind keine Seltenheit. Dieses schadet nicht nur der Gesundheit der Pferde, sondern belastet auch den Betreiber mit hohen Futterkosten.
- Dieses Problem entsteht vor allem, wenn der Zuckergehalt im Heu zu groß ist. Gutes Pferdeheu sollte einen Zuckergehalt unter 10% aufweisen. In der Praxis findet man Heu mit 15% - 25%. Die Pferde fressen zuviel davon und das zuckerreiche Heu belastet dann entsprechend den Stoffwechsel. Die bekannten Wohlstandskrankheiten (EMS, Cushing, Hufrehe, ...) sind weitere Folgen.
- Die beste und „einfachste“ Lösung für dieses Problem ist die Fütterung einer passenden Heuqualität. Es sollte kein Kuhheu vom nächsten Landwirt verwendet werden, sondern angemessenes Pferdeheu mit höherem Rohfasergehalt und geringeren Zuckerwerten, Beeinflusst wird dieses durch die Gräserarten (Knautgras, Wiesenfuchsschwanz, ... statt Hochzuchtgräser, wie Weidelgras, Rohrschwengel, ...), die Schnitthöhe (tiefe Schnitte von 2-3 cm haben bis zu 20% mehr Zucker als Heu von 10 cm Schnitthöhe), Schnittzeitpunkt, Düngung.
- Ein weiterer Lösungsansatz ist die Verwendung engmaschiger Netze oder Gitter. Das Heu wird damit abgedeckt und der Futterzugang für die Pferde erschwert. Sie müssen langsamer fressen, was dann auch zu einer verminderten Futtermenge führt (1). Zudem wird weniger Heu verschwendet, da die Pferde keine größeren Mengen Heu herausziehen und zertrampeln. Problematisch kann dabei jedoch sein, dass die Pferde unterschiedlich gut lernen, mit den Netzen umzugehen. Für einige ist es nach einigen Wochen wie freies Fressen, während andere bei sehr kleinen Maschen eventuell zu wenig Heu bekommen.
- Das zweite Problem ist der hygienische Zustand vom Heu. Häufig sieht man Heuballen, die einfach auf die Weide oder den Paddock gestellt werden. Durch die Feuchtigkeit des

Bodens kommt es zu Schimmelbildung. Daher sollten auch ganze Heuballen in Raufen gefüttert werden. Findet die Fütterung im Freien statt, so muss man bei feuchterem Wetter zudem darauf achten, dass der Ballen nach spätestens drei Tagen aufgefressen ist. Auch hier kommt es sonst zu einer stärkeren Vermehrung von Schimmelpilzen.

Portionierte Heufütterung per Hand

Die portionierte Heufütterung per Hand ist eine Fütterungsvariante ohne weiteren Investitionsbedarf, bei der man die Mengen festlegen kann.

Mögliche Probleme & Lösungen:

- Die Fütterung ist sehr zeitaufwendig. Man muss mehrmals am Tag zur Fütterung vor Ort sein.
- Die Pferde haben vor allem Nachts eine größere Fresspause. Dieses Problem kann man etwas entschärfen, wenn man zumindest die Abendmahlzeit mit einem engmaschigen Netz füttert.
- Je strenger man das Heu portioniert, um so größer wird der Futterneid bei der Heufütterung. Hier sollte man auf jeden Fall auf eine ausreichende Anzahl an Fressplätzen achten und diese auch räumlich mit genügend Abstand verteilen.

Portionierte Heufütterung mit Technikunterstützung

Für die portionierte Heufütterung mit Technikunterstützung sind inzwischen mehrere Lösungen auf dem Markt. Im einfachsten Fall sind es zeitgesteuerte Systeme, bei denen die Pferde zu mehreren festgelegten Tageszeiten für eine einstellbare Zeit Heu fressen können. Es entstehen keine zu langen Fresspausen und trotzdem kann man die Heumenge begrenzen. Der Investitionsaufwand ist jedoch hoch, der zeitliche Fütterungsaufwand dafür sehr niedrig.

Des Weiteren gibt es automatische Heudosierer, bei denen die Pferde in einer Art Futterstand stehen, durch einen Chip erkannt werden und dann eine individuell festgelegte Heufresszeit bekommen.

Mögliche Probleme & Lösungen:

- Den Pferden wird ein Rhythmus aufgezwungen. Sie beginnen mit Fressen und nach 15 min schließt die Raufe wieder und ist eine Stunde gesperrt. Wir beobachten, dass die Pferde bei solch kurzen Fresszeiten sehr schnell fressen, was für den weiteren Verdauungsvorgang von Nachteil ist. Aus meiner Sicht ist es artgerechter, etwas längere Fresszeiten und dafür auch etwas längere Pausen einzustellen.
- Wegen der hohen Investitionskosten werden häufig zu viele Pferde mit zu wenig Futterplätzen bedient. Rangniedere Pferde haben dann oftmals Probleme, einen Futterplatz zu finden. Es sollte also gut beobachtet werden, ob wirklich alle Pferde entspannt fressen können.
- Wenn die Pferde mit automatischen Heudosierern versorgt werden, dann können nicht alle Pferde gemeinsam Heu fressen. Hier ist es besonders hilfreich, wenn es zusätzlich Strohraufen gibt, mit denen die Pferde Fresspausen überbrücken können.

Fazit Heufütterung

Heu ad libitum ist für Pferd, Besitzer und Halter die entspannteste Form der Heufütterung. Sie funktioniert jedoch nur gut bei passender Heuqualität. Statt viel Aufwand in die Art der Fütterung zu stecken, sollten alle Bemühungen darauf verwendet werden, passendes Pferdeheu zu bekommen. Immer mehr Pferdebesitzern werden die gesundheitlichen Probleme durch „Kuhheu“ bewusst, so

dass der Pensionspferdehalter den eventuell größeren Aufwand auch finanziell geltend machen kann.

Liegeflächen im Offenstall

Das zweite große Thema in der Offenstallhaltung ist die Größe und Gestaltung der Liegeflächen. Es ist ein weit verbreitetes und leider meist unerkanntes Problem, dass sich rangniedere Pferde im Offenstall nicht hinlegen. Mögliche Folgen sind eine verminderte Leistungsfähigkeit, eine höhere Anfälligkeit für gesundheitliche Störungen bis hin zu Krankheiten wie Narkolepsie.

Überdachte Liegebereiche sollten möglichst groß sein. Die Anforderungen in den Tierschutzrichtlinien (pro Pferd 3 x WH²) sind eine untere Grenze. Die Unterstände sollten mehrere große Öffnungen haben, so dass sich das Pferd als Fluchttier wohl fühlen kann. Tote Ecken sind zu vermeiden. Ist der Raum ungünstig geschnitten, so können Raumteiler die Situation verbessern.

Für die Einstreu gibt es verschiedene Varianten mit folgenden Vor- und Nachteilen:

- Stroh hat eine hohe Akzeptanz bei den Pferden und wird von den Einstellern meist positiv bewertet. Nachteilig ist jedoch, dass die Pferde dann viel im Unterstand stehen und teilweise mit Pferdeäpfeln verunreinigtes Stroh fressen. Dieses führt zu einer höheren Parasitenbelastung. Zudem ist der Reinigungsaufwand für den Pferdehalter sehr groß.
- Späne, Holz- oder Strohpellets sind weitere Varianten, welche von den Pferden gut zum Liegen angenommen werden. Auch hier ist der Reinigungsaufwand jedoch recht hoch. Pferdeäpfel und nasse Stellen müssen regelmäßig entfernt werden.
- Viele Betreiber verwenden Gummimatten statt Einstreu. Der Investitionsbedarf ist zwar relativ hoch, dafür spart man erheblich an Arbeitszeit bei der täglichen Reinigung. Normale harte Gummiflächen werden jedoch von vielen Pferden nicht zum Liegen angenommen und genügen auch nicht den Tierschutzrichtlinien, in denen ein verformbarer Untergrund gefordert wird. Positiver zu bewerten sind die mit Schaumstoff gefüllten Matten.
- Relativ neu in der Praxis ist die Verwendung von Grünkompost. Dieser hat für den Betreiber den Vorteil, dass er sehr preisgünstig ist und die tägliche Reinigung vereinfacht. Nasse Stellen müssen nicht entfernt werden. Die enthaltenen Mikroorganismen wandeln den Harnstoff um, so dass kein Ammoniak entsteht. Da sich der Kompost relativ schnell verfestigt, muss man entweder den Boden von Zeit zu Zeit auflockern und etwas Kompost nachstreuen. Oder man kann eine 5-10cm dicke Schicht grobe Hackschnitzel als Auflage verwenden. Die Pferde nehmen diese Einstreu gut zum Liegen an. Etwas kritisch muss man die Qualität des Grünkompostes sehen. Abhängig von der jeweiligen Kompostieranlage können größere Mengen Müll enthalten sein (Plastikteile, Glasscherben). Zudem können sich bei ungünstigem Kompostierverlauf Schimmelpilznester bilden.

Fazit Liegebereich

Die Größe und Struktur der Liegebereiche bestimmen maßgeblich, ob sich auch rangniedere Pferde hinlegen. Da dieses für die Gesunderhaltung der Pferde eine große Rolle spielt, sollte es gegebenenfalls mit Kamerabeobachtungen überprüft werden. Solche Maßnahmen sind zwar aufwendig, stärken jedoch das Vertrauen der Pferdebesitzer in großem Maß und erleichtern die Entscheidung für eine Offenstallhaltung. Beim Einstreu gibt es verschiedene Varianten mit entsprechenden Vor- und Nachteilen. Hier orientiert sich die Auswahl an den jeweiligen Gegebenheiten des Betriebes.

Literatur

1. C. Wyss, G. Gerster, A. Zollinger, L. Schneider, B. Strickler, I. Bachmann. Slow feeding Systeme für Pferde: Verlangsamt ein Netz über dem Futter die Futteraufnahme? In: 21. Freilang-Tagung / 26. IGN-Tagung. 25. September, Hrsg. Universität für Bodenkultur, Wien. 2015, 1-10

Kontakt

Dr. Tanja Romanazzi, Großröhrsdorf
tr@gut-heinrichshof.de

Endoskopische Befunde im Bereich des Pylorus und des proximalen Duodenums

Katharina Ehlers, Corinna Arnold, Nicole Graneß, Stephan Recknagel, Alice Snyder, Albrecht Uhlig, Gerald Fritz Schusser

Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig

1

Die Endoskopie als einfach durchführbare, wenig invasive Methode hat sich für die Diagnostik von Erkrankungen des Magens und des proximalen Duodenums beim Pferd in den letzten 25 Jahren mit der Verfügbarkeit entsprechend langer flexibler Endoskope als bildgebendes Verfahren der ersten Wahl etabliert. Die häufigsten Indikationen für eine Gastroduodenoskopie an der Medizinischen Tierklinik stellen rezidivierende und auch akute Koliken sowie Inappetenz, Gewichtsverlust und Abmagerung (teils in Verbindung mit Diarrhoe) dar. Nachdem der Fokus in der Vergangenheit oft auf der kutanen Schleimhaut des Magens lag, sind Erkrankungen des Pylorus in den letzten Jahren zunehmend ins Blickfeld gerückt. Dementsprechend gehört zu einer vollständigen Gastroskopie immer auch den Pylorus einzusehen und zu beurteilen. Im Folgenden werden häufige endoskopische Befunde des Pylorus und des proximalen Duodenums bei Pferden aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik vorgestellt.

Befunde im Bereich des Pylorus, klinische Relevanz und Therapieoptionen

Im Bereich des Pylorus stellen Rötungen sowie erosive und ulzerative Läsionen der glandulären Schleimhaut im Sinne einer equine gastric glandular disease (EGGD) die häufigsten endoskopischen Befunde dar. Bei rund 40 Prozent der an der Medizinischen Tierklinik gastroskopierte Pferde werden Veränderungen Grad ≥ 2 gemäß des EGUS-Scores (1) festgestellt, wobei die Tendenz in den letzten Jahren steigend ist. Schweregrad und Häufigkeit der EGGD am Pylorus sind unabhängig vom Auftreten oder Fehlen von Läsionen in der kutanen Schleimhaut (equine gastric squamous disease, EGSD). Im Unterschied zu Magenschleimhautläsionen im Bereich der kutanen Schleimhaut, sind die Pylorusschleimhautläsionen in der Regel mit klinischen Symptomen wie akuter oder rezidivierender Kolik, Inappetenz oder Gewichtsverlust verbunden. Häufig beobachten wir im Patientengut der Medizinischen Tierklinik, dass Pferde mit hochgradiger EGGD im Bereich des Pylorus eine schwerwiegende andere Grunderkrankung aufweisen (Abb. 1) und dadurch den Zustand eines schwerkranken Patienten weiter verschlechtern. Die Therapie der EGGD am Pylorus ist langwierig und bei Monotherapie mit Omeprazol unabhängig von der gewählten Dosis oft unbefriedigend, sodass eine Ergänzung der Therapie um Sucralfat in einer Dosis von 12 mg/kg KM 2x täglich p.o. hilfreich sein kann. (2) Liegt zusätzlich eine andere Grunderkrankung vor, wirkt sich deren erfolgreiche Therapie meist auch positiv auf die Heilung der Pylorusläsionen aus.

Schwellungen und Verdickungen der glandulären Schleimhaut sowie Umfangsvermehrungen am Pylorus wie Polypen können als Folge einer chronischen EGGD entstehen oder letztere auch neoplastischer Natur sein, was jedoch beim Pferd selten ist. Je nach Größe und Lokalisation der Umfangsvermehrungen ist eine Beeinträchtigung der Magenentleerung möglich (3), sie können jedoch auch ohne klinische Bedeutung sein. Eine Therapie von hypertrophen Veränderungen der Pylorusschleimhaut mit Omeprazol ist nicht erfolgreich und nur sinnvoll, wenn gleichzeitig erosive und ulzerative Läsionen vorliegen.

Immer wieder beobachten wir Motilitätsstörungen des Pylorus wie verminderte Magenentleerung durch reduzierte Pylorusöffnung oder Einengung des Pylorus sowie Reflux von Duodenalsaft in den Magen. Hinweisend auf einen längerfristig bestehenden, nicht sedationsbedingten duodenalen Reflux sind radiär um den Pylorus herum feststellbare gelbliche Anhaftungen, streifige Rötungen,

Erosionen und Ulzerationen (Abb. 1). Motilitätsstörungen des Pylorus können sowohl die Ursache als auch die Folge von Magenschleimhautläsionen sein.



Abb. 1: Endoskopisches Bild des Pylorus mit EGGD Grad 4 einer 23-jährigen Trakehner-Stute, die an einem Plattenepithelkarzinom dorsal des Anus und unterhalb der Schweifrübe litt.

Befunde im proximalen Duodenum und deren Bewertung

Erkrankungen des Dünndarms können durch eine Malabsorption zu Abmagerung und Gewichtsverlust, aber auch zu rezidivierenden oder akuten Koliken und Diarrhoe führen. Die endoskopischen Befunde im proximalen Duodenum können sehr variabel sein und korrelieren nicht immer mit Art und Schweregrad der klinischen Symptome, weshalb häufig auf Grundlage der Endoskopie weitere Diagnostik wie z.B. die Durchführung eines Xylose-Resorptionstests sinnvoll ist. Im Patientengut der Medizinischen Tierklinik stellen entzündliche Erkrankungen des proximalen Duodenums den häufigsten endoskopischen Befund dar, die mit Rötung und höckriger Schwellung (Abb. 2) der Schleimhaut einhergehen können, wobei hier eine histopathologische Untersuchung von Biopтата für die abschließende Diagnose essenziell ist. Am häufigsten sind chronische lymphoplasmazelluläre Enteritiden, aber auch histiozytäre Entzündungen können vorkommen, wobei endoskopisch gewonnene Biopstate für die Diagnose der letzteren aufgrund der oberflächlichen Entnahme nicht immer ausreichend sind.

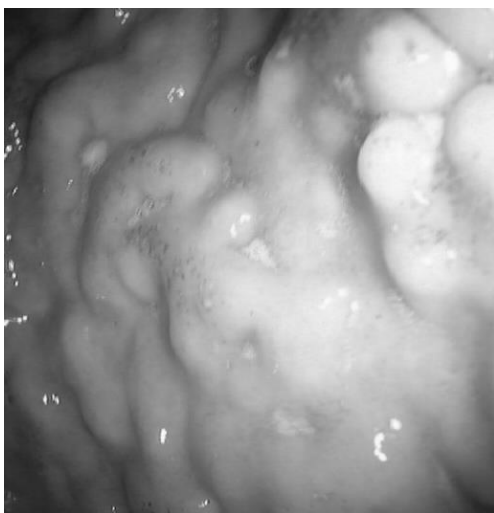


Abb. 2: Endoskopisches Bild der geröteten, höckrig geschwollenen sowie vereinzelt ulzerierten Schleimhaut des proximalen Duodenums eines 14-jährigen Andalusierwallachs mit histologisch nachgewiesener chronischer lymphoplasmazellulärer Enteritis.

Seltenere endoskopische Befunde im proximalen Duodenum sind Ulzerationen, Divertikel sowie Entzündungen und Tumore im Bereich der Papilla majoris und Papilla minoris, weshalb die Papillen im Zuge der Duodenoskopie immer dargestellt und beurteilt werden sollten. Außerdem werden immer wieder Parasiten wie Spulwürmer und Bandwürmer im Duodenum angetroffen. Während bei massivem Spulwurmbefall das Risiko eines Obstruktionsileus besteht, gilt der im Duodenum vorkommende Bandwurm *Paranoplocephala mamillana* als Bandwurm des Pferdes mit der geringsten Schädigung. (4)

Literatur

1. Equine Gastric Ulcer Council (Andrews FM, Bernard W, Byars D, Cohen N, Divers T, MacAllister CG, McGladdery A, Merritt AM, Murray MJ, Orsini J, Snyder J, Vattistas NJ) Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). *Equine Vet Educ.* 1999;11(5):262-72.
2. Hepburn R. Treatment of Ulceration of the Gastric Glandular Mucosa: Retrospective evaluation of omeprazole and sucralfate combination therapy in 204 sport and leisure horses. Abstract Programme of The Eleventh International Equine Colic Research Symposium. 7.-10.7.2014; Dublin. S. 108-9.
3. Bezdekova B, Hanak J. Pyloric stenoses in horses: seven case reports. *Vet Med-Czech.* 2009;54(5):244-8.
4. Hiepe T. Anoplocephalidose. In: Dietz O, Huskamp B, Herausgeber. *Handbuch Pferdepraxis.* 3. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 1999. S.728-30.

Kontakt

Katharina Ehlers, Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig
katharina.ehlers@vetmed.uni-leipzig.de

Prävalenz von Antikörpern gegen *Leptospira* spp. bei Pferden in Mitteleuropa

Jutta Pikalo¹, Tatjana Sattler^{1,2}, Michaela Eichinger¹, Angelika Loitsch¹, Hao Sun³, Friedrich Schmoll¹, Gerald Fritz Schusser²

¹AGES, Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling (Österreich); ²Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig (Deutschland); ³AGES, Fachbereich Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik, Graz (Österreich)

Einleitung und Ziel

Die Leptospirose ist eine durch *Leptospira* spp. verursachte zoonotische Infektionskrankheit, die weltweit vorkommt. Die pathogene Spezies *L. interrogans* besitzt mehr als 200 Serovare, welche wiederum in 24 Serogruppen unterteilt werden. (1) Bei Pferden wird die klinische Leptospirose in Zusammenhang mit rezidivierender Uveitis, Nieren- und Leberdysfunktion, Totgeburten und Aborten gebracht, was wiederum zu wirtschaftlichen Schäden führt. Infizierte Pferde können zu Langzeitträgern werden und die Bakterien über den Urin ausscheiden und so wiederum Menschen und Tiere infizieren. Geographische Variationen in der Seroprävalenz besonderer Serovare sind bekannt. (2) Die Kenntnis über die Prävalenz eines Serovars in einer bestimmten Region ist wichtig, um die Epidemiologie besser zu verstehen und das entsprechende Serovar gegebenenfalls in die Routinediagnostik aufzunehmen. Ziel dieser Studie war, die Seroprävalenz und potentielle Risikofaktoren für eine Infektion mit *Leptospira* spp. bei Pferden im mitteleuropäischen Raum zu ermitteln.

Material und Methode

Es wurden 314 Seren von Pferden aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig, die wegen diverser Grunderkrankungen eingewiesen wurden, mittels Mikroagglutinationstest auf Antikörper gegen acht *Leptospira* Serovare am IVET-MOE der AGES untersucht. Titer $\geq 1:400$ wurden als positiv gewertet. Die Tiere stammten aus den Regionen Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen, sowie vereinzelt aus anderen Bundesländern Deutschlands. Das Alter der Pferde lag zwischen einem Monat und 34 Jahren. Die Pferde wurden nach Alter in vier Gruppen unterteilt: unter einem Jahr, ein bis drei Jahre, vier bis zehn Jahre und älter als zehn Jahre. Die Haltungsformen wurden in Robusthaltung, konventionelle Haltung mit Koppel/Paddock und reine Boxenhaltung unterteilt. Bei der Verwendung der Pferde wurde die Einteilung in Freizeit, Zucht und Sport gewählt. Die Pferde wurden nach dem Zeitpunkt der Blutabnahme den Jahreszeiten entsprechend in vier Gruppen unterteilt: Winter: Dezember bis Februar, Frühling: März bis Mai, Sommer: Juni bis August und Herbst: September bis November.

Ergebnisse

Insgesamt waren 17,2 % ($n = 54$) der Pferde gegen eines oder mehrere Antigene positiv. Das häufigste Serovar war *Icterohaemorrhagiae* mit einer Seroprävalenz von 11,1 % gefolgt von *Bratislava* (9,6 %) und *Grippotyphosa* (1,9 %). Antikörper gegen die Serovare *Hebdomadis* und *Hardjo* konnten jeweils bei einem Tier nachgewiesen werden. Bei keinem Tier konnten Antikörper gegen die Serovare *Sejroe* und *Autumnalis* festgestellt werden.

Stuten wiesen eine signifikant höhere Seroprävalenz ($p < 0,05$) auf als Hengste oder Wallache. In der Zucht gibt es signifikant weniger positive Tiere ($p < 0,05$) als bei der Verwendung im Sport oder der Freizeit. Zudem war die Prävalenz im Sommer signifikant höher ($p < 0,05$) als in den anderen Jahreszeiten. Die Haltung, die Rasse und das Alter hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Seroprävalenz ($p > 0,05$). Im mitteleuropäischen Raum ließen sich keine lokalen Unterschiede im

Vorkommen von Leptospiren-Antikörpern bei Pferden darstellen. Eine ausführliche Ergebnisdarstellung erfolgt in Pikalo et al. (2015). (3)

Diskussion

Die Seroprävalenz ist seit 1987 von 4,5% auf 17,2% 2013 gestiegen und das vorherrschende Serovar hat sich vom Serovar Grippotyphosa zum Serovar Icterohaemorrhagiae geändert. (3, 4) In der vorliegenden Studie zeigte sich eine saisonale Variation in der Seroprävalenz. Daraus lässt sich schließen, dass das Auftreten von Infektionen bzw. der Kontakt mit Leptospiren auch temperaturabhängig ist. (5) Wie das Geschlecht die Seroprävalenz beeinflusst und warum meist Stuten häufiger betroffen sind, konnte bisher nicht erklärt werden. (2) Es ließen sich im untersuchten Gebiet keine lokalen Unterschiede im Vorkommen von Leptospiren-Antikörpern bei Pferden darstellen. Das lässt sich dadurch erklären, dass es sich um eine klimatisch und geographisch einheitliche Region handelt, in der daher auch das Infektionsrisiko gleichmäßig verteilt ist. (6) Es zeigt sich, dass Pferde mit Leptospiren in Kontakt kommen und Antikörper bilden ohne an einer Leptospirose zu erkranken. (2)

Literatur

1. Vinetz JM. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2001;14(5):527-38.
2. Blatti S, Overesch G, Gerber V, Frey J, Hüsey D. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy horses in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilk.* 2011;153(10):449-456.
3. Pikalo J, Sattler T, Eichinger M, Loitsch A, Sun H, Schmoll F, Schusser GF. Prävalenz von Antikörpern gegen *Leptospira* spp. bei Pferden in Deutschland. 2015, BMTW, eingereicht.
4. Schönberg A, Staak Ch, Kämpe U. Leptospirose in der Bundesrepublik Deutschland – Ergebnisse eines Untersuchungsprogrammes auf Leptospirose bei Tieren im Jahre 1984. *J Vet Med B.* 1987;34(2):98-108.
5. Verma A, Stevenson V, Adler B. Leptospirosis in horses. *Vet Microbiol.* 2013;167(1-2):61-66.
6. Wangdi C, Picard J, Tan R, Codon F, Dowling B, Gummow B. Equine leptospirosis in tropical Northern Queensland. *Aust Vet J.* 2013;91(5):190-197.

Kontakt

Mag. Jutta Pikalo, AGES, Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling, Österreich
jutta.pikalo@ages.at

Vakzination und Seroprotektion gegenüber Tetanus

Stephan Recknagel¹, Alice Snyder¹, Benjamin Brüser², Gerald F. Schusser¹

¹Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ²Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie GmbH, Bad Langensalza

Einleitung

Tetanusinfektionen können beim Pferd vollständig durch Vakzination mit potenten Toxoidimpfstoffen verhindert werden. Die Ständige Impfkommision Vet. des Bundesverbandes Praktizierender Tierärzte e. V. (bpt) empfiehlt in ihrer ‚Leitlinie zur Impfung von Pferden‘ ein Vakzinationsprotokoll, welches auf den Anwendungsempfehlungen (Packungsbeilagen) der Impfstoffhersteller basiert. (1) Unabhängige Daten zur Immunogenität der verfügbaren Impfstoffe sind dagegen nur in einer überschaubaren Anzahl wissenschaftlicher Arbeiten mit jeweils wenigen Pferden und sehr heterogenen Ergebnissen zu finden. Neuere wissenschaftliche Erkenntnisse sprechen jedoch dafür, den Zeitpunkt der Erstimpfung aufgrund der Persistenz maternaler Antikörper deutlich später zu wählen (2,3) und die Wiederholungsimpfungen auf größere Zeitintervalle auszudehnen. (2) Dieser Hintergrund und die jährliche Inzidenz von 2 bis 3 Tetanusfällen an unserer Klinik gaben Anlass die derzeitige Impfpraxis und die daraus resultierende Seroprotektion zu analysieren und mögliche Schwachstellen der Tetanusprophylaxe zu identifizieren.

Material und Methoden

Aus dem Patientengut eines Jahres wurden 83 Pferde mit den unterschiedlichsten Impfanamnesen ausgewählt. Neben dem Alter der Tiere wurden das Datum der letzten Impfung (und damit der zeitliche Abstand zur Vorstellung), das vorausgegangene Impfintervall und eine eventuell zeitgleich stattgefundenene Impfung gegen andere Infektionserreger (Kombinationsimpfung oder die Verwendung mehrere Vakzinen) erfasst. Ergänzt wurde das Probenmaterial durch 8 Pferde eines gesonderten Bestands mit einheitlichem Impfbegime. Für die Untersuchung standen somit 91 Serumproben zur Verfügung. Zur Bestimmung der Tetanustoxoid-Antikörperkonzentrationen (TTAK) wurde ein zweistufiger Doppel-Antigen-ELISA verwendet (DAE). (4) Allen Untersuchungen wurde eine protektive Tetanustoxoid-Antikörperkonzentration von $\geq 0,1$ IE/ml zugrunde gelegt.

Ergebnisse

84 der 91 (92,3 %) untersuchten Pferde wiesen eine protektive humorale Immunität auf. Zu den ungeschützten Individuen zählten drei nachweislich nicht geimpfte Pferde (ein Fohlen im Alter von fünf Monaten und zwei Adulte im Alter von 3,5 bzw. 18 Jahren). Bei den vier verbliebenen Patienten ohne eine protektive TTAK wurde eine dem jeweiligen Alter entsprechende regelrechte Impfung im Pferdepäss dokumentiert. Die große Mehrheit unserer Patienten (81 von 91, 89 %) war gemäß Impfleitlinie geimpft. Von diesen als geschützt angesehenen Pferden wiesen jedoch nur 76 (93,8 %) protektive TTAK auf. Die fünf ungeschützten Individuen dieser Gruppe (6,2 %) waren das bereits erwähnte fünf Monate alte Fohlen, welches damit das empfohlene Mindestalter für die erste Vakzination noch nicht erreicht hatte, und die bereits erwähnten vier Pferde. Von diesen Patienten waren in zwei Fällen bis dato nur eine zweimalige Injektion mit der Vakzine vorgenommen worden; die dritte Impfung der Grundimmunisierung war zum Zeitpunkt der Probenahme (termingerecht) noch nicht erfolgt. Im Unterschied zu diesen Pferden mit noch nicht abgeschlossener Grundimmunisierung wiesen alle Pferde, welche nach der Auffrischungsimpfung und vor den Wiederholungsimpfungen beprobt wurden (n=5) einheitlich schutzverleihende TTAK auf. Laut Impfanamnese konnte zehn Pferden (11 %) keine ausreichende Tetanusimmunität attestiert werden. In acht Fällen erfolgte die

Zuordnung zu dieser Gruppe allein aufgrund unregelmäßig durchgeführter Boosterungen (>2 Jahre). Ein ausreichender Schutz bestand laut DAE jedoch bei allen acht Pferden. Die übrigen zwei Pferde (3,5 und 18 Jahre) waren im Laufe ihres Lebens nachweislich nicht geimpft worden, welches durch TTAk von 0,04 IE/ml bzw. 0,01 IE/ml bestätigt wurde. Geriatrische Patienten (>20 Jahre) wiesen einheitlich protektive TTAk auf. Die aus acht Individuen bestehende Fohlengruppe wies dagegen eine sehr heterogene Verteilung der TTAk auf. Mit einem Alter von fünf Monaten und zwei Wochen war es das älteste Tier in dieser Gruppe noch nicht vakzinierter Fohlen, welches nicht ausreichend geschützt war. Die Anwendung unterschiedlicher Impfindervalle hatte keinen Einfluss auf die TTAk. Während selbst Pferde mit deutlich längeren Abständen zwischen den Wiederholungsimpfungen (bis 8 Jahre) ausreichend hohe TTAk aufwiesen, waren zwei der ungeschützten Individuen in der Gruppe der im 2-jährlichen Intervall geimpften Pferde zu finden. Anhand des zeitlichen Abstandes zur letzten Impfung ließ sich die zu erwartende TTAk nicht prognostizieren; selbst die zeitgleich geimpften und beprobten Pferde wiesen eine starke Streuung der TTAk auf. Die alleinige Verwendung des monovalenten Adsorbatimpfstoffs war hinsichtlich der Ausbildung der humoralen Tetanusimmunität der Kombinationsimpfung nicht überlegen.

Diskussion

Trotz Umsetzung der Impfleitlinie wiesen einzelne Pferde keine protektive TTAk auf. Möglicherweise ist dies auf eine zu zeitige Erstimpfung im Fohlenalter zurückzuführen, welche durch Persistenz maternaler Antikörper zu dem Phänomen der sogenannten Non- bzw. Lowresponder führen kann. Diese bilden auch im Erwachsenenalter keine adäquate Immunantwort nach Boosterungen aus.

Jedoch ist nicht bei allen Fohlen bis zum Zeitpunkt der Erstimpfung im Alter von 6 Monaten pauschal von einer ausreichenden Seroprotektion auszugehen. Vielfältige Einflüsse, wie die peripartale TTAk in Blut und Kolostrum der Mutterstute, Menge und Zeitpunkt der Kolostrumaufnahme sowie die Resorption der Immunglobuline im Verdauungstrakt wirken dabei auf die Qualität der passiv erworbenen Immunität ein.

Ein Verlust des Impfschutzes ist bei Verlängerung des Impfindervalls der Wiederholungsimpfungen auf mehr als 2 Jahre nicht zu befürchten, zumal die Halbwertszeit des Antitoxins 6 bis 12 Jahre beträgt. (5)

Die ausgezeichnete Immunogenität der verfügbaren Tetanusimpfstoffe bewirkte auch bei gleichzeitiger Impfung gegen weitere Infektionserreger eine belastbare Tetanusimmunität.

Fazit für die Praxis

Zur Gestaltung einer möglichst effektiven Tetanusimmunisierung ist eine Bestimmung der TTAk vor der Erstimpfung mit Vollendung des 5. Lebensmonats zu empfehlen. Diese kann zuverlässig und schnell mittels eines Streifentests vor Ort vorgenommen werden. (5) Der Schnelltest kann auch zur Feststellung des tatsächlichen Immunstatus im Bedarfsfall dienen, da selbst bei korrekter Dokumentation der Impfung im Equidenpass nicht in jedem Fall von einer Seroprotektion ausgegangen werden kann. Unnötige Vakzinationen und Antiseruminjektionen könnten so vermieden werden. Die in Deutschland verfügbare Kombinationsvakzine gegen Tetanus und Equine Influenza sollte nicht zum alleinigen Zweck der Boosterung des Influenzaschutzes eingesetzt werden, weil dadurch eine immunologisch irrationale Auffrischung der Tetanusimmunität alle 6 Monate mit erfolgen würde. Ganz im Gegenteil kann bei korrekt durchgeführter Grundimmunisierung eine gefahrlose Ausweitung des Boosterintervalls auf alle 8 bis 10 Jahre vorgenommen werden.

Literatur

1. StlKo Vet. Leitlinie zur Impfung von Pferden. 2. Auflage, Beilage zum Deutschen Tierärzteblatt 2013;9:6-7.
2. Thein P, Röhm A, Voss J. Experimentelle Untersuchungen zur Tetanusimmunantwort von Fohlen und erwachsenen Pferden unter Einsatz des Fassisi TetaCheck®. Pferdeheilkunde 2013;29:686-699.
3. Wilson WD, Mihalyi JE, Hussey S, Lunn DP. Passive transfer of maternal isotype antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals to vaccination. Equine Vet J. 2001;33:644-650.
4. Recknagel S, Snyder A, Blanke A, Uhlig A, Brüser B, Schusser GF. Evaluierung eines Schnelltestes zur Feststellung des Tetanus-Immunistatus bei Pferden. Berl Münch Tierärztl Wschr. 2015 (Im Druck).
5. Radvila P. Tetanusprophylaxe bei Mensch und Tier nach einer Verletzung. Arch Exp Vet Med. 1975;29:469-481.

Kontakt

Stephan Recknagel, Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
recknagel@vetmed.uni-leipzig.de

Lebererkrankungen – Aktuelle Diagnostik beim Pferd

Karsten Feige und J.-M. V. Cavalleri

Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Bedeutung

Leberkrankheiten kommen beim Pferd häufig als Folge einer Endotoxämie oder einer Hypoxie vor. Eine Leberinsuffizienz entwickelt sich allerdings selten, da die Leber eine Reservekapazität von ca. 80% hat, die ausgeschöpft werden muss, bevor sich eine Leberinsuffizienz manifestiert. Leberenzyme sind beim Pferd oft geringgradig erhöht, ohne dass damit klinische Symptome oder eine primäre Lebererkrankung verbunden sind. In diesen Fällen ist eine Nachuntersuchung der veränderten Parameter nach 1-2 Wochen indiziert, bevor die Verdachtsdiagnose einer Leberkrankheit gestellt wird.

Diagnose

Die Diagnose einer Leberkrankheit wird nicht anhand der klinischen Symptome, sondern im Zusammenhang mit der Erhöhung der Aktivität leberspezifischer Parameter im Serum gestellt. An dieser Stelle werden ausgewählte und wichtige Parameter dargestellt.

Hier muss das **Serumalbumin** genannt werden, das nur in der Leber synthetisiert wird. Bei Erniedrigung des Albumins befinden sich die Tiere bereits in einem terminalen Stadium der Krankheit. Pferde mit einer Lebererkrankung und einer daraus resultierenden Hypoalbuminämie haben in der Regel keine Hypoproteinämie, weil sich neben der verminderten Albuminsynthese ein Anstieg der β -Globuline einstellt. Ursachen einer verminderten Albuminsynthese sind neben chronischen Leberkrankheiten Malabsorption und eine reduzierte Futteraufnahme über lange Zeit.

Ursachen einer Hypoalbuminämie können auch Verluste durch Parasitenbefall, chronische Entzündungen, Proteinverlustenteropathien, Nephropathien sowie Verluste in Bauch- (Peritonitis) oder Brusthöhle (Pleuritis) sein. Vor der Diagnose einer Lebererkrankung müssen diese Ursachen ausgeschlossen werden.

Unkonjugiertes Bilirubin (indirektes Bilirubin) wird durch den Abbau des Hämoglobins von Makrophagen in der Leber, dem Knochenmark und der Milz gebildet und gelangt an Albumin gebunden in die Leber. Dort erfolgt eine Konjugation in den Leberzellen und die Ausscheidung von konjugiertem Bilirubin (direktem Bilirubin) via Gallenflüssigkeit. Eine Hyperbilirubinämie beim Pferd wird meist verursacht durch eine Erhöhung des unkonjugierten Bilirubins. Unkonjugiertes Bilirubin ist bei Hämolyse, hepatozellulären Krankheiten, blockiertem Gallefluss oder Anorexie (bis zu $120\mu\text{mol/l}$) erhöht, wobei die Anorexie (oder Futterentzug) die häufigste Ursache einer Hyperbilirubinämie beim Pferd darstellt. Die Erhöhung von konjugiertem Bilirubin ist ein sensitiverer Parameter hepatozellulärer Krankheiten. Liegt der Anteil des konjugierten Bilirubins am Gesamtbilirubin über einem Drittel, so ist dies ein Indiz für einen Gallestau.

Der Anstieg der Konzentration von **Gallensäuren** im Serum wird verursacht durch einen Gallestau, eine hepatozelluläre Schädigung oder Shunts vom Portalvenensystem zur V. cava. Es handelt sich um einen sehr sensitiven Parameter zur Untersuchung einer Dysfunktion der Leber. Physiologische Werte liegen unter

15 $\mu\text{mol/l}$, bei Werten über 20 $\mu\text{mol/l}$ muss von einer Leberkrankheit ausgegangen werden. Gallensäuren steigen im Verlauf einer Leberkrankheit sehr früh an und bleiben über die gesamte Dauer der Krankheit bis zum terminalen Stadium erhöht.

1

Die **γ -Glutamyl Transferase** (γ -GT oder GGT) kommt in Ausführungsgängen von Leber, Niere, Pankreas und Euter vor. Im Zusammenhang mit Nierenerkrankungen wird γ -GT in den Urin ausgeschieden, Pankreas- und Eutererkrankungen sind ausgesprochen selten. Deshalb ist die γ -GT ein relativ leberspezifisches Enzym beim Pferd. Serumkonzentrationen der γ -GT steigen nach ein paar Tagen der Krankheit an und bleiben bis zum terminalen Stadium erhöht. Die hochgradige Erhöhung (5fach) ist ein Zeichen einer Cholestase, Gallengangs- oder Leberkrankheit.

Die **Alkalische Phosphatase** (AP) kommt neben der Leber in Knochen, Darm, Plazenta und Makrophagen vor. Sie ist bei jungen Tieren, die sich noch im Knochenwachstum befinden, immer erhöht und ist nicht sehr spezifisch aber ein sehr sensibler Indikator für eine Cholestase. Beim Pferd kommt es nicht zu einem kortisoninduzierten Anstieg der AP. Die **Sorbitol Dehydrogenase** (SDH) ist spezifisch für Leberzellschädigungen, hat jedoch eine sehr kurze Halbwertszeit (in vitro instabil) und ist deshalb nicht geeignet für Untersuchungen in der Praxis. Die **Glutamat Dehydrogenase** (GLDH) ist spezifisch für die Leber, sehr sensitiv, bleibt bei chronischen Lebererkrankungen aber nicht erhöht. Nicht spezifisch für die Leber ist die **Aspartat Aminotransferase** (AST / GOT). Sie ist bei hepatozellulären Schädigungen jedoch immer erhöht.

Harnstoff wird in der Leber aus Ammoniak synthetisiert. Leberkrankheiten sind deshalb mit einer reduzierten Harnstoffsynthese und dementsprechend mit einer erniedrigten Harnstoffkonzentration verbunden. Erniedrigte Harnstoffkonzentrationen können jedoch auch im Zusammenhang mit einer Proteinunterversorgung und nach der Verabreichung von Anabolika auftreten. Hier muss ein Ausschluss erfolgen. Der Ammoniakgehalt ist im Zusammenhang mit einer reduzierten Harnstoffsynthese erhöht und führt zum Krankheitsbild der Hepatoenzephalopathie.

Die **Leberbiopsie** erlaubt bei diffus in der Leber lokalisierten Veränderungen in vielen Fällen eine Aussage in Bezug auf Ätiologie und Prognose der Erkrankung. Die klinische Symptomatik, Enzymaktivität im Serum sowie Konzentration von Gallensäuren und Bilirubin geben zwar Hinweise auf eine Leberzellschädigung, eine ätiologische Diagnose ist in der Regel jedoch nicht möglich. Die entnommene Probe wird sowohl histologisch als auch bakteriologisch (aerobe und anaerobe Keime) untersucht, wobei Bakterien oft nicht nachgewiesen werden können.

Die **Ultraschalluntersuchung** gehört zur Routineuntersuchung der Leber und ist geeignet um die Leber in Bezug auf eine Hepatomegalie, Leberfibrose (veränderte Textur der Leber), Gallengangdilatation und Gallensteine zu untersuchen. Seltene Krankheiten sind Abszesse, Tumoren, parasitäre Zysten oder Traumen der Leber. Sie können mit Hilfe des Ultraschalls aufgrund ihres lokalisierten Auftretens oft nicht angesprochen werden, da die Leber nur teilweise per Ultraschall untersuchbar ist.

Selten treten bei Pferden Amyloidosen der Leber auf. Diese sind besonders bei zur Serumgewinnung genutzten Pferden möglich. Durch die Amyloideinlagerungen steigt das Risiko einer fatalen Leberruptur bei diesen Pferden. Die intra vitam Diagnostik umfasst neben der labordiagnostischen Untersuchung und der transkutanen Sonographie die histologische Beurteilung von Leberbiopsien. Die Laborparameter (Glukose, Laktat, GGT, GLDH, AST, Harnstoff, Triglyzeride, Gallensäuren) erweisen sich allerdings als nicht geeignet um Pferde mit nachgewiesenen Amyloideinlagerungen im Leberparenchym zu identifizieren. Die ultrasonographische Untersuchung der Leber kann die histologische Untersuchung unterstützen, der spezifische histologische Nachweis von Amyloid in der Biopsie ist aber zur Diagnosestellung notwendig.

Vor kurzem wurde ein Hepatitis C ähnliches Virus (Nicht-Primaten Hepacivirus, NPHV) zuerst im Respirationstrakt von Hunden und später im Serum von Pferden nachgewiesen. Das Virus zeigt beim Pferd einen Hepatotropismus. Die Virusprävalenz von NPHV liegt beim Pferd bei ca. 2-3%, bei Vollblütern zum Teil deutlich höher. Die Antikörperprävalenz des NPHV liegt bei 35-70%. Klinisch symptomatische Infektionen sind aber bei Pferden bislang nicht beschrieben.

Ziel ist es, mit Hilfe der oben aufgeführten Leberdiagnostik spezifische Krankheitsbilder, wie z. B. akute Hepatitis (Serumhepatitis, Theiler's disease), Cholangiohepatitis, chronisch aktive Hepatitis, toxische Hepatopathien, Cholelithiasis oder Tumoren und Abszesse der Leber differenzieren zu können.

Literatur

Die Literatur zu diesem Manuskript kann beim Autor erfragt werden.

Kontakt

Prof. Dr. Karsten Feige, Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
karsten.feige@tiho-hannover.de

Acute and chronic liver disease. Causes, Clinical features, Diagnosis and management

Tim Mair

Bell Equine Veterinary Clinic, Mereworth (United Kingdom)

Liver disease is common in the horse, and there are a large number of disorders that can cause liver damage (i.e. pathological change / damage to the liver) in both adult horses and foals. Few of these diseases, however, result in hepatic failure. The liver carries a large reserve capacity, and liver damage needs to be advanced before physiological failure occurs. The distinction between hepatic disease and hepatic failure is clinically important. In view of the large reserve capacity, many horses with mild hepatic disease will make a full recovery given time and removal of the inciting cause, provided that the diagnosis is made relatively early. However, if the damage progresses to cause liver failure, then the prognosis for survival is decreased. Many disorders that cause chronic liver disease, e.g. pyrrolizidine alkaloid toxicosis, can present with acute signs of hepatic failure.

Liver disease can arise secondary to many toxic, septic, hypoxic, neoplastic, or metabolic conditions.

Toxic causes:

- Pyrrolizidine alkaloid toxicosis
- Alsike clover
- Panicum grasses
- Iron
- Mycotoxins

Infectious causes:

- Cholangiohepatitis
- Tyzzer's disease
- Hepatic abscess
- Equine herpesvirus (EHV-1)

Inflammatory, non-infectious causes:

- Chronic active hepatitis
- Neoplasia
- Granulomatous disease

Metabolic causes:

- Hepatic lipidosis
- Hyperammoninemia in horses with gastrointestinal disease (no liver disease present)
- Hyperammoninemia in Morgan foals

Obstructive causes:

- Biliary stones
- Right dorsal colon displacements
- Papillary stricture – foals with duodenal ulcers
- Neoplasia
- Hepatic torsion
- Portal vein thrombosis

Unknown causes:

- Theiler's disease
- Neonatal isoerythrolysis

Congenital:

- Portosystemic shunt

In ponies and miniature horses, the most common cause of acute hepatic disease and failure is hepatic lipidosis, whereas in adult horses the most common causes are Theiler's disease and pyrrolizidine alkaloid toxicosis. In foals, important causes of liver disease include Tyzzer's disease, toxic hepatopathies (such as iron fumarate toxicity), hepatitis secondary to septicemia and equine herpesvirus-1.

The **clinical signs** of liver failure can vary, depending mostly upon 1) duration – acute or chronic; 2) biliary vs. hepatocellular injury; and 3) specific cause.

Horses with acute liver failure are more likely to have central nervous system signs as their initial sign. Horses with chronic liver disease leading to failure commonly have weight loss and/or photosensitivity as a clinical finding. Gastric impaction and bilateral laryngeal paralysis can also be seen with hepatic failure. Horses with liver disease that initiates in the biliary system are often jaundiced, may be colicky (due to biliary obstruction and possibly an enlarged liver) and show photosensitivity. Icterus, however, is not specific for liver disease, and other causes (including haemolysis and anorexia) should be ruled out. Other signs include fever with cholangiohepatitis, ventral edema with hepatic lipidosis, mild abdominal distention and abnormally tight colonic bands with right displacement of the colon that causes biliary obstruction.

Biochemical testing is imperative in the diagnosis of both liver disease and liver failure. Liver specific enzymes include sorbital dehydrogenase (SDH) and gamma glutamyltransferase (GGT) which respectively reflect hepatocellular and biliary injury. Aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (AP) also respectively reflect hepatocellular and biliary injury, but are not liver specific. Isoenzyme 5 of lactate dehydrogenase (LDH-5) and ornithine carbamoyltransferase are alternative indicators of hepatocellular disease, but are rarely used clinically. Sorbital dehydrogenase has a short half-life, which can be very helpful in determining resolution or progression of the hepatic insult. AST has a much longer half-life than SDH, and elevated blood levels may persist for well beyond a week after resolution of the inciting event. GGT is released mostly from biliary epithelium and, in the horse, often continues to elevate for a few days (presumably due to biliary hyperplasia) after the hepatic insult is no longer present. The half-life of GGT is similar to that of AST. Alkaline Phosphatase can be released from a number of sites, including bone, intestine and placenta, which limit its clinical value in assessing hepatobiliary disease. The hematocrit and serum iron are frequently high in horses with severe liver disease.

Liver function tests only become abnormal when approximately 60-70% of liver function is lost, and these tests include elevations in direct bilirubin, blood ammonia, prothrombin and partial thromboplastin time, serum iron and gamma globulins (with chronic disease). An increase in direct bilirubin is a highly sensitive and specific marker of liver failure due to either hepatocellular or hepatobiliary disease. However, mild hyperbilirubinemia may occur in horses that are anorexic, regardless of the cause. Both unconjugated (indirect reacting) and conjugated (direct reacting) bilirubin are helpful diagnostically. Clinically evident jaundice associated with marked unconjugated hyperbilirubinemia but in the absence of other biochemical evidence of liver disease is suggestive of hemolytic anemia. There may be a decrease in BUN and albumin with chronic liver diseases.

Serum or plasma bile acids are elevated in horses with both hepatocellular and hepatobiliary disorders, and can be an early predictor of liver failure when values rise above 30 $\mu\text{mol/L}$. Unlike other species, fasting samples are not required in horses to interpret bile acid results, although mild elevations of bile acids (up to 20 $\mu\text{mol/L}$) may occur as a result of anorexia.

Blood ammonia can also be used as an assessment of liver function. However, rapid and careful sample handling is required. Ideally a control sample should be obtained from a healthy horse and measured simultaneously for comparative purposes.

Ultrasound examination and liver biopsy are commonly used ancillary tests for detecting liver disease. Transabdominal ultrasonography is best performed with either a 2.5-MHz or 5-MHz transducer. In neonatal foals, 7.5-MHz or 10-MHz transducers are effective. The liver is best imaged from the right, immediately caudal and ventral to the lung. Typical landmarks for imaging the liver are the 6th to 15th intercostal spaces on the right, and the 6th to 9th intercostal spaces on the left. In neonatal foals, the liver can also be imaged from the ventral abdomen. In adults, the image quality and usefulness of the procedure are variable, depending on such factors as the underlying disease, normal age changes (right lobe atrophy in old horses), extent of the lung fields, degree of gas distension of the colon, amount of subcutaneous fat, etc. Healthy liver tissue is less echogenic than the spleen, and has a more prominent vascular pattern. The portal veins can be distinguished from the hepatic veins by the greater amount of fibrous tissue in the walls of the portal vessels. Bile ducts are not visible in the normal liver. Abnormalities that may be detected by ultrasound examination include dilated bile ducts, biliary sludge, biliary stones, hepatic fibrosis, hepatomegaly, smaller than normal liver (very subjective), hepatic lipidosis and hepatic masses.

Liver biopsy is best performed after the liver has been visualized on ultrasound examination on either the right or left side. Liver biopsies are best used to determine amount of fibrosis, inflammation, predominant location of disease and for culture purposes.

Contact address

Tim Mair, Bell Equine Veterinary Clinic, Butcher's Ln, Mereworth, Maidstone ME18 5GS, (United Kingdom)

tim.mair@btinternet.com

Optionen der Labordiagnostik mit OMICS-Technologien

Joachim Thiery

Institut für Laboratoriumsdiagnostik, klinische Chemie und molekulare Diagnostik, Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Laboranalytik in der Veterinärmedizin stellt aufgrund der Diversität der Spezies eine besondere Herausforderung dar. Blutproben verschiedener Tierarten unterscheiden sich nicht nur in der Zellform und Zahl, in den Matrixbestandteilen von Serum und Plasma, sondern auch in der unterschiedlichen Antigenität der Proteine, in den Stoffwechselwegen und im Genom. So lassen sich viele in der Humanmedizin gut etablierte Methoden nicht oder nur sehr eingeschränkt für veterinärmedizinische Zwecke anwenden. Neue Technologien erlauben heute jedoch mehr und mehr eine speziesunabhängige Analytik, da die gesuchten Biomarker direkt über ihre Sequenz und Molekülstruktur gemessen werden können. Die Anwendung dieser Omics-Technologien mit Genchips, New Generation Sequencing und die Bestimmung von Genprodukten des Stoffwechsels mit Massenspektrometrie und NMR erlaubt einen neuen multiparametrischen Ansatz, in der Stoffwechselkaskaden und konzentrationsabhängig das Metabolom (Gesamtheit kleiner Moleküle) untersucht werden kann.

Auf Blut- und Urinuntersuchungen sowie andere Körperflüssigkeiten bezogen, lassen sich neben der Genomanalytik neue Metabolom-, Proteom und Transkriptomanalysen unterscheiden. Es handelt sich hier im Gegensatz zum Genom um dynamische Parameter mit einer hohen Spannweite in der Konzentration. Die Untersuchung kann explorativ (untargeted) und gezielt (targeted) erfolgen. Untargeted Analysen können hypothesenfrei neue Signale für bisher unbekannte Krankheitsfaktoren ergeben, sie sind aber zur Identifizierung von Molekülen und zur Quantifizierung ungeeignet. Zu den untargeted-Methoden zählen NMR und MALDI-TOF Analysen. Quantitative Methoden, die speziesunabhängig angewendet werden können sind beispielsweise die Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) und Hochdurchsatzsequenzierungstechniken der molekularen Genomanalytik (NGS). Die Domäne der LC-MS/MS Analytik ist die Quantifizierung hunderter kleiner Moleküle des Metaboloms. Dies betrifft beispielweise Aminosäuren, Fettsäureoxidationsprodukte, den Cholesterinstoffwechsel, Eicosanoide, Steroidhormone, organische Säuren. Auch das Proteom lässt sich seit kurzem mit Hilfe der LC-MS/MS quantitativ untersuchen. Hierzu sind bekannte proteotypische Sequenzen als Bezugsstandards erforderlich, die mit stabilen Isotopen markiert sind. So kann heute beispielsweise ein Profil von Apolipoproteinen bei der Maus und bei anderen Spezies in wenigen Minuten aus 3 µl Serum analysiert werden, ohne dass hierzu immunologische Methoden mit dem Problem der Kreuzreaktivität zur Anwendung kommen. Neue Erkenntnisse zur Pathophysiologie von Erkrankungen sind auch durch die Untersuchung zirkulierender mikroRNAs zu erwarten, die die Translation von Proteinen und die Zellaktivität steuern können.

Zusammenfassung: LC-MS/MS Methoden eröffnen eine speziesunabhängige Quantifizierung von Metaboliten und Proteinen als Biomarker für die Veterinärmedizin.

Kontakt

Prof. Dr. Joachim Thiery, Institut für Laboratoriumsdiagnostik, Universität Leipzig
Thiery@medizin.uni-leipzig.de

Therapie eines Plattenepithelkarzinoms der Haut – moderne Behandlungsansätze

Corinna Arnold¹, Claudia Dettmer-Richardt², Ina Dreher², Thomas Grammel², Gerald Fritz Schusser¹

¹Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig; ²PetBiocell GmbH, Osterode am Harz

Einleitung

Tumoren der Haut sind beim Pferd mit etwa 50% aller Tumoren relativ häufig (1), neben Sarkoiden und Melanomen stellen Plattenepithelkarzinome (PEK) die häufigsten Neoplasien in diesem Bereich dar (2,3). Besonders an unpigmentierten Hautstellen und bei gescheckten Pferden sind PEK anzutreffen und können unabhängig von der Metastasierung allein durch ihr Vorhandensein und Wachstum zu funktionellen Problemen führen. So zum Beispiel an den gängigen Lokalisationen am äußeren Genitale, der Perianalgegend oder dem Auge (2,4,5). Darüber hinaus treten PEK allerdings auch im Körperinneren, zum Beispiel in Magen oder Urogenitaltrakt auf (4). Bisherige therapeutische Ansätze umfassen chirurgische, chemotherapeutische und radiotherapeutische Maßnahmen (6-8), deren Einsatz jedoch je nach Größe und Lokalisation des Primärtumors nur teilweise zufriedenstellende Ergebnisse bringt. Im Folgenden soll die erfolgreiche Behandlung eines PEK der Perianalgegend einer Stute mittels autologer dendritischer Zellen vorgestellt werden.

Fall

Eine 23-jährige Trakehnerstute wurde mit einer seit drei Jahren bestehenden, kürzlich ulzerierten Umfangsvermehrung oberhalb des Anus in der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig vorgestellt. Die klinische Untersuchung der Stute verlief mit Ausnahme des schlechten Ernährungszustandes trotz guter Futteraufnahme unauffällig, die pathohistologische und bakteriologische Untersuchung der Umfangsvermehrung ergab ein infiltrativ wachsendes verhornendes PEK sowie eine oberflächliche hochgradige Besiedelung mit *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* und geringgradige Besiedelung mit *Staphylococcus aureus*. Begleitet von täglicher gründlicher Reinigung und Desinfektion der zerklüfteten Tumoroberfläche wurde zunächst ein Therapieversuch mit dem topisch applizierten Chemotherapeutikum 5-Fluorouracil unternommen. Dies führte zur oberflächlichen Nekrose des tumorösen Materials, aufgrund der Ausdehnung des PEK konnte jedoch nur eine geringfügige Tumorreduktion erreicht werden (Abb. 1). Begleitend kam es zur Entzündung des umliegenden vormals intakten Gewebes (Anal- und Vaginalregion) und in der Folge zur Koprostase. Die chemotherapeutische Behandlung wurde abgebrochen und ein immunologischer Therapieansatz mit autologen dendritischen Zellen (DC) gewählt. Nach Herstellung der DC-Suspension im Labor durch die Firma PetBiocell erfolgte die erste Injektion intradermal und intraläsional im Juni 2014. Bereits vier Wochen nach der ersten Applikation konnte eine sichtbare Verkleinerung der Tumoroberfläche mit beginnender Wundrandkontraktion festgestellt werden. Eine zweite und dritte Injektion der DC-Suspension erfolgten im vierwöchigen Abstand nach der ersten Applikation. Eine Woche nach der zweiten Injektion war eine weitere deutliche Tumorreduktion zu beobachten, die Stute hatte zu diesem Zeitpunkt bereits 25 kg Körpergewicht zugenommen. Drei Wochen nach der zweiten Injektion war die vormals zerklüftete Oberfläche vollständig von Schorf bedeckt und die Tumormasse um ein Vielfaches reduziert (Abb. 2). Die Stute konnte zu diesem Zeitpunkt wieder in die Obhut der Besitzerin entlassen werden. Weitere vier Wochen nach der dritten Injektion und dem vorläufigen Therapieende erfolgte die Wiedervorstellung des Pferdes. Die Umfangsvermehrung präsentierte sich nahezu vollständig abgeheilt mit lediglich geringgradig

verbleibendem Schorf am rechten Wundrand. Drei Monate nach Therapieende zeigten sich zunächst rechts dorsal der von der ursprünglichen Umfangsvermehrung zurückgebliebenen Narbe erneut warzenartige Neubildungen mit einem Durchmesser von 0,5 cm. Im Verlauf weiterer drei Monate wuchsen diese Neubildungen auf etwa 0,8 cm Durchmesser an, zusätzlich traten links dorsal der ursprünglichen Umfangsvermehrung ebenfalls warzenartige Zubildungen auf. Diese Neubildungen wurden als Rezidive angesehen und nicht erneut biopsiert. Jedoch wurde sechs Monate nach der dritten Injektion eine vierte DC-Injektion durchgeführt nach welcher kein weiteres Rezidivwachstum beobachtet wurde, die Neubildungen präsentierten sich gegenwärtig als schorfige reaktionslose nicht ulzerierte Auflagerungen rechts und links der Tumornarbe.



Abb. 1



Abb. 2

DC-Suspension

Zur Herstellung der DC-Suspension werden autologe DC als professionelle antigenpräsentierende Zellen genutzt, welche aus patienteneigenen aus dem Blut gewonnenen Monozyten heranreifen. Nach Inkubation der unreifen DC mit einem Tumorlysate aus einem Bioplat des Tumors nehmen die Zellen Antigen auf, reifen aus und präsentieren Tumorantigen (9). Durch intradermale Injektion in den Patienten gelangen die DC über die Lymphbahnen in regionale Lymphknoten wo sie T-Zellen aktivieren (10) und damit die zelluläre Immunantwort des Patienten gegen den eigenen Tumor initiieren. Eventuelle Escape-Mechanismen des Tumors, die diese Immunantwort bisher verhinderten können so umgangen werden. Aufgrund der Verwendung autologer Materialien und der aufwendigen Prozessierung des Tumormaterials ist eine Gefährdung des Patienten etwa durch Reinjektion vitaler Tumorzellen sowie eine Exposition der ausführenden und betreuenden Personen, wie beispielsweise bei Chemo- oder Strahlentherapie, ausgeschlossen. Die Therapie selbst kann nach Herstellung der DC-Suspension im Labor ohne weitere Spezialausstattung unter Praxisbedingungen durchgeführt werden.

Zusammenfassung

Im vorliegenden Fall konnte die erfolgreiche Reduktion eines inoperablen PEK im Perianalbereich eines Pferdes mittels autologer DC demonstriert werden. Die Neoplasie konnte mit Ausnahme geringfügiger warzenartiger Rezidive weitestgehend in Remission gehalten werden, sodass ein Weiterleben der Stute bei guter Lebensqualität und leichter reiterlicher Nutzung möglich war. Die Therapie zeigte sich als nebenwirkungsarm und wurde von der Patientin gut toleriert. Auf dieser Grundlage ist die immunologische Tumorthherapie mit DC gerade bei chirurgisch schwer zugänglichen oder großflächigen Tumoren als echte Alternative anzusehen und empfehlenswert.

Literatur

1. Baker JR, Leyland A. Histological survey of tumors of the horse, with particular reference to those of the skin. *Vet Rec.* 1975;96:419-422.
2. Valentine BA. Survey of equine cutaneous neoplasia in the Pacific Northwest. *J Vet Diagn Invest.* 2006;18(1):123-6.
3. Knowles EJ, Tremaine WH, Pearson GR, Mair TS. A database survey of equine tumours in the United Kingdom. *Equine Vet J.* 2015;doi:10.1111/evj.12421.
4. Sundberg JP, Burnstein T, Page EH, Kirkham WW, Robinson FR. Neoplasms of Equidae. *J Am Vet Med Ass.* 1977;170(2):150-2.
5. van den Top JG, de Heer N, Klein WR, Ensink JM. Penile and preputial squamous cell carcinoma in the horse: a retrospective study of treatment of 77 affected horses. *Equine Vet J.* 2008;40(6):533-7.
6. Fortier LA, MacHarg MA. Topical use of 5-fluorouracil for treatment of squamous cell carcinoma of the external genitalia of horses: 11 cases (1988-1992). *J Am Vet Med Ass.* 1994;205(8):1183-5.
7. Paterson S. Treatment of superficial ulcerative squamous cell carcinoma in three horses with topical 5-fluorouracil. *Vet Rec.* 1997;141(24):626-8.
8. Montgomery KW. Equine ocular neoplasia: A review. *Equine Vet Edu.* 2014;26(7):372-80.
9. Jungi TW. *Klinische Veterinärimmunologie.* 1. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2000.
10. Murphy KM, Travers P, Walport M. *Janeway Immunologie.* 7. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag; 2009.

Kontakt

Dr. Corinna Arnold, Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig
arnold@vetmed.uni-leipzig.de

MMP 9 als Biomarker: Die Verwendung von MMP 9 als diagnostisches Hilfsmittel in der Pferdemedizin

Dirk Barnewitz

Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie – fzmb GmbH, Bad Langensalza

1

Matrix-Metalloproteinasen (MMPs)

Die Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) sind eine Familie von Zink-abhängigen Endopeptidasen – Enzyme, die die Spaltung von Peptidbindungen in Proteinen katalysieren. MMPs sind beteiligt an unzähligen physiologischen als auch pathologischen Gewebeumbauprozessen (1,2,3,4,5) wie z.B. Morphogenese, Angiogenese, Apoptose, Wundheilung oder Krankheiten wie z.B. Krebs, Ulzerationen, Fibrosen oder Arthritis (6). Zusammen sind sie in der Lage nahezu alle Komponenten der extrazellulären Matrix (EZM) abzubauen (7,2,5,8). Neben dem Umsatz und dem Abbau von EZM-Proteinen sind MMPs involviert in die Prozessierung, Aktivierung oder Deaktivierung einer Vielzahl von löslichen Faktoren (9).

Alle MMPs werden als inaktive Vorstufen (proMMPs) sezerniert und erst am Wirkungsort in eine aktive Form überführt. Aktiviert werden alle MMPs durch schrittweise proteolytische Spaltung durch Proteinasen und andere MMPs (5), welche z.B. bei der Zerstörung von Geweben entstehen. Gehemmt wird ihre Aktivität durch spezielle Gewebeinhibitoren – Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases (TIMPs) – und nicht-proteolytische Substanzen (10).

Bei entzündlicher Stimulation kommt es zur gesteigerten Expression von MMP 9 aus vielen Zelltypen, einschließlich Endothelzellen, Alveolarzellen, Makrophagen, Fibroblasten und andere Bindegewebszellen (2). Sie besitzt eine breite Substratspezifität und kann gemeinsam mit Kollagenasen an der Degradation von fibrillären Kollagenen, Bestandteilen der Basalmembran und Bindegewebsmolekülen der EZM mitwirken (1,5). Darüber hinaus kann MMP 9 zu Erkrankungen beitragen, da sie eine Rolle spielt bei der Aktivierung von anderen MMPs (11,12,1).

MMP-9 & degenerative Gelenkerkrankungen

Allgemeines

Zur Diagnostik von degenerativen Gelenkerkrankungen (engl. „degenerative joint disease“, DJD), wie z. B. Osteoarthritis (OA) und rheumatoide Arthritis (RA), ist man seit einigen Jahren dazu übergegangen, biochemische Marker zu verwenden, welche beim Umsatz von Knorpelmatrix entstehen und in der SF indirekt beobachtet werden können (13). Dabei sind besonders Marker von Interesse, die mit einer spezifischen Diagnose schwanken und sich bei erfolgreicher Therapie normalisieren (14).

Bei DJD wird besonders den beiden Gelatinasen A & B (MMP 2 und 9) eine zentrale Rolle zugesprochen (15,16,17,18,19). Ein Überschuss von aktiven MMPs gegenüber TIMPs könnte entscheidend sein für den Übergang von physiologischen zu pathologischen Zuständen in Gelenken (20). So führt die Aktivitätssteigerung der MMPs durch die Störung des Gleichgewichts der endogenen spezifischen TIMPs und der MMPs, unter anderem, zum Entstehen von osteoarthrotischen Prozessen (2).

MMPs – insbesondere MMP 2 und 9 – sind dadurch mögliche Biomarker für physiologische und pathologische Gewebeeränderungen in Gelenken (1,19). MMP 9 kann in diesem Zusammenhang im Gelenk als Indikator für katabole Prozesse angesehen werden (19).

Ergebnisse zweier eigener Gelenk-Studien

Die zwei Studien behandeln die Aktivität von MMP 9 in der Synovialflüssigkeit (SF), einerseits nach artifizierlicher Defektsetzung in Sprunggelenken von 15 Pferden und andererseits unter Praxisbedingungen von 118 Pferden die in Pferdekliniken vorstellig geworden waren.

In der ersten Studie zeigte sich, dass nach einer vergleichbaren Defektsetzung in arthroskopisch unauffälligen Gelenken über einen Zeitraum von mindestens vier Wochen erhöhte MMP 9-Werte nachweisbar sind. Anhand der erhaltenen Ergebnisse lässt sich schließen, dass Unterschiede in der Höhe der MMP 9-Aktivität als auch der Dauer einer erhöhten MMP 9-Aktivität als Hinweise auf verschieden stark ausgeprägte osteoarthrotische Prozesse im Gelenk interpretiert werden können. Auf Grund dieser Tatsache konnte ein MMP-Differenzierungsschema entwickelt werden.

Die Ergebnisse der zweiten Studie weisen auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer Synovitis und dem Vorkommen von MMP-9 im Gelenk hin. Ein Nachweis von MMP-9 in SF ist am höchsten bei akuter Synovitis sowie am geringsten bei chronischer Entzündung der Synovialmembran.

Durch die Erfassung von MMP 9 über einen längeren Zeitraum können orientierende Aussagen über die Wirkung von Behandlungsmaßnahmen auf pathologische Gelenkveränderungen getroffen werden. Die Detektion von MMP 9 ist damit geeignet als diagnostisches Hilfsmittel bei Gelenkerkrankungen von Pferden zu fungieren.

MMP-9 bei Uveitis & Leptospiren-Befall

Allgemeines

Die equine rezidivierende Uveitis (ERU) ist eine spontane immunmedierte Erkrankung des inneren Pferdeauges, welche 10 % der Pferdepopulation betrifft (21) und Aufgrund des progressiven Verlaufes im chronischen Endstadium zum vollkommenen Verlust der Sehfähigkeit führt (22,23,24). Die therapeutischen Erfolge der Vitrektomie (25) unterstreichen die Bedeutung der im Glaskörper enthaltenen Faktoren für das Krankheitsgeschehen.

Auch bei ERU spielen MMPs im Krankheitsgeschehen eine Rolle. In einer Studie (26) erfolgten zymographische Untersuchungen der Glaskörperproben von 15 gesunder sowie 20 uveitischer Pferdeaugen. In allen 20 uveitischen Proben konnte proMMP 9 und bei einigen zusätzlich aktiviertes MMP 9 detektiert werden. Im Vergleich dazu zeigten 14 von 15 der untersuchten Kontrollproben kein MMP 9. Alle 35 untersuchten Proben zeigten proMMP 2, bei einigen gesunden sowie uveitischen, auch aktiviertes MMP 2. Während MMP 2 somit in allen untersuchten Glaskörperproben nachweisbar war, konnte MMP 9 fast ausschließlich in den Glaskörperproben der an ERU erkrankten Pferdeaugen detektiert werden.

Ergebnisse einer eigenen Uveitis-Studie

In einer fortlaufenden Fallstudie werden bei Pferden mit ERU Analysen der Glaskörperflüssigkeit auf verschiedene Leptospiren-Antikörper (LA), sowie bei der O.P. während der Augenkammer-Spülung auf MMP 9-Aktivität gemacht. Derzeit liegen Daten von 52 Tieren vor.

Die vorläufigen Ergebnisse zeigen, dass bei Pferden mit ERU die Analyse der Glaskörperflüssigkeit auf MMP 9 nicht zum Nachweis eines Leptospiren-Befalls herangezogen werden kann. Jedoch kann bei der O.P. eines an ERU erkrankten Pferdes die Messung der MMP 9 mit Hilfe des MMP 9-Schnelltests während der laufenden Augenkammer-Spülung dabei helfen, die Reduktion der MMP 9-Aktivität festzustellen und somit eine ausreichende Spülung des Auges anzuzeigen womit das Ende der O.P. bestimmt werden kann.

MMP-9 bei chronisch-obstruktiver Bronchitis (COB)

Die chronisch-obstruktive Bronchitis (COB), im engl. „chronic obstructive pulmonary disease“ (COPD), „heaves“ oder „recurrent airway obstruction“ (RAO) bezeichnet, kennzeichnet sich durch

den Anstieg an neutrophilen Granulozyten (27) und T-Zellen, sowie Hypersekretion (28). Durch die aktivierten Granulozyten kommt es zur Vermehrung von Entzündungsmediatoren wodurch es zu einer Verstärkung der Entzündung und zu lokalen Um- und Abbauprozessen kommt.

Nach einem entzündungsbedingtem Anstieg der MMP-Aktivität stellt sich für gewöhnlich das Basislevel einer gesunden Lunge wieder ein, welche normal kein MMP 9 enthält (29). Jedoch sind einige Lungenpathologien charakterisiert durch anhaltende, erhöhte Expression von MMP 9 sowie reduzierte Expression von TIMPs (30,29,31,32). Im Rahmen von entzündlichen Erkrankungen der Lunge wird MMP 9 von verschiedenen Zellen der Lunge ausgeschüttet (29) sowie von infiltrierenden Leukozyten sezerniert (33). Potenziert wird dies dadurch, dass MMP 9 die Infiltration von Neutrophilen zum Entzündungsherd durch die Degradation von Basalmembranproteinen fördert (34), das Chemokin IL 8 aktiviert wodurch die Rekrutierung und Aktivierung von Neutrophilen weiter gesteigert wird (35,36), sowie α 1-anti-trypsin, welches normalerweise Proteasen in Schach hält, degradiert was unkontrollierte Protease-Aktivität bedingt (37), was schlussendlich zu massiver Gewebeschädigung führt.

Die Ergebnisse umfangreicher Studien (30,29,31,32) deuten darauf hin, dass die Messung von MMP 9 in „bronchoalveolar lavage fluid“ (BALF) sowie „tracheal epithelial lining fluid“ (TELF) als potentieller Marker zur Diagnose der aktiven laufenden Gewebeumbauprozesse in der akuten Phase von COB verwendet werden kann (30).

MMP-9-Schnelltest

Innovationen:

- Bessere Intensitätsunterscheidung!
Neu entwickelte nanostrukturierte Polymermembran
- Hohe Sensitivität!
Unterste Nachweisgrenze 2,5 ng/ml
- Praxistauglich!
Einfache Handhabung für jeden Tierarzt
- Schnell!
Ergebnis nach 20 Minuten!

Im Vergleich:

Zymographie (arbeitsaufwändige Labormethode): 2 Tage

ELISA (schneller Labortest): 4 Std.

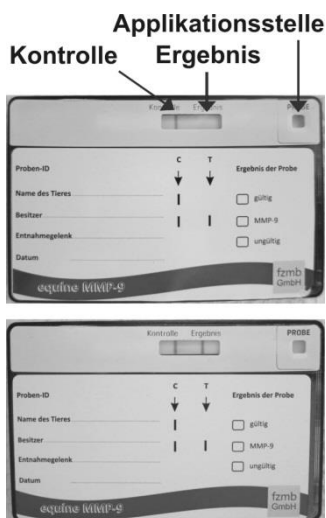


Abb. 1: MMP-9-Schnelltest

Literatur

11. Clegg PD, Jones MD & Carter SD. 1998.
12. Nagase H & Woessner Jr. JF. 1999.
13. Clark IM, Rowan AD & Cawston TE. 2000.
14. Vu TH & Werb Z. 2000.
15. Murphy G, et al. 2002.
16. Parks WC & Mecham RP. 1998.
1. Birkedal-Hansen H. 1995.
2. Puente XS, et al. 2003.
3. Sekhon BS. 2010.
4. Brew K, Dinarkarpandian D & Nagase H. 2000.
5. Birkedal-Hansen H, et al. 1993.
6. Knauper V, et al. 1996.
7. de Grauw JC, van de Lest CH & van Weeren PR. 2009.
8. McIlwraith CW. 2005.
9. Hirose T, et al. 1992.
10. Koolwijk P, et al. 1995.
11. Coughlan AR, et al. 1995.
12. Clegg PD, et al. 1997.
13. Fietz S, et al. 2008.
14. Punzi L, Oliviero F & Plebani M. 2005.
15. Spiess BM. 1997.
16. Cook CS, Pfeiffer RL & Harling DE. 1983.
17. Gilger BC, et al. 2008.
18. Deeg CA. 2009.
19. Werry H & Gerhards H. 1992.
20. Hofmaier F. 2010.
21. Robinson NE, et al. 1996.
22. Cunningham FM & Dunkel B. 2008.
23. Chakrabarti S & Patel KD. 2005.
24. Raulo SM, et al. 2001.
25. Simonen-Jokinen T, et al. 2005a.
26. Simonen-Jokinen T, et al. 2005b.
27. Atkinson JJ & Senior RM. 2003.
28. Delclaux C, et al. 1996.
29. McCrea KA, et al. 1994.
30. Van den Steen PE, et al. 2000.
31. Ohnishi K, et al. 1998.

Kontakt

Dr. Dirk Barnewitz, Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie – fzmb GmbH, Bad Langensalza
dbarnewitz@fzmb.de

Atypische Weidemyopathie beim Pferd – Diagnostik und Prävention

Mandy Bochnia¹, Jörg Ziegler², Johannes Sander³, Stephan Schaefer⁴, Albrecht Uhlig⁵, Steffen Abel², Maren Glatter¹, Stephan Recknagel⁵, Gerald F. Schusser⁵, Monika Wensch-Dorendorf⁶, Annette Zeyner¹

¹Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Professur für Tierernährung, ²Leibniz Institut für Pflanzenbiochemie, Halle, ³Screening Labor Hannover, ⁴Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Professur für Tierhaltung und Nutztierökologie, ⁵Medizinische Tierklinik, Universität Leipzig; ⁶Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Arbeitsgruppe Biometrie und Agrarinformatik

1

Einleitung

Die in mehr als 75% der Fälle tödlich verlaufende Krankheit Atypische Weidemyopathie (AM) beim Pferd ist ursächlich der Aufnahme einer toxischen, nicht-proteinogenen Aminosäure Hypoglycin A (L- α -Amino-Methylencyclopropyl-Propionsäure, HGA) im europäischen Raum aus Bergahornsamen (1-8) bzw. im amerikanischen Raum aus Eschenblättrigen Ahornsamen auf der Weide zugeordnet (9). Aus HGA kann intermediär MCPA-Carnitin (MCPAc) entstehen, welches die Acyl-CoA-Dehydrogenase und damit die Energiebereitstellung in der Muskelzelle hemmt (9-12). In früheren Studien wurde durch den Nachweis von HGA im Samen diverser Ahornspezies auf der Weide und des toxischen Metaboliten im Blut bzw. Urin betroffener Pferde die Ingestion von Ahornsamen und damit die Intoxikation bestätigt (9). In diversen Folgeuntersuchungen konnte die Kausalkette durch die Bestimmung von HGA in Körperflüssigkeiten geschlossen werden (3,5-7,13-14).

Tabelle 1: Spezifische Charakteristika der betrachteten AM-Pferde und Weidepartner zugeordnet zu deren Weiden

	A		B		C			D	E	F		G	H	J	K	L
Gesamtzahl Pfd.	2	2	4			2	2	3		2	2	5	5	5		
Weideaufenthalt in h	24 ¹	24	12 ¹			6 ¹	12 ¹	10 ¹		6 ¹	6 ¹	10 ¹	12 ¹	12 ¹		
Weidepartner ²	0	1	0			1	1	1		1	1	4	4	4		
AM-Pferde ³	2	1	4			1	1	2		1	1	1	1	1		
Rasse	WB		DR		HF			DR	WB	DR	WB	DR	DR	WB	WB	WB
Geschlecht	W	W	W	S	S	S	H	W	W	S	S	S	S	H	W	H
Alter (Jahre)	2	6	2	2	3	3	7	1	4	16	5	2	10	1	5	
Zeitpunkt Tod	9	22	29	30	1		6	11	16	*	6	22	11	29	-	
	Okt '13				Nov '13				Apr '14			Okt '14				

¹Beifutter in Form von Heu und Krafftutter angeboten, ²Anzahl klinisch gesunder Weidepartner, ³Anzahl erkrankter Pferde auf der Weide; WB = Warmblut, DR = Deutsches Reitpony, HF = Hafinger; W = Wallach, S = Stute, H = Hengst; *überlebt, Erkrankungsdatum 17. November 2013

Der Nachweis des toxischen Agens vergleichend zum toxischen Metaboliten in Blut und Harn betroffener Pferde kann nun als zusätzlicher diagnostischer Parameter fungieren, um in zukünftigen Studien Informationen zur Metabolisierung von HGA bzw. zu dessen Pathophysiologie zu erhalten. Neuwert hat die Betrachtung und Beprobung klinisch gesunder Weidepartner auf betroffenen Weiden (8). Daraus gewonnene Erkenntnisse können nützlich für Therapie oder Prophylaxe sein, da therapeutische Ansätze derzeit ausschließlich symptomatisch und zumeist erfolglos sind (13).

Material und Methoden

Von 16 Pferden (7 Warmblüter, 4 Haflinger, 5 Reitponys; 6 Wallache, 3 Hengste, 7 Stuten; Alter 1,5 - 16 Jahre; BCS 5,0-5,5/9) mit klinisch abgesicherter Diagnose AM starben 15 innerhalb von 1 - 2 Tagen nach Auftreten der ersten Symptome oder wurden euthanasiert (Tab.1). 9 von 11 Weiden wurden botanisch bonitiert und Ahornsamen beprobt. Der Gehalt an HGA in Samen, Blutserum und Harn wurde über LC-ESI-MS/MS bestimmt (15-16), der an MCPAc in Blutserum und Harn mittels UPLC-MS/MS (2). Serum- und Urinproben wurden mit Kontrollpferden verglichen, welche keinen Kontakt zu Ahornsamen hatten (Serum: n = 6, Urin: n = 4). Zusätzlich wurden klinisch gesunde Weidepartner (Serum: n=12, Urin: n = 4) von betroffenen Weiden beprobt. Für die statistische Auswertung wurde SAS® verwendet.

Ergebnisse

Auf allen Weiden wurden Bergahornsamen gefunden. Die Muskelenzymaktivitäten der betroffenen Tiere waren deutlich erhöht (CK 17.228 – 1.251.987 U/l, normal Warmblut 146-346 U/l (17); LDH 10.967 – 43.802 U/l, normal Warmblut 293-822 U/l (17)). Im Samen wurden HGA-Konzentrationen von 2 – 319 µg/g Samen gemessen (Abb. 1), was sich mit Ergebnissen früherer Studien deckt (1,9). Die erkrankten Pferde wiesen Konzentrationen an HGA im Bereich von 388 – 8.494 µg/l Blutserum und im Harn von 144 - 926 µg/l auf, deren Weidepartner 38-328 µg/l Blutserum und 19-31 µg/l Urin (Abb. 2) (8). Die HGA-Konzentrationen in Blutserum und Harn der Kontrollpferde lagen unterhalb der Nachweisgrenze von 10 µg/l und unterschieden sich signifikant von den gemessenen Konzentrationen erkrankter Tiere ($p < 0,001$). Für MCPAc in Blutserum und Harn der erkrankten Pferde wurden 0,17 – 0,65 mmol/l und 0,34 – 2,05 µmol/mmol Kreatinin ermittelt, wobei auch hier die MCPAc-Konzentrationen bei den Kontrolltieren unterhalb der analytisch zu begründenden Grenze von 0,01 mmol/l und 0,001 µmol/mmol Kreatinin lagen (Abb. 3). MCPAc-Konzentrationen in den Körperflüssigkeiten der Weidepartner unterschieden sich nur geringfügig von den Kontrolltieren (MCPAc-glycin im Urin).

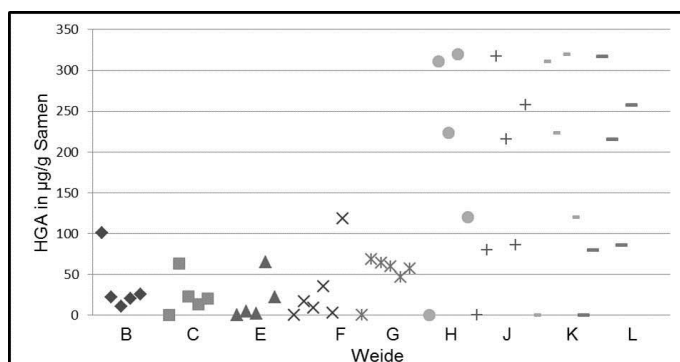


Abbildung 1: HGA-Konzentrationen im Bergahornsamen beprobter Weiden bestimmt mittels LC-ESI-MS/MS (15,16)

Weide B-F beprobt in 2013 mit Einzelbestimmung der Gehalte im Samen ([9], nach Valberg et al. 2013), Weide G-L beprobt in 04/2014 – 02/2015 mit Poolprobenbestimmung (n=5) ([1] nach Unger et al. 2014)

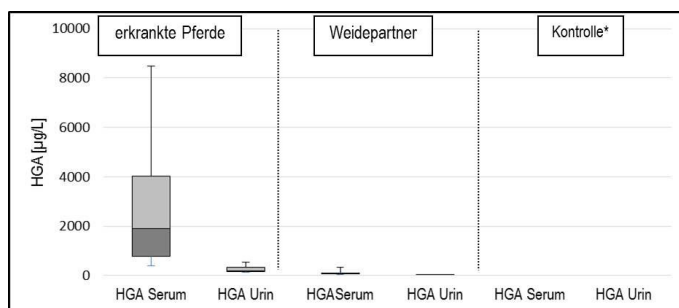


Abbildung 2: HGA-Konzentrationen in Blut und Urin erkrankter Pferde und deren Weidepartner bestimmt mittels LC-ESI MS/MS (15,16) im Vergleich zu Kontrolltieren

*unterhalb der Nachweisgrenze von 10µg/l; HGA = Hypoglycin A

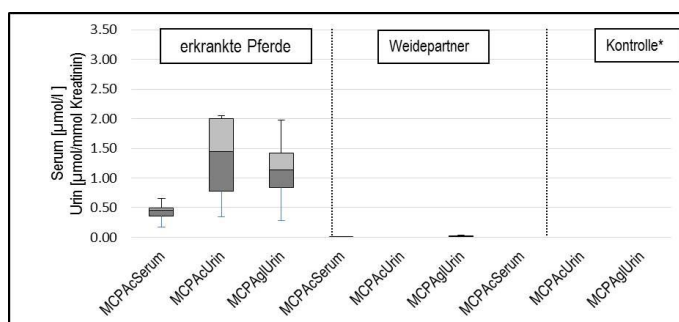


Abbildung 3: MCPA-Konjugate in Blut und Urin erkrankter Pferde und deren Weidepartner bestimmt mittels UPLC-MS/MS (2) im Vergleich zu Kontrolltieren

*unterhalb der Nachweisgrenze von 0,01 mmol/l im Serum bzw. 0,001 µmol/mmol Kreatinin im Urin; MCPAc = MCPA-carnitin; MCPAg = MCPA-glycin

Zusammenfassung

Die Intoxikation mit HGA aus Ahornsamen wurde hier durch Nachweis von HGA in Samen, Blut und Harn sowie von MCPAc in Blut und Harn vollständig bewiesen und die Abgrenzung zu klinisch unauffälligen Pferden, ohne Kontakt zu Ahornsamen, eindeutig belegt. Der Nachweis von HGA im Blutserum und Urin der Weidepartner beweist die Aufnahme des toxischen Agens. Welche Kriterien den Toxingehalt im Blut dieser Pferde beeinflussen (Präferenzen in der Futteraufnahme, Menge an verfügbaren Samen, Variation des Toxingehaltes im Samen) bleibt zu erörtern. Dennoch kann dieser nun zur Verfügung stehende Diagnoseparameter in künftigen Studien zur Fragestellung, warum nur einige Pferde nach Kontakt mit Ahornsamen erkranken, Aufschluss geben. Nach derzeitigem Kenntnisstand kann die Bestimmung der HGA Konzentration in Blut und Urin klinisch gesunder Pferde auf betroffenen Weiden helfen, das Risikopotential für den Ausbruch der Erkrankung einzuschätzen bzw. in Konsequenz, gefährdeten Pferden den Zutritt zu diesen Weiden zu verwehren. Der Nachweis des toxischen Metaboliten gelang in den Körperflüssigkeiten der Weidepartner nicht bzw. war im Bereich der Nachweisgrenze, so dass davon auszugehen ist, dass erste Symptome der Atypischen Weidemyopathie erst mit Ansteigen der Konzentrationen von MCPA-carnitin im Serum bzw. -glycin im Urin auftreten. Da eine adäquate Therapie zum jetzigen Zeitpunkt nicht verfügbar ist, bleibt die HGA Bestimmung in der Prophylaxe praxisrelevant.

Literatur

1. Unger L, Nicholson A., Jewitt EM, Gerber V, Hegemann A, Sweetmann L and Valberg S(2014) Hypoglycin A Concentrations in seeds of *Acer pseudoplatanus* trees growing on atypical myopathy-affected and control pastures. *J Vet Intern Med* 28(4): 1289-1293
2. Sander J, Cavalleri JM, Terhardt M, Bochnia M, Zeyner A et al. (2015, accepted *J Vet Diagn Invest*) Rapid diagnosis of hypoglycin A intoxication in atypical myopathy of horses.
3. Bochnia M, Ziegler J, Abel S, Sander J, Uhlig A, Recknagel S, Schusser FG, Schmidt M, Zeyner A (2014) Cases of atypical myopathy in middle Germany in 2013 caused by Hypoglycin A? In: Proc. of the 18th congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition [Utrecht, September 11-13] C 102
4. Żuraw A, Dieter K, Kühnel S, Sander J and Klopffleisch R (2015) Equine atypical myopathy caused by hypoglycin A intoxication associated with ingestion of sycamore maple tree seeds. *Equine Veterinary Journal*. doi: 10.1111/evj.12460
5. Bochnia M, Ziegler J, Sander J, Schaefer S, Uhlig A, Abel S, Glatter M, Recknagel S, Schusser GF, Wensch-Dorendorf M, Zeyner A (2015) Nachweis von Hypoglycin A und von Stoffwechselmetaboliten, Göttinger Pferdetage - Warendorf: FN-Verl.: 138
6. Bochnia M, Ziegler J, Sander J, Schaefer S, Uhlig A, Abel S, Glatter M, Recknagel S, Schusser FG, Wensch-Dorendorf M, Zeyner A (2015) Verifizierende Laborparameter in der Diagnose - atypische Weidemypathie beim Pferd, In: Zukunft gestalten - 40 Jahre Metabolic Monitoring - 40 Jahre Präventivmedizin. – Leipzig: 68-69
7. Bochnia M, Ziegler J, Sander S, Schaefer S, Uhlig A, Glatter M, Recknagel S, Schusser FG, Abel S, Wensch-Dorendorf M, Zeyner A (2015) Hypoglycin A and toxic metabolites in body fluids of horses with atypical myopathy. In: Proc. of the 19th congress of Society of Veterinary and Comparative Nutrition [Toulouse, September 17-19] Sess. 6
8. Bochnia M, Ziegler J, Sander J, Schaefer S, Uhlig A, Vollstedt S, Abel S, Glatter M, Recknagel S, Schusser GF, Wensch-Dorendorf M, Zeyner A (2015, accepted *PLoSOne*) Hypoglycin A content in blood and urine discriminates horses with atypical myopathy from clinically normal horses grazing on the same pasture.
9. Valberg SJ, Sponseller BT, Hegeman AD et al. (2013): Seasonal pasture myopathy/atypical myopathy in North America associated with ingestion of hypoglycin A within seeds of the box elder tree. *Equine Vet J* 45:419
10. Sponseller BT, Valberg SJ, Schultz NE, Bedford H, Wong, E et al. (2012) Equine multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD) associated with seasonal pasture myopathy in the midwestern United States. *J Vet Intern Med* 26: 1012-1018
11. Westermann CM, Dorland L, Votion DM, et al. (2008) Acquired multiple Acyl-CoA dehydrogenase deficiency in 10 horses with atypical myopathy. *Neuromuscul Disord* 18: 355
12. Votion DM, van Galen G, Sweetman L, et al. (2014) Identification of methylenecyclopropyl acetic acid in serum of European horses with atypical myopathy. *Equine Vet J* 2: 146-149
13. Boemer F, Deberg M, Schoos R, Baise E, Amory H, Gault G, Carlier J, Gaillard Y, Marcillaud-Pitel C, Votion, D (2015) Quantification of hypoglycin A in serum using a TRAQ® assay. *J of Chromatogr. B* 997: 75-80
14. Carlier J, Guitton J, Moreau C, Boyer B, Bevalot F, Fanton L et al. (2015) A validated method for quantifying hypoglycin a in whole blood by uhplc-hrms/ms *J. Chromatogr. B* 978–979: 70–77
15. Ziegler J, Abel S (2014) Analysis of amino acids by HPLC/electrospray negative ion tandem mass spectrometry using 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride (Fmoc-Cl) derivatization, *Amino Acids* 46: 2799
16. Ziegler J, Bochnia M, Zeyner A (2014) Analyse von Hypoglycin A nach Derivatisierung mit Fluorenylmethoxycarbonylchlorid und HPLC-MS/MS In: 39. Leipziger Fortbildungsveranstaltung: Labordiagnostik in der Bestandsbetreuung
17. Koeller G, Gieseler T, Schusser GF (2014) Hematology and serum biochemistry reference ranges of horses of different breeds and age measured with newest clinicopathological methods. *Pferdeheilkunde* 30(4): 381-393

Kontakt

Dr. Mandy Bochnia, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften
mandy.bochnia@landw.uni-halle.de

Lyme-Borreliose beim Pferd

Reinhard K. Straubinger

Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie, Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen, Tierärztliche Fakultät, LMU München

Bei der Lyme-Borreliose handelt es sich um eine bakterielle Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier. Die Krankheit ist auch als Lyme-Arthritis oder Lyme Disease bekannt. Verursacht wird die Infektion durch *Borrelia burgdorferi* sensu lato, einem Komplex aus verschiedenen Borrelien-Arten, von denen in Europa *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii* sowie *Borrelia bavariensis/Borrelia garinii* von besonderer Bedeutung sind. Die Erreger persistieren in Nagern sowie in Vögeln und Eidechsen, wobei für die Infektion und Übertragung der Bakterien in Europa die Schildzecke *Ixodes ricinus* („Gemeiner Holzbock“) verantwortlich ist. An der Infektion der Wirte sind alle drei Zeckenentwicklungsstadien beteiligt. Die Larven infizieren sich bei ihrer ersten Blutmahlzeit zunächst an Mäusen; eine transovariable Übertragung (vom adulten Zecken auf Eier) erfolgt dagegen nicht. Nymphen infizieren sich an kleinen bis mittelgroßen Wirten (z.B. Mäusen, Hasen, Vögel, Eidechsen, etc.). Die Übertragung der Bakterien auf den neuen Wirt mit dem Zeckenspeichel erfolgt frühestens 24 Stunden nach Beginn der Blutmahlzeit, da die Bakterien zunächst vom Darm der Zecke in deren Speicheldrüsen einwandern müssen. Die Infektionsrate der Zecken kann in ihrem Ausmaß regional und abhängig von der Borrelien-Art stark variieren. Die Infektionsrate adulter Zecken für *Borrelia burgdorferi* sensu lato kann bis zu 50 % erreichen.

Im Falle einer Lyme-Borreliose beim Pferd ist es wichtig, dass die exakte Diagnose nach Ausschluss aller in Frage kommenden Differentialdiagnosen letztendlich auf Grund klinischer Veränderungen und durch Einbeziehung geeigneter serologischer Untersuchungsmethoden gestellt wird. In Betracht zu ziehen sind klinische Veränderungen in Form von Abgeschlagenheit, Anorexie, Bewegungsunlust und Lahmheit unbekannter Genese. Beim Pferd verläuft die Infektion mit *Borrelia burgdorferi* auf Grund der gering ausgeprägten Virulenz der Erreger in der Regel subklinisch oder ruft bestenfalls eine Vielzahl unspezifischer und selten pathognomonische Veränderungen hervor.

Die langwierige Kultivierung der Erreger (bis zu 6 Wochen) kommt für die Routinediagnostik nicht in Frage, da auf Grund der geringen Erregerdichte die Gewebebiopate gewöhnlich kein Spirochätenwachstum zeigen. Mittels PCR kann unter Umständen Borrelien-spezifische DNA schnell und direkt in Gewebeproben oder Synovialflüssigkeit nachwiesen werden. Aber auch im Falle der PCR ist wegen der geringen Besiedelungsdichte in der Regel ein negatives Ergebnis zu erwarten und dieses Ergebnis allein ist nicht aussagekräftig. Ein positiver DNA-Nachweis sagt nichts über die Vitalität der Borrelien aus und kann deshalb auch nach einer Antibiose positiv sein.

Wird eine Lyme-Borreliose beim Pferd vermutet, ist deshalb der indirekte Nachweis von infektionsbedingten Antikörpern das Mittel der Wahl. Die serologische Abklärung der Lyme-Borreliose erfolgt im Zweistufentest: zuerst werden infektionsbedingte Antikörper mittels ELISA nachgewiesen, gefolgt vom Line Immunoassay (LIA) bzw. Western-Blot. Der Immunfluoreszenztest (IFT) kann auf Grund seiner geringen Spezifität als Diagnostikum nicht empfohlen werden und wird heute gänzlich abgelehnt. Der ELISA ist eine ‚kostengünstige‘ Methode, um Antikörper-negative Tiere im Vorfeld zu identifizieren. Eine alleinige Messung des Antikörperspiegels mittels ELISA ohne qualitative Beurteilung der Signale anhand eines LIA oder Western-Blots ist nicht aussagekräftig. Nur bei positiver Reaktion wird der wesentlich spezifischere LIA/Western-Blot durchgeführt. Dieser Schritt ist entscheidend, da gegen andere Bakterien gerichtete, kreuzreaktive oder durch Impfung induzierte Antikörper falsch-positive Signale im ELISA auslösen. Aus technischer Sicht haben sich für den Antikörpernachweis besonders aufgereinigte Proteine bewährt. Vor allem Nachweissysteme, die das aufgesprühte VlsE-Protein enthalten, sind für die Diagnostik zu empfehlen. Das VlsE-Protein erhöht

die Spezifität der Untersuchungsmethode und lässt unter Umständen Rückschlüsse auf das Stadium der Infektion zu. Der LIA fußt auf reinen, auf Membranen aufgesprühten, mittels rekombinanter Techniken hergestellten Proteinen, während der Western-Blot auf nativen, meist nicht genau definierten Borrelien-Antigenen, die im elektrischen Feld aufgetrennt werden, basiert. Inzwischen gibt es zudem Schnelltests, die nur das hochspezifische C6-Peptid, einem Teilbereich des VlsE-Proteins, enthalten.

Die Höhe des Spiegels der spezifischen Antikörper korreliert beim Pferd nicht mit dem klinischen Befund. Deshalb muss die Diagnose immer unter Berücksichtigung der feststellbaren, klinischen Veränderungen erfolgen.

Sollten sich die Verdachtsmomente für eine klinische Lyme-Borreliose beim Pferd verdichten, so ist eine Behandlung mit entsprechenden Antibiotika einzuleiten. Der Patient wird dabei während der ersten Behandlungswoche intensiv beobachtet. Tritt im Laufe der Behandlung keine klinische Besserung ein, ist die Therapie abzubrechen und andere Ursachen für die klinischen Veränderungen sind erneut abzuwägen und abzuklären.

Zur Prophylaxe und aktiven Immunisierung von Pferden ab einem Alter von 12 Wochen ist ein Impfstoff erhältlich, der Antikörper gegen das Oberflächenprotein OspA verschiedener Borrelien-Arten (*Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* und *Borrelia afzelii*) induziert. Diese Antikörper werden während der Blutmahlzeit von der Zecke aufgenommen und unterbinden die Borrelien-Wanderung von der Zecke in die Haut des Pferdes. Diese OspA-Antikörper entfalten ihre Wirkung letztendlich in der Zecke und außerhalb des Pferdes! Für die Grundimmunisierung werden zwei Dosen im Abstand von 2 bis 3 Wochen verabreicht. Mit einem wirksamen Schutz durch die induzierten OspA-Antikörper ist erst einem Monat nach der Grundimmunisierung zu rechnen. Für die Auffrischungsimpfung wird je eine Dosis zur Aufrechterhaltung der Immunität jährlich appliziert.

Wichtig für die Praxis

- beim Pferd verläuft die Lyme-Borreliose in der Regel subklinisch
- die klinische Verdachtsdiagnose ist durch weiterführende serologische Untersuchungen zu untermauern
- im Zweistufentest (ELISA + LIA/Western-Blot) werden spezifische infektionsbedingte Antikörper erfasst und von falsch-positiven Signalen sowie von impfinduzierten Antikörpern differenziert
- im Falle der Lyme-Borreliose muss der spezifische Antikörperspiegel nicht mit dem klinischen Befund korrelieren
- die Schutzwirkung der Impfung gegen die Lyme-Borreliose beruht auf die Wirkung von Antikörpern gegen des Oberflächenprotein OspA der Borrelien

Kontakt

Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie, Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen, Tierärztliche Fakultät, LMU München
R.Straubinger@lmu.de

Feldanästhesie beim Pferd - welches Regime?

Klaus Hopster

Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Total Intravenöse Anästhesien (TIVA)

Unter Feldbedingungen werden nahezu ausschließlich Total Intravenöse Anästhesien durchgeführt. Der Vorteil liegt im zum Teil geringeren technischen Aufwand, dem Wegfall der Arbeitsplatzkontamination mit Anästhesiegasen, einer besseren kardiovaskulären Funktion mit besseren Aufstehphasen, einer geringeren endokrinen Stressreaktion. Der Hauptnachteil der TIVA beim Pferd sind kumulative Effekte vieler Injektionsanästhetika und Analgetika, die zu einer zeitlich starken Beschränkung der möglichen Anästhesiedauer mit eingeschränkter Steuerbarkeit führen.

Die einfachste Durchführung einer Injektionsanästhesie ist die Bolusinjektion, die einmalig oder mehrmals intermittierend erfolgen kann. Diese Methode ist für Kurzanästhesien gut geeignet, es werden jedoch keine stabilen Plasmaspiegel erreicht, was sich in variierender Anästhesietiefe mit Schwankungen in den kardiopulmonalen Parametern widerspiegelt.

Eine kontinuierliche Verabreichung der Anästhetika führt zu gleichmäßigeren Plasmakonzentrationen und damit geringeren Schwankungen in der Anästhesietiefe. Dabei können die Medikamente in einer konstanten Mischung über eine Infusion („Triple-Drip“) verabreicht werden. Die Genauigkeit einer Dauertropfinfusion über eine Schwerkraftinfusion mit Tropfenzähler (übliche Größen 20 Tropfen pro ml) hängt von der Höhe über dem Boden ab und wird mit $\pm 10\%$ des angestrebten Volumens angegeben.

Narkoseeinleitung

Vor der Narkoseeinleitung sollten die Pferde tief sediert werden. Dabei empfiehlt sich eine Kombination aus einem Alpha-2-Agonist (Xylazin, Romifidin oder Detomidin) mit einem Morphinderivat (Butorphanol oder Levomethadon).

Eine einfache Form der Narkoseeinleitung ist die Verwendung von Ketamin (geringes Injektionsvolumen, kontrolliertes Ablegen). Dabei ist die zusätzliche Kombination mit einem zentralen Muskelrelaxans wie Diazepam, Midazolam oder Guaifenesin vorteilhaft, um eine bessere Muskelrelaxierung zu erreichen. Durch den einmaligen Ketaminbolus erreicht man ein OP-fähiges Narkosestadium mit einer Dauer von 10 bis 15 Minuten.

Kurzanästhesien

Kurzanästhesien mit einer Dauer von >10 Minuten sind gut über intermittierende Bolusinjektionen durchzuführen. Dabei hat eine Xylazin-Ketamin Kombination den Vorteil, dass die Wirkdauer von Xylazin und Ketamin sehr ähnlich ist. Die Anästhesie kann durch Nachdosierung der Hälfte der jeweiligen Einleitungs-dosis von Xylazin und Ketamin in der Mischspritze aufrechterhalten werden.

Unter der Einwirkung von Ketamin bleiben die Schutzreflexe erhalten und es können starke Augenbewegungen vorhanden sein und eine Abschätzung der Anästhesietiefe über die Beurteilung der Schutzreflexe ist sehr schwierig. Da vor allem nach der ersten Bolusinjektion die anästhetische Wirkung des Ketamins nicht durch Ausscheidung sondern durch Umverteilung beendet wird, kann es zu einem sehr plötzlichen Erwachen kommen. Deshalb ist es empfehlenswert nicht nur nach Wirkung zu dosieren, sondern nach Zeit (z. B. alle 10 Minuten Ketamin). Für das Auftreten von sehr starken Abwehrbewegungen sollte das schnell wirksame Barbiturat Thiopental bereitgehalten werden, da Ketamin einen vergleichsweise langen Wirkungseintritt (2-3 Minuten) hat.

Narkosen mit einer Dauer von >20 Minuten

Ist eine Anästhesiezeit von mehr als 20 Minuten absehbar, ist die Aufrechterhaltung mit einer Kombination von Guaifenesin, Ketamin und Alpha-2-Agonist („Triple Drip“) eine häufig verwendete und in der Handhabung einfache Methode. Die kontinuierliche Applikation über den Dauertropf bietet dabei verschiedene Vorteile: Neben der einfachen Handhabung werden durch die gleichmäßige Applikation der Pharmaka konstante Plasmaspiegel und damit gleichförmige Anästhesietiefen erreicht. Zudem wird i.d.R. auch ein Anästhetikum-sparender Effekt beobachtet, der seinerseits das intraoperative Narkoserisiko reduziert und auch das Aufstehverhalten verbessert. Der „Triple Drip“ wird mit einer vorberechneten Infusionsrate begonnen und danach üblicherweise nach Wirkung, d.h. ebenfalls nach Toleranz des chirurgischen Eingriffs angepasst. Nach 60 Minuten Infusionszeit sollte die Infusionsrate noch einmal deutlich reduziert werden, um eine übermäßige Kumulation der enthaltenen Wirkstoffe zu vermeiden.

Eine Anästhesieeinleitung oder Kurzanästhesie über 20-30 Minuten können auch mit Thiopental erreicht werden. Auch dabei ist eine Kombination mit Guaifenesin vorteilhaft, um unkontrolliertes Ablegen zu verhindern. Ein Vorteil bei der Verwendung von Thiopental ist die gute Steuerbarkeit der Narkosetiefe anhand okulärer Reflexe. Längere Narkosen oder häufiges nachdosieren mit Thiopental führen jedoch zu sehr schlechten Aufstehphasen. Hohe Dosen können zu Apnoe führen, was vor allem bei Feldanästhesien ebenfalls problematisch sein kann.

Die Kumulation von Guaifenesin kann zu Muskelschwäche und Ataxie in der Aufwachphase führen, deshalb sollte bei der Einleitung der Anästhesie auf Guaifenesin verzichtet werden und nur zur Erhaltung der Anästhesie infundiert werden.

Begleitende Maßnahmen

Bei den ketaminbasierten Anästhesien bleibt in der Regel die Spontanatmung erhalten, aber auch bei erhaltener Spontanatmung entwickelt sich aufgrund reduzierter Lungendurchblutung und Atelektasenbildung der unten liegenden Lungenanteile unter Raumlüftung eine Hypoxämie. Deshalb sollte bei Eingriffen in Rückenlage mit einer Dauer von mehr als 30 Minuten Sauerstoff zur Insufflation (15 l/min) zur Verfügung stehen. Eine Intubation ist bei Ketamin TIVA Protokollen nicht zwingend notwendig, aber trägt durch eine Offenhaltung der zum Teil stark relaxierten oberen Atemwege zu einer ruhigeren Atmung und dadurch ruhigeren Anästhesie bei.

Bei der Verwendung von Thiopental kann eine starke Atemdepression bis hin zur Apnoe auftreten. Deshalb sollte die Möglichkeit zur Intubation und zur Beatmung bei der Verwendung dieser Protokolle zur Verfügung stehen.

Literatur

Die Literatur zu diesem Manuskript kann beim Verfasser erfragt werden.

Kontakt

Dr. Klaus Hopster, Fachtierarzt für Anästhesie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Klaus.hopster@tiho-hannover.de

Hygienemanagement in der Pferdemedizin

Stephanie Speck¹, Iris Lange¹, Gerd Möbius¹, Walter Brehm² und Uwe Truyen¹

¹Institut Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, ²Chirurgische Tierklinik, Universität Leipzig

Die Tierhygiene beschäftigt sich mit der Verhütung von Infektionskrankheiten in der Regel durch Erreger-unspezifische Maßnahmen. Sie ist in ihrer Gesamtheit ein integraler und wichtiger Bestandteil der Tierseuchenbekämpfung, sie verhindert Seuchenausbrüchen und die Ausbreitung von Erregern und dient dabei der Gesunderhaltung der Tiere und Tierbestände. Sie stellt darüber hinaus sicher, dass Lebensmittel tierischer Herkunft aus gesunden Tieren produziert werden können, was auch in der Pferdemedizin eine Rolle spielt

Die Tierhygiene in der Pferdemedizin ist komplex und unterscheidet sich von der bei anderen Tierarten. Die tierhygienischen Maßnahmen sind dabei vor allem aber nicht ausschließlich auf das Einzeltier ausgerichtet, wobei die Bestandshygiene jedoch ein Schwerpunkt sein sollte.

Die Tierhygiene in der Pferdemedizin umfasst zum einen die Hygiene der tierärztlichen Praxis mit den Schwerpunkten Desinfektion und Sterilisation und Arbeitsschutz, zum anderen auch den Bereich Tierhaltung mit dessen spezifischen Anforderungen. Bei der Aufnahme von Patienten, bei der Behandlung von Patienten in der Klinik oder auch Herkunftsbestand sowie bei der Verwendung von Tieren als Blutspender sind tierseuchenrechtliche Vorgaben zu beachten.

Der Tierarzt spielt auch hier eine wichtige Rolle als potentieller Überträger von Keimen und muss zu ihrer Vermeidung besondere Maßnahmen treffen. Die Frage der Haftung ist auch hier von Bedeutung.

All diese Punkte sollen in diesem Schwerpunkt besprochen werden und am Beispiel einer sächsischen Universitätspferdeklinik veranschaulicht werden.

Kontakt

Prof. Dr. Uwe Truyen, Institut Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Universität Leipzig
truyen@vmf.uni-leipzig.de

Management bei Ausbrüchen von Infektionskrankheiten (EHV, EIA, Influenza)

Klaus Osterrieder

Institut für Virologie, Universität Berlin

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

1

Multiresistente Infektionserreger und Hygienemanagement in der Pferdemedizin

Birgit Walther, Antina Lübke-Becker

Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Zentrum für Infektionsmedizin, Freie Universität Berlin

Nosokomiale Infektionen

Wie in nahezu allen Bereichen der Veterinärmedizin treten auch bei der medizinischen Versorgung equiner Patienten immer öfter Probleme durch antibiotikaresistente Infektionserreger auf, wie verschiedene Studien unter anderem zur veränderten Resistenzlage von Infektionserregern beim Pferd allgemein (1), bei Fohlen mit Sepsis (2), bei Wundinfektionen durch *Staphylococcus aureus* (3) sowie bei hospitalisierten Pferden (4, 5) zeigen. In diesem Zusammenhang kann es, insbesondere in größeren Praxen und Pferdekliniken zu hospital-assoziierten (auch: nosokomialen) Infektionen kommen. (6)

Im Infektionsschutzgesetz (IfSG, §2) sind nosokomiale (gr.: Nosokomeion: Krankenhaus) Infektionen wie folgt definiert: "Eine Infektion mit lokalen oder systemischen Infektionszeichen als Reaktion auf das Vorhandensein von Erregern oder ihrer Toxine, die im zeitlichen Zusammenhang mit einer stationären oder einer ambulanten medizinischen Maßnahme steht, soweit die Infektion nicht bereits vorher bestand." Auch in Pferdekliniken nehmen Berichte zu (z.T. vermutlich) nosokomialen Ausbrüchen in den letzten Jahren zu. (7-14)

Im folgenden Beitrag sollen die bei Pferden am häufigsten auftretenden resistenten Infektionserreger, das Infektionsrisiko equiner Patienten durch nosokomiale Infektionen sowie grundlegende Aspekte eines sinnvollen Hygienemanagements erläutert werden.

Resistente bakterielle Infektionserreger bei Pferden

Im Prinzip sind die resistenten Infektionserreger in der Pferdemedizin die gleichen opportunistischen Infektionserreger die wir auch in der Human- und Kleintiermedizin vorfinden: Hierzu zählen u.a. MRSA, Extended Spektrum Beta-Laktamase (ESBL)-bildende Enterobacteriaceae sowie *Acinetobacter baumannii*. (15) Alle genannten Infektionserreger sind oftmals bei gesunden Tieren auf der Haut- und Schleimhaut vorhanden und damit Bestandteil der physiologischen Besiedlung durch Bakterien (Mikrobiota). Überwinden diese Bakterien jedoch die natürlichen Grenzen des Körpers, können sie an anderer Stelle (Wunde, Blut, Peritoneum, Thorax, Gelenk, Venenkatheter etc.) eine Infektion auslösen. (16)

Hygienemanagement

Die wesentlichen drei Säulen des Hygienemanagements sind eine gut sichtbare Leitungs- und Vorbildfunktion der verantwortlichen Tierärzte, die regelmäßige Aufklärung, Motivation und Fortbildung aller Mitarbeiter sowie klare und leicht verständliche Handlungsanweisungen für hygienisch kritische Bereiche, Maßnahmen und Gegenstände. (15)

Man mag sich an das Sprichwort mit dem Kopf und dem Fisch erinnert fühlen, aber der wesentliche und signifikante Einfluss des Verhaltens der leitenden Ärzte beispielsweise auf die Händehygiene-Compliance der Mitarbeiter und die Bedeutung der Vorbildfunktion ist unbestritten. Eine Studie zu diesem Thema zeigte, dass wenn der leitende Arzt eines Teams beim Betreten eines Patientenzimmers eine Händedesinfektion durchführte, die durchschnittliche Händedesinfektions-Compliance im Gesamtteam bei 66% lag, während bei mangelhafter Händehygiene der leitenden Ärzte diese Rate nur bei 42% lag ($p < 0.001$). (17)

Durch regelmäßig wiederkehrende Informationsveranstaltungen werden die Mitarbeiter über Hygienemaßnahmen und –strukturen informiert bzw. fortgebildet. (18) Dies dient nicht nur dem Schutz der equinen Patienten, denn die meisten nosokomialen Infektionserreger besitzen einen zoonotischen Charakter, d.h. die Transmission auf den Menschen und zurück zum Tier ist grundsätzlich möglich. Daher müssen auch die Grundsätze des Arbeitsschutzgesetzes berücksichtigt und kommuniziert werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt der Kommunikation ist die Rückmeldung von Erfolgen bzw. Misserfolgen: Hier kann z.B. die Surveillance für Indikatorinfektionen (v.a. postoperative Wundinfektionen) einen wichtigen Beitrag leisten. (19)

Zu den weiteren unabdingbaren Voraussetzungen für die erfolgreiche Umsetzung von Hygienemaßnahmen gehört ein schriftlich niedergelegtes Konzept, z. B. in Form eines Hygieneplans einschließlich konkreter Handlungsanweisungen bzw. Durchführungsvorschriften (Standard Operating Procedures; SOP's). (15) Folgende Bereiche sollten hierbei erfasst werden: Organisationsstruktur der Klinikhygiene, Personahygiene, Händehygiene, Maßnahmen bei bestimmten Infektionskrankheiten, Maßnahmen am Patienten (u.a. Anlegen eines Venenkatheters, Verbandswechsel, Umgang mit Infektionen durch resistenten Infektionserreger), Reinigung und Desinfektion, Materialaufbereitung, Versand von Untersuchungsmaterialien, Wäscheversorgung und Wäscheentsorgung, Entsorgung sowie spezielle Hygienepläne für bestimmte Einheiten (OP etc.). (15)

1

Literatur

1. Peyrou M, Higgins R, Lavoie JP. Evolution of bacterial resistance to certain antibacterial agents in horses in a veterinary hospital. 2003; *Can Vet J* 44:978-981.
2. Theelen MJ, Wilson WD, Edman JM, Magdesian KG, Kass PH.. Temporal trends in in vitro antimicrobial susceptibility patterns of bacteria isolated from foals with sepsis: 1979-2010. 2014; *Equine Vet J* 46:161-168.
3. Vincze S, Stamm I, Kopp PA, Hermes J, Adlhoch C, Semmler T, Wieler LH, Lubke-Becker A, Walther B. 2014; Alarming Proportions of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Wound Samples from Companion Animals, Germany 2010-2012. *PLoS One* 9:e85656.
4. Koterba A, Torchia J, Silverthorne C, Ramphal R, Merritt AM, Manucy J. Nosocomial infections and bacterial antibiotic resistance in a university equine hospital. 1986; *J Am Vet Med Assoc* 189:185-191.
5. Mair TS, Smith LJ. Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 2: Short-term complications. 2005; *Equine Vet J* 37:303-3039.
6. Walther B, Lübke-Becker A, Stamm I, Gehlen H, Barton AK, Janssen T, Wieler LH, Guenther S. Suspected nosocomial infections with multi-drug resistant *E. coli*, including extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains, in an equine clinic. 2014; *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 127:421-427.
7. Anderson ME, Lefebvre SL, Rankin SC, Aceto H, Morley PS, Caron JP, Welsh RD, Holbrook TC, Moore B, Taylor DR, Weese JS. Retrospective multicentre study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in 115 horses. 2009; *Equine Vet J* 41:401-415.
8. Bauerfeind R, Wieler LH, Weiss R, Baljer G. Comparative plasmid profile analysis of *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen strains from a *Salmonella* outbreak in hospitalized horses. 1992; *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 105:38-42.
9. Bergstrom K, Aspan A, Landen A, Johnston C, Gronlund-Andersson U. The first nosocomial outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses in Sweden. 2012; *Acta Vet Scand* 54:11.
10. Cuny C, Strommenger B, Witte W, Stanek C. Clusters of infections in horses with MRSA ST1, ST254, and ST398 in a veterinary hospital. 2008; *Microb Drug Resist* 14:307-310.
11. Ekiri AB, MacKay RJ, Gaskin JM, Freeman DE, House AM, Giguere S, Troedsson MR, Schuman CD, von Chamier MM, Henry KM, Hernandez JA. Epidemiologic analysis of nosocomial *Salmonella* infections in hospitalized horses. 2009; *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association* 234:108-119.

12. Sieber S, Gerber V, Jandova V, Rossano A, Evison JM, Perreten V. Evolution of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* infections in horses and colonized personnel in an equine clinic between 2005 and 2010. 2011; *Microb Drug Resist* 17:471-478.
13. van Duijkeren E, Moleman M, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MMS, Mullem J, Troelstra A, Fluit AC, van Wamel WJB, Houwers DJ, de Neeling AJ, Wagenaar JA.. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel: An investigation of several outbreaks. 2010; *Vet Mic* 141:96-102.
14. Weese JS, Rousseau J, Willey BM, Archambault M, McGeer A, Low DE. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses at a veterinary teaching hospital: frequency, characterization, and association with clinical disease. 2006; *J Vet Intern Med* 20:182-186.
15. Walther B, Janßen T, Gehlen H, Vincze S, Borchers K, Wieler LH, Barton AK, Lübke-Becker A. Infektionsprävention und Hygienemanagement in Pferdekliniken. 2014; *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 127:486-497.
16. Wieler LH, Ewers C, Guenther S, Walther B, Lübke-Becker A. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. 2011; *Int J Med Microbiol* 301:635-641.
17. Haessler S, Bhagavan A, Kleppel R, Hinchey K, Visintainer P. Getting doctors to clean their hands: lead the followers. 2012; *Bmj Quality & Safety* 21:499-502.
18. Friedrich AW, Friedrich KG, Walther B, Lübke-Becker A, Wieler LH. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections in a modern animal hospital - professional infection management (article in German). 2004; *Der praktische Tierarzt* 85:742-747.
19. Gastmeier P, Rüden H. Epidemiologie und Surveillance nosokomialer Infektionen. 2001; Vol 1. Urban und Fischer, Greifswald / Tübingen.

Kontakt

Dr. Birgit Walther, Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Fachbereich Veterinärmedizin, Zentrum für Infektionsmedizin, Freie Universität Berlin
birgit.walther@fu-berlin.de

Desinfektion in Praxis, Klinik und Ambulanz

Birgit Hunsinger

LABOKLIN GmbH & Co.KG, Bad Kissingen

Einleitung

Nosokomiale Infektionen stellen zunehmend auch in der Pferdepraxis ein Problem dar (1). Um das Risiko dieser Klinik-assoziierten Infektionen bei den Patienten zu minimieren, aber auch um Mitarbeiter und Patientenbesitzer vor Infektionen zu schützen, stellt Hygiene die Grundvoraussetzung dar. Ein vielfältiges, sich ständig wandelndes Keimspektrum stellt dabei höchste Anforderungen an das Hygienemanagement in der Praxis. Daneben existieren in Pferde-, Gemischt- und Kleintierpraxen aber auch innerhalb der einzelnen Praxisarten sehr unterschiedliche bauliche Gegebenheiten und Ausstattungen. Dies muss bei der Auswahl geeigneter Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen berücksichtigt werden.

Baulich-funktionale Anforderungen

Effektive Desinfektion ist am besten auf glatten, leicht zu reinigenden und desinfektionsmittelbeständigen Oberflächen gewährleistet (2,3). Während in Behandlungs- und Operationsräumen neben den Fußböden in der Regel auch Wandflächen sicher desinfiziert werden können und das Inventar für eine tägliche Feuchtreinigung bzw. Wischdesinfektion der Oberflächen geeignet ist, finden sich insbesondere in Bereichen zur stationären Aufnahme der Patienten häufig noch schwer zu desinfizierende, raue, unversiegelte Oberflächen.

Desinfektion

Für die Desinfektion stehen physikalische und chemische Verfahren zur Verfügung. Physikalische Verfahren kommen alleine oder in Kombination mit chemischen Verfahren, insbesondere bei der Aufbereitung von Medizinprodukten zur Anwendung (u.a. Autoklav). Sie stellen einen wesentlichen Baustein im Hygienemanagement dar und sollten regelmäßigen Funktionskontrollen unterzogen werden, da eigene Untersuchungen zeigten, dass ca. 8% der eingesetzten Geräte gar keine Sterilisationsleistung mehr, und weitere 4% erhebliche Mängel aufwiesen (n=191).

In der Praxis stellen die chemischen Desinfektionsmittel den weitaus größten Anteil und werden insbesondere bei der Flächen-, Hände- und Instrumentendesinfektion eingesetzt. Die zentrale Bedeutung der beiden letztgenannten bei der Unterbrechung von Infektketten ist unbestritten, kann hier aber nicht näher behandelt werden.

Zu den wichtigsten Wirkstoffgruppen zählen Oxidationsmittel (Halogene, Sauerstoffabspalter), Alkohole, oberflächenaktive Verbindungen (quaternäre Ammoniumverbindungen, Biguanide), Aldehyde, Säuren und Laugen (2, 3, 4), die sich aber hinsichtlich Wirkspektrum; Einfluss von Umweltfaktoren (z.B. Verschmutzung, Temperatur), Arbeits- und Umweltsicherheit, Rückstandsproblematik und Materialverträglichkeit unterscheiden. So ist auch zu beachten, dass viele Desinfektionsmittel nicht für alle Klassen von Infektionserregern (u.a. Sporenbildner, Pilze, Parasiten) geeignet sind. Zudem sind einige Desinfektionsmittel bei niedrigen Temperaturen (<15°C) oder bei größerer Verschmutzung nicht oder nur noch sehr eingeschränkt wirksam.

Es sollten daher, unabhängig davon, ob es sich um eine routinemäßige vorbeugende oder eine spezielle Desinfektion (bei konkretem Gefährdungspotential durch bekannte Erreger) handelt, nur Desinfektionsmittel zum Einsatz kommen, die für den jeweiligen Anwendungsbereich geprüft wurden.

1

Während in der Praxis Produkte verwendet werden sollten, die in der Desinfektionsmittelliste der DVG für den Bereich „Tierärztliche Praxis und Tierheime“ gelistet sind, sollten Desinfektionsmittel sowie deren Anwendungskonzentrationen und Einwirkungszeiten für den stationären Stallungsbereich oder Außenbereiche aus der „Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und für wirksam befundenen Desinfektionsmittel für den Tierhaltungsbereich“ gewählt werden (www.desinfektion-dvg.de).

Daneben können Flächendesinfektionsmittel für den Einsatz im Praxisbereich sowie die Hände- und Instrumentendesinfektion für die routinemäßige Desinfektion der aktuellen Desinfektionsmittelliste des VAH (Verbund für angewandte Hygiene) und bei meldepflichtigen übertragbaren Krankheiten der „Liste der vom Robert Koch-Institut (RKI) geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und –verfahren“ entnommen werden. Hier sind jedoch insbesondere bei der Flächendesinfektion die Prüfbedingungen und die Zielrichtung der Prüfung eine andere und es werden gegebenenfalls nicht alle in der Veterinärmedizin relevanten Krankheitserreger erfasst.

Der Vorteil in der Anwendung DVG-gelisteter Produkte besteht darin, dass diese mit für den jeweiligen Anwendungsbereich repräsentativen Prüforganismen (Bakterien, Hefen, Pilze, Viren, Parasiten) in praxisorientierten Tests validiert wurden. So werden die wesentlichen praxisrelevanten Einflussfaktoren bei der Prüfung der Desinfektionsmittel und die spezifischen Erfordernisse für die tierärztliche Praxis (glatte, geringer verschmutzte Oberflächen, Raumtemperatur) bzw. Tierhaltungsbereich (glatte Oberflächen und Holz, hohe Verschmutzung, Raumtemperatur und geringe Temperaturen) berücksichtigt.

Reinigung und Desinfektion gehören in den meisten Anwendungsbereichen als Maßnahmen zur Keimreduktion auf Oberflächen zusammen. Wenn jedoch Gefahr der Verbreitung und/oder direkten Übertragung von Infektionserregern besteht, wird die Folge erst die Reinigung dann die Desinfektion nicht eingehalten, sondern erst desinfiziert. In der Regel gefolgt von einem zweiten Desinfektionsschritt nach der Reinigung, um die Restkontamination herabzusetzen (2,3).

Bei der vorbeugenden Flächendesinfektion in der Praxis können sichtbare Verschmutzungen zuerst mit Zellstoff aufgenommen werden, da grobe Verschmutzungen die Keime umhüllen und sie dadurch der Einwirkung des Desinfektionsmittels entziehen, bzw. durch vorhandene Eiweiße die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels herabsetzen.

Danach wird das Desinfektionsmittel nach Herstellerangaben auf die trockene Fläche aufgebracht und während der Einwirkungszeit belassen (ohne Mechanik), oder mechanisch verteilt (Scheuer- und/oder Wischdesinfektion).

Das Aufsprühen von Desinfektionsmitteln auf die Oberflächen ist nur in Ausnahmefällen vertretbar, da der Kontakt mit den Keimen bzw. die Benetzung der Flächen nicht intensiv genug ist und die Atemluft mit unerwünschten Stoffen angereichert wird. Es sollte daher nur bei sehr schlecht zugänglichen Flächen angewendet werden.

Die mit Desinfektionsmittel benetzten Flächen sollten während der vorgegebenen Einwirkungszeit ggf. nachbenetzt und nicht nachgetrocknet werden. Nach massiver Kontamination und bei konkretem Gefährdungspotential durch bekannte Erreger oder zur Schlusdesinfektion am Ende eines Arbeitstages, sollte ein Verfahren gewählt werden, das die Anwesenheit von Desinfektionsflüssigkeit während der gesamten Einwirkzeit sicherstellt. Dies kann z.B. durch Fluten oder Auflegen von mit Lösung getränkter Zellstofftücher erreicht werden.

Sachgerechte Anwendung

Für ein erfolgreiches Reinigungs- und Desinfektionskonzept spielt die sachgemäße Anwendung der Desinfektionsmittel eine entscheidende Rolle.

Hier ist vor allem auf die Einhaltung der vom Hersteller angegebenen Anwendungskonzentration, Einwirkzeit und Aufbringmenge je Fläche zu achten, da bei Unterdosierung durch zu geringe

Wirkstoffkonzentrationen und zu kurze Einwirkzeiten der gewünschte Desinfektionserfolg ausbleibt und darüber hinaus das Risiko der Entstehung von Desinfektionsmittel-Resistenzen besteht.

Während Händedesinfektionsmittel in gebrauchsfertigen Abpackungen angeboten werden, werden Flächendesinfektionsmittel meist als Konzentrate geliefert. Bei manueller Herstellung der Gebrauchsverdünnung müssen Dosierhilfen verwendet werden, z.B. Messbecher, Dosierpumpen oder Abpackungen, die eine auf einen Eimer Wasser abgestimmte Portion enthalten. Das Zugeben eines „Schusses“ vom Desinfektionsmittel zum Wasser ist nicht akzeptabel.

Desinfektionsfrequenz

Reinigungs- und Desinfektionsfrequenzen müssen sich an der Nutzung der Räume orientieren. Für Operations- und Behandlungsraum wird empfohlen zwischen den Patienten alle kontaminierten Flächen zu desinfizieren und Instrumente, Geräte und Hilfsmittel umgehend nach Gebrauch zu reinigen und ggf. zu desinfizieren. Eine Schlusdesinfektion (Desinfektion nach Betriebsende) im Praxisbetrieb ist abends sinnvoll, da so auch längere Einwirkzeiten der Desinfektionsmittel eingehalten werden können. Hierbei sollten auch Türen, Türklinken, Fußböden, und ggf. Wandflächen mit einbezogen werden.

Begrenzte zur Verfügung stehende Zeit für die ordnungsgemäße Durchführung der Reinigung und Desinfektion aber auch mangelnde Kenntnis oder Motivation der Verantwortlichen für die Durchführung stellen Hauptgründe für ein Versagen der Desinfektionsmaßnahmen dar.

Durch Desinfektionspläne und -kontrollen sollen diese Maßnahmen für das Personal übersichtlicher gestaltet und der Erfolg der ergriffenen Maßnahmen gewährleistet werden.

Die Einhaltung guter Hygiene dient primär den Patienten, sichert aber auch die Qualität der Dienstleistung und der tierärztlichen Praxis. Nicht zuletzt dient sie auch dem Tierarzt, der sich durch den Nachweis eines Qualitätsmanagements vor Regressansprüchen schützen kann.

Literatur

1. Ruple-Czerniak AA, Aceto HW, Bender JB, Paradis MR, Shaw SP, Van Metre DC et al. Syndromic surveillance for evaluating the occurrence of healthcare-associated infections in equine hospitals. *Equine Vet J* 2014;46(4):435-40.
2. Traverse M, Aceto H. Environmental Cleaning and disinfection. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2015;45(2):299-330.
3. Böhm R: Grundlagen der Reinigung und Desinfektion. In: Strauch D, Böhm R Herausgeber. *Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft.* 2. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2002. S. 19-64.
4. Perry K, Caveney L. Chemical disinfectants. In: Caveney L, Jones B Herausgeber. *Veterinary infection prevention and control.* 1st edition Chichester (United Kingdom): Wiley-Blackwell John Wiley and Sons; 2012. S. 129-43.

Weitere Literatur beim Verfasser

Kontakt

Dr. Birgit Hunsinger, LABOKLIN GmbH&Co.KG, Bad Kissingen
hunsinger@laboklin.de

Evidence based hand hygiene in veterinary surgery: What is holding us back?

Denis Verwilghen

Department of Large Animal Sciences, University of Copenhagen, Denmark

As medicine progresses, we have adapted our decision-making to the light of new scientific evidence. As much as possible, recommended medical protocols should now be evidence-based (1), which may result in changes in diagnostic methods and treatments in veterinary medicine (2) as in human medicine. Despite this paradigm shift, in the field of hand hygiene, things have evolved slowly. Surely, the field has advanced since 1800's, when Semmelweis and Lister were making seminal (yet controversial) discoveries of the benefits of hand hygiene and laid foundations for the concepts of asepsis and vigorously fought the disbelief they were facing. Yet, are we open-heartedly embracing evidence today?

According to a survey performed in 2009 amongst ECVS and ACVS diplomates, 6.7% of respondents were following World Health Organisation's (WHO) guidelines for pre-surgical hand asepsis (3). Unfortunately, in a survey performed in 2013, still 66% of the 218 respondents (4) did not follow the current WHO guidelines based on the scientific evidence available today in this field. So what do current guidelines and evidence say? Additionally, what is right; current guidelines or current practices?

A variety of methods for surgical hand preparation are available. Aqueous solutions containing either povidone-iodine (PVP) or chlorhexidine gluconate (CHX) have been standard for many decades, but alcohol-based hand rubs (AHR) have been described for surgical hand-preparation for more than a century (5). Although, no randomized controlled trials have been conducted showing any significant differences in surgical site infection (SSI) rates between above mentioned methods, the AHR method is considered superior for a number of reasons (6,7). The antibacterial efficacy of products containing high concentrations of alcohol was shown to surpass significantly that of any medicated soap currently available (8). The initial reduction of the resident skin flora (microbiota) is so rapid and effective with AHR that bacterial regrowth to baseline values on the gloved hand takes more than 6 hours (9). These observations also were confirmed in a veterinary trial that compared the activity of a AHR solution to CHX and PVP soap (10). In that study, a 1.5min application of an AHR solution was performed, the 3h residual effect on CFU reduction of AHR was in particular shown to be significantly better than for traditional hand scrubbing with PVP and CHX. It should be noted that when choosing a AHR solution, the product should meet the EN12791 or equivalent standard required for pre-surgical hand-rub formulations (11). Many available hygienic gels will for instance not meet the surgical standards and are therefore not recommended.

The purpose of both a surgical scrub with medicated soaps and that of a surgical hand rub is to remove and/or kill transient skin organisms and to reduce resident microbiota for the duration of a surgical procedure in order to reduce the risk of SSI. These goals should be achieved while minimizing damage to the skin that might promote rebound bacterial overgrowth or compromise future hand antiseptics attempts. The transient microbiota is acquired by contact with people, animals and contaminated surfaces. It colonises the superficial layers of the skin and is the most common cause for inducing SSI. The resident microbiota is a more established, deeper component of the microbiota that is regarded as less pathogenic on intact skin. Amongst its functions, microbial interference as a mean of defence against bacterial infection is one of the most important. Techniques involving aggressive cleaning of the skin with alkaline medicated soaps, like CHX scrubs

will have deleterious effects on the skins local defence mechanisms (12). Moreover, besides not having shown additional effect on bacterial reduction (13), techniques involving brushes and scrubbing cause small excoriations and therefore damage to the skin; which in turn increases the risk of skin colonization by pathogenic species (14). Yet, 44% of the respondents to our survey state they always use brushes for their preparation. Current recommendations are to use soft sponges, if any, for hands and forearms, only if visibly soiled and brushes for fingertips (15).

About 17% of survey respondents used a medicated scrub technique combined with an AHR, in clear contradiction to published evidence and recommendations. Medicated soaps are either less effective or have a similar efficacy to hand rubs. A first scrub with medicated soaps instead of a first rub will not result in increased reduction of microbiota (10). On the contrary, long-term use of medicated soaps increases the risk of dermatitis, making the skin more difficult to decontaminate, and combination of medicated soaps and AHR likely increase the risk of skin damage while providing no demonstrable positive effect. Further, prior hand-washing can alter the effectiveness of AHR solutions (16), particularly if hands are not completely dried before AHR application. Hand washing also increases preparation time, cost, increases carbon footprint and water usage (17,18). It is estimated that 20L of water is used per hand when preparing with medicated soaps. Faucets are also common sources of *Pseudomonas* spp. and other Gram-negative bacteria; the rinsing phase of traditional soap method can therefore result in a recontamination of the hands prior to gloving (15). Considering the above, it has been suggested there is no reason to include a hand wash before AHR solutions are applied (16,19) and that hands should only be washed if they are visibly soiled. However, compared with human hospitals, the bacterial burden in veterinary settings may be higher, especially for large animal surgeons. Until further objective data are available, it is our opinion that a short hand-wash with a gentle soap (pH neutral) should precede the AHR application. In this way, bacterial spores mostly carried in organic material on hands can be eliminated.

A new and more worrying aspect supporting reduced use of medicated soaps is the emergence of increased acquired resistance towards antiseptics (20,21). Particularly the prevalence of *Staphylococcus aureus* carrying chlorhexidine resistance gene *qacA/B* has been shown to increase in the hospital environment (22). The overuse of CHX scrubbing soaps, which results in spreading of large quantities of diluted active substance, which is more likely to be bacteriostatic than bactericidal, could be a creeping problem comparable to antibiotic resistance. Due to the fast killing activity of alcohol and the lack of any known (or plausible) genetic mechanisms that would allow for transmission of inherent alcohol resistance, acquired resistance to AHR has not been shown to date nor is it likely to be encountered, providing another major reason to move towards these products.

Also, outside the closed environment of the surgery theatre, transmission of microbial pathogens by the hands of healthcare workers during patient care plays a crucial role in the occurrence of SSI and other hospital acquired infections (HAI's). Hand hygiene is therefore regarded as one of the most effective measures to contain these. Several reports have shown temporal association between interventions to improve hand-hygiene measures, compliance rates and/or reduced infection rates. A recent British report evaluating the "Clean your hand" campaign showed that in the 4-year study period, the AHR use per bed day raised more than a twofold simultaneously with a twofold decrease in MRSA (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) bacteremia and *Clostridium difficile* infections (23), strongly emphasising the importance of these measures. In order to achieve these results compliance with hand hygiene measures should be improved. The weakest link here seems to be the surgeons and physicians since compliance of these reveals to be much more difficult to obtain than from the nursing staff (24,25). The introduction of AHR's and improving the accessibility of materials, has been identified as associated with higher hand hygiene compliance rates (26). New technologies are underway to monitor electronically the compliance in human health care, with financial incentives

for health care staff. Ultimately, however, increased awareness and personal responsibility by all personnel is critical for improving hand hygiene rates.

Table 1: Hand health scores from 2013 surgical preparation survey (4), based on “hand and skin self-assessment tool” WHO guidelines appendix 3 (15). 7 point based scale with 1 being abnormal and 7 normal. The overall score is based on the mean of the 4 individual assessments. Scores are reported as medians. Overall Scores: * significantly different from A, B and E. Intactness: ¥ significantly different from C and D. Moisture content: ∞ C and D significantly different from A,B and E but not from each other.

Protocol		Appearance	Intactness	Moisture Content	Sensation	Overall Score
A	Antimicrobial scrub (n=91)	7	6	5	7	6.25
B	Antimicrobial Scrub followed with AHR (n=45)	7	6*	5	7	5.75
C	Neutral Soap followed by AHR (n=35)	7	6	6 [∞]	7	6.75*
D	AHR only (n=15)	7	7	7 [∞]	7	6.75*
E	Alcohol Chlorhexidine combination (n=24)	7	6	5	7	6

It is clear that the veterinary occupation also has a real impact on the health of our skin. Not only is medical staff known to acquire more pathogenic resident microbiota over time (27), a high proportion of healthcare workers develop occupational dermatitis mostly related to repeated washing with chlorhexidine soaps (28,29). Conflictingly, one of the most important determinants of healthcare workers resistance to change to AHR is the belief that AHR's are more harmful to their skin than soap and water (30,31). Each hand wash detrimentally alters the lipid layer of the superficial skin creating loss of protective agents such as amino acids and natural antimicrobial factors. Prolonged and repeated washing leads to damaged barrier function of the stratum corneum resulting in the skin becoming more permeable for toxic agents and bacteria. On the other hand, AHR solutions have shown greater skin tolerance than soaps (32), including in veterinary settings (10). This corroborates the results from the above mentioned survey (4) in which preliminary results show that surgeons using antimicrobial soaps as pre-surgical hand-preparation methods have lower overall hand health scores as monitored by WHO guidelines. Particularly in the evaluation of moisture content, surgeon using antimicrobial soaps report significantly dryer hands than those using AHR solutions (Table 1). This is mainly due to the absence of the above mentioned deleterious effects of soap washing combined with the fact that AHR products contain humectants and need shorter application times (30). Further, although lipid layers are also dissolved with AHR, they are not washed away but rather reincorporated by the action of rubbing. As mentioned before, unnecessary washing should be avoided, particularly with hot water (28).

In our latest survey (4), 89 respondents stated they believe AHR are superior than traditional hand scrubbing techniques for obtaining hand asepsis. Nevertheless, over 42% of these respondents

report the use antimicrobial soaps in their protocol, clearly indicating lack of compliance with their own beliefs. Potentially, the fact that many surgeons consider the act of scrubbing as an “ancestral ritual” towards preparation to surgery may prevent them from shifting to more efficient protocols (25). In addition, this may highlight the fact that involvement of the hospital management in setting up changes in hand hygiene policies is essential (33). The use of campaigns and internal training sessions has shown great benefit (24,25) in increasing hand hygiene compliance amongst staff in human medicine. Similar initiatives should be made in veterinary medicine in order to obtain better compliance with the application of current knowledge on hand hygiene. Considering the application technique of AHR is important and the use of hand scrubs is probably less prone to errors as all parts of the hands and arms get wet under the tap, good education is mandatory when introducing AHR.

As a conclusion, in order to comply with current medical standards the veterinary community should aim at introducing AHR solutions in both the pre-surgical and hygienic surgical hand disinfection protocols.

It is in our hands!



Saubere Hände retten Leben

Pre Operatives Hand Asepsis Protokoll

4 Schritte: Hygiene, Waschen, Desinfektion und Pflege

1

Hygiene

Dem OP-Personal sollte Händehygiene immer ein Anliegen sein
Eine ordentliche Händehygiene im und außerhalb des OP-Bereichs.



saubere Hände



kurze Nägel



keine Kunstnägel
kein Nagellack



kein Schmuck



keine Wunden

2

Händewaschung

1 min Hände waschen mit neutraler Seife (Baktolin®)
Das ist eine **Reinigungsmassnahme**. Vor der ersten OP des Tages oder bei offensichtlicher Verschmutzung.






Verwendung von Seife und Schwamm. Sanftes Waschen der Unterarme inklusive der Ellbogen ohne Bürsten. Reinigen und Bürsten der Fingernägel. Abwaschen mit Wasser. Trocknen der Hände und Unterarme mit normalem Papier.

3

Händedesinfektion

1,5 Minuten einreiben mit hydroalkoholischer Lösung (Sterillium®)*
Das ist der **Händedesinfektions-Schritt**. Die Hände gemäß Einwirkzeit 1-1,5 min. feucht halten.






Kontrolle der Einwirkungszeit von 1,5 min. Auf Händen und Unterarmen verteilen. Verreiben auf Händen, Unterarmen und Ellbogen. Bei Abdomen Operationen (Grosstiere) auch Oberarme inkludieren. Konzentrieren auf die Regionen die oft vergessen werden. Trocknen lassen vor dem Anziehen der Handschuhe. Die Hände nicht Bewegungen um Trocknung zu beschleunigen.

4

Hautpflege

Gute Hautpflege (Baktolan creme®)
Pflege der Hände nach Verlassen des OP's.




Auftragen von Handcreme auf die Handrücken, beide gegeneinander verreiben, danach die Creme in die restlichen Handpartien verteilen.

Bei der Desinfektion oft vergessene Regionen!



bei der Desinfektion oft vergessene Regionen



oft häufigsten vergessen

* Einwirkungszeit gemäss auf Anwendung und Sterillium-Hand-Desinfektionsmittel. Bei Anwendung anderer Produkte entsprechen Sie nicht den Angaben. Bei Anwendung von Sterillium-Hand-Desinfektionsmittel beachten Sie die entsprechenden Angaben auf dem Produkt. © 2013 Becton Dickinson. Alle Rechte vorbehalten. www.veterinaryhandhygiene.eu

© World Health Organization. Hand Hygiene Guidelines. <http://www.who.int/gpsc/>

© Becton Dickinson and Company. <http://www.bd.com/>

© Becton Dickinson. <http://www.bd.com/>

Es liegt in Ihren Händen!
www.veterinaryhandhygiene.eu

References

1. Eddy DM: The origins of evidence-based medicine--a personal perspective. *Virtual Mentor* 13:55-60, 2011.
2. Kaplan RM, Nielsen MK: An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Vet Ed* 22:306-316, 2010.
3. Verwilghen D, Grulke S, Kampf G: Presurgical hand antisepsis: concepts and current habits of veterinary surgeons. *Vet Surg* 40:515-521, 2011.
4. Verwilghen D, Findji L, Weese JS, et al: Preliminary results from : Veterinary surgical preparation survey, in, Vol, 2013.
5. Kampf G, Kramer A: Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev* 17:863-893, 2004.
6. Widmer AF: Surgical hand hygiene: scrub or rub? *J Hosp Infect* 83 Suppl 1:S35-39, 2013.
7. Widmer AF, Rotter M, Voss A, et al: Surgical hand preparation: state-of-the-art. *J Hosp Infect* 74:112-122, 2010.
8. Kampf G, Ostermeyer C: Efficacy of alcohol-based gels compared with simple hand wash and hygienic hand disinfection. *J Hosp Infect* 56 Suppl 2:S13-15, 2004.
9. Rotter ML, Kampf G, Suchomel M, et al: Population kinetics of the skin flora on gloved hands following surgical hand disinfection with 3 propanol-based hand rubs: a prospective, randomized, double-blind trial. *Infect Control Hosp Epidemiol* 28:346-350, 2007.
10. Verwilghen DR, Mainil J, Mastrocicco E, et al: Surgical hand antisepsis in veterinary practice: Evaluation of soap scrubs and alcohol based rub techniques. *Vet J* 190:372-377, 2011.
11. Rotter ML: European norms in hand hygiene. *J Hosp Infect* 56 Suppl 2:S6-9, 2004.
12. Cogen AL, Nizet V, Gallo RL: Skin microbiota: a source of disease or defence? *Br J Dermatol* 158:442-455, 2008.
13. Alcan AO, Korkmaz FD: Comparison of the efficiency of nail pick and brush used for nail cleaning during surgical scrub on reducing bacterial counts. *Am J Infect Control* 40:826-829, 2012.
14. Larson EL, Hughes CA, Pyrek JD, et al: Changes in bacterial flora associated with skin damage on hands of health care personnel. *Am J Infect Control* 26:513-521, 1998.
15. Organisation WH: WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, in, Vol. Geneva, Switzerland, World Health Organisation, 2009, p 270.
16. Hubner NO, Kampf G, Kamp P, et al: Does a preceding hand wash and drying time after surgical hand disinfection influence the efficacy of a propanol-based hand rub? *BMC Microbiol* 6:57-60, 2006.
17. Kampf G: Surgical scrubbing: we can clean up our carbon footprints even better by disinfecting our hands. *J Hosp Infect* 71:91-92; author reply 92-93, 2009.
18. Cimiotti JP, Stone PW, Larson EL: A cost comparison of hand hygiene regimens. *Nurs Econ* 22:196-199, 2004.
19. Hubner NO, Kampf G, Loffler H, et al: Effect of a 1 min hand wash on the bactericidal efficacy of consecutive surgical hand disinfection with standard alcohols and on skin hydration. *Int J Hyg Environ Health* 209:285-291, 2006.
20. Wong TZ, Zhang M, O'Donoghue M, et al: Presence of antiseptic resistance genes in porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Vet Microbiol* 162:977-979, 2013.
21. Lepointeur M, Royer G, Bourrel AS, et al: Prevalence of resistance to antiseptics and mupirocin among invasive coagulase-negative staphylococci from very preterm neonates in NICU: the creeping threat? *J Hosp Infect* 83:333-336, 2013.
22. McNeil JC, Hulten KG, Kaplan SL, et al: *Staphylococcus aureus* Infections in Pediatric Oncology Patients: High Rates of Antimicrobial Resistance, Antiseptic Tolerance and Complications. *Pediatr Infect Dis J* 32:124-128, 2013.
23. Stone SP, Fuller C, Savage J, et al: Evaluation of the national Cleanyourhands campaign to reduce *Staphylococcus aureus* bacteraemia and *Clostridium difficile* infection in hospitals in England and Wales by improved hand hygiene: four year, prospective, ecological, interrupted time series study. *BMJ* 344:e3005, 2012.
24. Costers M, Viseur N, Catry B, et al: Four multifaceted countrywide campaigns to promote hand hygiene in Belgian hospitals between 2005 and 2011: impact on compliance to hand hygiene. *Euro Surveill* 17:pii=20161, 2012.

25. Asensio A, de Gregorio L: Practical experience in a surgical unit when changing from scrub to rub. *J Hosp Infect* 83 Suppl 1:S40-42, 2013.
26. Erasmus V, Daha TJ, Brug H, et al: Systematic review of studies on compliance with hand hygiene guidelines in hospital care. *Infect Control Hosp Epidemiol* 31:283-294, 2010.
27. Cimiotti JP, Wu F, Della-Latta P, et al: Emergence of resistant staphylococci on the hands of new graduate nurses. *Infect Control Hosp Epidemiol* 25:431-435, 2004.
28. Larson E, Girard R, Pessoa-Silva CL, et al: Skin reactions related to hand hygiene and selection of hand hygiene products. *Am J Infect Control* 34:627-635, 2006.
29. Slotosch CM, Kampf G, Löffler H: Effects of disinfectants and detergents on skin irritation. *Contact Dermatitis* 57:235-241, 2007.
30. Allegranzi B, Sax H, Pittet D: Hand hygiene and healthcare system change within multi-modal promotion: a narrative review. *J Hosp Infect* 83 Suppl 1:S3-10, 2013.
31. Stutz N, Becker D, Jappe U, et al: Nurses' perceptions of the benefits and adverse effects of hand disinfection: alcohol-based hand rubs vs. hygienic handwashing: a multicentre questionnaire study with additional patch testing by the German Contact Dermatitis Research Group. *Br J Dermatol* 160:565-572, 2009.
32. Pedersen LK, Held E, Johansen JD, et al: Less skin irritation from alcohol-based disinfectant than from detergent used for hand disinfection. *Br J Dermatol* 153:1142-1146, 2005.
33. Scheithauer S, Lemmen SW: How can compliance with hand hygiene be improved in specialized areas of a university hospital? *J Hosp Infect* 83 Suppl 1:S17-22, 2013.

Contact

Prof. Dr. Denis Verwilghen, Department of Large Animal Sciences, University of Copenhagen, Denmark
dv@sund.ku.dk

A multimodal approach to prevention of SSI

Denis Verwilghen

University of Copenhagen, Denmark

Introduction

Surgical site infections (SSI) are the burden of surgery. They lead to increased health care cost due to additional treatment, antibiotics, hospital stay and excess death. Further, these complications create emotional and financial distress for owners and drastically affect the animal's welfare. Luckily we are far from the early days of surgery, were the treatment used to be worse than the actual pathology. In these days, most surgeries would fail due to tremendous septic complications. In the early 18th century, pus was even thought to be normal, even adequate during the phases of wound healing. Surgeons like Lister developed methods that focused on combating the sepsis. Anti-sepsis was born.

Still before the antibiotic era, the pioneering work of Semmelweis in the mid 1800's made us understand the critical role of healthcare workers hands in the transmission of infections (1). Soon after and lead by Pasteur's saying: "Instead of fighting bacteria in wounds, would it not just be better not to introduce them" amongst others, surgeons like Koch, Lister and Halstead developed the principles to avoid the development of sepsis: the principles of asepsis and aseptic technique were established. These discoveries coupled with the understanding of the germ theory of disease and the development of aseptic techniques may have had the greatest impact on patient survival with regard to infectious diseases or any other medical advancement. With the dawn of antibiotics, many thought that infectious diseases would become a thing of the past altogether, and the focus on prevention measures may have lapsed due to the ease with which infections could seemingly be treated. However, in the late 20th and early 21st century, with the effectiveness of the antibiotic arsenal waning, infection prevention has come to the forefront once again. Considering no pathogen has yet developed any resistance to aseptic technique, the above saying is therefore more pertinent than ever in our journey trying to chase zero infection rates.

Table 1: SSI rates

SSI Rates by Wound Classification	
Class	Infection Rates
Clean	2,5% ⁴ / 2.0%-4.9% ⁵ / 4.7% ⁶
Clean-Contaminated	4.5% ⁴ / 3.5%-4.5% ⁵ / 5.9% ⁷ / 5.0% ⁶
Contaminated	5.8% ⁴ / 4.6%-9.1% ⁵ / 12% ⁶
Dirty	18.1% ⁴ / 6.7%-17.8% ⁵ / 10.1% ⁶
SSI rates by procedure type	
Open	5,5% ⁸
Minimal Invasive	1.7% ⁸
TPLO	6.6% ⁹ , 21,3% ¹⁰

Extend of the problem

Surgical site infections account for as many as one-fourth of all nosocomial infections and are the most common cause of infections in surgical patients (2). The rate of surgical site infection is extremely dependent on the type of surgery (3). Various studies have reported SSI rates in veterinary surgery, including overall infection and procedure specific infections (see table 1). Most of these studies have some limitations, mostly due to the lack of correct definition, the absence of proper

prospective surveillance programs in veterinary sector and the small sample size reported. In retrospective studies, large numbers of infections, particularly more superficial ones may never get reported. These superficial infections often being treated by vets other than the primary surgeon, an underestimation of the rates is likely. In human surgery settings where surveillance programs are more optimal than in veterinary medicine the overall SSI rate is located around 5% but is still considered largely underestimated because of the same above mentioned reasons.

Table 2: SSI classification

Surgical Infection	Site	Definition	Criteria (at least one should be met)
Superficial Incisional Infections		Infection occurring within 30 days of a surgical procedure involving only the skin and subcutaneous tissues of the incision	<ul style="list-style-type: none"> - purulent drainage from the superficial incision - organisms isolated from an aseptically obtained culture of fluid or tissue from the superficial incision - superficial incision that is deliberately opened and patient has at least one of the following signs or symptoms of infection: pain or tenderness; localized redness; swelling; or heat. Unless incision is cultured negative. - Diagnosis of superficial incision infection by the attending surgeon
Deep Incisional Infection		Infection occurs within 30 or 90 days (depending on procedure) involving deep soft tissues of the incision. Within a year after implant placement and infection appears to be related to surgical procedure.	<ul style="list-style-type: none"> - purulent drainage from the deep incision - deep incision that spontaneously dehisces or is deliberately opened by a surgeon and is cultured positive or not cultured but patient has signs of fever, localized pain and tenderness, unless the site is cultured negative. - An abscess or other evidence of infection involving the deep incision that is detected on direct examination, during invasive procedure, or by histopathological or imaging examination <p>Diagnosis of deep incision infection by the attending surgeon</p>
Organ/Space Infections		Infection occurring within 30 or 90 days (depending on procedure) of the operative procedure. Within a year after implant placement and infection appears to be related to surgical procedure.	<ul style="list-style-type: none"> - Infection involving any part of the body, excluding skin incision, fascia or muscle layer that is opened or manipulated during the operative procedure. - And patient has at least a purulent drainage from a drain that is placed in the organ/space, organisms isolated from an aseptically obtained culture of fluid or tissue from the organ/space, an abscess or other evidence of infection involving the organ/space that is detected on direct examination, during invasive procedure or by histological or imaging examination. - Diagnosis of organ/space infection by the attending surgeon

The definitions of surgical site infections

Surveillance of SSI including feedback to the surgical team has been shown to be an important and effective component of strategies to reduce the SSI risk (11-13). A successful surveillance program includes proper identification of the targeted risks and the use of epidemiological sound infection definitions. Differentiating inflammatory processes, infections present on admission (POA) and other health care associated infections (HAI) from SSI is therefore the founding stone of a multimodal approach to SSI prevention. The US Center of Disease Control and Prevention (CDC) has recently updated its document "surveillance definitions for specific types of infections" and Surgical Site infection event (14,15).

In first instance an SSI is an infection that is associated with a particular operative procedure and the facility in which that procedure is performed (15). An operative procedure is then defined as a procedure in which at least one incision is made through the skin or mucous membrane or reoperation is performed via an incision made during a previous operative procedure. Primary incisional closure is not part of the operative procedure definition, infection occurring in wounds that have not been closed by primary intention (packed with gauze, covered with adhesive plastic,...) will therefor have to be included in SSI surveillance (15).

SSI is classified according to superficial, deep or organ/space infections (Table 2). The combined interpretation of clinical and laboratory data will allow identification of an SSI in one of these categories.

The development of surgical site infections

The development of SSI is a complex interplay between microbes and factors related to the host and to the surgery. The amount of bacterial contamination together with the virulence of the pathogen and the susceptibility and defense mechanism of the host will define the risk for SSI.

$$SSI : Infection\ risk = \frac{Contamination\ x\ Virulence\ Pathogen}{Host\ resistance} + Procedure$$

- Pathogen related factors

- o Many different pathogens may be present at the surgical site but do not necessary cause infection. The pathogens virulence, its ability to adhere to cell surfaces, to multiply, and to evade to the hosts immune system is variable. Low numbers of specific bacteria like *S. aureus* will cause SSI, whereas larger numbers of less virulent bacteria will not. Bacteria like gram-positive staphylococci that can adhere to foreign material and form biofilm are extremely resistant to the host defense mechanisms and will easily create SSI particularly in presence of implants or other foreign materials.

- Host related factors

- o Systemic Risk Factors: Some factors are inherent to the patient. For instance in a review of clean contaminated surgeries in 239 dogs and cats, intact male animals had a greater chance of developing SSI (7). Extremes of age are an important risk factor in human patients and are mostly related to the immune senesce or the appearance of comorbidities (multiple illnesses). Remote infections, be it systemic or remote skin infections; are know to increase the risk for SSI considerably. Obesity in humans is well known risk factor, however little investigated in veterinary medicine. Host resistance is an important factor in determining the ability for the surgical site to become infected. Immuno-compromise is therefore reported as a risk factor.
- o Local risk factors: Surgical site perfusion and oxygenation has to remain optimal during surgery. All factors that will impair blood-flow to the site of surgery can be a potential risk factor. Keeping the patient well hydrated, warm and maintaining a stable blood pressure during anesthesia will help increase the organism own defense mechanisms. Crucial role for

the anesthesia team in reducing SSI! Foreign bodies should be removed. Proper surgical debridement of traumatic wounds is a key to reduce infection formation. If foreign body needs to be placed, like sutures, the type and amount should be carefully chosen. For instance silk suture is 3,4 times more likely to cause infection than polyglyconate (9,10). Good surgical technique will reduce local trauma allowing more efficient healing of the wound and reduce the risk of SSI.

Origin of bacterial contamination:

The source of bacterial contamination in a surgical wound can be classified as being endogenous (remote infection, the patient own skin, the surgical class (clean,...)) and exogenous. The endogenous sources of contamination come from the patients own skin, remote skin infections and are also related to the surgical class. The exogenous sources of contamination are those originating from the surgical team, the environment and the materials and instruments used.

Although by carefully selecting (avoid operating on patient with remote infections or mrsa colonized) and preparing the patient the endogenous sources can be reduced, it is on the exogenous that we probably have the most control.

Surgical preparation as a whole has the aim at reducing both the endogenous and exogenous flora in order to decrease the number of colony forming units of bacteria that are seeded in the surgical site.

Risk Factors

Risk factors for different procedures have been established in human medicine and include the patients' health status (diabetes, nicotine use, alcoholism, obesity, malnutrition) and potential bacterial colonization (MRSA). Further the type of procedure, the surgical environment, surgical expertise and post operative care all contain risk factors for the development of SSI. Many of these factors are probably also applicable in veterinary medicine as shown in a review of SSI cases in dogs and cats. In this report, intact males and animals with concurrent endocrinopathy had a significant higher risk for SSI (7). Further, one of the most consistent risks for SSI reported is time in surgery and/or anesthesia (5-7).

Probably the prime and most threatening factor for development of SSI is ourselves.

SSI is considered the most preventable of all the healthcare associated infections. Many guidelines have been established that are supported by level I evidence. Yet in human hospital environments where teams from infection control units work on a daily basis trying to educate and stimulate personnel to apply the guidelines, compliance rates to protocols remain unsatisfactory (16). In comparison, an interesting observational study in companion animal clinics in Canada revealed the immense lack of compliance of the veterinary sector to well established surgical preparation practices (17).

- Considering hand hygiene is regarded by the World Health Organization as the key factor in prevention of health care associated infections,
- Considering animal health care workers, above the risk of transmitting disease from one patient to another also have the potential to transmit zoonosis to themselves and their community.
- Considering hand hygiene is simple, cheap and efficient method.

It is difficult to understand that reported compliance rates with hand hygiene are so low. In a recent observational study it was shown that compliance rate was only 14% and that only 3% of small animal vets performed a handwash before and after patient contact (18).

Although difficult to do with our pet patients, performing fist bump with your clients instead of handshakes can be a fun and educative way to increase awareness of bacterial transmission within healthcare settings together with a proven reduction in the transmission of pathogens (19).

SSI Monitoring

Monitoring of SSI requires active, patient based and prospective surveillance by the surgical team. Both post-discharge and ante-discharge surveillance should be used to detect SSI's following in and outpatient procedures. Particularly post-discharge prospective collection is important as illustrated in a recent Swiss report were 94% of SSI following knee arthroplasty was detected post discharge. Further, active follow up of SSI cases and medical records have shown that approximately 50% of SSI do not get reported in the medical journal system (Weese et al., unpublished)

Methods used for SSI detection include, direct examination of patients wounds during follow up visits, review of medical patient records, survey by phone or mail contact. Additionally to the understanding and application of the above mentioned definitions to record SSI, recording ASA physical status of the patient, duration of the operative procedure, emergency or elective, closure type of wound (primary, secondary, packed,...), involvement of trauma and defining wound class form the basis of SSI reporting (Table 3).

Table 3: Some definitions for SSI monitoring

ASA Status		Duration of the operative procedure
ASA1: normally healthy patient ASA2: patient with mild systemic disease ASA3: patient with severe systemic disease ASA4: patient with severe systemic disease that is in constant threat of life ASA5: moribund patient who is expected not to survive without operation Emergency		Interval in hours and minutes between the start and end of the operation. Start of operation is defined as moment when the first incision is made. End of operation is defined as time when all instruments and sponge counts are completed and verified as correct, all postoperative radiological studies to be done in the OR are completed, all dressings and drains are secured, and the surgeons have completed all procedure-related activities on the patient.
Wound Class	Assessment of the degree of contamination of the surgical wound at the time of the surgery.	
Clean	Uninfected operative wound in which no inflammation is encountered and the respiratory, alimentary, genital or uninfected urinary tract are not entered. In addition, clean wounds are primarily closed and if necessary drained with closed drainage.	
Clean –Contaminated	Operative wounds in which the respiratory, alimentary, genital or urinary tract are entered under a controlled condition and without unusual contamination	
Contaminated	Open fresh, accidental wounds. In addition operations with major breaks in sterile technique or gross spillage of gastrointestinal tract and incisions in which acute, non purulent inflammation is encountered including necrotic tissue without evidence of purulent draining	
Dirty or Infected	Includes old traumatic wounds with retained devitalized tissue and those that involve existing clinical infection or perforated viscera.	

Preventive Measures

The current widespread recommendations on surgical preparation in order to reduce SSI are supported by a variable level of evidence. Most of the rules and habits have found their origin in intellectual rationales rather than scientific grounds. At present, three preventive measures are considered having high level of evidence (grade IA) according to evidence based guidelines (20): surgical hand preparation, appropriate antibiotic prophylaxis and postponing elective surgeries in case of active remote infections. Although included in the 1999 CDC guidelines, clipping hair before surgery is now a debatable measure (20). Similar high evidence studies are not available in the veterinary literature therefore we have to base ourselves on evidence from human literature. Surgical etiquette, comprising common sense based on theoretical rational is still our best hold on since many of the things we do, like gloving, gowning, masks, caps,... will never find high level evidence. With the historical data available, performing randomized control double blinded trials of surgeries with and without draping, gloving,... is simply not acceptable. However, one should not forget that the absence of proof is not the proof of absence (21).

Based on human data it is said that approximately half of all the identified risk factors are endogenous (age, systemic disease, history of prior surgery,...) and therefore difficult to modify in the direct preoperative and peroperative phase (20). The other half however, being exogenous (change of surgeon during surgery, visitors during surgery, hair removal methods,...) factors can be adapted easily. Past experience has shown that simple and least costly interventions of have the best chance of having an impact on SSI. The content of Table 4 and Table 5 is based on knowledge from human literature mostly and provides an overview of measures that are known to impact the SSI rates with variable degree of evidence.

Table 4: SSI prevention methods with high evidence support

Measures with High evidence Based Support	
Surgical hand preparation ^{20,22}	<ul style="list-style-type: none"> - Probably most important SSI prevention method²³ - Brushes not recommended - Alcohol based rubs favored over aqueous solution^{24,25}
Antibiotic prophylaxis ^{20,26}	<ul style="list-style-type: none"> - Routine administrations in clean surgeries not recommended - Prophylactic administration needs to be adequate: timing, dosage duration - Inadequate AB or too long administration = risk factor for SSI²⁷ - Consider giving AB earlier in cases where tourniquet is used²⁸.
Postponing elective surgeries in case of remote infections or systemic disease ²⁶	<ul style="list-style-type: none"> - Distant skin site infections - Urinary tract infections - Risk of hematogenous spread to site of implant surgery - Common sources of hematogenous implant infections are the skin, the GI tract and the lungs
Other measures with high efficacy	
Expertise of the surgeon ^{26,29}	<ul style="list-style-type: none"> - Excellent surgical technique reduces SSI formation - Surgical simulation and training has beneficial impact on surgeons experience and performance - Surgical experience, mostly related to time in surgery has a large impact on SSI rates ²⁹
Active surveillance feedback	<ul style="list-style-type: none"> - Decrease in SSI rates reported after surveillance initiatives^{12,20}
Multimodal Intervention	<ul style="list-style-type: none"> - Target several risk factors at a time³⁰ - Implement safety check lists

Table 5: SSI prevention methods supported with low evidence (part I)

Widespread measures with low evidence		
	<i>Evidence and recommendations human</i>	Evidence and recommendations veterinary
Surgical site preparation - Hair removal ³¹	<ul style="list-style-type: none"> - Clipping superior to shaving - Timing hair removal no effect - <i>Only remove hair if interference with surgical procedure.</i> - <i>Remove immediately before surgery</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - No RCT or valuable studies available. - Recommendations: <ul style="list-style-type: none"> ○ Routinely remove hair since generally interferes with surgical site visibility. Potentially leave hair in areas with very short hair. ○ Use clippers ○ After induction, immediately before surgery (reduces surgery/anesthesia time) ○ Start with CLEAN patient: Groom outside the surgery ward.
Surgical site preparation - Disinfection	<ul style="list-style-type: none"> - Little evidence for superior method. - Use of 0,5% or 2% Chlorhexidine with methylated considered superior^{20,32} however latest trial no difference with Iodine based Alcohol³³. - Investigation into new methods that target high bacterial load into hair follicles³⁴. - Alcohol based probably more efficient and long lasting than aqueous based solutions³⁵. - Cyanoacrylate microbial sealants: small positive difference in SSI rates but still weak evidence³⁶. - <i>No particular recommendations</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - No RCT available - Number of studies available³⁷⁻⁴⁶ but no evidence for superior method. - Most studies look at bacterial reduction and not SSI endpoint. - Recommendations: <ul style="list-style-type: none"> ○ Prepare surgical site with immediately before surgery with aqueous or alcohol based product. ○ Chlorhexidine and povidone iodine are suitable
Surgical Site Preparation - Preoperative bathing or showering with skin antiseptics	There is no evidence for benefit of preoperative bathing or showering with chlorhexidine over other wash products to reduce SSI ⁴⁷	<ul style="list-style-type: none"> - No studies in this field available. - For maximum efficacy of the product and in order to reduce spreading of large quantities of active ingredient of biocides (potential for Chlorhexidine resistance development⁴⁸) in the environment, gross decontamination with a neutral soap wash of the surgical area is advised before starting the actual aseptic skin preparation procedure

Table 5: SSI prevention methods supported with low evidence (part II)

<p>Surgical Site Preparation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Draping - Adhesive incise films - Plastic buster type drapes 	<ul style="list-style-type: none"> - Little evidence investigating various drape types - Reusable provides highest cost benefit ratio⁴⁹ and is more efficient in reducing SSI than reusable⁵⁰ - Use of drapes based on theoretical rationale of reducing contamination of surgical site by surrounding. - One Randomized trial (low number of patients) showing clear superiority of single use compared to reusable in reduction SSI⁵¹ - No effect^{52,53}, Non-iodophore impregnated incise drapes may increase the risk of surgical site infections^{52,53} due to higher bacterial regrowth under the drape⁵³. - Application technique is important, lifting of the edges of adhesive drapes may enhance bacterial contamination⁵⁴ - Pure plastic draping is not used in human medicine, no trials available 	<ul style="list-style-type: none"> - Retrospective study found no difference in SSI using disposable versus drapes⁵⁵ - Cost effectiveness probably same as in humans - Best practice: use of impervious single use disposable drapes⁵⁶ - Do not use incise drapes routinely, if so use iodophore impregnated films - Plastic buster type drapes are widely used in veterinary medicine. Although there are no trials available neither on the difference between SSI rates nor on the bacterial growth potential underneath buster type plastic drapes and conventional woven reusable or disposable drapes, evidence from human medicine reveals substantial increase in bacterial regrowth under plastic drapes. Increased moisture retention near the skin could facilitate bacterial growth⁵³. Clinical experience reveals that patient often sweat profusely under these drapes. Plastic buster drapes are therefore not recommended.
<p>Surgical team preparation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mask and caps 	<ul style="list-style-type: none"> - No difference between masked/capped and unmasked/uncapped procedures⁵⁷ - Bacterial contamination of the operative field has shown to be reduced⁵⁶ 	<ul style="list-style-type: none"> - No studies available
<p>Face masks and head caps contribute to theater discipline and therefore are beneficial in reducing SSI in other ways</p>		

Table 5: SSI prevention methods supported with low evidence (part III)

<p>Surgical team preparation - Gowns</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Strong theoretical rational for reducing bacterial count ⁵⁸ - Reduced SSI with single use gowns and impervious material demonstrated in non randomized ⁵⁹ - Randomized studies no significant difference⁵⁶. 	<ul style="list-style-type: none"> - No evidence specific to veterinary medicine - As per European standards recommend use of single use gowns⁵⁶
<p>Surgical team preparation - Gloves</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Gloving based on theoretical rational of reducing bacterial contamination originating from hands. No CRT with and without wear of surgical gloves. Historical benefit shown. - High rate of glove puncture depending on procedure. Up to 80% puncture go unnoticed^{60,61}. - Importance of good hand preparation independently of wear of surgical gloves since higher SSI rates demonstrated due to glove punctures⁶² - Bacterial passage is demonstrated in approximately 5% of perforations⁶³ - Recommended timing for glove change is variable and depending on procedure, range from 60 to 150 minutes⁶⁴ but significantly more punctures have been found 90 within surgery⁶¹ - Puncture risk increases by 1.12 per 60 min of surgery - Change outer glove before handling implants due to increase of bacterial load⁵⁸ - From low powered studies there is no evidence that double gloving reduces SSI, however a second pair of gloves significantly reduces perforations to the innermost gloves^{65,66}. - Perforation indicators result in significantly more detection of perforations⁶⁵. 	<ul style="list-style-type: none"> - Glove perforation shown to vary from 10 to 26%⁶⁷⁻⁶⁹ - Most prevalent in index finger non-dominant hand^{68,69}. - Significantly more punctures in orthopedic versus soft tissue surgery⁶⁷⁻⁶⁹ - Most punctures occur in procedures lasting longer than 60 minutes⁶⁷⁻⁶⁹. - Recommendations <ul style="list-style-type: none"> o Good hand preparation independently of sterile glove use o Double glove for draping and discard outer pair for surgical procedure o Use double gloving, special orthopedic gloves or indicator gloves for orthopedic procedures or procedures lasting longer than 60 minutes. o Change gloves after 60-90 minutes

Conclusions

The development of surgical site infections is a dynamic process involving several factors in which the patient, the procedure and the healthcare infrastructure and personnel play a role. Considering all this it is clear that prevention of SSI will only be possible by a multidisciplinary and multimodal approach in which the most important factor is the consciences of every individual involved. It will only be when all players will realize they share responsibility in the contribution to success or failure of a surgical procedure that our ambition to reach zero rate SSI will come to a reality. Some have therefore postulated that if compliance with current guidelines are met surgical infections could drop as lower than 0,5% in clean, 1% in clean-contaminated and less than 2% in highly contaminated wounds (54).

Denial is our worst enemy.

References

1. Best M, Neuhauser D: Ignaz Semmelweis and the birth of infection control. *Qual Saf Health Care* 13:233-234, 2004.
2. Cheadle WG: Risk factors for surgical site infection. *Surg Infect (Larchmt)* 7 Suppl 1:S7-11, 2006.
3. Staszewicz W, Eisenring MC, Bettschart V, et al: Thirteen years of surgical site infection surveillance in Swiss hospitals. *J Hosp Infect*, 2014.
4. Vasseur PB, Levy J, Dowd E, et al: Surgical wound infection rates in dogs and cats. Data from a teaching hospital. *Vet Surg* 17:60-64, 1988.
5. Eugster S, Schawalter P, Gaschen F, et al: A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. *Vet Surg* 33:542-550, 2004.
6. Brown DC, Conzemius MG, Shofer F, et al: Epidemiologic evaluation of postoperative wound infections in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 210:1302-1306, 1997.
7. Nicholson M, Beal M, Shofer F, et al: Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds: A retrospective study of 239 dogs and cats. *Vet Surg* 31:577-581, 2002.
8. Mayhew PD, Freeman L, Kwan T, et al: Comparison of surgical site infection rates in clean and clean-contaminated wounds in dogs and cats after minimally invasive versus open surgery: 179 cases (2007-2008). *J Am Vet Med Assoc* 240:193-198, 2012.
9. Frey TN, Hoelzler MG, Scavelli TD, et al: Risk factors for surgical site infection-inflammation in dogs undergoing surgery for rupture of the cranial cruciate ligament: 902 cases (2005-2006). *J Am Vet Med Assoc* 236:88-94, 2010.
10. Solano MA, Danielski A, Kovach K, et al: Locking Plate and Screw Fixation After Tibial Plateau Leveling Osteotomy Reduces Postoperative Infection Rate in Dogs Over 50 kg. *Vet Surg*, 2014.
11. Awad SS: Adherence to surgical care improvement project measures and post-operative surgical site infections. *Surg Infect (Larchmt)* 13:234-237, 2012.
12. Condon RE, Schulte WJ, Malangoni MA, et al: Effectiveness of a surgical wound surveillance program. *Arch Surg* 118:303-307, 1983.
13. Mu Y, Edwards JR, Horan TC, et al: Improving risk-adjusted measures of surgical site infection for the national healthcare safety network. *Infect Control Hosp Epidemiol* 32:970-986, 2011.
14. (CDC) CfDcAP: CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific types of Infections, in DCDC (ed), Vol. Atlanta, CDC, 2014.
15. (CDC) CfDcAP: Surgical Site Infection (Event), in CDC (ed), Vol. Atlanta, USA, CDC, 2014.
16. Leaper DJ, Tanner J, Kiernan M, et al: Surgical site infection: poor compliance with guidelines and care bundles. *Int Wound J*, 2014.
17. Anderson ME, Foster BA, Weese JS: Observational study of patient and surgeon preoperative preparation in ten companion animal clinics in Ontario, Canada. *BMC Vet Res* 9:194, 2013.
18. Anderson ME, Sargeant JM, Weese JS: Video observation of hand hygiene practices during routine companion animal appointments and the effect of a poster intervention on hand hygiene compliance. *BMC Vet Res* 10:106, 2014.
19. Ghareeb PA, Bourlai T, Dutton W, et al: Reducing pathogen transmission in a hospital setting. Handshake versus fist bump: a pilot study. *J Hosp Infect* 85:321-323, 2013.

20. Uckay I, Harbarth S, Peter R, et al: Preventing surgical site infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 8:657-670, 2010.
21. Smith GC, Pell JP: Parachute use to prevent death and major trauma related to gravitational challenge: systematic review of randomised controlled trials. *BMJ* 327:1459-1461, 2003.
22. Tanner J, Swarbrook S, Stuart J: Surgical hand antisepsis to reduce surgical site infection. *Cochrane Database Syst Rev*:CD004288, 2008.
23. Widmer AF: Surgical hand hygiene: scrub or rub? *J Hosp Infect* 83 Suppl 1:S35-39, 2013.
24. Verwilghen D, Grulke S, Kampf G: Presurgical hand antisepsis: concepts and current habits of veterinary surgeons. *Vet Surg* 40:515-521, 2011.
25. Verwilghen DR, Mainil J, Mastrocicco E, et al: Surgical hand antisepsis in veterinary practice: Evaluation of soap scrubs and alcohol based rub techniques. *Vet J*, 2011.
26. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, et al: Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol* 20:250-278; quiz 279-280, 1999.
27. Hawn MT, Richman JS, Vick CC, et al: Timing of Surgical Antibiotic Prophylaxis and the Risk of Surgical Site Infection. *Jama Surgery* 148:649-657, 2013.
28. Leaper D, Burman-Roy S, Palanca A, et al: GUIDELINES Prevention and treatment of surgical site infection: summary of NICE guidance. *Br Med J* 337:3, 2008.
29. Wurtz R, Wittrock B, Lavin MA, et al: Do new surgeons have higher surgical-site infection rates? *Infect Control Hosp Epidemiol* 22:375-377, 2001.
30. Barchitta M, Matranga D, Quattrocchi A, et al: Prevalence of surgical site infections before and after the implementation of a multimodal infection control programme. *J Antimicrob Chemother* 67:749-755, 2012.
31. Tanner J, Woodings D, Moncaster K: Preoperative hair removal to reduce surgical site infection. *Cochrane database of systematic reviews*:CD004122, 2006.
32. Dumville JC, McFarlane E, Edwards P, et al: Preoperative skin antiseptics for preventing surgical wound infections after clean surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 3:CD003949, 2013.
33. Charehbili A, Swijnenburg RJ, van de Velde C, et al: A Retrospective Analysis of Surgical Site Infections after Chlorhexidine-Alcohol versus Iodine-Alcohol for Pre-Operative Antisepsis. *Surgical Infections* 15:310-313, 2014.
34. Ulmer M, Lademann J, Patzelt A, et al: New strategies for preoperative skin antisepsis. *Skin Pharmacol Physiol* 27:283-292, 2014.
35. Hemani ML, Lepor H: Skin preparation for the prevention of surgical site infection: which agent is best? *Rev Urol* 11:190-195, 2009.
36. Lipp A, Phillips C, Harris P, et al: Cyanoacrylate microbial sealants for skin preparation prior to surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 8:CD008062, 2013.
37. Coolman BR, Marretta SM, Kakoma I, et al: Cutaneous antimicrobial preparation prior to intravenous catheterization in healthy dogs: clinical, microbiological, and histopathological evaluation. *Can Vet J* 39:757-763, 1998.
38. Dorey-Phillips CL, Murison PJ: Comparison of two techniques for intravenous catheter site preparation in dogs. *Vet Rec* 162:280-281, 2008.
39. Evans LK, Knowles TG, Werrett G, et al: The efficacy of chlorhexidine gluconate in canine skin preparation - practice survey and clinical trials. *J Small Anim Pract* 50:458-465, 2009.
40. Gibson KL, Donald AW, Hariharan H, et al: Comparison of two pre-surgical skin preparation techniques. *Can J Vet Res* 61:154-156, 1997.
41. Lambrechts NE, Hurter K, Picard JA, et al: A prospective comparison between stabilized glutaraldehyde and chlorhexidine gluconate for preoperative skin antisepsis in dogs. *Vet Surg* 33:636-643, 2004.
42. Osuna DJ, DeYoung DJ, Walker RL: Comparison of three skin preparation techniques. Part 2: Clinical trial in 100 dogs. *Vet Surg* 19:20-23, 1990.
43. Osuna DJ, DeYoung DJ, Walker RL: Comparison of three skin preparation techniques in the dog. Part 1: Experimental trial. *Vet Surg* 19:14-19, 1990.
44. Rochat MC, Mann FA, Berg JN: Evaluation of a one-step surgical preparation technique in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 203:392-395, 1993.

45. Stubbs WP, Bellah JR, Vermaas-Hekman D, et al: Chlorhexidine gluconate versus chloroxylenol for preoperative skin preparation in dogs. *Vet Surg* 25:487-494, 1996.
46. Zimmerman FC: Comparison of three skin preparation techniques in the dog. *Vet Surg* 19:405, 1990.
47. Webster J, Osborne S: Preoperative bathing or showering with skin antiseptics to prevent surgical site infection. *Cochrane Database Syst Rev* 9:CD004985, 2012.
48. Lepainteur M, Royer G, Bourrel AS, et al: Prevalence of resistance to antiseptics and mupirocin among invasive coagulase-negative staphylococci from very preterm neonates in NICU: the creeping threat? *J Hosp Infect* 83:333-336, 2013.
49. Baykasoglu A, Dereli T, Yilankirkan N: Application of cost/benefit analysis for surgical gown and drape selection: A case study. *Am J Infect Control* 37:215-226, 2009.
50. Moylan JA, Fitzpatrick KT, Davenport KE: Reducing wound infections. Improved gown and drape barrier performance. *Arch Surg* 122:152-157, 1987.
51. Showalter BM, Crantford JC, Russell GB, et al: The Effect of Reusable Versus Disposable Draping Material on Infection Rates in Implant-Based Breast Reconstruction A Prospective Randomized Trial. *Ann Plast Surg* 72:S165-S169, 2014.
52. Webster J, Alghamdi A: Use of plastic adhesive drapes during surgery for preventing surgical site infection. *Cochrane Database Syst Rev* 1:CD006353, 2013.
53. Falk-Brynhildsen K, Soderquist B, Friberg O, et al: Bacterial recolonization of the skin and wound contamination during cardiac surgery: a randomized controlled trial of the use of plastic adhesive drape compared with bare skin. *J Hosp Infect* 84:151-158, 2013.
54. Alexander JW, Solomkin JS, Edwards MJ: Updated recommendations for control of surgical site infections. *Ann Surg* 253:1082-1093, 2011.
55. Billings L, Vasseur PB, Fancher C, et al: Wound infection rates in dogs and cats after use of cotton muslin or disposable impermeable fabric as barrier material: 720 cases (1983-1989). *J Am Vet Med Assoc* 197:889-892, 1990.
56. McHugh SM, Corrigan MA, Hill ADK, et al: Surgical attire, practices and their perception in the prevention of surgical site infection. *Surgeon-Journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland* 12:47-52, 2014.
57. Lipp A, Edwards P: Disposable surgical face masks for preventing surgical wound infection in clean surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2:CD002929, 2014.
58. Ward WG, Cooper JM, Lippert D, et al: Glove and Gown Effects on Intraoperative Bacterial Contamination. *Ann Surg* 259:591-597, 2014.
59. Moylan JA, Kennedy BV: The importance of gown and drape barriers in the prevention of wound infection. *Surg Gynecol Obstet* 151:465-470, 1980.
60. Naver LP, Gottrup F: Incidence of glove perforations in gastrointestinal surgery and the protective effect of double gloves: a prospective, randomised controlled study. *Eur J Surg* 166:293-295, 2000.
61. Partecke LI, Goerdts AM, Langner I, et al: Incidence of microperforation for surgical gloves depends on duration of wear. *Infect Control Hosp Epidemiol* 30:409-414, 2009.
62. Misteli H, Weber WP, Reck S, et al: Surgical glove perforation and the risk of surgical site infection. *Arch Surg* 144:553-558; discussion 558, 2009.
63. Harnoss JC, Partecke LI, Heidecke CD, et al: Concentration of bacteria passing through puncture holes in surgical gloves. *Am J Infect Control* 38:154-158, 2010.
64. Harnoss JC, Kramer A, Heidecke CD, et al: [What is the appropriate time-interval for changing gloves during surgical procedures]. *Zentralbl Chir* 135:25-27, 2010.
65. Tanner J, Parkinson H: Double gloving to reduce surgical cross-infection. *Cochrane database of systematic reviews* 3:CD003087, 2006.
66. Thomas S, Agarwal M, Mehta G: Intraoperative glove perforation--single versus double gloving in protection against skin contamination. *Postgrad Med J* 77:458-460, 2001.
67. Hayes GM, Reynolds D, Moens NM, et al: Investigation of incidence and risk factors for surgical glove perforation in small animal surgery. *Vet Surg* 43:400-404, 2014.
68. Character BJ, McLaughlin RM, Hedlund CS, et al: Postoperative integrity of veterinary surgical gloves. *J Am Anim Hosp Assoc* 39:311-320, 2003.
69. Burrow R, Pinchbeck G: Study of how frequently surgeons' gloves are perforated during operations. *Vet Rec* 158:558-561, 2006.

Contact address

Prof. Dr. Denis Verwilghen, Department of Large Animal Sciences, University of Copenhagen,
Denmark
dv@sund.ku.dk



Schwerpunkt

2

**9th INTERNATIONAL CONFERENCE
ON EQUINE REPRODUCTIVE
MEDICINE**

Rackwitz R, Pees M, Aschenbach JR, Gäbel G (Hrsg.)
LBH: Proceedings 8. Leipziger Tierärztekongress: Band 2
ISBN 978-3-86541-809-8

Insemination of low doses of frozen/thawed and sex sorted stallion sperm

Juan C. Samper

Veterinary Reproductive Services, Langley, Canada

No manuscript submitted.

Testicular abnormalities affecting reproductive efficiency in the stallion

Claus P. Bartmann^{1,2}, Michael Röcken¹, Peter Wohlsein³, Heinz-Adolf Schoon⁴

¹Tierklinik Starnberg, ²Clinic for Horses and ³Institute for Veterinary Pathology, University of Veterinary medicine Hannover, Foundation; ⁴Institute for Veterinary Pathology, University of Leipzig

Many factors contribute to the fertility of a stallion, but the master or controlling organs of a stallion's reproductive system are the testes. Within their confines spermatozoa are produced along with testosterone the primary male sex hormone (1). Therefore, testicular abnormalities may seriously affect or exclude reproductive efficiency in the stallion.

Testicular abnormalities found in male equine patients presented here included maldescence of one or both testicles into the scrotum, monorchia, testicular neoplasia, testicular trauma with rupture of the Tunica albuginea and hematoma, testicular torsion, testicular inflammation and testicular degeneration.

2

Cryptorchidism

The condition of one or both retained testicles was found to be relatively common in stallions with the hormone production relatively unaffected (2,3). Normal spermatogenesis does not occur in cryptorchid testicles, but it should be noted that stallions with one descended testis can be fertile. Although it has been pointed out that cryptorchidism is an hereditary condition, it has not been definitely proven to be so (4). Nevertheless, all german breeding registries judge cryptorchid stallions to be unsound. Thus, all cryptorchid stallions diagnosed by clinical, endocrinological, sonographical or laparoscopic examination were castrated by conventional or laparoscopic surgery (3).

Monorchia

Monorchia was documented in a single case with the findings leading to the idea that the condition was arising during gestation as a result of severe degeneration of one testis as has been described as a "vanishing testis" (5,6).

Testicular neoplasia

Testicular neoplasia was uncommon but all cases were diagnosed as seminoma by histopathological examination of a testicular biopsy or the testicle following castration (7,8). Neoplasia was diagnosed sonographically in abdominal but also scrotal testicles (7). Most testicular tumors in the horse are benign, but one seminoma metastasized with affection of many organs in the abdominal and pelvic cavity. Unilateral orchiectomy was performed in all stallions with testicular neoplasia with the option of breeding soundness.

Testicular trauma

External trauma by kicking of other horses was the most common cause of testicular trauma in the cases presented here. Scrotal enlargement was mainly the result of hematocele and scrotal edema, in rare cases of testicular hematoma. Testicular rupture with massive hemorrhage and enlargement was found in one case. Spermatogenesis is transiently affected by the temporary increase in temperature, and the prognosis for the further fertility depends on the amount of hemorrhage and the degree of tissue formation (3). The most severe effect on fertility was observed in a stallion following testicular rupture.

Testicular inflammation

Only two cases of orchitis could be documented with the findings of enlarged, hot and painful testis, fever and abnormal sonographic appearance (7,9). Only one testicle was affected in each of the horses, but treatment with systemic antibiotics and anti-inflammatory drugs was without success. Unilateral orchiectomy was performed with rapid improvement of the situation. The unaffected testicle may return to its function and may even react with compensatory enlargement, so that fertility may be restored (10).

Testicular degeneration

A tentative diagnosis of testicular degeneration can usually be made based on poor semen quality with decreasing fertility and testicular size and abnormal testicular consistency (11,12). Causes of acquired testicular degeneration include intrinsic and extrinsic factors like malperfusion, external trauma, infection, intoxication but also administration and abuse of exogenous androgens (3, 13,14).

Besides of clinical findings, the endocrine profile and a semen evaluation may also show abnormalities. A testicular biopsy may provide a definite diagnosis of testicular degeneration and to differentiate it from an occluded ejaculatory duct in case of azoospermia. Typical histological findings included atrophic processes, seminiferous tubules lined by Sertoli cells and an arrested spermatogenesis. In most chronic cases with complete loss of germinal epithelium the testicular degeneration was judged to be irreversible.

Conclusion

A thorough clinical, sonographical, endocrinological and endoscopic examination with accurate diagnosis was the base for a prognosis for future fertility or progressive pathology in stallions referred with testicular abnormalities. The majority of stallions presented here underwent unilateral or bilateral castration due to testicular maldescence or irreversible testicular damage.

References

1. Wissdorf H, Bartmann CP, Gerhards H, Harps o. Männliche Geschlechtsorgane mit Hodenhüllen und Harnröhre. In: Wiisdorf H, Gerhards H, Huskamp B, Deegen E (Eds.): Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes. (Third ed.). Schaper, Hannover. 2010; 737-777
2. Cox JE, Edwards GB, Neal PA. An analysis of 500 cases of equine cryptorchidism. *Equine vet J* 1979; 11: 113-.
3. Bartmann CP, Klug E. Diagnose, Operation und forensische Aspekte des Kryptorchismus beim Pferd. *Tierärztl Prax.* 2000; 28 (G): 233-239.
4. Turner RM. Testicular abnormalities. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO (Eds.). *Current therapy in equine reproduction.* Saunders Elsevier, St. Louis. 2007; 195-204.
5. Aupperle H, Gerlach K, Bartmann CP, Beerhenke S, Schoon HA. Histopathological findings in the cryptorchid testes of stallions. *Pferdeheilkunde* 1999; 15: 515-522.
6. Parks AH, Scott EA, Coc JE: Monorchidism in the horse. *Equine vet J* 1989; 21: 215.
7. Bartmann CP, Schoon HA, Lorber K, Brickwedel I, Klug E. Testicular sonography and biopsy in the stallion – Indication, techniques and diagnostic relevance. *Pferdeheilkunde* 1999; 15: 506-514.
8. Faber NF, Roser JF. Testicular biopsy in stallions: diagnostic potential and effects on prospective fertility. *J Reprod Fertil Suppl* 2000; 56: 31-42.
9. Love CC. Ultrasonographic evaluation of the testis, epididymis, and the spermatic cord of the stallion. *Vet Clin North America: Equine Pract* 1992; 8: 167-181.
10. Merkt JC. Untersuchungen zur morphologischen und funktionellen Kompensation des Pferdehodens nach unilateraler Kastration. Diss., Hannover, 1985.
11. Blanchard TL, Johnson I, Roser AJ. Increased germ cell loss rates and poor semen quality in stallions with idiopathic testicular degeneration. *J Equine Vet Sci* 2000; 20: 263-265.

12. Gehlen H, Bartmann CP, Klug E. Azoospermia due to testicular degeneration in a breeding stallion. *J Equine Vet Sci* 2001; 21: 137-139.
13. Zingrebe B, Ellenberger C., Schoon HA, Köllmann M, Bartmann CP, Klug E. Effects of an anabolic steroid (Durateston®) on testicular parameters in peripubertal stallions. *Animal Reproduction Science* 2008; 107: 358-358b.
14. Blanchard TL, Varner DD, Love CC, Brinsko SP, Morehead JP. Management options for the aged breeding stallion with declining testicular function. *J Equine vet Sci* 2012; 32: 430-435.

Contact address

Priv.-Doz. Dr. Claus P. Bartmann, Tierklinik Starnberg
cpbartmann@gmx.de

Fetal sexing in the horse

Tom A.E. Stout¹, Marta de Ruijter-Villani¹, Andrew J. McGladdery²

¹ Department of Equine Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University (The Netherlands); ² Rosssdales LLP, Newmarket (United Kingdom)

Introduction

Determination of fetal sex is increasingly common within the equine breeding sector. In some disciplines, there is a strong desire for foals of a given gender, such as the preference for fillies among polo horse breeders. In other cases, there may be a preference because, for example, foals of a given sex from a given stallion achieve better sales prices, previous foals from a mare were of the opposite sex, or to ensure continuation of a breeding line. While pre-birth determination of fetal sex may be purely to satisfy breeder curiosity, it may also be used to influence decisions about future stallion choices, whether to sell a brood mare in foal or, at the practical and ethical extreme, whether to terminate a pregnancy.

Separation of X and Y chromosome-bearing sperm by flow cytometry (1) and PCR-based determination of embryo sex from a biopsy of a blastocyst prior to embryo transfer (2) have been reported as means of determining offspring sex prior to establishing pregnancy; however neither of these techniques, nor that of determining fetal sex using DNA circulating in maternal blood (3), have been optimized for routine use in the field. Moreover, sex selecting sperm or embryo requires the use of equipment or techniques that significantly increase costs and are not permitted in certain breeds, such as the racing Thoroughbred. By contrast, (ultra)sonographic examination to determine fetal sex has become routine at the top end of Thoroughbred breeding and increasingly common in other horse breeding sectors. An improvement in ultrasound image quality, affordable availability of cine-loop technology and colour-flow Doppler modalities allied to increased experience of equine veterinarians in examining fetuses transrectally or transabdominally after the establishment of anatomical sexual dimorphism has generated a number of techniques for determining fetal gender at various stages of gestation.

Fetal gender determination between day 55 and 90

The first technique described for determining equine fetal sex and still the most commonly used in practice is genital tubercle position. The genital tubercle is the embryonic precursor of the penis or clitoris and, in horse fetuses, is first visible at around day 52 as a bi-lobed hyperechoic structure (an “=” or “v” shape) on the ventral mid-line between the hind legs. Over the following days the genital tubercle migrates either cranially towards the umbilical cord (male) or caudally towards the tail head (female). From approximately day 55 the genital tubercle is, in most cases, sufficiently far behind (filly) or in front of (colt) the stifles to allow accurate sex determination. In general however day 60-70 is the preferred window for examining genital tubercle location, because before day 60 it may be small and difficult to detect or may not have migrated far enough, whereas beyond day 70 the increased weight of fetal fluids causes the uterus to drop more deeply into the abdomen and make access to the caudal part of the fetus difficult, particularly in multiparous mares. The speed and accuracy of fetal sex determination using this technique depends greatly on a good ultrasound image (machine quality, distance from probe to fetus, lighting, minimal mare and fetal movements) and experience, but can be very rapid (minutes) and extremely accurate (>99% accuracy in the 95% of mares in which a diagnosis could be made: 4). If the mare will not stand still or resents examination, sedation may be required but may cause the uterus to drop deeper into the abdomen and make accessing the fetus more difficult.

The examination begins by establishing fetal orientation using easily identified structures such as the skull, heart (ventral), vertebral column (dorsal), umbilical attachment to the ventral abdomen, hind-legs and tail (caudal). The genital tubercle of a colt will be positioned just caudal to the umbilical attachment and cranial to the hind-legs (stifles). This can be visualized in various sonographic planes including those perpendicular (transverse) or parallel (longitudinal) to the vertebral column; in inexperienced hands, definitive determination of the fetus as male is the easiest diagnosis to make. The genital tubercle of a filly is positioned just in front of (under) the tail-head and caudal to the hind legs. The ideal sonographic plane to identify a filly's genital tubercle is a transverse plane passing through the tail head and the hind-legs (tibias); the genital tubercle will appear in the triangle made by these structures. This is best performed by scanning over the whole fetus from cranial to caudal and then slowly coming back so that the tail-head appears first in view, to be joined by the tibias with or without a genital tubercle. If a definitive diagnosis cannot be made, even after turning the ultrasound probe to change the sonographic plane, it may be better to repeat the examination at a later date when the tubercle is better developed, the mare quieter or the fetus easier to image.

Transrectal determination of fetal gender between day 90 and 150

Fetal sex determination can also be performed transrectally later in gestation, using alternative dimorphic markers, namely the gonads and external genitalia. Although the fetus may be difficult to access at 80-90 days as it sinks down into the abdomen, beyond 90 days it often becomes accessible again as a result of its increasing size. The exact time at which the caudal part of the fetus is or is not accessible per rectum is however variable between mares and fetuses. Nevertheless, because it can be difficult to perfect the skills for reliable localization of the genital tubercle if it is not done frequently, it has recently become popular to perform an examination between 90 and 150 days to determine fetal sex. At this stage more structures can be examined to indicate sex (5), and these structures are larger. Among the most obvious and easy to identify structures in the equine ventro-caudal abdomen are the enlarged fetal gonads; these appear as ellipsoid structures with gender-specific internal anatomy. Male gonads (testes) have a homogenous echotexture with the exception of a central hypoechogenic strip with hyperechogenic borders (6), believed to correspond to the central vein of the adult testis. By contrast, female gonads have a characteristic echogenic ring separating the inner medulla from the outer cortex. While female gonads can be identified reliably from the B-mode image (98% accuracy: 6), positive identification of male gonads is more difficult (75% accuracy). However, using colour or power flow Doppler sonography greatly improves the accuracy of identifying male gonads (100%: 6), because the blood-flow in the central vessel becomes visible, as does the pampiniform plexus complex of vessels at one pole of the testis; in the ovaries a ring of blood vessels is apparent at the medullary-cortical boundary.

In addition to the gonads, the external genitalia can be visualized sonographically, with the prepuce visible as a cone-shaped structure between the hind-legs of a colt, from which penile shaft may protrude and which can be differentiated from the more trapezoid mammary gland of the filly foal which has characteristic hyperechogenic teats at both of the ventral 'corners' (5). The clitoris may also be visible in the filly as an echogenic protrusion under the tail head at the point where the buttocks meet.

Transabdominal determination of fetal gender

In cases where the caudal abdomen of post-day 90 fetuses can't be reached transrectally, it may be possible to determine fetal sex transabdominally. This requires a 2 - 3.5MHZ sector or convex probe and may require clipping the mare's ventral abdomen to generate an adequate image. The structures that are used for sex determination are the same as those described for day 90-150 transrectal determination, and it is advisable to begin the examination per rectum in case the fetus is presented caudally and sex determination can be performed this way, but also because it can help

indicate how far cranially in the mare the fetal abdomen is likely to be. Transabdominal examination begins along the mare's linea alba to identify the fetal vertebral column, heart or skull and thereby indicate the location of the caudal abdomen. In very late gestation, the sheer size of the fetus can make this a challenging exercise, as can the presence of large amounts of sub-cutaneous or intra-abdominal fat and in general it requires experience of imaging fetuses. altogether 11698 endometrial biopsy specimen, collected between the years 1992 and 2012, are summarized.

References

1. Samper JC, Morris L, Peña FJ, Plough TA. Commercial breeding with sexed stallion semen: Reality or Fiction? *J. Equine Vet. Sci.* 2012;32:471-474.
2. Herrera C, Morikawa MI, Bello MB, von Meyeren M, Centeno JE, Dufourg P, Martinez MM, Llorente J. Setting up equine embryo gender determination by preimplantation: genetic diagnosis in a commercial embryo transfer programme. *Theriogenology* 2014;81:758-763.
3. De Leon PM, Campos VF, Dellagostin OA, Deschamps JC, Seixas FK, Co llares T. Equine fetal sex determination using circulating cell-free fetal DNA (ccffDNA). *Theriogenology* 2012;77:694-698.
4. Holder RD. Equine fetal sex determination between 55 and 150 days. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD, eds. *Equine Reproduction 2nd Edition*. Chichester: John Wiley & Sons; 2011;2080-2093.
5. Bucca S. Equine fetal gender determination from mid- to advanced gestation by ultrasound. *Theriogenology* 2005;63:568-571.
6. Resende HL, Carmo MT, Ramires Neto C, Alvarenga MA. Determination of equine fetal sex by Doppler ultrasonography of the gonads. *Equine Vet. J.* 2014;46:756-758.

Contact address:

Professor Dr. Tom Stout, Utrecht University
t.a.e.stout@uu.nl

Early pregnancy loss in the mare – reasons and possible strategies for prevention

Christine Aurich, Juliane Kuhl

Artificial Insemination and Embryo Transfer, Vetmeduni Vienna (Austria)

Diagnosis of pregnancy in the horse

For detection of pregnancy in the mare, transrectal ultrasonography of the genital tract is the method of choice from day 10 after ovulation until term. In contrast, detection of pregnancy by pregnancy-associated hormones can be applied only much later and is unsuitable for the detection of twin pregnancies. These methods may be helpful for the monitoring of pregnancies at risk but are usually not applied for routine pregnancy checks. Pregnancy check by transrectal ultrasound should be scheduled before the next expected oestrus, i.e. day 17 or 18 after ovulation. If the mare is found not to be pregnant there is sufficient time to prepare her for breeding during the subsequent oestrus that follows immediately. In mares with double ovulation, pregnancy diagnosis should be done already on day 14 or 15 after ovulation allowing for an easy reduction of twins into a single conceptus before uterine fixation (1). Close monitoring of the pregnancy in mares with a history of repeated early pregnancy loss may help to investigate the underlying causes. Especially in mares with a history of early embryonic loss a second pregnancy check is recommended around day 35 after ovulation, i.e. before implantation. A third pregnancy check should be done approximately at the end of the 7th month of pregnancy, because abortion until then frequently remains undetected and may result in mismanagement of mares that are no longer pregnant. Early pregnancy loss before day 35 after ovulation occurs in approximately 10% of pregnancies and this phase of pregnancy is more prone to conceptus loss than any other phase of gestation. In subfertile and aged mares, the condition is seen more frequently and over a longer time period during pregnancy (2,3). Major reasons for early pregnancy loss are insufficient growth and development of the conceptus (4,5). This may be either caused by intrinsic factors related to the conceptus or by insufficient support of conceptus development by the endometrium. Improvement of uterine conditions in mares with a history of repeated early embryonic loss might be an approach to improve foaling rates.

Approaches to improve endometrial function in the mare

As in other species, establishment of equine pregnancy depends on the presence of progesterone (6). Because equine embryos express progesterone receptors in the trophoblast, direct effects on conceptus development cannot be excluded (7,8). However, the main task of progesterone is the preparation of the endometrium for pregnancy which requires downregulation of progesterone receptors for the production of endometrial histotroph (9). In cows, a positive relationship between progesterone concentration in maternal plasma and development of the embryo has been demonstrated. High progesterone release in the early postovulatory phase stimulates a stronger antiluteolytic signal (10,11). Treatment of mares with the progestin altrenogest from day 5 after ovulation resulted in enhanced downregulation of endometrial epithelial progesterone receptors (8). In contrast to cattle, hCG treatment of mares on day 5 after ovulation did not improve corpus luteum function and no differences in development of the conceptus in comparison to untreated controls were seen (12). However, induction of ovulation with hCG significantly increased progestin concentration after ovulation in comparison to untreated mares and was associated with an increased size of the embryo proper. Timed injection of hCG during oestrus therefore not only induces ovulation but has a pronounced stimulatory effect on progestin concentrations during the subsequent luteal phase in mares.

Maternal tolerance of pregnancy in the horse and a possible involvement in pregnancy loss
The fetal-placental unit is an allograft that has to escape destruction by the maternal immune system. Exposure of the dam to non-maternal antigens begins already at mating and results in changes of the maternal immune system (13). Among the different lymphocyte subpopulations, regulatory T cells (Tregs) contribute to balance of immune responses. They are subdivided into lineages that are either derived from the thymus (naturally occurring Tregs) or generated in the periphery (inducible Tregs). In oestrous mares, the level of naturally occurring Tregs in peripheral blood was lower in animals undergoing early pregnancy loss than in mares that lost their pregnancy at later times or carried their foal to term. Low concentrations of naturally occurring Tregs may thus explain early pregnancy loss in individual mares (14). In the circulation of the mare, naturally occurring Tregs slightly but significantly decreased from estrus to the late luteal phase but not during ongoing pregnancy. This decrease may be related to a change from estrogen dominance in estrus to progesterin dominance during the luteal phase and pregnancy (15).

In humans and mice, maternal tolerance of pregnancy is acquired already at mating by presentation of seminal plasma antigens to the maternal immune system (16). High concentrations of cytokines and prostaglandins present in seminal plasma stimulate inducible Tregs at the implantation site and thus increase acceptance of the conceptus (13). For the horse detailed information on effects of seminal plasma on maternal tolerance of pregnancy and induction of the Treg response is still lacking (17). Nevertheless, the pronounced inflammatory response of the oestrous mare endometrium to mating or inoculation of seminal plasma does not only include polymorph nuclear neutrophils, but also lymphocytes (18). An involvement of Tregs into this process is therefore feasible. Reduced fertility after insemination in comparison to natural cover has been suggested to be related to semen processing which also includes reduction of the seminal plasma component (19). In humans, it has been suggested that the absence of seminal plasma during in vitro production of embryos may contribute to higher rates of implantation failure and a decrease in embryo quality. Therefore, strategies to add seminal plasma-induced factors to in vitro culture media have been developed and shown to improve the survival of embryos until live birth (13). In the horse, supplementation of the inseminate with factors that are involved in stimulation of maternal tolerance may be a key to improve fertility in mares after artificial insemination. However, no evidence-based protocols are available at present.

References

1. MacPherson ML, Reimer JM. Twin reduction in the mare: current options. *Anim Reprod Sci.* 2000;60–61:233–44.
2. Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ. Effect of uterine inflammation and ultrasonically detected uterine pathology on fertility in the mare. *J Reprod Fertil.* 1987;35:445-54.
3. Morris LHA, Allen WR. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Vet J.* 2002;34:51-60.
4. Ginther OJ, Bergfelt DR, Leith GS, Scraba ST. Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology. *Theriogenology.* 1985;24:73-87.
5. Vanderwall, DK, Squires EL, Brinsko SP, McCue PM. Diagnosis and management of abnormal embryonic development characterized by formation of an embryonic vesicle without an embryo in mares. *J Am Vet Med Assoc.* 2000;217:58-63.
6. Kastelic JP, Adams GP, Ginther OJ. Role of progesterone in mobility, fixation, orientation and survival of the equine embryonic vesicle. *Theriogenology.* 1987;27:655-63.
7. Rambags BPB, van Tol HTA, van den Eng MM, Colenbrander B, Stout TAE. Expression of progesterone and oestrogen receptors by early intrauterine equine conceptuses. *Theriogenology.* 2008;69:366–75.

8. Willmann C, Budik S, Walter I, Aurich C. Influences of treatment of early pregnant mares with the progestin altrenogest on embryonic development and gene expression in the endometrium and conceptus. *Theriogenology*. 2011;76:61-73.
9. Spencer TE, Bazer FW. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front Biosci*. 2002;7:1879-98.
10. Mann GE, Lamming GE. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod Dom Anim*. 1999;34:269-74.
11. Mann GE, Lamming GE. Relationship between maternal endocrine environment, early embryonic development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*. 2001;121:175-80.
12. Köhne M, Kuhl J, Ille N, Erber R, Aurich C. Treatment with human chorionic gonadotrophin before ovulation increases progestin concentration in early equine pregnancies. *Anim Reprod Sci*. 2014;149:187-193.
13. Robertson SA, Guerin LR, Moldenhauer LM, Hayball JD. Activating T regulatory cells for tolerance in early pregnancy – the contribution of seminal fluid. *J Reprod Immunol*. 2009;83:109-16.
14. Aurich C, Weber J, Nagel C, Merkl M, Jude R, Wostmann S, Ollech D, Baron U, Olek S, Jansen T. Low levels of naturally occurring regulatory T lymphocytes in blood of mares with early pregnancy loss. *Reprod Fertil Dev*. 2014;26:827-33.
15. Aurich C, Weber J, Nagel C, Baron U, Olek S, Jansen T. Levels of naturally occurring regulatory T-lymphocytes in mares during estrous, luteal phase and pregnancy. Society for the Study of Reproduction, Annual Meeting, 18.-22.6.2015, San Juan, Puerto Rico, S. 76.
16. Antczak DF. T-cell tolerance to the developing equine conceptus. *Reprod Dom Anim*. 2012;47(Suppl. 4):376-83.
17. Noronha LE, Antczak DF. Maternal immune responses to trophoblast: the contribution of the horse to pregnancy immunology. *Reprod Immunol*. 2010;64:231-44.
18. Palm F, Walter I, Budik S, Kolodziejek J, Nowotny N, Aurich C. Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1b, IL-6, TNF-a and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*. 2008;70:843- 51.
19. Aurich C. Recent advances in cooled-semen technology. *Anim Reprod Sci*. 2008;107:268-275.

Contact address

A. Univ.-Prof. Dr. Christine Aurich, Besamung und Embryotransfer, Vetmeduni Vienna, Wien (Österreich)

Christine.aurich@vetmeduni.ac.at

Using laparoscopy to treat infertility in mares

Marta de Ruijter-Villani, Tom A.E. Stout

Department of Equine Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University (The Netherlands)

Introduction

The availability of assisted reproductive technologies such as ovum pick-up and intra-cytoplasmic sperm injection, oocyte and embryo transfer has reduced the need for surgery as a primary method of resolving infertility in mares. However, when assisted reproduction is not permitted, and for some acquired anatomical defects, surgery can be a successful means of restoring fertility. When surgery of the abdominal reproductive tract is indicated, laparoscopy is as successful as laparotomy and associated with fewer complications and faster recovery.

Sedation, anaesthesia and peri- and post-operative medication

One benefit of laparoscopic surgery is that it can be performed in the standing mare, avoiding general anaesthesia. Sedation can be induced and maintained using a combination of an alpha-2-agonist and an opioid; for example, 20mg/L detomidine hydrochloride and 10mg/L butorphanol tartrate in isotonic saline infused at a rate of 1-2 drops per second can provide a constant state of sedation during standing surgery. Caudal epidural anaesthesia is generally not necessary during laparoscopic surgery, however the authors routinely use epidural morphine administration (0.1mg/kg diluted in 15ml of saline) to reduce post-operative discomfort following ovariectomy. During ovariectomy, infiltration of local anaesthetics into the broad ligaments greatly reduces operative pain; this would also be appropriate during uteropexy. The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs such as flunixin meglumine or meloxicam prior to surgery and during the following 2-3 days is also advisable for pain management. Since laparoscopic procedures are minimal invasive and clean, antimicrobial therapy is either not necessary or can be reduced to strict peri-operative use.

Patient preparation

Horses should be fasted for 24-36 hours before surgery to reduce large colon bulk. Once the mare is restrained in stocks and sedated, the caudal flank region(s) should be clipped, aseptically prepared for surgery and draped to expose the paralumbar fossa(e). Recommended instrument portal positions include a first (middle) portal level with the ventral aspect of the tuber coxae midway between the last rib and the tuber coxae, a second portal either cranial or caudal to the last rib 10cm dorsal and 5cm rostral to the middle portal, and a third portal 10cm ventral to the first (1). The portal sites are anaesthetized by local infiltration and, in the case of ovariectomy or partial hysterectomy, local anaesthetic infiltration is continued ventral to the ventral portal where a mini-(5cm) laparotomy will be performed to remove the ovary or uterine horn.

Procedures

1. Diagnostic laparoscopy

Diagnostic laparoscopy can be used to evaluate the oviducts and ovarian bursae of mares with unexplained infertility. This is generally performed after hysteroscopic evaluation to rule out occult uterine abnormalities. Diagnostic laparoscopy is particularly useful when the sonographic examination has aroused suspicions of oviductal or ovarian abnormalities. For example, unusual peri-ovarian cystic structures: since only diagnostic laparoscopy can definitively differentiate a para-

oviductal cyst from cystic dilatation of the oviduct. While para-oviductal cysts often originate from poorly regressed Wolffian ducts and do not affect fertility, cystic dilatation of the oviduct involves occlusion, prevents gamete transit and therefore causes infertility. If adhesions or oviduct dilatation is discovered during diagnostic laparoscopy, appropriate surgery can be performed immediately.

Unlike other species, diagnostic techniques to assess tubal patency in the mare are limited, although two have been described recently. The first involves infusing dye or fluorescent beads into the oviduct after catheterizing the ampullae laparoscopically, followed by evaluation of the uterine contents for dye or fluorescent bead passage to confirm tubal patency (2,3). Although the ampullae were reportedly catheterized in 64-93% of mares, dye or beads were identified in the uterus of only 37-71% of apparently normal mares (2,3). The second technique involves instilling dye into the oviduct via hysteroscopic catheterization of the uterotubal junction, and subsequent observation of dye overflowing from the ampullae during laparoscopy, or detection of dye in the peritoneal fluid by abdominocentesis (4). While catheterization of the utero-tubal junction was relatively successful (75%), dye passage during laparoscopy or in peritoneal fluid was observed in only 57%. Due to these limitations and the relatively ease of treatment to restore oviduct patency, it is currently advisable to treat suspected obstructed oviducts without attempting further diagnosis.

2. Treatment to re-establish oviductal patency

The oviducts of mares are known to accumulate gelatinous masses that can organize and occlude the lumen, either preventing sperm from reaching the site of fertilization or, more likely, the embryo from reaching the uterus (5). Treatment to re-establish patency involves laparoscopic application of prostaglandin E2 (PGE2) gel onto the surface of both oviducts (6). We typically use dinoprostone cervical gel (PGE2 0.2mg/ml) loaded into 0.5ml straws that can be inserted into the abdomen in a sterile embryo transfer pipette via an instrument portal. Each oviduct is treated with 1ml of PGE2 gel (2 straws) distributed along the entire length from the infundibulum to the isthmus. Recent publications report that, in selected sub-fertile mares, 85% became pregnant or produced embryos in the same season as treatment (7).

3. Unilateral Ovariectomy

Laparoscopic ovariectomy is performed most commonly in mares with a unilateral ovarian granulosa theca cell tumor (GTCT). GTCTs are endocrinologically active and may secrete testosterone, estrogens, AMH and/or inhibin. Inhibin will suppress follicular growth on the contralateral ovary causing prolonged anoestrus, whereas testosterone can induce stallion-like behaviour. Ultrasonographically, GTCTs often appear multi-cystic; however solid ovarian masses, or single fluid filled cysts have also been described (8). During ovariectomy, the mesovarium and oviduct can be ligated and transected with scissors, or transected using a diathermic device that ensures simultaneous hemostasis. In the case of large tumors, a disposable surgical drape can be used to envelop the excised GCTC intra-abdominally. The ovary can then be morcellated intra-abdominally and removed in small pieces through a small (5cm) laparotomy, while avoiding seeding tumor cells into the peritoneum or wound edges. After GTCT removal, the contralateral ovary generally recovers cyclic activity within nine months (9).

Other indications for unilateral ovariectomy, include intra-uterine adhesions compromising access to one utero-tubal junction, or adhesions within the ovarian bursa. In such cases, the mare will not get pregnant when ovulating on the affected side and removal of the ipsilateral ovary will eliminate 'unusable' cycles.

4. Uteropexy

Old pluriparous mares may develop an increasingly pendulous, cranio-ventrally angled uterus which can predispose to delayed post-breeding uterine clearance, endometritis and infertility. A

recent study reported laparoscopic uteropexy, during which the mesometria are shortened by imbrication, for returning a pendulous uterus to a normal, horizontal position (10). Using a laparoscopic needle holder or automated endoscopic suturing device, sutures are placed through the dorsal aspect of the uterine body and uterine horn and the adjacent mesometrium using a simple continuous suture pattern. While preliminary results were promising, too few cases have been reported to really assess its efficacy for improving fertility (10), and for the absence of subsequent complications.

Conclusions

Although the role of abdominal surgery in the management of mare infertility is limited, laparoscopic surgery offers a minimally invasive approach to correction in mares diagnosed with structural pathology of the reproductive tract.

References

1. Hendrickson D. Laparoscopic cryptorchidectomy and ovariectomy in horses. *Vet. Clin. Equine*. 2006;22:777-798.
2. Kollman M, Rotting A, Heberling A, Sieme H. Laparoscopic techniques for investigating the equine oviduct. *Equine Vet J*. 2011;43(1):106-111.
3. Arnold CE, Love CC. Laparoscopic evaluation of oviductal patency in the standing mare. *Theriogenology*. 2013;79:905-910.
4. Inoue Y. Hysteroscopic hydrotubation of the equine oviduct. *Equine Vet. J*. 2013;45:761-765.
5. Liu IKM, Lants KC, Schlafke MA, Bowers JM, Enders AC. Clinical observations of oviductal masses in the mare. *Proc. Am. Ass. Equine Practnrs*. 1991;32:41-45.
6. Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN. Laparoscopic application of PGE2 to re-establish oviductal patency and fertility in infertile mares: a preliminary study. *Equine Vet. J*. 2006;38(5):454-459.
7. Ortis HA, Foss RR, McCue PM, Bradecamp EA, Ferris RA, Hendrickson DA. Laparoscopic application of PGE2 to the uterine tube surface enhances fertility in selected subfertile mares. *J. Equine Vet. Science*. 2013;33:896-900.
8. Villani M, Ensink JM, Stout TAE, Rijkenhuizen ABM. Standing laparoscopic ovariectomy in mares with ovarian abnormalities: a retrospective study (2002-2009). *Proc. SIVE* 2010;301-302.
9. Crabtree J. Review of seven cases of granulosa cell tumour of the equine ovary. *Vet Rec*. 2011;169(10):251.
10. Brink P, Schumacher J, Schumacher J. Elevating the uterus (uteropexy) of five mares by laparoscopically imbricating the mesometrium. *Equine Vet. J*. 2010;42(8):675-9.

Contact address

Dr. Marta de Ruijter-Villani, Dept. Equine Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University
m.villani@uu.nl

The transitional period. Effects of lighting regimes and environment

William R. Allen, Sandra Wilsher

The Paul Mellon Laboratory of Equine Reproduction, Newmarket, Suffolk (UK)

For ovarian cyclicity to commence, the hypothalamus must release enough Gonadotrophin-releasing Hormones (GnRH) in sufficiently frequent pulses to stimulate the pituitary gland to synthesize and release both Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH) in appropriate amounts to induce and maintain follicular growth and maturation to the point of ovulation. Increasing photoperiod (natural or artificial) induces these changes in GnRH secretion pulse rate by triggering sensory neural pathways to the pineal gland via the retina. Pinealocytes secrete melatonin which inhibits GnRH release. Melatonin is produced only during periods of darkness so that increasing day length reduces melatonin secretion rate which, in turn, allows an increase in the pulsatile secretion of GnRH from the hypothalamus (1).

Artificial lighting regimens are used to mimic increasing day length. Current dogma argues that 14.5 hours of light provides enough stimulation to set in train the physiological events that will induce cyclicity in long-day breeders like the mare. However, mares at different latitudes experience considerable variations in the hours of daylight they are exposed to yet they all show an annual reproductive rhythm and the date of the first ovulation of the year is remarkably similar in the respective hemispheres (2). This implies that the light signal required to induce cyclicity is not absolute day length or even the rate at which day length changes. Thus, while light plays the dominant role in regulating the breeding season, other factors are clearly involved.

2

Table 1: Common lux levels measured outdoors under different climatic conditions. (Adapted from 6)

Condition	Illumination (lux)
Overcast night	0.0001
Starlight	0.001
Quarter moon	0.0108
Full moon	0.108
Deep twilight	1.08
Twilight	10.8
Very dark day	107
Overcast day	1,075
Full daylight	10,752
Bright sunlight	107,527

Artificial lighting regimes are very effective in hastening cyclicity. For example, exposure of seasonally anoestrous mares to 14.5 – 16.0 hours of light, starting at the winter solstice and continuing till the summer solstice, induces renewed ovarian cyclicity around 60 – 70 days after the start of treatment. Artificial light is usually 'added' in the evening rather than in the morning and mares exposed to 2.5 hours of additional light beginning at sunset cycle earlier than those exposed to the additional light given before sunrise (3). Nevertheless, despite this reported ineffectiveness of

morning lighting, a 1 hour pulse of artificial light given to seasonally anoestrous mares 9.5 to 10.5 hours after sunset will effectively hasten the onset of the breeding season (4). Surprisingly, given its electricity saving benefits, this middle of the night one hour pulse is not applied practically on any Newmarket studfarms.

Based on the original study by Burkhardt (5), the normal recommendation for light levels sufficient to elicit a response is a 100-Watt incandescent bulb hanging in the middle of a 12' x 12' stable. This provides an average intensity (illuminance) of approximately 100 lux and 'this rule of thumb' has its origin in the ability to 'read a newspaper anywhere in the stable, including in corners and under overhangs'. Table 1 indicates the lux levels typically seen indoors and outdoors under different conditions (6).

Assessment of illuminance at commercial studfarms in the Newmarket area of the United Kingdom, measured both directly under the light source and horizontally to assess reflected light from the stable walls, showed that most mares are exposed to considerably less than 100 lux at night (Tab. 2). Bearing in mind that the mare's eyes are positioned on the side of her head, it is the light reflected from the stable walls that counts. Lux levels were found to be extremely variable between studfarms, between yards on each studfarm, and even between individual stables within a barn or yard. Nevertheless, despite being exposed to what traditionally would be considered a sub-optimal illuminance, the vast majority of mares do respond to the lighting regimes they are subjected to and Guillaume et al. (7) reported that cyclicity can be induced by levels as low as 10 lux in mature mares but, intriguingly, not in young mares aged 1 – 3 years. Furthermore, the threshold level at which melatonin production can be inhibited by a blue light (465 nm wavelength) directed at the mare's eye is as low as 3 – 10 lux and the breeding season can be advanced by directing 50 lux of timed blue light at a single eye (8,9). Blue light within the short wavelength spectrum of 456 – 485 nm is believed to be the most effective at inhibiting melatonin secretion from the pineal gland (10).

Table 2: Lux levels measured in stables at different studfarms in Newmarket, UK.

Stud	Illumination measured directly below the light source (Lux)	Illumination by light reflected from the stable walls (Lux)
A (2 yards)	151 – 204	25
B (6 yards)	12 – 78	2 – 19
C (2 yards)	134 – 385	46 – 67
D (1 yard)	83	8
E (2 yards)	407 – 192	46 – 188
F (4 yards)	20 – 87	1 – 3
G (2 yards)	19 – 995	0 – 185
H (3 yards)	27 – 125	5 – 28
I (3 yards)	7 – 155	0 – 42
J (2 yards)	20 – 59	0 – 3

Although increasing day length is the basic stimulus for the commencement of cyclicity, other environmental factors like ambient temperature and the growth of Spring grass fine tune the mare's response, particularly when moving from the transitional phase to full cyclicity. This striking effect of the so-called "visit of Dr Green" is illustrated in Fig. 1 and 2 which compare the random occurrence of the first ovulation of the year in non-light treated Thoroughbred mares given daily access to grazing

with the rapid and highly synchronized first ovulations exhibited by a group of non-lit Pony mares turned out onto lush spring grass after spending the winter maintained in half-covered yards.

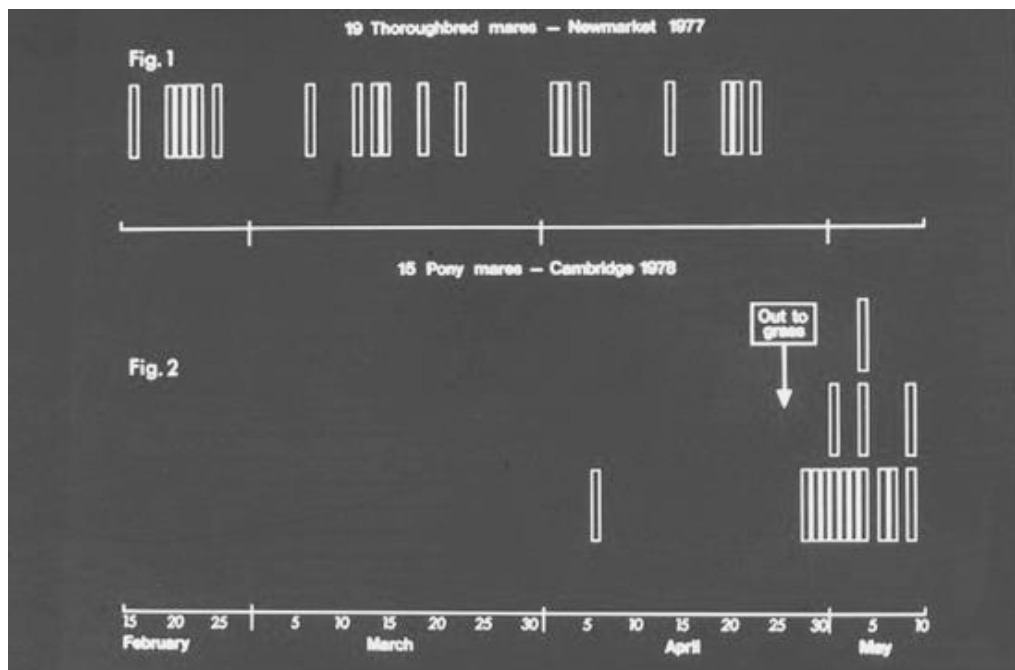


Figure 1: First ovulations of the season exhibited by 19 barren, un-lit, Thoroughbred mares let out to graze for 6 hours per day. **Figure 2:** The “visit of Dr Green” effect exemplified by tightly grouped first ovulations of the year exhibited by 15 Pony mares maintained in half-covered yards before being turned out onto lush spring grass on 26th April.

Once cyclicity has commenced, exteroceptive factors continue to moderate follicular development and ovulation. Early in the Thoroughbred covering season (mid-February – mid-June in the UK) anecdotal evidence suggests that periods of adverse (cold and wet) weather slow the expected rate of follicle growth and ovulation in barren, maiden and lactating mares, thereby delaying mating and possible conception. It remains unknown whether this presumed down-regulation of pituitary gonadotrophin release results from the reduction in light intensity or the fall in ambient temperature during the inclement weather.

As well as controlling the production of GnRH and pituitary gonadotrophins, photoperiod and other exteroceptive factors such as ambient temperature also influence prolactin release during the year (11). For example, follicle growth can be activated during anoestrus by increasing prolactin levels, either through inhibition of dopamine (12) or by administering exogenous prolactin (13,14).

In summary, although artificial lighting regimes are highly effective in hastening renewed cyclicity in seasonally anoestrous mares, many questions still remain as to the precise mechanisms involved and the significance of other environmental factors which drive the changes from deep anoestrus through the transition period and on to full cyclicity.

References

1. Miller KF, Berg SL, Sharp DC, Ginther OJ. Concentrations of circulating gonadotropins during various reproductive states in mares. *Biol Reprod.* 1980;22:744-750.
2. Sharp DC. Photoperiod. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Dickson DD, editors. *Equine Reproduction 2nd Edition, Vol. 2.* Iowa, USA: Wiley-Blackwell; 2011. p.1771-1777.
3. Sharp DC, Seamans KW. Effect of time of day on photo-stimulation of the breeding season in mares. In: *Proceedings of the 72nd Annual Meeting of the American Society of Animal Science.* 1982.
4. Palmer E, Driancourt MA, Ortavant R. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrous. *J Reprod Fert Suppl.* 1982;32:275-282.
5. Burkhardt J. Transition from anoestrus in the mare and effects of artificial lighting. *J Agric Sci.* 1947;37:64-68.
6. The Engineering Toolbox. http://www.engineeringtoolbox.com/light-level-rooms-d_708.html. Accessed November 2014.
7. Guillaume D, Duchamp G, Nagy P, Palmer E. Determination of minimum light treatment required for photostimulation of winter anoestrous mares. *J Reprod Fert Suppl.* 2000;56:205-216.
8. Walsh CM, Prendergast RL, Sheridan JT, Murphy BA. Blue light from light-emitting diodes directed at a single eye elicits a dose-dependent suppression of melatonin in horses. *Vet J.* 2013;196:231-235.
9. Murphy BA, Walsh CM, Woodward EM, Prendergast RL, Ryle JP, Fallon LH, Troedsson MH. Blue light from individual light masks directed at a single eye advances the breeding season in mares. *Equine Vet J.* 2014;46:601-605.
10. Lockley SW, Brainard GC, Czeisler CA. High sensitivity of the human circadian melatonin rhythm to resetting by short wavelength light. *J Clin Endocrin Metab.* 2003;88:4502-4505.
11. Johnston AL. Seasonal and photoperiod-induced changes in serum prolactin and pituitary responsiveness to thyrotropin-releasing hormone in the mare. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1987;184:118-122.
12. Besgonet B, Hansen BS and Daels PF. Induction of reproductive function in anestrus mares using a dopamine antagonist. *Theriogenology.* 1997;47:467-80.
13. Nequin LG, King SS, Johnson AL, Gow GM, Ferreira-Dias GM. Prolactin may play a role in stimulating the equine ovary during the spring reproductive transition. *Journal of Equine Veterinary Science.* 1993;13:631-635.
14. Thompson DL, Hoffman R and DePew CL. Prolactin administration to seasonally anestrus mares: Reproduction, metabolic, and hair shedding responses. *J Anim Sci.* 1997;75:1092-1099.

Contact address

Professor Twink Allen, The Paul Mellon Laboratory of Equine Reproduction, Suffolk (UK)
pml777@virginmedia.com

Hormones role on mare reproductive physiology and dysfunction

Maria R. Rebordão^{1,2}, A Amaral¹, A Galvão^{1,3}, Anna Z Szótek³, Pedro Pinto-Bravo², Dariusz S Skarzynski³, Graça Ferreira-Dias¹

¹CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Lisbon (Portugal); ²Coimbra College of Agriculture, Coimbra (Portugal); ³Institute of Animal Reproduction and Food Research, PAS, Olsztyn (Poland)

Abstract

Classical and molecular biology methods have improved the knowledge on the mechanisms regulating reproductive processes in the mare. Depending on the estrous cycle phase and on the physiologic or pathologic condition, hormones, such as oxytocin, ovarian steroids or prostaglandins, as well as enzyme profiles in these pathways are different or act in a dissimilar fashion.

Introduction

Knowledge on endocrinology, based both on classical and molecular biology approaches, has enabled the use of hormones in horse reproduction, either in normal or in pathological conditions. It is well established that ovarian steroid hormones play a crucial role on mare reproductive function. Estrogens (E2) produced in the follicular phase by ovarian follicles, and progesterone (P4) in the corpus luteum (CL) in the luteal phase are the main steroids that rule reproductive physiological events in the mare. E2 up-regulates its own nuclear receptors (ER α and ER β), as well as P4 receptors (PR) in mares endometrium (1). Ovarian steroids affect equine endometrium cell proliferation, angiogenesis and secretory function by prostaglandin (PG) production (2,3). These hormones up-regulate prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2), prostaglandin E2 synthase (PGES), and prostaglandin F2 α (PGF2 α) synthase (PGFS) expression (3). In the mare endometrium, ovarian steroid-stimulated PG production could be an important mechanism of estrous cycle regulation and early pregnancy maintenance (3). Besides, the coordinated action of ovarian hormones, nitric oxide (NO) and cytokines in mare endometrium may regulate not only proliferative and secretory function, modulating PGE2 and PGF2 α production, but also angiogenesis (2,4).

Oxytocin and Prostaglandin

In the absence of pregnancy, PGF2 α produced by the endometrium, and presence of oxytocin (OXT) receptors (OXTR) are necessary for luteolysis and ovarian cyclic resumption. In mares, luteolysis occurs on days 14 to 16 of the estrous cycle (5). Oxytocin is involved in numerous physiological processes. Since OXT enhances uterine contraction, it has been used as a treatment for post-breeding delayed uterine clearance in mares susceptible to endometritis (6). Although endogenous OXT secretion regulates endometrium PGF2 α secretion during spontaneous luteolysis, the response of PGF2 α to exogenous OXT depends on mare physiological state (estrous cycle phase or pregnancy). This response is the highest at luteolysis (late luteal phase) in cyclic mares and associated with increased endometrial OXTR. Although OXT-mRNA levels are positively correlated with serum E2 levels in mares (7), OXTR in endometrium are low at estrus (8). In mare late luteal phase (day 14-15), OXT endometrium gene expression and OXT receptors concentration increase and mediate PGF2 α release (8), leading to functional and structural luteolysis with P4 progressive decrease to < 1ng/mL (5). Nevertheless, when OXT is administered to mares in mid luteal phase (day 8 to 14) it blocks luteolysis instead, and prolongs luteal phase (9,10). However, the exact mechanism involved in this action is unknown. In our most recent work, where mares received OXT every 12h, from Day 7 to Day 14 after ovulation, endometrial expression of PTGS2, PGFS, PGES,

PGIS, OXTR, PR, ER α and ER β were evaluated. Prolonged luteal function occurred in 67% of OXT treated mares. In the endometrium of OXT group with prolonged luteal function, PGES, PGIS, PR and OXTR, immunolabeling was increased. Those mares also showed endometrium overexpression of OXTR and under expression of ER β . This suggests that prolonged luteal activity associated with chronic OXT treatment may involve desensitization rather than downregulation of OXTR. The effects of chronic OXT administration may be associated with non-genomic P4 actions that block OXT binding to OXTR with consequent inhibition of PGF2 α luteolytic pulses.

Prostaglandins and disease

In the field of physiopathology of reproduction, PGE2 has been claimed to be luteotrophic, while PGF2 α is luteolytic. Nevertheless, PG are lipid autacoids mediating homeostatic functions and some pathogenic mechanisms, such as the inflammatory response. Thus, pathways involving PG, which act locally, through specific receptors, have been considered in pathological conditions such as fibrogenesis (11). While PGE2 binds to E prostanoid receptors (EP) and triggers numerous antifibrotic actions in some cells, when it binds to PGF2 α receptor (FP), even though with lower affinity, it can induce fibrosis in lungs (12). Thus, PGF2 α and PGE2 might act together towards fibrogenesis (12). In woman endometrium, PG action, PG receptors signaling pathways and their enzymes have been related to benign pathologies, triggering vasoconstriction, augmented myometrial contractions and pain (13). There is a degenerative chronic process in the mare endometrium, characterized by paramount fibrosis development, called endometrosis, which is responsible for embryo loss. In the course of endometrosis, there are changes in PG production and mRNA transcription of prostaglandin (PG) synthases (14). Thus, PG changes may influence estrous-cycle disorders, early embryo mortality and infertility. In response to infectious stimuli, neutrophils cast out their DNA and form neutrophil extracellular traps (NETs) (15). We have showed that NETs were present in uterus of mares with endometritis (16). In our in vitro studies mare endometrium in presence of NETs components had a PGE2 production decrease and mRNA type 1 collagen level increase, which may lead to fibrosis. Although further research should be carried out, in persistent endometritis in the mare, modifications in PG production may not only cause early luteolysis, but may also be related to endometrial fibrosis establishment.

Understanding the complexity of reproductive endocrinology and PG-driven mechanisms is vital for identification of potential pharmacological targets for prevention and treatment of mare reproductive problems.

References

1. Silva E, Scoggin K, Canisso I, Troedsson M, Squires E, Ball B. Expression of receptors for ovarian steroids and prostaglandin E2 in the endometrium and myometrium of mares during estrus, diestrus and early pregnancy. *Anim Reprod Sci.* 2014;151(3):169-81.
2. Galvão A, Valente L, Skarzynski DJ, Szóstek A, Piotrowska-Tomala K, Rebordão MR, Mateus L, Ferreira-Dias G. Effect of cytokines and ovarian steroids on equine endometrial function: an in vitro study. *Reprod Fert Dev* 2013;25,985–997.
3. Szóstek AZ, Galvão AM, Ferreira-Dias GM, Skarzynski DJ. Ovarian steroids affect prostaglandin production in equine endometrial cells in vitro. *J Endoc.* 2014;220,263–276.
4. Roberto da Costa RP, Costa AS, Korzekwa AJ, Platek R, Siemieniuch M, Galvão A, Redmer DA, Robalo Silva J, Skarzynski DJ and Ferreira-Dias G. Actions of a nitric oxide donor on prostaglandin production and angiogenic activity in the equine endometrium. *Reprod Fert Dev.* 2008;20,674–683.
5. Ginther OJ, Hannan MA, Beg MA. Luteolysis and associated interrelationships among circulating PGF2 α , progesterone, LH, and estradiol in mares. *Domest Anim Endoc.* 2011;41:174–84.
6. LeBlanc MM, Neuwirth L, Mauragis D, Klapstein E, Tran T. Oxytocin enhances clearance of radiocolloid from the uterine lumen of reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Vet J.* 1994; 26:279-282.

7. Watson ED, Buckingham J, Björkstén T, Nikolakopoulos E. Immunolocalisation of oxytocin and neurophysin in the uterus of the mare. *J Reprod Fertil.* 2000;56:289–96.
8. Ruijter-Villani M, van Tol HT, Stout TA. Effect of pregnancy on endometrial expression of luteolytic pathway components in the mare. *Reprod Fertil Dev.* 2014;27:834–845.
9. Stout TA, Lamming GE, Allen W.R. Oxytocin administration prolongs luteal function in cyclic mares. *J Repr Fert.* 1999;116:315–20.
10. Keith L, Ball BA, Scoggin K, Esteller-Vico A, Woodward EM, Troedsson MHT, Squires EL. Diestrus administration of oxytocin prolongs luteal maintenance and reduces plasma PGFM concentrations and endometrial COX-2 expression in mares. *Therio.* 2013;79(4):616–24.
11. Oga T, Matsuoka T, Yao C, Nonomura K, Kitaoka S, Sakata D, Kita Y, Tanizawa K, Taguchi Y, Chin K, Mishima M, Shimizu T, Narumiya S. Prostaglandin F₂ α receptor signaling facilitates bleomycin-induced pulmonary fibrosis independently of transforming growth factor- β . *Nat Med.* 2009;15:1426–1430.
12. Olman MA. Beyond TGF- β : a prostaglandin promotes fibrosis. *Nat Med.* 2009;15:1360 – 1361.
13. Jabbour HN, Sales KJ, Smith OPM, Battersby S, Boddy SC. Prostaglandin receptors are mediators of vascular function in endometrial pathologies. *Mol Cell Endoc.* 2006;252:191–200.
14. Szóstek AZ, Siemieniuch MJ, Lukasik K, Galvão AM, Ferreira-Dias GM, Skarzynski DJ. mRNA transcription of prostaglandin synthases and their products in the equine endometrium in the course of fibrosis. *Therio.* 2012; 78:768–776.
15. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss D S, Weinrauch Y, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004;303:1532-1535.
16. Rebordão MR, Carneiro C, Alexandre-Pires G, Brito P, Pereira C, Nunes T, Galvão A, Leitão A, Vilela C, Ferreira-Dias G. Neutrophil extracellular traps formation by bacteria causing endometritis in the mare. *J Repr Immun.* 2014;106:41-9.

Contact address

Prof. Graça Ferreira-Dias, Faculty of Veterinary Medicine, Av. Universidade Técnica, Lisboa (Portugal)
gmfdias@fmv.ulisboa.pt

Ovulatory failure: Contributing factors and possible management strategies

Dale Paccamonti

Dept. Veterinary Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana (USA)

Ovulatory failure is frustrating when it occurs during the breeding season. Although most anovulatory follicles are of the hemorrhagic type, occasionally a non-hemorrhagic anovulatory follicle is found. Whether these can be considered to be true ovarian cysts is controversial. A recent study examined the follicular contents of these structures in 6 mares (1). Compared with preovulatory follicles from normal mares, estrogen and IGF were lower, while testosterone and IGF binding were greater (1). The authors concluded that the pathogenesis of these structures was very similar to that of follicular cysts in cattle. After follicular aspiration, all mares resumed normal cyclicity and conceived in subsequent cycles (1).

More commonly, anovulatory follicles are of the hemorrhagic type. Hemorrhagic anovulatory follicles (HAF) are more commonly found in older mares (2). Some reports indicate HAFs are more common in the autumn (3), others found the highest incidence from May to August (4), while still others found no effect of season (5). Most agree that there is a tendency for some mares to have repeated HAFs (3,4).

While the existence of HAFs is well recognized, the ability to predict their occurrence has eluded us. Using grey-scale B-mode ultrasonography, there are no premonitory signs that can be used to predict that a follicle will fail to ovulate. Typically, a HAF is recognized by the sudden appearance of hyperechoic specks in the follicular antrum. Over the next few days, hyperechoic strands develop in the antrum and the follicular wall thickens as luteal tissue develops. Using Doppler ultrasound, increased vascularity at the site of impending ovulation was noted in follicles that failed to ovulate compared with normal follicles the day before ovulation. This difference was attributed to a greater degree of hemorrhage during HAF formation compared with ovulation (2).

Differentiating a HAF from a corpus hemorrhagicum (CH) can be difficult if an examination is not performed shortly after its formation. If examined daily, soon after formation a HAF will have a thinner luteal border, usually less than 3 mm, while a CH will have a border > 5 mm (6). In addition, the HAF will have the same or greater diameter than the pre-ovulatory follicle, while the CH will be smaller than the preovulatory follicle (6). With less frequent exams, as the contents of the structures clot and become organized, the same criteria can be used; however there is overlap. The luteal border of the HAF is usually, but not always, thinner than the border of the CH, and the diameter in relation to the maximum preovulatory follicle diameter is usually, but not always, greater in the HAF than the CH (6).

Typically, a HAF secretes progesterone. In one report, progesterone rose slowly and progressively to > 8 ng/mL in 51% of the cases, while in 13% it rose rapidly to > 10 ng/mL. In 25% of the HAFs, progesterone reached a plateau of 1 to 4 ng/mL, and in 11% it did not rise above 1 ng/mL (3). Other studies have reported no significant difference in the concentrations of progesterone or LH between mares that developed a HAF and mares that ovulated. Other studies have similarly found that concentrations of progesterone in mares with a HAF are elevated to > 1 ng/mL (6;7). Consequently, most mares with a HAF will respond to a luteolytic dose of prostaglandin (PG) administered at the appropriate interval after formation of the HAF, with a return to estrus and normal ovulation (3).

The etiology of HAFs remains elusive. Persistent endometrial cups can lead to HAF formation (7-9), and may repeat in the same mare (8). The presence of even low levels of eCG, with its LH-like activity, can disrupt the normal ovulatory process resulting in non-ovulatory luteinized follicles. Some reports have linked the use of cloprostenol (CLO) to induce luteolysis with an increased risk of HAF formation of (3,4,10). Other reports have failed to substantiate this relationship (11). The differences between these reports could be due to any number of factors including breed and individual differences between mares and their frequency in the data set. In one report, the histories of 2 mares that both had an unusually high incidence of HAFs were examined (10). In these 2 mares, the use of CLO to induce estrus was associated with a high incidence of ovulation failure. Other reports, by the same authors (and including the same mares), (4,5) led them to hypothesize that the administration of CLO results in a rapid drop in progesterone, which allows LH to rise (4,5). If this rise in LH occurs during the development of an immature follicle, before follicular deviation, it could interfere with the intrafollicular metabolism of substances necessary for ovulation and follicular collapse. Similarly, in a model using follicle ablation to induce follicular waves and estrus, mares had an earlier rise in LH and the incidence of HAFs was increased (12). However, in a recent study when mares with a developing follicle were given LH, no effect on ovulation was seen nor was there an increased incidence of HAFs, but changes in follicular fluid were found which led the authors to suggest that it may have reflected a disruption in follicle maturation (13). Another report suggested that the use of hCG, when used in combination with other drugs, could contribute to an increased incidence of HAFs (5). Alternatively, administration of a prostaglandin inhibitor can interrupt the ovulatory process, resulting in an increased incidence of HAFs. This approach has been used to induce HAF formation for experimental purposes (3,14-16).

Some researchers feel that conditions such as laminitis may contribute to the occurrence of a HAF (2,5,10). From a retrospective study of breeding records, it has been proposed that the dose of CLO affects the chance of HAF development, with higher doses more likely to result in HAF formation (4). A factor which may play a role but was not described in these reports linking CLO usage and HAF formation is the stage of follicular development at the time of CLO administration. The status of follicular activity at the time of CLO administration affects the interval to onset of the subsequent estrus and interval to ovulation (11). It is possible that follicular status at the time of CLO administration may influence the likelihood of the formation of a HAF. In a mare that is prone to HAF development, or when CLO administration to a mare with a HAF is deemed necessary, it may be prudent to use the lowest effective dose possible. Alternatively, some practitioners may choose to forego administration of PG and allow the mare to return to estrus on her own, without hormonal intervention.

References

1. Beltman ME, Walsh SW, Canty MJ, Duffy P, Crowe MA. Hormonal composition of follicular fluid from abnormal follicular structures in mares. *Res Vet Sci.* 2014;97:488-90.
2. Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA. Incidence, endocrinology, vascularity, and morphology of hemorrhagic anovulatory follicles in mares. *J Eq Vet Sci.* 2007;27(3):130-9.
3. Lefranc AC, Allen WR. Incidence and morphology of anovulatory haemorrhagic follicles in the mare. *Pferdeheilkunde.* 2003;19(6):611-2.
4. Cuervo-Arango J, Newcombe JR. Risk factors for the development of haemorrhagic anovulatory follicles in the mare. *Reprod Domest Anim.* 2010;45:473-80.
5. Cuervo-Arango J, Newcombe JR. The effect of hormone treatments (hCG and cloprostenol) and season on the incidence of hemorrhagic anovulatory follicles in the mare: A field study. *Theriogenology.* 2009;72:1262-7.
6. Cuervo-Arango J, Newcombe JR. Ultrasound Confirmation of Ovulation in Mares: A Normal Corpus Luteum or a Haemorrhagic Anovulatory Follicle? *Reprod Domest Anim.* 2013;48(1):105-11.

7. Crabtree JR, Chang Y, de Mestre AM. Clinical presentation, treatment and possible causes of persistent endometrial cups illustrated by two cases. *Eq Vet Educ.* 2012;24(5):251-9.
8. Allen WR, Wilsher S. Persistent endometrial cups in the same mare in two successive pregnancies. *Eq Vet Educ.* 2012;24(5):247-50.
9. Willis LA, Riddle WT. Theriogenology question of the month. *J Am Vet Med Assoc.* 2005;226(6):877-9.
10. Cuervo-Arango J, Newcombe JR. The effect of cloprostenol on the incidence of multiple ovulation and anovulatory hemorrhagic follicles in two mares: A case report. *J Eq Vet Sci.* 2009;29(6):533-9.
11. Burden CA, McCue PM, Ferris RA. Effect of cloprostenol administration on interval to subsequent ovulation and anovulatory follicle formation in Quarter Horse mares. *J Eq Vet Sci.* 2015;35:531-35.
12. Ginther OJ, Jacob JC, Gastal MO, Gastal EL, Beg MA. Follicle and systemic hormone interrelationships during spontaneous and ablation-induced ovulatory waves in mares. *Anim Reprod Sci.* 2008;106(1-2):181-7.
13. Schauer SN, Guillaume D, Decourt C, Watson ED, Briant C, Donadeu FX. Effect of luteinizing hormone overstimulation on equine follicle maturation. *Theriogenology.* 2013;79:409-16.
14. Cuervo-Arango J, Domingo-Ortiz R. Systemic treatment with high dose of flunixin-meglumine is able to block ovulation in mares by inducing hemorrhage and luteinisation of follicles. *Theriogenology.* 2011;75(4):707-14.
15. Ginther OJ, Cuervo-Arango J, Beg MA. Disruption of periovulatory FSH and LH surges during induced anovulation by an inhibitor of prostaglandin synthesis in mares. *Anim Reprod Sci.* 2011;126(1-2):91-5.
16. Cuervo-Arango J. The effect of systemic administration of cloprostenol on ovulation in mares treated with a prostaglandin synthetase inhibitor. *Reprod Domest Anim.* 2012;47(1):32-8.

Contact address

D Paccamonti, DVM, DACT, Dept. Vet. Clin. Sci., Sch. Vet. Med., Louisiana State University
Baton Rouge, LA 70803, USA
pacc@lsu.edu

Social interactions and reproductive efficiency in horses

Dominique Burger¹, H. Sieme², C. Wedekind³

¹Swiss Institute of Equine Medicine, Agroscope and University of Berne, Avenches (Switzerland);

²Unit for Reproductive Medicine – Clinic for Horses, University of Veterinary Medicine Hannover

(Germany); ³Department of Ecology and Evolution, Biophore, University of Lausanne (Switzerland)

The reproductive efficiency of domesticated horses is often lower than what could be expected from observations in feral herds where stallions typically live with mares in harem bands, with other stallions in bachelor bands, or occasionally in mixed sex transitional bands. Modern husbandry, breeding procedures and structures of domesticated horses differ greatly from natural conditions. Contrary to almost year-round contact with mares in feral conditions, domesticated stallions are often kept isolated from mares and other horses, with collection for semen carried out using a phantom and artificial vagina or via “in hand” service. This modern breeding industry has resulted in a wide disparity between the sexual behaviour of domesticated horses in comparison with their feral counterparts, where mate choice systems have evolved in natural conditions.

In effect, in most mammal species, mate choice is carried out by females which have to be “choosy” as they usually invest the most concerning reproduction and parental investment and are therefore often the limiting sex. Such seems also to be the case in horses, where pre-copulatory mate choice of females may be based on the good genes model which follows the principal that females will choose males based on certain traits / phenotypes which can be strong indicators of the male’s genotype. This in turn will convey indirect benefits for females such as the optimization of offspring fitness. Selection of a partner may also be based on a complementary mate choice model where individuals should choose genetically different mates that will minimize inbreeding depression of their offspring.

We recently demonstrated that stallions’ perception of mare quality can affect their life-history and lead to some form of “strategic ejaculation”. Sperm production is costly and therefore males are expected to invest more sperm for a higher quality female. Post-copulatory selection may potentially also occur via “cryptic selection” within the female reproductive tract, perhaps enabling females to avoid inbreeding effects or bias offspring variability. Such interactions are likely to be influenced by various factors, including the highly polymorphic genes of the major histocompatibility complex (MHC) that have been shown to influence odours and mate preferences in a range of vertebrates. Typically, males and females will avoid MHC-similar mates which may either aim to directly promote MHC heterozygosity or use the diversity on the MHC as a marker to increase overall heterozygosity in offspring, i.e. avoiding inbreeding and/or providing an immunological advantage for the progeny. Such complex selection factors show the importance of the influences of social communication directly impacting reproductive efficiency and success.

A better understanding of the effects of intra- and intersexual social interactions between stallions and mares on their breeding efficiency provides potentially valuable information, which could be implemented for future optimization of breeding management. We provide here a summary of our research on reproductive strategies in horses, potentially leading to higher fertility and biodiversity.

References

1. Burger D, Dolivo G, Marti E, Sieme H, Wedekind C. Female major histocompatibility complex type affects male testosterone levels and sperm number in the horse (*Equus caballus*). *Proc R Soc B Biol Sci.* 2015;282:20150407.
2. Burger D, Meroni G, Thomas S, Sieme H. Effects of ground semen collection on weight bearing on hindquarters, libido, and semen parameters in stallions. *Theriogenology.* 2015;84:687-692.

3. Wespi B, Sieme H, Wedekind C, Burger D. Exposure to stallion accelerates the onset of mares' cyclicity. *Theriogenology*. 2014;82:189-194.
4. Burger D, Wedekind C, Wespi B, Imboden I, Meinecke-Tillmann S, Sieme H. The Potential Effects of Social Interactions on Reproductive Efficiency of Stallions. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2012;32(8):455-457.
5. Käser R, Bruckmaier RM, Thomas S, Wedekind C, Sieme H, Burger D. Inter- and intra-individual variation of oxytocin secretion in oestrous mares exposed to stallions. International Symposium on Equine Reproduction; Hamilton, New Zealand, 26 - 31 January 2014. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2014;34(1):158
6. Burger D, Meuwly C, Marti E, Oberthür M, Sieme H, Lazary S, Meinecke-Tillmann S. Investigation on female mate choice in horses and possible association with the MHC. *Anim Reprod Sci*. 2010;121:63-64

Contact address

Dominique Burger, Swiss Institute of Equine Medicine, Agroscope and University of Berne, Avenches (Switzerland)
dominique.burger@agroscope.admin.ch

Update on endometritis therapy

Terttu Katila

University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Production Animal Medicine, Saari (Finland)

The corner stones of equine endometritis therapy are still antimicrobials and support of uterine evacuation with the help of ecbolic hormones and lavage supplemented with the dilation of the cervix, if needed. Tris-EDTA is recommended to increase the effect of antibiotics particularly in biofilm producing organisms. The use of mucolytics has increased and kerosene and DMSO have been replaced by N-acetylcysteine. Immunomodulators, corticosteroids and cell-wall extracts, are the recent additions to our toolkit. Platelet-rich-plasma is the newest therapeutic method but needs still more research.

Platelet-rich plasma

Platelet-rich plasma (PRP) is autologous blood plasma that has been enriched with platelets by centrifugation. It contains – and releases through degranulation – several different growth factors and cytokines that stimulate tissue repair.

In 9 barren mares with a history of persistent mating induced endometritis (PMIE), mRNA expression of interleukins (IL) 1b, 6 and 8, and inducible nitric oxide synthase (iNOS) was significantly down-regulated in the PRP-treated cycle as compared to the non-treated cycle (1). In the next experiment, 16 mares barren for > 2 years were inseminated in a non-treated cycle and in a cycle where PRP was infused into the uterus before insemination (AI). Pregnancy rate in the treated cycle was significantly higher than in the non-treated cycle (67 vs 19%) and accumulation of intraluminal fluid was significantly less (22 vs 100%).

Reghini et al. (3) inseminated 15 resistant and 8 susceptible mares in two cycles: PRP-treatment 4 h after AI and control. In susceptible mares, a significant decrease was observed in NO concentration, intraluminal fluid accumulation, and neutrophils in cytology after the PRP treatment. The PRP treatment might be worth trying to control PMIE in mares that do not seem to benefit from standard treatments.

Immune modulators

The breeding induced inflammation involves chemokine-initiated recruitment of neutrophils to the uterus leading to the removal of excess spermatozoa and pathogens. There is a delicate balance between the pro- and anti-inflammatory cytokines. Susceptible mares appear to have altered expression of cytokines after mating, particularly a deficit in the production of anti-inflammatory cytokines (4). Immunomodulatory therapies have been designed to restore the cytokine balance in problem mares.

Corticosteroids

Administration of prednisolone acetate every 12 h, four times before AI and the last one at AI, significantly improved pregnancy rates in 15 barren mares with a history of fluid accumulation after post-ovulatory frozen semen AI as compared to the non-treated cycle (64.5% vs 0.0%) as reported by Papa et al. (5).

A single dose of dexamethasone (50 mg IV) immediately before breeding reduced the turbidity of the efflux, edema and fluid accumulation in the study of Bucca et al. (5). Pregnancy rates in control and dexamethasone treated cycles were not significantly different unless the mares had ≥ 3 risk

factors of 4 of the following: ≥ 2 cm fluid prior to breeding or after breeding or persisting > 36 h or abnormal cervix (5).

When dexamethasone was given to susceptible mares 24 h before intrauterine (IU) *E. coli* infusion, expression of pro-inflammatory cytokines and serum amyloid A was significantly lower in the dexamethasone group at 72 h and expression of the anti-inflammatory cytokine IL-10 was increased at 3 and 24 h (6). Dexamethasone administration after AI does not improve pregnancy rates, but the injection has to be given prior to mating to be able to affect cytokine release (5). A single dexamethasone injection is a safe and efficient method to modulate the immune response in selected problem mares.

Bacterial cell-wall extracts

Bacterial cell wall skeletons have the ability to stimulate immune system, including induction of cytokine synthesis by immune cells. *Mycobacterium* cell wall extract (MCWE) from *Mycobacterium phlei* is commercially available as SETTLETM (Bioniche Animal Health USA) and can be administered IV or IU with the dose of 1.5 mg (7). It seems to have better efficacy against streptococci than against *E. coli* (6,7). It enhanced bacterial elimination and decreased significantly neutrophils and IU fluid.

Another immunomodulator is Eqstim[®] (Neogen Corp., Lexington, KY, USA) which contains *Propionibacterium acnes*. It has been reported to reduce inflammation and improve pregnancy rates in mares with persistent endometritis and positive cytology (8).

N-acetylcysteine

N-acetylcysteine (NAC) is a mucolytic agent that disrupts disulphide bonds between mucin polymers, thereby reducing the viscosity of mucus. In addition, NAC possesses antioxidant properties especially in chronic inflammatory conditions and some antimicrobial properties. The rationale for using NAC uterine infusions in equine endometritis is the removal of inspissated secretions, exudate and biofilm (5). However, in an *in vitro* study (9), NAC did not prevent biofilm biomass formation; it reduced the biofilm mass in *P. aeruginosa*, but not in *E. coli* or *K. pneumoniae* isolates.

Oral NAC treatment does not reduce viscosity of uterine mucus but has an anti-inflammatory effect (10). Local treatment is well tolerated (5,11) and therefore the preferred route of treatment is IU. Treatment of normal mares with NAC reduced inflammation: neutrophil numbers and intensity of staining for COX2 were significantly lower at 72 h as compared to controls. Surprisingly, score for PAS (periodic acid-Schiff) staining in mucus was decreased only in deep uterine glands (11).

Twenty barren mares with a history of endometritis were treated with NAC either the treatment cycle before or in the 48 h before breeding which resulted in a high pregnancy rate of 85% (5). In a subsequent study, 154 client-owned mares were assigned to one of the three breeding management groups: 1) 44 repeat breeders with mucus overproduction were treated with 3.3% NAC 24-36 h before mating followed by oxytocin 4 to 8 h later; 2) 85 reproductively normal mares; 3) 25 mares previously treated for endometritis. The first-cycle pregnancy rates for groups 1, 2 and 3 were 77%, 74% and 56%, respectively (5). It is unclear what the mucolytic effect of NAC is in equine endometritis, but at least because of its antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties it seems to improve the fertility of problem mares.

Chelating agents

Buffered chelating agent EDTA-Tris has been known a long time for its potentiating action of antimicrobials by increased drug penetration and for the ability to break up biofilm and dissolve exudate. *In vitro*, addition to gentamicin improved killing of *P. aeruginosa* by 1000-fold. Addition of

EDTA-Tris to penicillin, oxytetracycline, neomycin, amikacin, miconazole and itraconazole has been shown to be synergistic. It has been shown to be safe and non-irritant in the equine uterus (5).

First generation Tris-EDTA [ethylenediamine tetraacetic acid (3.5 M)-tromethamine 50mM] and third generation Tricide® (8 mM disodium EDTA dehydrate and 20 mM 2-amino-2hydroxymethyl-1,2-propanediol; Medical Molecular Therapeutics LLC Georgia Biobusiness Center, Athens, Georgia) have been used in the treatment of endometritis mares. A Tricide® volume of 250-500 ml followed by lavage 12 h later was recommended by LeBlanc (5).

References

1. Metcalf ES, Troedsson MHT. The effect of platelet-rich plasma (PRP) on endometrial pro-inflammatory cytokines in susceptible mares following semen deposition. *J Equine Vet Sci.* 2012;32:498.
2. Metcalf ES. The effect of platelet-rich plasma (PRP) on intraluminal fluid and pregnancy rates in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis (PMIE). *J Equine Vet Sci.* 2014;34:128.
3. Reghini MFS, Bussiere MCC, Ramires Neto C, Castro-Cheves MMB, Resende HL, Fioratti E, Farras MC, Alvarenga MA. Effect of use of platelet rich plasma on post-breeding uterine inflammatory response of mares. *J Equine Vet Sci.* 2014;34:127.
4. Woodward EM, Christoffersen M, Campos J, Betancourt A, Horohov D, Scoggin KE, Squires EL, Troedsson MHT. Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction.* 2013;145:289-96.
5. LeBlanc MM. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod Dom Anim.* 2010 (Suppl. 10);45:21-7.
6. Christoffersen M, Woodward EM, Bojesen AM, Petersen MR, Squires EL, Lehn-Jensen H, Troedsson MHT. Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in susceptible mares. *Theriogenology.* 2012;78:991-1004.
7. Rogan D, Fumuso E, Wade J, Sanches Bruni SF. Immunotherapeutic activity of SETTLETM (mycobacterial cell wall fraction) in treating *Streptococcus zooepidemicus*-induced endometritis in mares. *Modern Vaccines/Adjuvants Formation*, Prague, Sept. 15-17 2004. http://www.expectbetterresults.com/research_challenge.html
8. Rohrbach BW, Sheerin PC, Cantrell CK, Matthews PM, Steiner JV, Dodds LE. Effect of adjunctive treatment with intravenously administered *Propionibacterium acnes* on reproductive performance in mares with persistent endometritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;231(1):107-13.
9. Ferris RA, Wittstock SM, Mccue PM, Borlee BR. Evaluation of biofilms in gram-negative bacteria isolated from the equine uterus. *J equine Vet Sci.* 2014;34:121.
10. Witte TS, Melkus E, Walter I, Senge B, Schwab S, Aurich C, Heuwieser W. Effects of oral treatment with N-acetylcysteine on the viscosity of intrauterine mucus and endometrial function in estrous mares. *Theriogenology.* 2012;78:1199-208.
11. Melkus E, Witte T, Heuwieser W, Aurich C. Investigations on the endometrial response to intrauterine administration of N-acetylcysteine in oestrous mares. *Reprod Dom Anim.* 2013;48:591-7.

Contact address

Professor Terttu Katila, University of Helsinki (Finland)
 terttu.katila@helsinki.fi

High prevalence of dormant streptococci in the endometrium of mares with Escherichia coli endometritis

Morten R. Petersen¹, Mette Christoffersen², Mats Troedsson³, Anders M. Bojesen⁴

¹The Fertility Clinic, Rigshospitalet, Section 4071, University Hospital of Copenhagen (Denmark); ²Section of Veterinary Reproduction and Obstetrics, Department of Large Animal Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen (Denmark); ³Maxwell H Gluck Center for Equine Research, University of Kentucky, Lexington (USA), ⁴Department of Veterinary Disease Biology, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen (Denmark)

Endometritis is a common cause of reduced fertility and prevention. Accurate and reliable diagnosis and treatment are thus important aspects of mare breeding management. Beta-haemolytic streptococci (*S. equi* subsp. *zooepidemicus*; SEZ) can enter a non-active dormant state within the endometrium of the chronically infected mare, making diagnosis difficult despite close monitoring including trans-rectal ultrasonography, endometrial culture and cytology (1). Uterine instillation of bActivate induces active growth of dormant SEZ1 (termed activation).

The aim of this study was to investigate whether *E. coli* isolation before activation correlated to the presence of chronic endometritis associated with dormant SEZ.

Thirty-seven research mares with a history endometritis participated. Uterine samples were collected during estrus before and 24 hours after uterine instillation of bActivate (double guarded swab, biopsy, low volume lavage). Aerobic culture was conducted (37 °C for 48 h). Isolates were identified and categorized: SEZ, *E. coli*, other pathogens, non-pathogens or sterile (<5 colonies). A stepwise logistic regression model was constructed to identify risk factors for growth of SEZ. Model variables: sample time points, sampling technique and growth of other pathogens than beta-strep. Level of significance: $p < 0.05$.

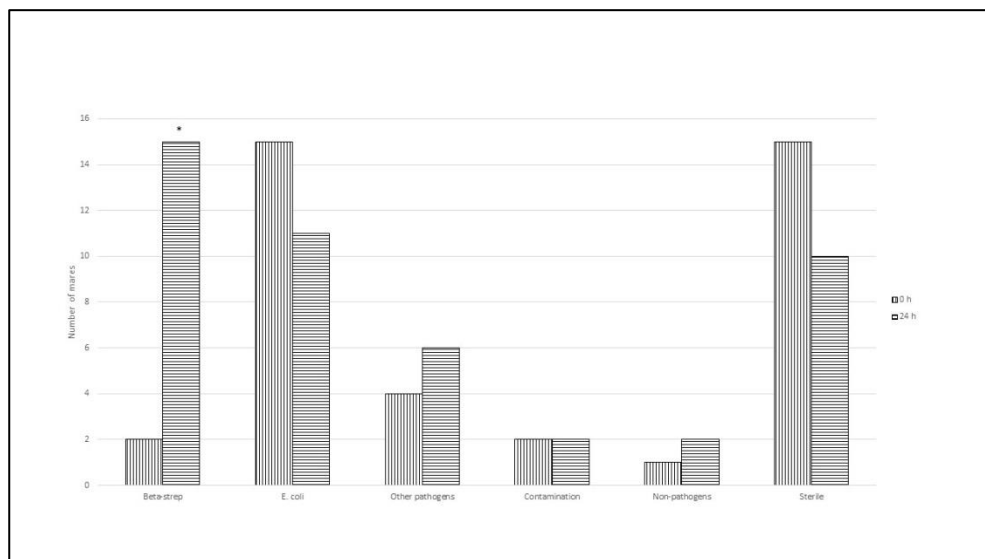


Figure 1: Culture results of low volume uterine lavage samples collected before (0h) or 24h after uterine instillation of bActivate. Significant increase in number of mares culture positive to SEZ (*), $p < 0.003$.

E. coli and SEZ were the most commonly isolated pathogens before (0h) and after (24h) activation, respectively. Activation induced a significant increase in the number of mare's culture positive to SEZ ($p < 0,003$) (Fig. 1). Diagnostic technique had no impact on the number of SEZ positive mares following activation. More *E. coli* positive mares became culture positive to SEZ following activation (8/15=53%), than mares with an initially negative culture (4/15=27%). Isolation of *E. coli* before activation was significantly correlated with the presence of chronic dormant SEZ endometritis ($p < 0.003$).

E. coli isolation should remind the veterinarian of the increased risk of chronic infection with dormant streptococci. Future studies should determine whether isolation of *E. coli* and SEZ is due to bacterial synergism or decreased uterine defense mechanisms.

Disclosure

This is to confirm that Morten R Petersen and Anders M Bojesen are cofounders of BP Biotech, producing and selling bActivate. The other authors are not involved in bActivate nor BP Biotech in any way.

References

1. Petersen MR, Skive B, Christoffersen M, Lu K, Nielsen JM, Troedsson MH, Bojesen AM. Activation of persistent *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* in mares with subclinical endometritis. *Vet Microbiol.* 2015;179(1-2):119-25.

Contact address

Morten R Petersen, The Fertility Clinic, Rigshospitalet, University Hospital of Copenhagen, (Denmark)

morten.petersenr@gmail.com

Fungal endometritis in the mare

Jesper Møller Nielsen¹, Christian Springborg², Peter Fog¹

¹Ansager Dyrehospital, Ansager (Denmark); ²Blue Hors, Randbøl (Denmark)

Introduction

Fungal endometritis has in several studies been reported as a relatively rare but significant finding in barren mares (1-3). Especially *Aspergillus* and *Candida* species has been reported as causing microorganisms (1-3) among with a wide variety of other more opportunistic species (2). It has been proposed that diagnosis, treatment and breeding prognosis of fungal endometritis is different whether the causing microorganism is a true fungus such as *Aspergillus* spp. or yeast such as *Candida* spp. (1-4). Most studies however still discuss these different infections as being the same when it comes to clinical signs and treatment prognosis (1-3).

Several treatment protocols have been proposed for fungal endometritis including correction of physical defects, uterine lavage and intrauterine as well as systemic antimycotic drugs in combination with ectopics (1-4). Most authors seem to agree, that without correction of any physical disorder and reestablishment of a normal uterine and vaginal environment, antimycotic treatment seems without perspective (1-3). So far no antimycotic treatment alone has proven effective in curing fungal endometritis (3).

The breeding prognosis for a mare with fungal endometritis is often reported poor (1-3), however no studies so far have been able to establish an expected after treatment pregnancy percent for these mares.

The aim of this study was to identify the proportion of endometrial fungal and yeast infection in two stud farms. The aim was as well to evaluate the effect of a simple treatment protocol for yeast infection including uterine lavage with physiologic saline and intra uterine treatment with clotrimazol.

Diagnostic methods, procedures and treatment

On two stud farms 3223 mares were inseminated with fresh cooled or frozen semen during the breeding seasons (2011-2013). Mares with clinical signs of endometritis or a history of being barren thus inseminated in repeated cycles had an endometrial biopsy for culture (5) and cytology (6). Mares with yeast infection or fungal infection respectively were identified.

Mares with yeast infection diagnosed were treated in three consecutive days by uterine lavage with 0.9 % saline in liters until clear reflux fluid was obtained. Each day, after evacuation of the fluid, the mares were treated intra uterine with one 100 mg Clotrimazol vaginal tablet (CanestenR, Bayer) followed by i.m. injection of Oxytocin, 10 i.u. Pregnancy result 70 days after insemination was recorded in both the treated and the non-treated group.

Statistics was done by Chi square and Odds ratio. Significance level was set at $P > 0.05$.

Results

A total of 686 endometrial biopsies were obtained for culture and cytology at the two stud farms. Of these samples 309 (45%) had positive growth recorded. In total 50 (7.2 %) of these samples were diagnosed as yeast. Only two samples (0.3%) were diagnosed as fungus. Of the 309 samples with positive growth 209 (68%) had positive cytology. Of the 50 samples diagnosed with yeast infection 39 (78%) had positive cytology ($P=0.70$).

The overall per season 70 days pregnancy percent at the two stud farms were (2461/3223) 76.4 %. Per season 70 days pregnancy percent in the group of mares with a diagnosed and treated yeast

infection were (24/50) 48% ($P < 0.0001$). Odds ratio was calculated 3.50 (95 % confidence level 2.00 to 6.13).

Discussion

Diagnosis of yeast can be done in most practice laboratories using blood agars, cytology and simple biochemical procedures (5-6). Diagnosis of fungus is more difficult and requires specific agars, as well as it is more time consuming, because the fungus often is slow growing.

A difference in clinical signs, treatment and breeding prognosis after treatment between yeast and fungus has been suggested (1-4). In this study however so few real fungus infections were identified that no conclusions on endometrial fungus infection can be made. Conclusions on endometrial yeast infection however were possible. The study demonstrated that a mare with an endometrial yeast infection definitely has a lesser chance of being pregnant after treatment than a mare without an endometrial yeast infection. In fact, a mare without a yeast infection in this study had a 3.50 times bigger chance of becoming pregnant than a mare with a yeast infection. On the other hand (24/50) 48 % of the mares with a yeast infection diagnosed ended up pregnant in the same breeding season as they were treated.

The treatment used in this study, uterine lavage, clotrimazol and oxytocin, is simple, relatively inexpensive and can be performed in most stud farms along with other routine treatments. It is however still important to diagnose and correct all other physical disabilities in mares with a yeast infection before any treatment is performed. Without correction of these normal physical barriers any treatment still must be considered pointless.

References

1. Coutinho da Silva MA, Alvarenga MA. Fungal endometritis. In *Equine Reproduction*. Wiley-Blackwell 2011, 2643-2651.
2. Dascanio JJ, Schweizer C, Ley WB. Equine fungal endometritis. *Equine Vet Educ*. 2001;13:324-329.
3. Stout TAE. Fungal Endometritis in the mare. *Pferdeheilkunde*. 2008;24:83-87.
4. Beltaire KA, Choeng SH, Coutinho da Silva MA. Retrospective study on equine uterine fungal isolates and antifungal susceptibility patterns (1999-2011). *Equine Vet. J.* 2012;43:84-87.
5. Hartmann DL, Bliss S. Laboratory methods for isolation and evaluation of bacteria fungi and yeast. In *Equine Reproduction*. Wiley-Blackwell 2011, 2674-2681.
6. Nielsen JM, Troedsson MH, Petersen MR, Bojesen AM, Lehn-Jensen H, Zent WW. Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examination of the endometrium: Comparison of results obtained from swabs and biopsies. *J Equine Vet Science*. 2010;30:27-30.
7. Montes AJ, Montes LF, Vaughan JT, Wilborn WH, Bado G, Comero A, Blaquier PCP. Vulvo Vaginal candidiasis in thoroughbred mares following progestogen administration intravaginal treatment with clotrimazol. *J. Equine Vet Science*. 2001;21:68-70.

Contact address

Jesper Møller Nielsen, Specialist in equine reproduction, Ansager Dyrehospital, Ansager (Denmark)
jazz.miller@newmail.dk

Influence of mare, stallion, dose and interval on post-insemination uterine neutrophil counts

John R. Newcombe, Gary Kelly

Equine Fertility Clinic, Brownhills (UK)

Approximately 2000 inseminations of Warmblood and Irish Draught mares were made with either chilled/transported semen, frozen/thawed semen, freshly collected semen or with seminal plasma recovered after centrifugation of fresh semen. Warm saline was infused via an embryo transfer catheter at intervals of between 1.5 and 24 hours after insemination. Only one flush was performed per oestrus. The saline recovered was diluted 3 parts to one of polychrome methylene blue.

Neutrophil counts were made by haemocytometer from two of the large squares (32 small squares) from which the total numbers of neutrophils present in the uterus at that time could be calculated. The limit of sensitivity of the assay was 20 million cells/litre (1 cell in 4 large squares). In two separate studies (unpublished) no difference in the neutrophilic reaction was found between stallions or dose. It was therefore considered possible to pool the data from the semen of all the different commercial stallions used.

Results

Counts were made from flushes taken at intervals of 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, or 24 hours after insemination. Cell counts in individual mares varied from 0 to 2160 million following natural cover, from 0 to 2895 following chilled semen, from 0 to 3150 following frozen/thawed semen, from 0 to 3200 following fresh semen and from 0 to 1140 following sperm cell free seminal plasma. Overall, the least inflammatory reaction was seen after natural cover and the most violent reaction, including tissue sloughing, was seen following chilled and frozen/thawed semen. Significant differences in the median counts between natural cover and fresh semen were seen at all intervals from 2.5 to 6 hours inclusive, between chilled semen and cover at 3 to 6 hours inclusive, between frozen semen and cover at 4 and 5 hours, between seminal plasma and cover at 4, 5, 6, 7 and 12 hours, between chilled semen and frozen at 3, 3.5 and 6 hours, and between fresh semen and seminal plasma at 2.5, 3, 3.5 and 4 hours.

Discussion

The severity of the inflammatory reaction to chilled and frozen semen was surprising, when compared with natural cover and was often accompanied by endometrial tissue sloughing, although many of these mares still became pregnant. It was proposed that this difference was due to the absence of seminal plasma in chilled and frozen semen. However when seminal plasma alone was inseminated, the counts were higher than cover. Was this due to the presence of substances released from sperm damaged during centrifugation? Also surprising was the extreme difference between cover and freshly inseminated semen. Counts following fresh semen were significantly higher at all intervals from 2 to 6 hours. While the count had no correlation with the volume of fresh semen inseminated, it would seem that the physical act of copulation was a major factor. Could this have involved oxytocin release aiding earlier uterine clearance?

Contact address

John R. Newcombe, Equine Fertility Clinic, Brownhills (UK)
john@warrenhousevets.com

Endometrial mRNA expression during the early immune response to breeding: a holistic approach

Elizabeth M. Woodward¹, Ted Kalbfleisch², Arnold J. Stromberg³, Joshua Lambert³, Mats H.T. Troedsson⁴

¹Department of Clinical Studies, New Bolton Center, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, PA (USA); ²Department of Biochemistry and Molecular Genetics, School of Medicine, University of Louisville, Louisville, KY (USA); ³Department of Statistics, College of Arts and Sciences, University of Kentucky, Lexington, KY (USA); ⁴Department of Veterinary Science, Gluck Equine Research Center, University of Kentucky, Lexington, KY (USA)

Introduction

While a transient endometritis after breeding is necessary for the clearance of bacteria and excess spermatozoa, some mares suffer from prolonged inflammation, or persistent breeding induced endometritis (PBIE), lasting for several days (1). PBIE is diagnosed 36-96 hours post-breeding; however research has identified a critical time point in the development of PBIE to be 6 hours after insemination (AI) (2). Technological advancements allow for a global investigation of the transcriptome, which may help to further understand the mechanisms involved during the early stages of inflammation. Therefore, the objective of this study was to use RNA sequencing to investigate the endometrial response to AI in mares resistant or susceptible to PBIE 6 hours after insemination.

Materials and Methods

Mares resistant or susceptible to PBIE (n=3 for each group) (3,4) were used for this study, and were determined to be free of clinical signs of inflammation (based on endometrial cytology and culture) prior to the start of the experiment. Over two randomized cycles, an endometrial biopsy was taken from each mare 1) prior to AI (0 hours), or 2) 6 hours after AI with freeze-killed spermatozoa in semen extender. Total RNA was extracted from the biopsied samples and processed for RNA sequencing on an Illumina HiSeq 2000. Approximately 270 million high quality reads (single-end, 75bp in length) were produced, and reads were aligned to EquCab 2.0 (Ensembl) and assembled using TopHat and Cufflinks, and more than 12,000 annotated isoforms were identified. Data were normalized with FPKM normalization, and statistical comparisons were made using R and JMP statistical software. Comparisons of annotated genes were made between groups at each time point, and between time points for each group. Comparisons with $P < 0.01$ plus at least a 2 fold change were considered significant. Gene ontology for the differentially expressed genes was performed using Ingenuity Pathway Analysis.

Results

When comparing RNA expression 6 hours after AI to 0 hours, there were 162 genes differentially expressed in resistant mares (100 upregulated and 62 downregulated), and 50 genes differentially expressed in susceptible mares (31 upregulated and 19 downregulated). The top canonical pathways and biological functions affected after AI in the resistant mares included inflammation, cell signaling, and cell migration. In the susceptible mares, the top networks associated with the data included cell signaling, connective tissue disorders, cell movement and inflammation.

When comparing RNA expression in susceptible versus resistant mares, 59 genes were differentially expressed (35 upregulated and 24 downregulated) at 0 hours. The top biological functions affected were tissue morphology, cell death and survival, cell cycle, and cell signaling. At 6 hours post-AI, 37 genes (20 upregulated and 17 downregulated) were differentially expressed in the

two groups, and the top pathways affected were: cell death and survival, post-translation modification, and cell assembly and function.

Discussion

Currently, treatments are administered based on clinical signs post breeding, or prior to signs of inflammation based on breeding history. While preventative treatments such as uterine lavage, ecbolics, and immune modulators are often effective in the control of PBIE, it is possible that they are sometimes administered too aggressively or inappropriately in cases where treatment may not be necessary. An improved understanding of the endometrial response to breeding can help in the development of new treatment strategies targeted specifically towards the pathways involved with PBIE. With improved treatments and timing of treatments, effectiveness could potentially increase with a simultaneous decrease of any incidence of inappropriate treatment. Furthermore, with increased knowledge about the pathways associated with inflammation, cell death, and tissue repair in the equine uterus, proactive treatments may make it possible to slow (or reverse) the decline in endometrial quality. In conclusion, while this experiment had a small sample size, the data are nonetheless useful and provide insight into the complexity of the pathogenesis of PBIE. Future studies with larger sample sizes are warranted.

References

1. Troedsson MHT. Breeding-induced endometritis in mares. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.* 2006;22:705-712
2. Woodward EM, Christoffersen M, Campos J, Bentancourt A, Horohov D, Scoggin KE, Squires EL, Troedsson MHT. Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding induced endometritis (PBIE). *Reproduction.* 2013;145:289-296
3. Alghamdi AS, Foster DN, Carlson CS, Troedsson MHT. Nitric oxide levels and nitric oxide synthase expression in uterine samples from mares susceptible and resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2005;53:230-237
4. Christoffersen M, Woodward E, Bojesen AM, Jacobsen S, Petersen MR, Troedsson MHT, Lehn-Jensen H. Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis. *BMC Vet. Res.* 2012;8:41

Contact address

Elizabeth M. Woodward, Department of Clinical Studies, New Bolton Center, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, PA (USA)
emwoodw@vet.upenn.edu

New insights into the innate immune defenses of the equine endometrium

Sandra Schöniger, Hilke Gräfe, Denny Böttcher, Tobias Theuß, Heinz-Adolf Schoon

Institute of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Leipzig University

Introduction

In mares, endometrial inflammatory and degenerative diseases (endometrosis, angiosclerosis) are important causes for reduced fertility (1) and provide a major economic impact on breeding.

Acute suppurative bacterial endometritis will be diagnosed by gynecology and can usually be treated successfully (1,2). In contrast, nonsuppurative endometritis is often subclinical and treatment-refractory (1,2). Endometrosis and angiosclerosis are considered as irreversible non-treatable alterations (1). The triggering factors of nonsuppurative endometritis (1) and endometrosis are not fully deciphered so far (3).

Molecules of the innate immunity do not only provide the first line of defense against infections, but their altered expression or activation can also contribute to the pathogenesis of inflammatory and degenerative diseases (4-6).

The aim of this study was to examine the healthy and diseased equine endometrium for the presence of molecules of the innate immunity. The comparison of immune mechanisms under physiological and pathological conditions will likely provide insights into their possible participation in endometrial diseases and may lead to the identification of novel treatment strategies.

Materials and Methods

The expression of different components of the innate immunity within the equine endometrium was investigated by PCR and immunohistochemistry. Examined molecules were β -defensin, Toll-like receptors (TLRs) 2, 4 and 6 and myeloid differentiation factor 2 (MD 2), a coreceptor of TLR 4 (4).

PCR was performed on native and formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) endometrial specimens ($n \geq 21$ mares).

For immunohistochemistry, equine FFPE endometrium ($n \geq 21$ mares) and epithelial cell cultures obtained from endometrial samples ($n \geq 4$ mares) were used.

Endometrial specimens examined by PCR and immunohistochemistry were obtained from mares at different stages of the endometrial cycle with and without endometrial disease. From the majority of mares unfixed frozen (-80°C) endometrial tissue as well as FFPE endometrium was available. The latter was also processed for routine histopathological evaluation (7).

Epithelial cell cultures were prepared from endometrial tissue of gynecologically healthy mares. After their isolation from the tissue, endometrial epithelial cells were seeded on Millicell[®] membrane inserts and cultured until their confluent growth prior to their use for immunohistochemistry (8,9).

Results

Histopathology: Endometrial specimens included those without any pathological alterations and those with different degrees of endometritis (suppurative or nonsuppurative), endometrosis and/or angiosclerosis. The functional morphology of endometrial glands was secretory, proliferative or showed a transition between these two stages.

RT-PCR: Transcripts of β -defensin, TLRs 2, 4, 6 and MD 2 were detected in all examined endometria, regardless of the functional morphology of endometrial glands and the absence or presence of inflammatory (suppurative or nonsuppurative endometritis) or degenerative (endometrosis, angiosclerosis) alterations.

Immunohistochemistry: Immunostaining for α -defensin, TLR 2 and TLR 4 on cultured equine endometrial epithelial cells revealed a positive labelling. The immunostaining was located within the cytoplasm and in some cells also within the nuclei (only α -defensin and TLR 2).

Beta-defensin immunohistochemistry on tissue samples showed a positive immunoreaction mainly in luminal and glandular epithelial cells, but also in scattered stromal cells and within the tunica media of a few vessels. The immunostaining of the epithelial cells was cytoplasmic and/or nuclear, whereas stromal cells displayed a nuclear immunosignal.

A positive immunostaining of the luminal epithelium was observed within all examined samples; the vast majority of these specimens had also a positive labelling of glandular ducts. In comparison, only a few investigated samples displayed a positive immunoreaction in mid or basal glands. The highest average numbers of immunopositive cells were located within the luminal and duct epithelium. Immunopositive cells of basal and mid glands displayed mainly a nuclear immunoreaction, whereas the immunostaining of the luminal and duct epithelium was predominately cytoplasmic. No association between the immunostaining and the functional morphology of uterine glands or a particular disease was discernable. Numbers of endometria for each evaluated category, however, were small and often displayed more than one disease process.

Discussion

This study shows that the equine endometrium is equipped with components of the innate immune defense. These include pattern recognition receptors (TLRs 2, 4, 6) and α -defensin as an antimicrobial peptide (7).

Whereas TLRs mainly sense extracellular pathogens, they also recognize certain endogenous ligands (10). One possible sequel to the stimulation of TLRs is the production of antimicrobial factors including defensins (10).

The detection of the mRNA of α -defensin, TLRs 2, 4 and 6 as well as MD 2 during all stages of the endometrial cycle under physiological and pathological conditions indicates their constitutive transcription. This is consistent with results of other studies on the endometrium of mares (11,12), cattle (13), bitches (14), and women (15). Expression levels of TLR mRNA, however, are influenced by the stage of the estrous cycle (11,14).

In this investigation, it was further examined, if mRNA of α -defensin, TLR 2 and TLR 4 was also translated into protein. This could be confirmed by immunohistochemistry on cultured endometrial epithelial cells. To the authors' knowledge, the detection of TLRs at the protein level within equine endometrial cells has not been published previously.

Immunohistochemical investigations on endometrial samples revealed that not only epithelial cells, but also stromal cells and vessels were immunopositive for α -defensin (7). The immunohistochemical features of the luminal and duct epithelium as well as mid and basal glands, respectively, suggest their functional differences. Previous studies by other authors in regard to the proliferative or secretory activity of endometrial epithelial cells revealed marked deviations between surface epithelia and the glandular compartment as well (16,17).

Since the investigated components of the innate immunity were detected within different cell populations of the healthy and diseased endometrium, further studies should analyze their expression levels separately for each functional state of endometrial glands and each disease condition.

References

1. Schoon H-A, Schoon D, Klug E. Die Endometriumbiopsie bei der Stute im klinisch-gynäkologischen Kontext. *Pferdeheilkunde*. 1997;13:453-64.
2. LeBlanc MM, Causey RC. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Dom Anim*. 2009;44 Suppl. 3:10-22.

3. Hoffmann C, Ellenberger C, Mattos RC, Aupperle H, Dhein S, Stief B, Schoon H-A. The equine endometriosis: new insights into the pathogenesis. *Anim Reprod Sci.* 2009;111:261-78.
4. Medzhitov R, Janeway CJr. Innate immunity. *N Engl J Med.* 2000;343:338-44.
5. Ju J, Li L, Xie J, Wu Y, Wu X, Li W. Toll-like receptor-4 pathway is required for the pathogenesis of human chronic endometritis. *Exp Ther Med.* 2014;8:1896-1900.
6. Lafyatis R, Farina A. New insights into the mechanisms of innate immune receptor signalling in fibrosis. *Open Rheumatol J.* 2012;6:72-9.
7. Schöniger S, Gräfe H, Schoon H-A. Beta-defensin is a component of the endometrial immune defence of the mare. *Pferdeheilkunde.* 2013;3:335-46.
8. Böttcher D. Morphologisch-funktionelle Charakterisierung equiner endometrialer Epithel- und Stromazellen in Monokultur unter Einbeziehung immunzytologischer und transmissionselektronenmikroskopischer Methoden [Dissertation]. Leipzig: Universität Leipzig; 2011.
9. Theuß T. Morphologisch-funktionelle Charakterisierung equiner endometrialer Epithel- und Stromazellen in Monokultur unter Einbeziehung ausgewählter zellulärer Differenzierungsmarker [Dissertation]. Leipzig: Universität Leipzig; 2011.
10. Linde A, Ross CR, Davis EG, Dib L, Blecha F, Melgarejo T. Innate immunity and host defense peptides in veterinary medicine. *J Vet Intern Med.* 2008;22:247-65.
11. Atli MO, Kurar E, Kayis SA, Aslan S, Semacan A, Celik S, Guzeloglu A. Expression of Toll-like receptors (TLRs) in the equine endometrium during the estrous cycle. *Reprod Dom Anim.* 2010;45:58.
12. Nash DM, Sheldon IM, Herath S, Lane EA. Markers of the uterine innate immune response of the mare. *Anim Reprod Sci.* 2010;119:31-9.
13. Davies D, Meade KG, Herath S, Eckersall PD, Gonzalez D, White JO, et al. Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reprod Biol Endocrinol.* 2008;6:53.
14. Silva E, Henriques S, Brito S, Ferreira-Dias G, Lopes-da-Costa L, Mateus L. Oestrous cycle-related changes in production of Toll-like receptors and prostaglandins in the canine endometrium. *J Reprod Immunol.* 2012;96:45-57.
15. Hirata T, Osuga Y, Hamasaki K, Hirota Y, Nose E, Morimoto C, et al. Expression of toll-like receptors 2, 3, 4, and 9 genes in the human endometrium during the menstrual cycle. *J Reprod Immunol.* 2007;74:53-60.
16. Gerstenberg C, Allen WR, Stewart F. Cell proliferation patterns in the equine endometrium throughout the non-pregnant reproductive cycle. *J Reprod Fertil.* 1999;116:167-75.
17. Freeman KP, Roszel JF, Slusher SH, Castro M. Variation in glycogen and mucins in the equine uterus related to physiologic and pathologic conditions. *Theriogenology.* 1990;33:799-808.

Contact address

Dr. Sandra Schöniger, Institute of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Leipzig University
 sandra.schoeniger@vetmed.uni-leipzig.de

Placentitis in the mare

Mats H.T. Troedsson

Maxwell H. Gluck Equine Research Laboratory, Department of Veterinary Science,
University of Kentucky, Lexington (USA)

Pathophysiology

Placentitis poses a significant threat to fetal and neonatal viability and is a common cause of late term abortion in mares (1). Based on morphologic lesions and pathogenesis, four different types of placentitis have been identified: 1. ascending placentitis 2. focal mucoid placentitis 3. diffuse placentitis and 4. multifocal placentitis. In most cases, infection of the placenta results in subsequent infection of the fetus and the release of prostaglandins from the inflamed placenta, which ultimately leads to abortion or delivery of a pre-mature foal (2). Focal mucoid placentitis appears to be an exception, as bacteria and resulting inflammation is restricted to the chorioallantois and the interphase between the chorion and the endometrium. Placental separation causes “starvation” of the foal resulting in abortion or birth of an undersized foal. Regardless the type of placentitis, affected foals may experience accelerated fetal maturation in response to the inflammatory environment. If born alive, they are typically delivered prematurely, but are often mature enough to survive in the extra-uterine environment. It has been suggested that indirect stimulation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis by pro-inflammatory cytokines is responsible for precocious fetal maturation (3). If this indeed is the case, delaying premature labor long enough to allow accelerated fetal maturation to occur may improve foal survival rates.

Diagnosis

To achieve this goal, it is necessary to promptly diagnose and effectively treat the disease before clinical signs such as premature udder development (\pm streaming of milk) and vulvar discharge are observed. When these signs are present, it is often too late to effectively treat the condition. No single sample test appears to have sufficient specificity and sensitivity to accurately detect subclinical cases of placentitis, and the development of a panel of diagnostic tests that accurately indicate inflammation as well as placental insult is therefore needed. Transrectal and transabdominal ultrasound, combined with endocrinological (progesterone, estrogen and relaxin), and inflammatory biomarkers such as acute phase proteins assays, may provide additional tools for diagnosing subclinical placentitis and monitoring progression of the disease in mares (4-7). These tests could be used to regularly monitor placental health during late pregnancy, allowing us to be able to treat the condition at an early stage.

Treatment

Treatment strategies for mares with ascending placentitis are directed at several factors including combating infection (antibiotics), reducing inflammation (NSAIDs) and controlling myometrial activity (Progestogens). Although selected antibiotics cross the placenta, fetal fluid concentrations are consistently significantly lower than in serum, often resulting in a suppression rather than elimination of bacterial growth in the placenta and the allantoic fluid (8). It should therefore, be of high priority to identify antibiotics that can be administered in doses that cross the placenta and maintain sufficient concentrations for a sustained duration of time. A recent study suggests that when mares with placentitis are treated successfully, the future athletic performance of their foals does not appear to be affected (9).

References

1. Giles RC, Donahue JM, Hong CB, Tuttle PA, Petrites-Murphy MB, Poonacha KB, et al. Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3,527 cases (1986-1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993;203(8):1170-1175.
2. LeBlanc MM, Giguere, S. Brauer K, Paccamonti DL, Lester GD, O'Donnell LJ et al. Premature delivery in ascending placentitis is associated with increased expression of placental cytokines and allantoic fluid prostaglandins E-2 and F-2 alpha. *Theriogenology.* 2002;58(2-4):841-844.
3. Besedovsky HO, del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocrine Rev.* 1996;17(1):64-102.
4. Renaudin CD, Troedsson, MHT, Gillis CL, King VL, Bodena A. Ultrasonographic evaluation of the equine placenta by transrectal and transabdominal approach in the normal pregnant mare. *Theriogenology.* 1997;47(2):559-573.
5. Sheerin PC, Morris S, Kelleman AA, Stawicki R, Sheerin PC, LeBlanc MM. Diagnostic efficiency of transrectal ultrasonography and plasma progesterin profiles in identifying mares at risk for premature delivery. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners, Focus in Equine Reproduction.* 2003. S. 22-23.
6. Ryan P, Bennet K, -Wimbush, Vaala WE, Bagnell CA. Relaxin as a biochemical marker of placental insufficiency in the horse: a review. *Pferdeheilkunde.* 1999;15(6):622-626.
7. Canisso IF, Ball BA, Cray C, Williams NM, Scoggin KE, Davolli GM, et al. Serum amyloid A and haptoglobin concentrations are increased in plasma of mares with ascending placentitis in the absence of changes in peripheral leukocyte counts or fibrinogen concentration. *Am. J. Reprod. Immun.* 2014;72(4):376-385.
8. RebelloSA, Macpherson ML, Murchie TA, LeBlanc M, Vickroy TW. The detection of placental drug transfer in equine allantoic fluid. *Theriogenology* 2005;64(3):776-777.
9. Hughes S, Stowe CJ, Troedsson MHT, Ball BA, Squires EL. The athletic performance of thoroughbred racehorses out of mares with suspected placentitis during gestation. *J. Eq.Vet. Sci.* 2014;34(4):514-519.

Contact address

Mats H.T. Troedsson, Maxwell H. Gluck Equine Research Laboratory, Department of Veterinary Science, University of Kentucky, Lexington (USA)
m.troedsson@uky.edu

Why we should vaccinate our horses against EHV-1: a review of 40+ years of EHV-1 vaccination

Lutz Göhring

Ludwig-Maximilians-Universität München

Equid Herpesvirus-associated abortion (EHA) and Equid Herpesvirus-associated myelopathy or EHM are complications of primarily Equid Herpesvirus type 1 (EHV-1) infections. As a horse infected with EHV-1 is typically contagious to other horses in its vicinity, infections and complications can develop into an outbreak. Over the decades and since the detection of a causal relationship between the virus and abortion/myelopathy, it feels that less progress has been made on increasing our knowledge on EHA in comparison to EHM. A likely explanation for this is the apparently increasing frequency of EHM outbreaks world-wide, which simultaneously generate a lot of public attention, while reports of EHA outbreaks under classical stud farm settings seem to be on the decline. Furthermore, during the 80s of the last century, numerous EHM outbreaks (with add-on cases of abortion) were reported on several of the world's finest and most famous stud farms. Frequent vaccination during pregnancy with the goal of high level herd immunity in combination with key management changes of separating visiting mares to a farm and separating the adolescent horses from the resident mare and stallion population on the farm, seem to have contributed significantly to a decrease in numbers of EHA cases and 'abortion storms'.

EHA (and EHM) outbreaks, luckily infrequently, are still reported in (semi) open or dual purpose operations, where the set-up requires or promotes frequent horse transportations on and off the grounds, mingling of horses, exercising and competition, and a certain level of stress. We assume that a combination of events leads to reactivation and recrudescence of latently present virus in a single horse, which then will allow virus to replicate in the respiratory tract and subsequently cause horizontal spread.

EHA is the complex result of a series of events and the pathogenesis is not fully understood. First, an in foal-mare in her second half of pregnancy either becomes infected horizontally through droplet infection, or alternatively, this particular mare reactivates latent virus which then will replicate in the respiratory tract (from where it can spread into other horses). During respiratory tract infection, antigen presenting cells will bring EHV-1 simultaneously to respiratory tract associated lymph nodes. There, lymphocytes and monocytes become infected, and serve as a transport vessel while recirculating and causing the critical phase of cell-associated viremia of this virus. Protected from the extracellular, humoral immune system in lymphocytes/monocytes, EHV-1 is able to reach any destination in the body. We assume that infected lymphocytes/monocytes either make contact with the endometrial vasculature leading to endothelial infection or contact is followed by extravasation, allowing virus to cross the blood-endometrium barrier. A vascular inflammatory response will lead to placental detachment; while in the meantime, virus will progressed towards the fetus where it will replicate in liver, spleen, adrenal gland and lung. Depending on the number of vascular events leading to separation there will be more or less time to infect the fetus, which could be an explanation why some aborted fetuses are virus-negative with ample presence of virus in the placenta and vice versa. Typically, the mare that aborted will be well protected for future infections. Another often underestimated aspect of an EHV-1 outbreak in a breeding facility is the infection of intact males. Here, via cell-associated viremia EHV-1 crosses into the gonads where it is shed subsequently with semen for several weeks (1). In addition, the virus can cause significant damage to the testicles as evidenced by recent infection studies with EHV-1 in yearlings (Goehring, unpublished).

Solid herd immunity is limiting the horizontal spread from a shedding horse into others. Immunity has developed through previous natural infection or by vaccination prophylaxis. Important to understand is that i) there are several arms of the immune system that are influenced by either infection or vaccination; ii) individual variation on immune development exists depending on infectious dose received, virus strain of infection, or vaccine composition and vaccine condition, iii) but also on genetic make-up and age (adolescence, adulthood, aged horses and immunosenescence), and very likely depend on iv) other factors such as gender, pregnancy, nutrition and dietary/environmental deficiencies. Last, but not least, there is a dose-dependent balance between immunity and infection. This means that if the infectious dose is high enough, it can overcome the existing immunity of an individual animal.

Currently, there are inactivated and adjuvants-added vaccines and modified-live virus vaccines available in North America and Europe. Only some of the inactivated vaccines possess a claim to aid in abortion prevention, although both types of vaccines are used in abortion prevention. Only the Zoetis™-marketed inactivated vaccine has shown protection of abortion in a small vaccination-challenge experiment (2). In a study comparing immunogenicity and efficacy of MLV vs. an inactivated vaccine, both vaccines performed similar; vaccines were used interchangeably without loss of efficacy, and the abortion frequency caused by EHV-1 decreased during the study period of 1 year with either product or when used interchangeably, when compared to periods of non-vaccination strategy (3).

Overall, vaccination has decreased abortion frequencies caused by EHV-1 significantly probably through the following different strategies: i) high level of herd immunity limits the horizontal spread of virus through decreased shedding, and ii) viremia is supposed to be less in vaccinated animals, hence a lowered risk of endometrial infection with EHV-1 (4). Antibody-producing B-lymphocytes will produce specific virus neutralizing antibody systemically, but also locally at the infected mucosae of the respiratory tract forming a first line of defense for incoming virus. The frequency of antigen-specific precursor (cytotoxic) T-lymphocytes (preCTL) correlates with decreased viremia (5). The sudden up-regulation of antigen-specific B-lymphocytes and CTL is regulated through memory and the clonal expansion of various CD4+ T-cell clones. However, there will be lag-time between the initial pathogen-host interaction and production/ activation of antigen-specific antibody or CTL activity, albeit shorter in the previously immunized horses when compared to EHV-1 naïve horses. To bridge this gap there is work for the innate, non-specifically acting branch of the immune system. As this clearly illustrates the complexity of the immune system, it is not surprising that genetics, age, and the environment influences the immune system in mounting an immune response regardless whether the response is because of infection or due to vaccination. The response of the immune system is a horse-individual response, which also includes non-responders, unfortunately. These are all reasons to stress the importance of a well thought-through management preventing the introduction of EHV-1 into a closed herd or lowering the risk for EHV-1 recrudescence in combination with stringent vaccination policies.

Conclusion

EHV-1 infections are 'open system-infections' where a higher infectious dose requires a corresponding, higher level of immunity.

An organized farm management combined with stringent biosecurity measures in place and vaccination are key features to prevent the introduction, the spread of EHV-1 on a farm and will lower EHV-1 associated abortion rates down to single cases.

As there is evidence that previous infection or regular vaccination has shown to decrease or even eliminate EHV-1 viremia in the challenge-infected horse, and abortion seems not possible without viremia, there is good evidence to keep vaccinating horses against EHV-1 infection.

Last but not least, more research is necessary to answer important questions on how to improve vaccine efficacy to overcome our dependence on management, biosecurity and 'closed herd' policies.

References

1. Walter J, Balzer HJ, Seeh C, Fey K, Bleul U, Osterrieder N. Venereal shedding of equid herpesvirus-1 (EHV-1) in naturally infected stallions. *J Vet Intern Med.* 2012;26:1500-4.
2. Heldens JG, Hannant D, Cullinane AA, Prendergast MJ, Mumford JA, Nelly M, Kydd JH, Weststrate MW, van den Hoven R. Clinical and virological evaluation of the efficacy of an inactivated EHV1 and EHV4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV1,4). *Vaccination/challenge experiments in foals and pregnant mares.* *Vaccine.* 2001;19:4307-17.
3. Bresgen C, Lämmer M, Wagner B, Osterrieder N, Damiani AM. Serological responses and clinical outcome after vaccination of mares and foals with equine herpesvirus type 1 and 4 (EHV-1 and EHV-4) vaccines. *Vet Microbiol.* 2012;160:9-16.
4. Goehring LS, Wagner B, Bigbie R, Hussey SB, Rao S, Morley PS, Lunn DP. Control of EHV-1 viremia and nasal shedding by commercial vaccines. *Vaccine.* 2010;28:5203-11.
5. Kydd JH, Townsend HG, Hannant D. The equine immune response to equine herpesvirus-1: the virus and its vaccines. *Vet Immunol Immunopathol.* 2006;111:15-30.

Contact address

Prof. Lutz Göhring, Ludwig-Maximilians-Universität München
goehring@pferd.vetmed.uni-muenchen.de



Schwerpunkt

HUFKUNDE FÜR TIERÄRZTE UND HUFSCHMIEDE

Rackwitz R, Pees M, Aschenbach JR, Gäbel G (Hrsg.)
LBH: Proceedings 8. Leipziger Tierärztekongress: Band 2
ISBN 978-3-86541-809-8

Anatomie und Histologie der Sehnen und Bänder der distalen Gliedmaße des Pferdes

Christoph K.W. Mülling

Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Leipzig

Einleitung

Heutzutage werden Pferde in erster Linie als Freizeit- und Sportpferde genutzt. Der Einsatz im Freizeit- und Leistungssport bedingt für den jeweiligen Einsatz charakteristische Erkrankungen und Verletzungen im Bewegungsapparat. Die distale Gliedmaße des Pferdes ist gegenüber Traumata und Verletzungen empfindlicher als jeder andere Teil des Bewegungsapparates. Bei Sportpferden treten ungefähr 80 % aller orthopädischen Probleme in der distalen Gliedmaße auf. 70 % der Pferde, die im Leistungssport eingesetzt werden haben in jeder Saison ein Problem in ihrem Bewegungsapparat, 75% dieser Verletzungen betreffen die distale Gliedmaße. Verletzungen des Sehnenapparates gehören beim warmblütigen Gebrauchspferd zu den häufigsten Verletzungen.

Es besteht eine sehr enge strukturelle und funktionelle Wechselbeziehung zwischen allen Elementen der distalen Gliedmaße. Sie muss aus biomechanischer, klinischer und orthopädischer Perspektive als funktionelle Einheit betrachtet werden. Dieser Beitrag konzentriert sich auf die makroskopische und mikroskopische Anatomie der Sehnen und Bänder der distalen Gliedmaße.

Beim Pferd als Zehenspitzen(rand)gänger mit maximal aufgerichteter distaler Gliedmaße sowie ausgeprägter Hyperextension im Fesselgelenk müssen die Sehnen und Bänder der Beugeseite die distale Gliedmaße stabilisieren. Die Beugesehnen sind einerseits Endsehnen der Muskulatur zur Kraftübertragung auf die Skelettelemente. Zum anderen üben sie auch eine Haltefunktion aus, die eine übermäßige Hyperextension in den Zehengelenken, und hier insbesondere im Fesselgelenk verhindert. Eine weitere anatomische Besonderheit der distalen Gliedmaße des Pferdes sind die Fesselträgerstrukturen und die Unterstützungsbänder der Beugesehne (1, 2).

Sehnen (Abb. 1)

Oberflächliche Beugesehne (OBS) des M. flexor digitorum superficialis

Der M. flexor digitorum superficialis geht proximal des Karpus in die kräftige OBS über, die mediopalmar der tiefen Beugesehne (TBS) über die Beugeseite des Karpus verläuft. Distal des Karpus liegt sie sichelförmig auf der TBS. Proximal des Fesselgelenkes umfasst sie die TBS manschettenartig. Die OBS setzt mit zwei Schenkeln an der Kronbeinlehne an sowie zusätzlich mit zwei schwachen Schenkeln distal am Fesselbein (1, 2).

Tiefe Beugesehne (TBS) des M. flexor digitorum profundus mit ihrem Unterstützungsband

Die TBS geht aus den Sehnen der drei Köpfe des M. flexor digitorum profundus hervor. Auf Höhe des Karpus besteht eine einheitliche TBS, die als abgeplatteter Strang über die Beugeseite des Karpalgelenkes zieht. Distal des Karpus wird die TBS rundlich und liegt der OBS eng an. Die TBS erhält an der Vordergliedmaße ein sehr kräftiges Unterstützungsband (Ligamentum accessorium), das palmar am Karpus aus dem Ligamentum carpi radiatum entspringt, die TBS partiell umfasst und im mittleren Drittel des Metacarpus in die Sehne übergeht. An der Beckengliedmaße entspringt das Unterstützungsband aus dem Ligamentum tarsi plantare longum. Es ist wesentlich schwächer ausgebildet als an der Schultergliedmaße und fehlt bei ca. 5-6% der Pferde vollständig (1, 2, 3).

Im Bereich des Fesselgelenkes liegt die TBS auf dem palmaren/plantaren faserknorpeligen Scutum proximale. Sie wird von einer ringförmigen Manschette der OBS, der Manica flexoria

umfasst. Distal des Fesselgelenkes tritt sie zwischen den beiden Schenkeln der OBS, die beidseits an der Kronbeinlehne inserieren, hindurch und zieht bis zur Facies flexoria des Hufbeins; ein schwacher elastischer Ast setzt am distalen Drittel des Kronbeins an.

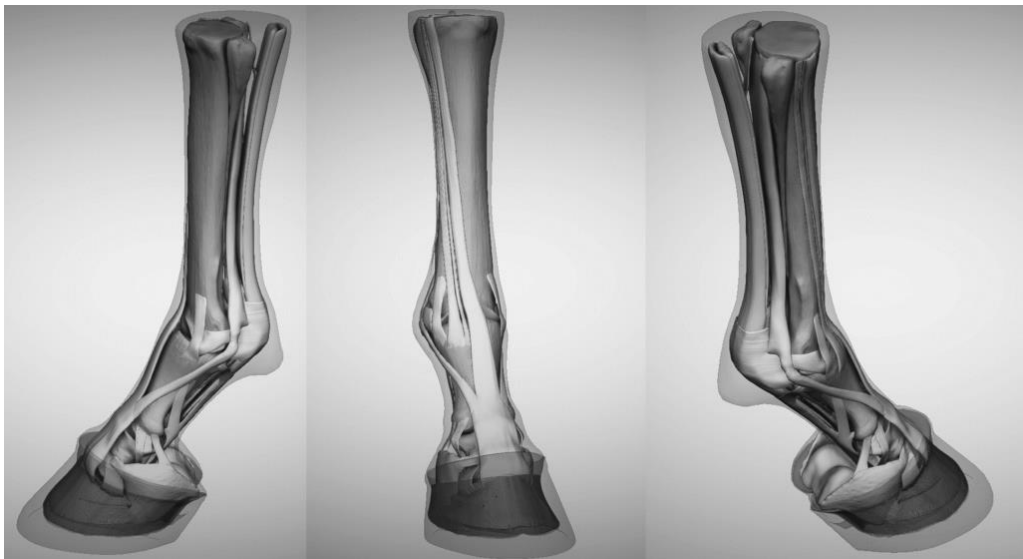


Abbildung 1: Sehnen und Bänder der distalen Gliedmaße dargestellt im 3-D Modell des EFFIGOS Hoof Explorer (www.hoofexplorer.com)

Der M. interosseus medius mit seinen Unterstützungsästen zur gemeinsamen Strecksehne.

Der M. interosseus medius (tertius) entspringt proximal am Röhrlbein und liegt der palmaren/plantaren Fläche des Metacarpus/Metatarsus an. Er verläuft zwischen dem lateralen und medialen Griffelbein als solides Band bis zum distalen Drittel des Röhrlbeins. Dort teilt er sich in zwei Schenkel auf, die jeweils am lateralen resp. medialen Sesambein ansetzen sowie je einen schräg dorsal verlaufenden Unterstützungsast zur Strecksehne abgegeben. Die Anatomie und Histologie den M. interosseus werden in einem eigenen Vortrag besprochen. An den axialen Seite der Griffelbeinköpfe entspringt ein rudimentärer M. interosseus lateralis resp. medialis als dünne Bandstruktur, die am jeweiligen Griffelbein entlang bis zum distalen Griffelbeinknöpfchen zieht (1, 2, 3).

Strecksehnen

Die Sehne des M. extensor digitorum lateralis setzt proximal am Fesselbein an, der Muskel ist daher ein Strecker des Fesselgelenkes. Der M. extensor digitorum communis besteht aus drei Köpfen, von denen das Caput radiale am proximalen Fesselbein ansetzt. Die Sehnen des Caput humerale und ulnare vereinigen sich zur gemeinsamen Strecksehne und setzen am Processus extensorius des Hufbeins an. Die Strecksehne erhält distal von Fesselkopf die Unterstützungssehne des M. interosseeus medius (2).

Anatomie und Histologie der Sehnen der distalen Gliedmaße (Abb 2.)

Sehnen dienen primär der Kraftübertragung vom Muskel auf das Skelett. Der Übergang aus der Muskulatur wird myotendinöse Verbindung genannt. Der Knochenansatz erfolgt als chondral-apophysärer Typ in 4 Zonen über Faserknorpel. Die Sehnenfasern sind in parallel und in Richtung des Zuges angeordnet. In langen Sehnen verlaufen sie in engen Spiralwindungen und oberflächlich in Wellen. Durch diese Anordnung besteht eine geringe Eigenelastizität. Bis zu einer Verlängerung

von 3-5 % verhält sich eine Sehne elastisch. Es besteht eine lineare Beziehung zwischen Zugkraft und Ausdehnung und die Sehne kehrt nach Belastung in ihren Ausgangszustand zurück. Jenseits dieser Dehnung verhält sich eine Sehne viskoelastisch, es kommt zur irreversiblen Verlängerung der Sehne und erste irreversible Strukturschäden treten auf. Jenseits der viskoelastischen Phase kommt es dann zur partiellen oder vollständigen Ruptur. Die maximale Dehnbarkeit liegt bei 8%, in einigen Sehnen auch höher. In schnellem Galopp entstehen in der OBS Zugspannungen von 1-2 Tonnen pro Quadratzentimeter mit sehr starker Dehnung. Werden 16 % Dehnung überschritten reißt die Sehne (4, 5).

Sehnen bestehen aus parallelfaserigem straffem Bindegewebe. Parallele Bündel längs orientierter dicht gepackter Kollagenfasern, die überwiegend aus zugfestem Kollagen I bestehen, sind der Hauptbestandteil. Zwischen den Kollagenfaserbündeln liegen in Reihen angeordnet spezielle Fibrozyten, die sogenannten Tendinozyten (Flügelzellen) (Abb. 2.). Die Kollagenfibrillen der Sehnen sind parallel angeordnet und verlaufen gewunden in Längsrichtung der Sehne. Ihr seitlicher Zusammenhalt ist sehr hoch bedingt durch ihre Anordnung, dichte Packung und die Grundsubstanz zwischen den Fibrillen. Die Tendinozyten sind aktive Zellen, die das Kollagen einer Sehne alle 6-8 Monate komplett durch neu synthetisierte Fibrillen austauschen (4, 5).

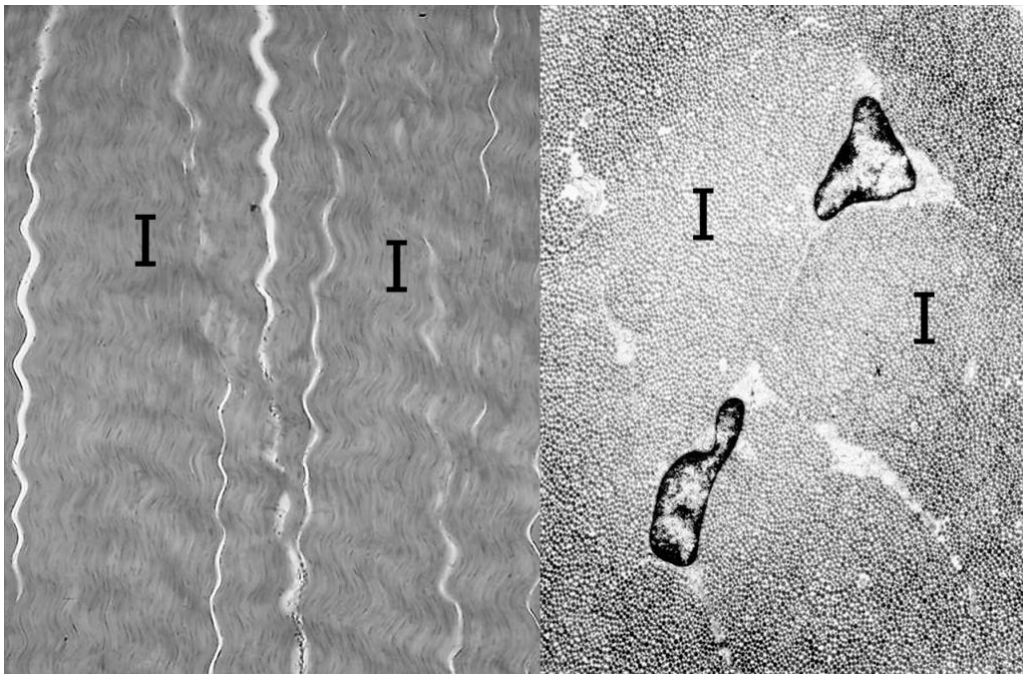


Abbildung 2: Mikroskopische und Ultrastruktur einer Sehne. Links: Lichtmikroskopisches Bild (Längsschnitt) von Primärbündeln (I) getrennt durch zarte bindegewebige Straßen (Endotendineum). Rechts: Elektronenmikroskopisches Bild (Querschnitt) mehrerer Primärbündel (I) mit dazwischen liegenden Tendinozyten, deren Kerne und zarte Zytoplasmaausläufer zwischen den Primärbündeln sichtbar sind.

Die Ordnung der aus Fibrillen gebildeten Fasern ist streng hierarchisch. Primärbündel aus Fibrillen werden von Endotendineum umgeben. Mehrere Primärbündel werden durch Peritendineum internum zu Sekundärbündeln zusammengefasst. Zahlreiche Sekundärbündel bilden eine Sehne und werden oberflächlich vom Peritendineum externum und diesem aufliegend dem Paratendineum

umschlossen. Dort, wo Sehnen über Knochen ziehen ist eine Sehnenscheide als doppelwandiger, mit Synovia gefüllter Schlauch ausgebildet. Es bilden sich zwei Blätter, das der Sehne aufliegende Epitenonium und das äußere Peritenonium. Das Mesotenonium zieht als Bindegewebsplatte zur Sehne und führt Blutgefäße, Lymphgefäße und Nerven in die Sehne. In Bereichen, in denen Druckkräfte auf die Sehne einwirken, bilden sich Sesambeine (Fesselgelenk - Gleichbeine, Hufgelenk - Strahlbein) zum Schutz der Sehne aus. Zusätzlich existieren hier großflächige Gleitlager aus Faserknorpel, die Sehne selber ist stark verbreitert, damit die Druckbelastung auf eine große Auflagefläche verteilt wird. In den druckbelasteten Bereichen ist das Kollagensystem der Sehnen besonders dicht gepackt und der Gefäßanteil sehr gering.

Die Blutversorgung der Sehne erfolgt aus der Muskulatur über die myotendinöse Verbindung sowie aus dem Knochen am distalen Ansatz. Weiterhin aus dem Paratendineum oder ein gefäßführendes Vinculum tendineum. Der Versorgung über das Paratendineum kommt beim Pferd eine große Bedeutung zu. In Sehnenabschnitten, die von einer Sehnenscheide umgeben sind, ziehen Gefäße vom äußeren Peritendineum über das Mesotendineum zur Sehne; dieses ist hier die Hauptversorgung.

Die Gefäßdichte in Sehnen ist im Vergleich zur Muskulatur sehr gering und liegt bei 0,5 -1,2 % (1). Obwohl Sehnen vergleichsweise wenige Blutgefäße aufweisen, besitzen sie ein dichtes Netz von Lymphgefäßen, das sich bis in die Primärbündel erstreckt, wo Blutgefäße fehlen. Auf der Sehnenoberfläche, im Paratendineum equiner Beugesehnen befinden sich einem Abschnitt zugeordnet jeweils 4 – 5 Lymphsammelgefäße (Kollektoren), eine Arterie und 2 Venen als Gruppe eng nebeneinander angeordnet. Das Peritendineum internum verfügt über ein dichtes Lymphkapillarnetz, dessen Ausläufer bis in das Endotendineum reichen. Die Dichte des Lymphgefäßsystems unterliegt großen interindividuellen Schenkungen. Dies erklärt die Individuell sehr unterschiedliche Neigung zur Ausbildung von Lymphödemen in der distalen Gliedmaße (2).

Sehnenspindeln

In Sehnen, die die Muskulatur mit dem Skelett verbinden, befinden sich hochempfindliche Rezeptoren, die die Spannung der Sehnen messen, sogenannte Sehnenspindeln (Golgi Organe). Diese 1 x 0,1 mm messenden Rezeptoren liegen im in der Nähe des myotendinösen Überganges umgeben von einer bindegewebigen Kapsel. Die gemessene Spannung ist der Muskelkraft proportional.

Bänder der Zehengelenke

Kollateralbänder (Ligamenta collateralia, Seitenbänder) gehören zur „Standardausstattung“ sämtlicher Gelenke. Wir finden sie im Bereich der Zehe am Fessel-, Kron- und Hufgelenk. Diese Kollateralbänder sind straffe und stabile bandartige Verstärkungen der Gelenkkapsel auf beiden Seiten des Gelenkes. Sie entspringen proximal und distal des Gelenkspalts zusammen mit der Kapsel an den beteiligten Knochen (2).

Das Fesselgelenk (Articulatio metacarpo/metatarsophalangea) ist ein zusammengesetztes Scharniergelenk (Ginglymus), das im wesentlichen Beuge- und Streckbewegungen ermöglicht. Funktionell ist es ein einachsiges Wechselgelenk, das nur in extremer Beugestellung eine sehr geringe Seitwärtsbewegung zulässt. Dieses Gelenk befindet sich in einer starken Hyperextension. Der dorsale Streckwinkel beträgt etwa 140°. Das Fesselgelenk wird durch einen komplexen und sehr stabilen Apparat aus Sehnen und Bändern, den Fesseltrageapparat, elastisch stoßdämpfend getragen. Dieser verhindert eine übermäßige Hyperextension des Gelenkes. Der Bandapparat des Fesselgelenkes besteht aus dem lateral und medialen Kollateralband und den proximalen, mittleren und distalen Bändern der Sesambeine (Gleichbeine).

Die proximalen Sesambeinbänder sind die Ansatzschenkel des M. interosseus medius und das Ligamentum metacarpointersesamoideum, das sich mit dem Ligamentum palmare zwischen den Sesambeinen verbindet.

Die mittleren Sesambeinbänder sind das faserknorpelige Ligamentum palmare, das zusammen mit den Sesambeinen das Scutum proximale als Gleitlager für die tiefe Beugesehne aufbaut, sowie das mediale und laterale Kollateralband zwischen den Sesambeinen und der Phalanx proximalis.

Die distalen Sesambeinbänder sind das Ligamentum sesamoideum rectum zwischen der Basis der Gleichbeine und der Kronbeinlehne sowie der Spitze des Fesselbeindreiecks. Weiterhin die Ligamenta sesamoidea obliqua und die kurzen Sesambeinbänder, die Ligamenta sesamoidea brevia und cruciata (2).

Das Krongelenk (Articulatio interphalangea proximalis) ist der Form nach ein Sattelgelenk, der Funktion nach ein zweiachsiges Wechselgelenk. Der Bandapparat besteht aus dem medialen und lateralen Kollateralband sowie jeweils zwei mittleren (axial und abaxial) und zwei seitlichen (axial und abaxial) Krongelenksbändern (Palmarbänder, Ligamenta palmaria). Letztere liegen beiderseits neben dem geraden Sesambeinband. Die mittleren Palmarbänder bilden gemeinsam mit dem geraden Sesambeinband und der Kronbeinlehne das mittlere Gleitlager für die tiefe Beugesehne (Scutum mediale).

Das Hufgelenk ist durch Beteiligung des Strahlbeins ein zusammengesetztes Sattelgelenk. Funktionell ist dieses Gelenk ein zweiachsiges Wechselgelenk. Der Bandapparat des Hufgelenkes besteht aus den medialen und lateralen Kollateralbändern und den Strahlbeinbändern.

Folgende Bänder befestigen das Strahlbein an benachbarten Strukturen: Das Strahlbein-Hufbein-Band zwischen distalem Strahlbeinrand und dem hinteren Rand der Hufbeingelenkfläche (Ligamentum sesamoideum distale impar) und die Fesselbein-Strahlbein-Hufbeinbänder (Ligamenta sesamoidea collateralia) zwischen distaler Bandgrube des Fesselbeines und dem Strahlbein (2).

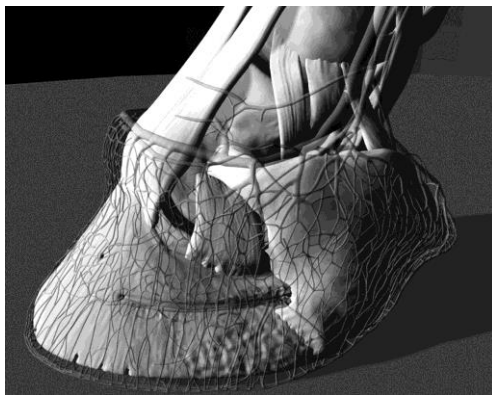


Abbildung 3: Laterale Ansicht des Bandapparates, insbesondere der Hufknorpelbänder im Bereich des Hufes dargestellt im 3-D Modell des EFFIGOS Hoof Explorer (www.hoofexplorer.com).

Hufknorpelbänder (Abb. 3)

Der Hufknorpel ist über einen komplizierten Apparat aus zahlreichen Bändern mit dem Hufbein, dem Kronbein, dem Fesselbein, sowie dem Strahlbein und dem Hufkissen verbunden (Abb. 3).

Die Bänder und ihre Anordnung sind für den Bewegungsablauf des Fußes von großer Bedeutung. Folgende Hufknorpelbänder sind ausgebildet: Hufknorpel-Hufbein-Fesselbein-Bänder zum Distalende des Fesselbeines, Hufknorpel-Kronbein-Bänder zum Seitenrand des Kronbeins und Hufgelenkes, Hufknorpel-Hufbein-Bänder zum Hufbeinast, Hufknorpel-Strahlbein-Bänder zur jeweilige Seite des Strahlbeins, gekreuzte Hufknorpel-Bänder zwischen Axialfläche des Knorpels und Hinterende des Hufbeinastes der anderen Seite, Hufknorpel-Hufkissen-Band, das von der Axialfläche in das Hufkissen einstrahlt.

Literatur

1. Kaminski M. Histologische Untersuchung der Normalstruktur der Beugesehnen und des Fesselträgers beim Pferd. Zürich: Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich; 2006.
2. Mülling Ch, Pfarrer Ch, Reese S, Kölle S, Budras K-D. Atlas der Anatomie des Pferdes. 7. Auflage. Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover, 2014.
3. Weingart I. Untersuchungen zur Innervation und Vaskularisation des M. interosseus medius beim Pferd. Zürich: Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich; 2006.
4. Smith RKW. Physiology of tendon and ligament. Proceedings of 9th Congress on Equine Medicine and Surgery; 2005. S. 25-29.
5. Webbon PM. A histological study of macroscopically normal equine flexor tendons. Equine Vet J. 10;253-259.
6. Homepage des Hoof Explorer der Firma Effigos: www.hoofexplorer.com

Weitere Literatur kann beim Autor erfragt werden.

Kontaktadresse

Prof. Dr. Christoph Mülling, Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Leipzig
c.muelling@vetmed.uni-leipzig.de

Das Pferd in Bewegung – High Speed Fluoroscopic Kinematography eine neuartige Methode der Bewegungsanalyse

Sandra Geiger, Jenny Hagen

Veterinär-Anatomisches Institut, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Einleitung

Knochen und die von ihnen gebildeten Gelenke bewegen sich im dreidimensionalen Raum. Um diese Bewegungen wissenschaftlich nachvollziehen zu können sind Methoden vonnöten, die mit großer Genauigkeit arbeiten und vor allem diese Dreidimensionalität nachvollziehen können. Diese Notwendigkeit ergibt sich besonders für die distale Gliedmaße des Pferdes. Sie ist der tragende Bestandteil des equinen Bewegungsapparates und als solcher Ausgangspunkt vieler Pathologien und zentraler Punkt der Forschung. Sie weist sowohl Gelenke mit kleinem wie auch solche mit großem Bewegungsspielraum (high und low-motion-joints) auf und die Analyse ihrer Bewegung muss folgerichtig die nötige Akkuratessse bereitstellen.

In der Vergangenheit hat man sich der dreidimensionalen Positionsanalyse von Knochen zum einen mit hautmarkerbasierter Kinematographie, zum anderen mit der Anfertigung von Röntgenbildern und - im weiteren Verlauf - mit uniplanaren Röntgenvideos genähert. Versuche mit Hautmarkern können abhängig von der Anzahl der verwendeten Kameras die dreidimensionale Bewegung nachvollziehen. Allerdings ist die Methode aufgrund der teils doch starken Hautverschieblichkeit über dem zu untersuchenden Knochen für die Detektion von Veränderungen im Submillimeterbereich, wie sie beispielsweise innerhalb von Gelenken auftreten nicht anwendbar. Die Auswertung von biplanaren, aber statischen Röntgenaufnahmen lassen die direkte Vermessung des Knochens und des Gelenkes zu, sind aber nur eine Momentaufnahme und dadurch auch durch Belastung und Stellung des Pferdes zum Zeitpunkt der Aufnahme beeinflusst. Uniplanare Röntgenvideos machen zwar die Beobachtung der Bewegung möglich, können aber nur eine zweidimensionale Abbildung der realen Verhältnisse erbringen, während sie gleichzeitig auch allen Nachteilen eines Summationsbildes unterworfen sind.

Diesen Nachteilen der klassischen Bewegungsanalyse begegnet die Hochfrequenz-Fluoreszenzkinematografie. Hochfrequenz-Fluoreszenzkinematografie ist die Aufnahme von biplanaren Röntgenvideos anhand der Kombination von Fluoroskopie und Hochfrequenzkameras, die die dreidimensionale Rekonstruktion und Animation von Knochen möglich machen und so hoch präzise Messungen von deren jeweiligen Bewegungen ermöglichen. Sie macht die hochauflösende Analyse dreidimensionaler Bewegungen mit einer Genauigkeit von 0,1 -0,77mm – abhängig von der Registraturmethode - möglich.

Die Ziele der vorliegenden Studie sind es:

- die Hochfrequenz-Fluoreszenzkinematografie für die distale Gliedmaße des Pferdes zu etablieren. Dies beinhaltet die Erstellung von Untersuchungsprotokollen und die Bestimmung der Genauigkeit von manueller und automatisierter Knochenregistratur im Vergleich zu knochenmarkerbasierter.
- die Kenntnisse über die Biomechanik der distalen Gliedmaße in Schritt und Trab zu erweitern.
- den biomechanischen Einfluss von verschiedenen modifizierten Hufeisen auf die Knochenausrichtung der distalen Gliedmaße unter Berücksichtigung unterschiedlicher Böden festzustellen.

Methodik

Die Fluokin-Anlage am Veterinär-Anatomischen Institut der Universität Leipzig bietet die in Deutschland einzigartige Möglichkeit sowohl Klein- als auch Großtiere einer hochfrequenz-fluoreszenzkinematografischen Untersuchung zu unterziehen. Zu diesem Zweck stehen ein Kleintier- und ein Großtierlaufband mit einer maximalen Belastung von 600kg zur Verfügung. Sowohl uni- als auch biplanare Aufnahmen sind möglich, wobei nur die biplanare Methode eine dreidimensionale Rekonstruktion der Bewegung zulässt.

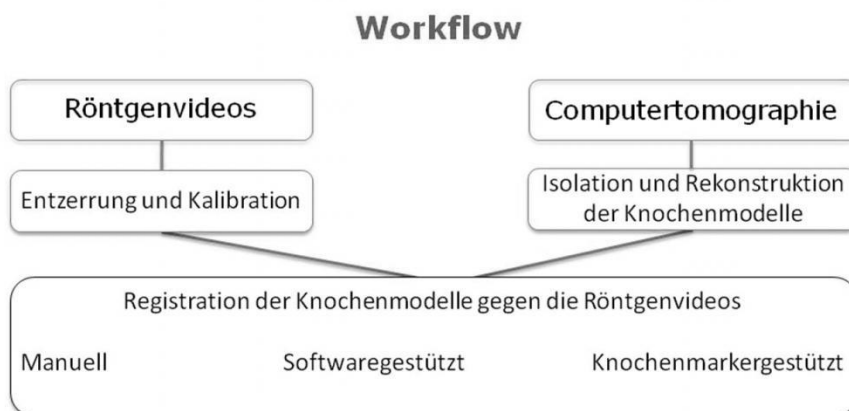


Abbildung 1

Wie funktioniert biplanare Hochfrequenz-Fluoreszenzkinematografie? (Abb. 1)

Der Versuchsaufbau besteht aus zwei beweglichen Röntgenröhren und zwei beweglichen Fluoroskopieschirmen mit Raster, die mit Photomultipliern ausgestattet und mit Hochfrequenz-Lichtbildkameras verbunden sind. Die Fluokin-Anlage Leipzig verfügt außerdem über eine dritte Hochfrequenz-Lichtbildkamera, deren Aufgabe unter anderem die Synchronisation aller Kameras ist. Röntgenröhren und Schirme werden so eingerichtet, dass sich die beiden Zentralstrahlen in einem Winkel von 60-90° überlappen und je nach Winkel ein Untersuchungsfeld ergeben, das in etwa der Größe eines Fußballs entspricht. Von diesem Untersuchungsfeld können also zwei synchrone Röntgenvideos des selben Ereignisses von bis zu 6s Länge aufgenommen werden. Die Kalibration erfolgt mit einem dreidimensionalen Phantom, das die spätere Rekonstruktion der Versuchsanordnung am Computer möglich macht. Davon abgesehen müssen alle Röntgenvideos anhand eines individuellen Algorithmus entzerrt werden, um den Einfluss von externen Magnetfeldern auf Fluoreszenzschirme und Photomultiplier zu revidieren. Parallel hierzu wird eine Computertomographie des zu untersuchenden Körperteils erstellt, aus der die einzelnen Knochen separiert und dreidimensional rekonstruiert werden. Der letzte Schritt auf dem Weg zu auswertbaren Rohdaten ist die Registratur dieser Knochenmodelle gegen die Röntgenfilme. Hierfür gibt es drei Möglichkeiten:

- 1) Die Implantation von Wismut-Markern in die zu untersuchenden Knochen und die Registratur derselben gegen die Röntgenfilme. (Genauigkeit 0,1mm, 0,1°)
- 2) Die Knochenmodelle werden mit Hilfe einer Software anhand von Kontur und Grauwertabstufung in einem digital rekonstruierten Röntgenbild gegen die Röntgenfilme registriert. (Genauigkeit 0,77mm)

-
- 3) Die Knochenmodelle werden anhand ihres optischen Erscheinungsbildes durch manuelle Ausrichtung gegen die Röntgenfilme registriert.

Ergebnis ist eine dreidimensionale Animation der ursprünglichen Knochen anhand ihrer tatsächlichen Bewegung, die nun für die Bewegungsanalyse zur Verfügung steht.

Auswertung

Für die Auswertung werden die Knochenmodelle mit Koordinatensystemen versehen, deren Orientierung sich nach anatomischen oder geometrischen Landmarken richtet, um Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Die Analyse der Bewegungen der Koordinatensysteme ermöglicht Aussagen über die relative Bewegung der Knochen zueinander sowie über ihre absolute Bewegung im Raum. Darüber hinaus ermöglichen sie Aufschluss über be- bzw. entlastete Flächen in Gelenken.

Etablierung

Für die Erstellung von Untersuchungsprotokollen wurden 30 auf Höhe des proximalen Röhrbeins abgetrennte distale Gliedmaßen (Vorder- und Hinterbeine) einer statischen, biplanaren Untersuchung unterzogen. Die Gliedmaßen wurden anhand ihrer Hufbreite in 3 gleich große Gruppen von 8-10cm, 10,1-12cm und 12,1-16cm eingeteilt. So ergaben sich Strahlungsstärken von 63-102kV und 80-125mA.

Um die Genauigkeit der 3 Registrationsmethoden für die distale Gliedmaße des Pferdes zu ermitteln, wurden 5 auf Höhe des proximalen Röhrbeins abgetrennte distale Gliedmaßen (Vorder- und Hinterbeine) verwendet. Die Knochen wurden mit Wismut-Markern versehen. Pro Bein wurde eine biplanare Aufnahme von ca. 3s Länge (66-73kV, 80-125mA, 500fps, 1/2000s) von einem manuell simulierten Schritt gemacht. Die Registration wurde für jedes der 5 Videopaare auf alle 3 genannten Arten durchgeführt. Der Vergleich der so ermittelten Koordinaten aus der softwaregestützten und manuellen Registratur zur markerbasierten steht derzeit noch aus.

Literatur

Die Literatur kann bei der Autorin erfragt werden.

Kontaktadresse

Sandra Geiger, Veterinäranatomisches Institut, Universität Leipzig
sandra.geiger@vetmed.uni-leipzig.de

Die Aussagekraft von Ultraschalluntersuchungen der distalen Pferdegliedmaße zur Beurteilung der tiefen Beugesehne

Melania I. Crişan¹, Aurel Damian¹ and Jean-Marie Denoix^{2,3}

¹Department I - Preclinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca (Romania); ²Université Paris Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (France); ³INRA, Maisons-Alfort (France)

Das Pferd wird hauptsächlich aufgrund seiner Bewegungsfähigkeit genutzt. Dabei stellen Lahmheiten den Hauptgrund für das Ausscheiden aus der sportlichen Nutzung des Pferdes dar (1,2,3). Erkrankungen der distalen Gliedmaße sind dabei die Hauptursache für das Auftreten von Lahmheiten bei Pferden. Der technische Fortschritt in der darstellenden Bildgebung zeigt, dass eine der hauptsächlich betroffenen anatomischen Strukturen des Hufes der Hufrollenapparat darstellt. Dieser besteht aus: dem Strahlbein, dem Hufrollenschleimbeutel, der tiefen Beugesehne und den vier Strahlbeinbändern (4,5,6). Es wird angenommen, dass die tiefe Beugesehne zusammen mit dem distalen Ringband und dem Hufrollenschleimbeutel eine Einheit bildet. Diese drei anatomischen Weichteilstrukturen stellen die Komponenten der Hufrollenregion dar, die am meisten von Schäden betroffen sind. Daher lag der Fokus der vorgestellten Studie auf der Untersuchung der tiefen Beugesehne.

Die Nutzung von Ultraschalluntersuchungen des equinen Bewegungsapparates hat in den letzten Jahren stark zugenommen. Der Vorteil dieser Technik ist das Potential der dynamischen Echtzeitdarstellung (7). Das Hauptziel dieser Studie ist, die Anwendungsmöglichkeiten der Ultraschalluntersuchung zur Darstellung der Einheit der tiefen Beugesehne zu untersuchen. Es soll der klinische Nutzen, die Anwendung und Grenzen der Ultraschalluntersuchung zur Diagnostik von Schäden der tiefen Beugesehne und assoziierter Strukturen aufgezeigt werden.

Studiendesign und Methodik

Pferdepopulation

Es standen 10 gesunde Pferde aus CIRAL zur Ultraschalluntersuchung zur Verfügung, um Referenzbilder zur Beurteilung der tiefen Beugesehne zu erheben. Die Tiere hatten keine vorangegangenen Lahmheiten und zeigten keinerlei klinische Anzeichen einer Erkrankung der distalen Gliedmaße. Der retrospektive Teil der Studie wurde an 100 Pferden erhoben, bei welchen in CIRAL mit Hilfe von Ultraschalluntersuchungen Schäden im Bereich der tiefen Beugesehne diagnostiziert wurden. Alle Pferde, die in diese Studie einbezogen wurden wiesen ein- oder beidseitige Vorhandlahmheiten auf.

Bildgebende Untersuchungstechnik – die Ultraschalluntersuchung

Die Ultraschalluntersuchung der distalen Gliedmaße wurde mit einem stationären System „Aloka Prosound Alpha 10“ vorgenommen. Die palmare und transcuneale Methode wurde genutzt. Für beide Methoden wurde die longitudinale und transversale Schnittebene durchgeführt. Es wurden konvexe und mikrokonvexe Schallköpfe mit einer Frequenz zwischen 5.0 bis 10.0 MHz genutzt. Die am häufigsten genutzte Frequenz war 7.5 Hz. Der distale Anteil der tiefen Beugesehne wurde, in Bezug auf das Strahlbein, in drei Regionen eingeteilt: suprasesamoidale, sesamoidale und infrasasamoidale Region. Ein Scoringssystem von I bis IV zur Einteilung von Auffälligkeiten in den Ultraschallbildern verbunden mit der Entwicklung von chronischen Tendinopathien der tiefen Beugesehne wurde etabliert.

Ergebnisse

Die Ultrascallanatomie des „Tiefe Beugesehnen Apparates“

Die palmare Untersuchungsmethode der distalen Gliedmaße erlaubt die Untersuchung des proximo-palmaren Anteils des „tiefe Beugesehnen Apparates“. Die tiefe Beugesehne ist zweilappig mit heterogener Struktur. Der Hufrollenschleimbeutel ist anechogen, während sich seine Wand hyperechogen darstellt. Das distale Ringband wird als hypoechogene Linie sichtbar und kann nicht immer dargestellt werden. Die transcuneale Methode erlaubt die Untersuchung des distalen Anteils der tiefen Beugesehne.

Evaluation von Ultrascall Imaging als eine diagnostische Methode zur Identifikation von Schäden der tiefen Beugesehne

Die bedeutendsten ultrasonographischen Befunde an der tiefen Beugesehne zeigten sich in: Veränderungen der Größe, der Echogenität und der Struktur. Der suprasesamoidale Anteil der tiefen Beugesehne war am einfachsten mit Hilfe von Ultrascall darzustellen. Die häufigste Veränderung der tiefen Beugesehne in der suprasesamoidalen Region bestand in der Verbreiterung eines oder beider lappigen Anteile (88%) sowie dem Verlust an Symmetrie. Des Weiteren zeigten sich dorsale Unregelmäßigkeiten der Kontur und in schwereren Fällen zeigten sich dorsale Hernien. Die Echogenität hingegen war in der untersuchten Studiengruppe nicht spezifisch (gesteigert oder vermindert) verändert. Die Untersuchung der tiefen Beugesehne in der sesamoidalen Region ist schwieriger. In der infrasesamoidalen Region traten bei 16 Pferden fokale und bei 21 Tieren multifokale Läsionen auf.

In 28 Fällen wurden zudem Veränderungen in der Größe und Echogenität des distalen Ringbandes nachgewiesen. Bei 53 Tieren lag eine Hufrollenschleimbeutelentzündung vor. Eine Verdickung und Proliferation der synovialen Membran wurden als Anzeichen für eine chronische Hufrollenschleimbeutelentzündung gewertet.

Ultrasonographischer Läsions Score von Tendinopathien der tiefen Beugesehne

Der mit Abstand größte Anteil der auftretenden Läsionen in der untersuchten Studiengruppe (N=100) war Grad II. In diesen Fällen zeigt die Sehne eine diskrete Asymmetrie der lappigen Anteile, verbunden mit einer geringgradigen heterogenen Echogenität.

Diskussion

Klinischer Nutzen und Anwendbarkeit der Ultrascalluntersuchung

Die Ultrascalluntersuchung ist ein nicht-invasives Verfahren, welches in der Diagnostik von Lahmheiten ausgehend von der distalen Gliedmaße massiv an Bedeutung zugenommen hat. Diese Untersuchungsmethode bietet in der Praxis enorme Vorteile, wie geringere Kosten und eine kürzere Untersuchungszeit im Vergleich zu anderen Untersuchungstechniken, sowie die Verfügbarkeit im Feld.

Um eine genaue Diagnose an der tiefen Beugesehne zu stellen, ist es unumgänglich in jedem Fall eine Untersuchung der kontralateralen Gliedmaße durchzuführen, da viele Schäden häufig bilateral auftreten, obwohl nur eine einseitige Lahmheit vorliegt. Für die korrekte Interpretation klinischer Ultrascalluntersuchungen bedarf es detaillierter Kenntnisse der ultrasonographischen Anatomie. Die Qualität der Aufnahmen und die Genauigkeit der Interpretation hängen zudem von der Präzision der Ultrascalltechnik ab. Die Form und die Frequenz des Ultrascallkopfes sollten angemessen sein. Dabei sind Mikrokonvex- und Konvexschallköpfe mit einer Frequenz von 7.5 MHz zu bevorzugen, wobei eine Frequenz von 10 MHz ebenfalls anwendbar ist. Die Position und Ausrichtung des Schallkopfes ist zudem entscheidend für die Auflösung und Qualität der Bilder. Die

optimale Echogenität wird erreicht, wenn der Schallkopf senkrecht zu dem zu untersuchenden Gewebe ausgerichtet ist (8,9,10).

Ein weiterer Aspekt, der beachtet werden sollte ist der Zusammenhang zwischen der Echogenität und der Struktur des untersuchten Gewebes. Angewendet auf die tiefe Beugesehne bedeutet das Folgendes: an der palmaren Seite des Kronbeins hat diese Sehne eine heterogene Struktur, mit einem dorsalen faserknorpeligen und einem palmaren faserigen Anteil. Der faserknorpelige Anteil stellt sich weniger echogen dar als der faserige. Auf Höhe des Strahlbeins wird die tiefe Beugesehne komplett faserknorpelig, so dass die Sehne über das distale Scutum gleiten kann. Daher und aufgrund der Faserorientierung in dieser Region, erscheint die tiefe Beugesehne hypoechogen. Weiter distal ist die tiefe Beugesehne komplett faserig, wobei sich selbst diese Gewebsstruktur aufgrund des Faserverlaufs hypoechogen darstellt.

Ein besonderer Fall ist die Differenzierung von zwei oder mehr Strukturen mit einer mehr oder weniger gleichen Echogenität. Diese Situation tritt bei der transversalen Untersuchung der distalen Gliedmaße auf Höhe des Strahlbeins mit der Darstellung des faserknorpeligen Anteils der tiefen Beugesehnen, des Hufrollenschleimbeutes und des Faserknorpels des Strahlbeins auf. Alle drei Strukturen haben einen hypoechogenen bis anechogenen Anteil. Sie sind nur eindeutig voneinander abzugrenzen, wenn der Hufrollenschleimbeutel vergrößert bzw. vermehrt gefüllt ist.

Grenzen der Ultraschalluntersuchung

Die ultrasonographische Untersuchung der tiefen Beugesehne hat dennoch Grenzen, insbesondere durch die mangelhafte Darstellung des distalen, seitlichen Anteils dieser Sehne.

Zudem stellt bisweilen auch die Hufkonformation ein Hindernis dar. Die palmare Untersuchung ist bei Pferden mit hohen und/oder engen Trachten kaum bis gar nicht durchzuführen. Bezüglich der Durchführung der transcunealen Methode, kann ein trockener und dicker Stahl die Darstellung der tiefen Beugesehne überdecken.

Ein weiterer Nachteil dieser Untersuchungsmethode ist, dass knöchernen Strukturen nicht dargestellt werden können. Auch wenn keine knöchernen Anteile in die Einheit der tiefen Beugesehne einbezogen sind, sind Schäden des distalen Anteils der tiefen Beugesehne häufig mit Läsionen am Strahl- und/oder Hufbein verbunden. Um eine umfassende Darstellung des kompletten Fußes zu erhalten, ist die MRT-Untersuchung die Methode der Wahl, da es eine komplette Bildgebung von Knochen und Weichteilgeweben liefert (11,12,13,14). Der Nachteil der MRT-Untersuchung sind allerdings die hohen Kosten.

Zusammenfassung

Die ultrasonographische Untersuchung bietet eine adäquate Untersuchungsmöglichkeit der tiefen Beugesehne des Pferdes. Um eine bessere Darstellung der Strukturen zu erhalten haben sich folgende Aufnahmetechniken bewährt: palmar und transcuneal, wobei letztere Methode bedingt durch die vorher genannten Limitierungen, weitaus schwieriger durchzuführen ist. Im klinischen Zusammenhang der Untersuchung der tiefen Beugesehne, sollte die Bildgebung der Weichteilstrukturen mit der Darstellung umgebender knöcherner Anteile (Hufbein, Strahlbein) vervollständigt werden. Um das zu erreichen, wird die Ultraschalluntersuchung häufig mit Röntgenaufnahmen der betroffenen Region ergänzt. Zusammenfassend können folgende Vorteile der ultrasonographischen Untersuchung genannt werden: geringe Kosten, kurze Untersuchungszeit und Verfügbarkeit im Feld.

Literatur

1. Denoix J.-M., Thibaud D. and Riccio B. Tiludronate as a new therapeutic agent in the treatment of navicular disease: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Equine vet J.* 2003; 35(4):407-413.
2. Schramme, Mc, Schumacher John, Schumacher Jim. Clinical Examination, Differential Analgesia and Imaging Modalities for Investigation of Distal Limb Lameness. *Proceedings of the 53rd Annual Convention of the AAEP Proceedings Am Assoc Equine Pract.* 2007. (53): 51-69.
3. Denoix, J.-M. and Audigie F. L'échographie du pied du cheval. *Proceedings of 12ème Congrès de Médecine et Chirurgie Equine de Genève.* 2012.
4. Denoix J.-M., Thibaud D. and Coudry V. Le syndrome podotrochléaire ou maladie naviculaire I: clinique, diagnostic et pronostic, *Prat. Vet. Equine (Numéro Spécial).* 2002;(34): 61-68.
5. Dyson S., 2003. Navicular disease and other soft tissue causes of palmar foot pain. In Ross M. W. and Sue J. Dyson (Eds.), *Diagnosis and Management of Lameness in the Horses*, Saunders, USA. S., 286-299.
6. Jacquet S., Coudry V., Denoix J.-M., Severe tear of the collateral sesamoidean ligament in a horse. *Vet. Rec.* 2006; 159 (24): 818-20.
7. Denoix, J.M., Ultrasonographic examination in the diagnosis of joint disease. In: McIlwraith C.W. and Trotter G.W., (Eds): *Joint Disease in the Horse*, 1st edn. Saunders Co., Philadelphia; 1996.S.165-202.
8. Denoix, JM, Jacot S, Bousseau B and Perrot P, Ultrasonographic anatomy of the dorsal and abaxial aspects of the equine fetlock, *Equine Veterinary Journal.* 1996; 28 (1): 54-62.
9. Busoni V, Denoix JM, Ultrasonography of the podotrochlear apparatus in the horse using a transcuneal approach: technique and reference images, *Vet. Radiol. Ultrasound.* 2001; 42(6): 534-540.
10. Dyson SJ, Murray R, Schramme M, Branch M, Lameness in 46 horses associated with deep digital flexor tendonitis in the digit: diagnosis confirmed with magnetic resonance imaging. *Equine Vet. J.*, 2003; 35(7): 681-90.
11. Dyson SJ, Murray R, Schramme MC, Lameness associated with foot pain: results of magnetic resonance imaging in 199 horses (January 2001--December 2003) and response to treatment, *Equine Vet. J.* 2005; 37(2): 113-21.
12. Busoni V, Heimann M, Trenteseaux J, Snaps F, Dondelinger RF, Magnetic resonance imaging findings in the equine deep digital flexor tendon and distal sesamoid bone in advanced navicular disease – an ex vivo study, *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2005; 46(4): 279-286.
13. Murray RC, Blunden SB, Schramme MC, Dyson SJ, How does magnetic imaging represent histologic findings in the equine digit? *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2006a; 47(1): 17-31.
14. Murray RC, Schramme MC, Dyson SJ, Branch MV, Blunden TS, Magnetic resonance imaging characteristics of the foot in horses with palmar foot pain and control horses, *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2006b; 47(1): 458-66.

Kontakt

Dr. Melania Crişan, Department of Comparative Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca
melaniacrisan@gmail.com

Bildgebende Diagnostik zur Befundung von Schäden an der distalen Gliedmaße

Dagmar Berner, Kerstin Gerlach

Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Einleitung

Erkrankungen der distalen Gliedmaße stellen die häufigste Ursache von Lahmheiten bei Pferden dar. Häufig kann die Diagnose pathologischer Veränderungen anhand röntgenologischer und sonografischer Untersuchungen gestellt werden. Bei unklaren Befunden konnten in den letzten Jahren moderne bildgebende Verfahren, wie Computertomografie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT), in der Pferdepraxis weiterhelfen.

Veränderungen von Sehnen und Bänder

Pathologische Veränderungen der Beugesehnen sowie der Gleichbeinbänder können häufig durch eine sonografische Untersuchung festgestellt werden. Dabei kann anhand der Größe des Defektes sowie der Anordnung der Sehnenfasern das Alter und das Ausmaß des Sehnen Schadens beurteilt werden. Jedoch muss dabei berücksichtigt werden, dass auf Höhe des palmaren Fesselgelenkes der Sporn die Untersuchung geringgradig einschränken kann. Zudem ist weiter distal aufgrund der Hufkapsel nicht immer die komplette tiefe Beugesehne (TBS) für die sonografische Untersuchung zugänglich. Über den Ballenbereich kann bei vielen Pferden die TBS bis kurz über das Strahlbein dargestellt werden. Jedoch kann die Auflagefläche für den Ultraschallkopf in diesem Bereich bei Pferden mit sehr engen Trachten eingeschränkt sein.

Der Ansatz der TBS am Hufbein kann häufig über ein sonografisches Fenster im Bereich des Strahls dargestellt werden. Dafür ist eine gründliche Vorbereitung des Hufes notwendig (dünn geschnittener Strahl, 12 h Angussverband). Auch hier muss beachtet werden, dass für die sonografische Untersuchung der TBS je nach Form des Strahls nur ein enges Fenster zur Verfügung steht und weit abaxial gelegene Anteile häufig nicht eingesehen werden. Bei unklaren Befunden können Veränderungen der TBS in diesem Bereich mit Hilfe der MRT-Untersuchung diagnostiziert werden. Ebenfalls kann die Darstellung dieser mit einem Kontrastmittel-CT erfolgen.

Erkrankungen der Seitenbänder im Bereich der Zehengelenke des Pferdes können häufig sonografisch erkannt werden. Dabei ist jedoch zu beachten, dass nur der proximale Anteil der Seitenbänder des Hufgelenks zugänglich ist, da der distale Anteil innerhalb der Hufkapsel liegt. Hier hat sich ebenfalls die MRT-Untersuchung als hilfreich erwiesen. Erkrankungen dieser Region können ebenfalls computertomografisch diagnostiziert werden, jedoch ist dafür die intraartikuläre Injektion von Kontrastmittel notwendig.

Gelenkerkrankungen

Erste Anzeichen von Gelenkerkrankungen sind häufig eine vermehrte Füllung, welche sonografisch dargestellt werden kann. Darüber hinaus können ebenfalls Veränderungen der Gelenkkapsel erfasst werden. Osteophytäre Zubildungen, als ein häufiges Anzeichen degenerativer Gelenkerkrankungen, können meist röntgenologisch und ultrasonografisch erkannt werden. Ebenfalls kann es zu einer vermehrten Sklerose der beteiligten Knochen kommen, die jedoch erst relativ spät röntgenologisch nachgewiesen werden kann. Hier sind MRT und CT wesentlich sensitiver, mittels derer eine Erhöhung der Knochendichte um 10% erkannt werden kann. Röntgenologisch nicht sichtbare Fissuren sind mittels MRT diagnostizierbar.

Weiterhin können bei degenerativen Gelenkerkrankungen Knorpelschäden auftreten. Knorpel lässt sich röntgenologisch nicht darstellen, nur sekundäre Veränderungen, wie eine Verschmälerung des Gelenkspalts und subchondrale Knochenveränderungen sind sichtbar. Mit Hilfe der Sonografie lässt sich Knorpel direkt darstellen, jedoch ist selten der gesamte Gelenkknorpel zugänglich. Zur Erkennung von geringgradigen Knorpelveränderungen kann entweder eine CT-Untersuchung mit Hilfe intraartikulärem Kontrastmittel oder die MRT genutzt werden.

Eine weitere diagnostische Herausforderung stellen zystoide Defekte dar. Röntgenologisch können diese immerhin ab einer gewissen Größe diagnostiziert werden. Jedoch kann nicht immer zweifelsfrei ihre genaue Lage sowie eine mögliche Verbindung zum Gelenk erkannt werden. Für die sonografische Untersuchung sind diese aufgrund ihrer meist tiefen Lage im Gelenk häufig ebenfalls nicht zugänglich. Die genaue Lage dieser Zysten kann mit Hilfe der MRT sowie CT-Untersuchung dargestellt werden. Bei der CT ist jedoch häufig eine intraartikuläre Injektion von Kontrastmittel zur Darstellung einer Gelenksverbindung notwendig, dafür kann eine optimale Behandlung direkt CT gestützt erfolgen.

Ödemähnliche Veränderungen im Knochen können aufgrund von Infektionen sowie degenerativen Veränderungen oder Überlastung auftreten. Die MRT-Untersuchung ist das einzige Verfahren, welches den dadurch bedingten erhöhten Wassergehalt im Knochen darstellt. Eine Unterscheidung von Infektion und degenerativer Veränderung ist nicht immer zweifelsfrei möglich, jedoch kann diese Frage meist anhand des Vorberichtes geklärt werden.

Vergleich der verschiedenen Bildgebenden Verfahren anhand des Nageltritts

Nageltritte können je nach Eintrittswinkel und –tiefe zu Verletzung von Sehnen, Bändern und synovialen Strukturen führen. Bei deren Verletzung ist eine sofortige Spülung dieser notwendig und die Prognose für eine spätere Lahmfreiheit sinkt. Deshalb sollte diese möglichst sofort erkannt werden. Weiterhin ist eine Beteiligung der Sehnen- und Bandstrukturen ebenfalls von großer prognostischer Bedeutung. Bei akuten Nageltritten kann häufig anhand der Eintrittspforte und –richtung schon ein Rückschluss auf die beteiligten Strukturen erfolgen. Sollte diese jedoch nicht eindeutig sein, kann eine Punktion der synovialen Strukturen erfolgen. Jedoch ist letzteres bei phlegmonös veränderten Gliedmaßen nicht immer durchführbar. Im akuten Fall wird häufig die chirurgische Versorgung den bildgebenden Verfahren vorangestellt, da diese häufig eine genaue Abklärung der beteiligten Strukturen ermöglicht. Gerade bei älteren Verletzungen sowie bei nicht eindeutigen Befunden können jedoch verschiedene bildgebende Verfahren weiterhelfen.

Die röntgenologische Untersuchung kann Hinweise auf eine Beteiligung synovialer Strukturen bieten, jedoch nur indirekt über Lufteinschlüsse. Zudem kann eine Sonde in den Eintrittskanal eingeführt werden und anhand deren Lage Rückschluss auf die mögliche Beteiligung der anatomischen Strukturen gezogen werden. Der Eintrittskanal ist bei älteren Verletzungen nicht immer auffindbar, so dass eine röntgenologische Untersuchung wenig Aussagekraft besitzt. Sonografisch ist die Darstellung möglicher Veränderungen nicht nur durch die Hufkapsel sondern häufig noch zusätzlich durch Lufteinschlüsse eingeschränkt.

Bei unklaren Befunden kann eine CT-Untersuchung indiziert sein. Dafür muss das Pferd in Narkose untersucht werden, jedoch ist dies meist sowieso zur optimalen Versorgung des Nageltrittes notwendig. Die CT-Untersuchung bietet weiter den Vorteil, dass sie in nur wenigen Minuten durchgeführt werden kann. Dabei muss beachtet werden, dass der Weichteilkontrast eingeschränkt ist, da nicht immer die Gabe von Kontrastmittel aufgrund von infektiösen Veränderungen des Gewebes möglich ist. Mit Hilfe der MRT können Veränderungen des Weichteilgewebes und knöcherne Veränderungen hervorragend dargestellt werden. Hier bietet die MRT-Untersuchung den Vorteil, dass frühzeitig Infektionen der Knochen anhand eines gesteigerten Flüssigkeitsgehalts erkannt werden können. Jedoch muss dabei beachtet werden, dass die Untersuchung zeitintensiv

ist. Außerdem muss bei der stehenden Untersuchung eine vollständige Belastung der Gliedmaße erreicht werden, die jedoch schmerzbedingt nicht immer möglich ist.

Zusammenfassung

Die röntgenologische sowie sonografische Untersuchung bleiben immer noch die Mittel der ersten Wahl bei Erkrankungen der distalen Gliedmaße des Pferdes. Sie sind kostengünstig am stehenden Pferd durchführbar und in fast allen Tierarztpraxen verfügbar. Sollten diese beiden Verfahren jedoch keine eindeutige Diagnose liefern, kann eine CT- oder MRT-Untersuchung weiterhelfen. MRT-Untersuchung der distalen Gliedmaße können am stehenden sedierten Pferd durchgeführt werden, für eine CT-Untersuchung ist jedoch eine Narkose notwendig.

Literatur

1. Seignour M, Pasquet H, Coudry V, Denoix JM. Ultrasonographic diagnosis of injuries to the deep digital flexor tendon and associated structures in the equine foot (suprasesamoidean area). *Equine vet. Educ.* 2011;23(7):369–376
2. Denoix JM, Dupays AG, Bertoni L, Wery N, Audigié F. Ultrasonographic examination of the collateral ligaments of the distal interphalangeal joint in horses. Part B: Abnormal findings and lesions. *Equine vet. Educ.* 2011;23(12):616-625
3. Vallance SA, Bell RJW., Spriet M, Kass PH, Puchalski SM. Comparisons of computed tomography, contrast enhanced computed tomography and standing low-field magnetic resonance imaging in horses with lameness localised to the foot. Part 1: Anatomic visualisation scores. *Equine Vet. J.* 2012;44(1):51–56.
4. Vallance SA, Bell RJW., Spriet M, Kass PH, Puchalski SM. Comparisons of computed tomography, contrast-enhanced computed tomography and standing low-field magnetic resonance imaging in horses with lameness localised to the foot. Part 2: Lesion identification. *Equine Vet. J.* 2012;44(2):149-156.
5. Vanderperren K, Saunders JH. Diagnostic imaging of the equine fetlock region using radiography and ultrasonography. Part 1: Soft tissues. *Vet J.* 2009 Aug;181(2):111-22.
6. Vanderperren K, Saunders JH. Diagnostic imaging of the equine fetlock region using radiography and ultrasonography. Part 2: the bony disorders. *Vet J.* 2009 Aug;181(2):123-36.

Kontakt

Dr. Dagmar Berner, Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
dagmar.berner@vetmed.uni-leipzig.de

Orthopädische Hufbeschläge – traditionell bei Sehnen- und Fesselträgererkrankungen verwendete Hufeisenmodifikationen

Axel Berndt

Chirurgische Tierklinik Universität Leipzig

Jedem Hufbeschlag geht die Hufzubereitung (Hufkorrektur), soweit der Huf noch gekürzt bzw. korrigiert werden kann, voraus. Die Hufkorrektur ist der wichtigste Teil der speziellen Hufpflege sowie der Hufzubereitung für eine darauf folgende Beschlaghandlung – nicht die manuelle Tätigkeit, sondern die Entscheidung, wo gekürzt werden muss bzw. noch gekürzt werden kann oder wo Horn stehen bleiben muss.

Kann durch die Hufkorrektur das Ziel nicht erreicht werden, helfen Hufschutz, -beschläge, Zwischen- und Unterlegmöglichkeiten (Keilplatten), Hufschuhe und Kunsthorn sowie die zahlreichen Änderungen. Für Sehnen- und Fesselträgererkrankungen haben sich von jeher eine Vielzahl von Beschlägen bewährt. Die noch größere Anzahl von Modifikationen, zu der Anzahl bekannter Beschläge erscheinen bis heute wegen ihrer geringen Anzahl, oft nur einmalig, nie in Zeitschriften oder Nachschlagewerken.

Zu den Sehnen- und Fesselträgererkrankungen gehört die jeweilige Diagnose. Ob akut oder chronisch, fast immer liegt die Maßnahme zugrunde, ihre natürliche Beanspruchung so zu verringern, notfalls aufzuheben, sodass ihre Heilung unterstützt wird.

In Bezug auf die Tiefe Beugesehne (TBS) und das Unterstützungsband (UB) haben sich das Hochstellen des Hufes im hinteren Bereich durch Keile in vielen verschiedenen Varianten (z. B. Keileisen, -platte, Kunststoffkeile, Stege, Stollen, verdickte Schenkelenden usw.) bewährt.

Da sich die TBS mit ihrem UB und Muskel während der Heilungsphase oft etwas zusammenzieht, kann es zu Bockhuf und/oder Stelzfuß kommen. Hiergegen hat sich ein glatter Beschlag mit einer weit nach hinten reichenden Zehenrichtung bewährt. In dem Maße, in dem ich mich mit der Abfußungsstelle dem Bereich an dem die TBS am Hufbein ansetzt nähere, verringert sich die aufzuwendende Kraft, den Huf über die Hufspitze abfüßen zu lassen.

Das gesunde Pferd reibt den Beschlag bzw. Horn dahingehend ab, wo Material im Wege ist, was dem Pferd mit Sehnen-, Bänder- und Fesselträgererkrankungen nicht möglich ist. Das muss das Kürzen und die Beschlaghandlung erreichen (zehenoffenes Hufeisen, einseitig zehenoffenes, einseitig Vorder- und halbseitenwandoffenes Hufeisen). Der Name zehenoffenes Hufeisen ist eigentlich nicht zutreffend, da der gesamte Teil ab Fesselgelenk abwärts, die Zehe bezeichnet und nicht nur der Vorderwandbereich (Hufeisen mit offenem Vorderteil). Die bisherige Bezeichnung zehenoffenes Hufeisen soll der Einfachheit halber hier weiterhin so genannt werden. Auch dieser Beschlag wird mit einem langen Abfußungsradius versehen. Die Länge nach hinten schließt mit dem Ende der Ballen senkrecht ab.

Ein ähnlicher Beschlag, der den Huf nach hinten gegen Einsinken in nachgiebigem Boden eine Stütze bietet und die von oben einfallende Last am Fesselgelenk unterstützt, ist der Egg-bar-Beschlag. Er soll das einfallende Gewicht vom hinteren in den vorderen Bereich des Hufes verlegen. Dieses Hufeisen reicht bis zur Senkrechten des Ballenendes und erhält eine sehr gute Zehenrichtung.

Um 1780 wurde ein Hufeisen veröffentlicht, das 1984 durch Ostblom seine Wiederveröffentlichung speziell für die Hufrollenerkrankung erfuhr. Schon unmittelbar darauf wurde es oft so verändert, dass es mit den Trachten abschließt und seine Wirkung mit der nötigen Stützfläche nach hinten verliert.



Abbildung 1: Modifizierter Egg-bar-Beschlag vorn des Hufeisens der Firma Werkman® von Hubert Schwarzer

Eine geschickte Modifikation des Egg-bar-Beschlages nach Hubert Schwarzer aus Müheln (siehe Abbildung 1) verringert aufgrund der von außen nach innen abgesetzten Schenkelenden und seiner Leichtigkeit das Risiko des Abtretens, welches häufig an den Außenstellen der ovalen Verlängerung des Egg-bar-Beschlages erfolgt. Die abgesetzten Schenkelenden, hier feuerverschweißt, können mit jeder beliebigen Schweißart verbunden werden. Trotz der benötigten Länge und des schmalen leicht gehaltenen eiförmigen Hinterteils unterstützen die Schenkel ab der weitesten Stelle des Hufes den Kronenrand senkrecht. Am Hinterhufeisen (siehe Abbildung 2), das ebenfalls leicht und lang gehalten wird, sind die Schenkelenden von innen nach außen abgesetzt, da hier das Risiko des Abtretens geringer ist.



Abbildung 2: Modifizierter Egg-bar-Beschlag hinten des Hufeisens der Firma Werkman® von Hubert Schwarzer

Egg-bar-Beschlag und zehenoffenes Hufeisen haben gleichermaßen die eiförmige Verlängerung nach hinten, wobei letzteres eine länger anhaltende, sich ständig eher abreibende Zehenrichtung aufweist.

Eine wesentliche Verstärkung des Auf- und Abfußens erfahren die Pferde Ende 1700 durch schiffchenförmige Hufeisen. Diese Beschlagform war mit Abweichungen in Frankreich, England, Italien, Deutschland und anderorts in Gebrauch. Ihre Form hat sich bis vor ca. 12 Jahren fast verloren. Seine heutige Anwendung bezieht sich zum großen Teil auf die Hufrehe. Das aufgebogene Hinterteil mit vorausgegangener gezielter Hufkorrektur (keine Trachtenfußung) kommt dem Beschlag für Fesselträgererkrankung und der Erkrankung der Oberflächlichen Beugesehne (OBS) in der ersten bis zweiten Stützphase entgegen. Die dritte Stützphase als Abrollphase für die genannten Erkrankungen (Entzündungen), aus heutiger Anschauung nicht gewollt, beeinflusst den Heilungsverlauf positiv.

Bei Erkrankung des Tiefen- Beugesehnen-Apparates sind die Trachten entsprechend höher zu belassen bzw. zu unterlegen, sodass das Pferd geringgradig mit den Schenkelenden zuerst aufkommt. Die gewölbte Form des Beschlages kommt der TBS beim Abfußens außerordentlich entgegen.

Der Beschlag bei Fesselträgererkrankungen mit breitem Vorderteil soll erreichen, dass durch Einsinken der von beiden Seiten bodeneng geränderten Schenkelenden sich Kron- und Fesselbein steiler stellen und somit der Fesseltrageapparat entlastet wird.

Bei einseitiger Fesselträgererkrankung haben sich die Beschläge nach Denoix durchgesetzt. Dieser Beschlag besitzt einen breiten und einen schmalen Schenkel, der von beiden Seiten bodeneng gerändert ist und ebenfalls in tiefen Boden eindringt. Die Seite mit dem breiten Schenkel steht nun höher und entlastet auf dieser Seite den betroffenen Fesselträgerschenkel.

Literatur

1. Berndt, A.: Hufkorrektur und Hufbeschlag bei Erkrankungen des Bandapparates im Huf. 7. Leipziger Tierärztekongress 2014
2. Litzke, L.-F.; Rau, B.: Der Huf, Lehrbuch begründet v. H. Ruthe, 6. vollst.überarb. Auflage, 2012, S. 39-41, 69-75
3. Leisering, Hartmann und Lungwitz: Der Fuß des Pferdes, 7. Auflage, 1883, S. 156
4. Ostblom, L. C.; C. Lund; F. Melsen (1984): Nacicular bone disease: Results of treatment using egg-bar shoeing technique, Equine Vet. Journal 16, 203-206

Kontakt

Axel Berndt, Chirurgische Tierklinik Universität Leipzig
axel.berndt@vetmed.uni-leipzig.de

Orthopädische Beschlagsalternativen – Kleben, Kunststoff und Co

Andreas Müller

Heiligenwald

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Einfluss orthopädischer Beschläge auf die Ausrichtung der Zehenknochen in Statik und Bewegung

Jenny Hagen¹, Florian Häfner², Daniela Mäder¹, Michael Hüppler¹, Sandra Geiger¹

¹Veterinär-Anatomisches Institut, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

²Horseshoe Factory Werkman, Groningen (Niederlande)

Orthopädische Maßnahmen –biomechanische Ansätze von Beschlagsmodifikationen

Neben der Prävention, Diagnostik und medikamentellen Behandlung von Lahmheiten spielt die korrekte Anwendung orthopädischer Maßnahmen und das Management des Patienten eine entscheidende Rolle für den Erfolg der Therapie. Dabei ist der Einsatz von Beschlagsmodifikationen zur Beeinflussung der Zehenknochenausrichtung einer der Hauptansätze zur Unterstützung der Behandlung von orthopädischen Erkrankungen. Das Ziel ist durch die Veränderung der Ausrichtung von Knochen und Gelenken die ansetzenden Sehnen und Bänder spezifisch zu entlasten (2,3). Es wird davon ausgegangen, dass Änderungen des Hufbeinwinkels sich auf den Winkel von Huf- und Fesselgelenk auswirken. Es besteht die Annahme, dass die Zunahme des Hufbeinwinkels ein Absinken von Kron- und Fesselbein und eine Zunahme der Streckung des Fesselgelenkes nach sich zieht. Eine flachere Hufbeinstellung soll gegenteiliges bewirken (4,5).

Diese Ansätze sind die Grundlage für Beschlagsmodifikationen (Abb. 1). Zum einen soll durch eine Erhöhung einzelner Hufabschnitte (Trachtenkeil, Seitenkeil) auf die Hufbeinausrichtung eingewirkt werden, um die tiefe Beugesehne, die Hufrolle und - bei einseitiger Anwendung - die Kollateralbänder zu beeinflussen. Zum anderen werden Modifikationen der lastaufnehmenden Fläche des Hufeisens vorgenommen, um das Einsinken definierter Hufabschnitte in weichen Untergrund zu beeinflussen (Eier-, Herz-, Fesselträger-, Breitschenkeleisen) und damit einen Effekt auf die Ausrichtung der distalen Gliedmaße zu erreichen.

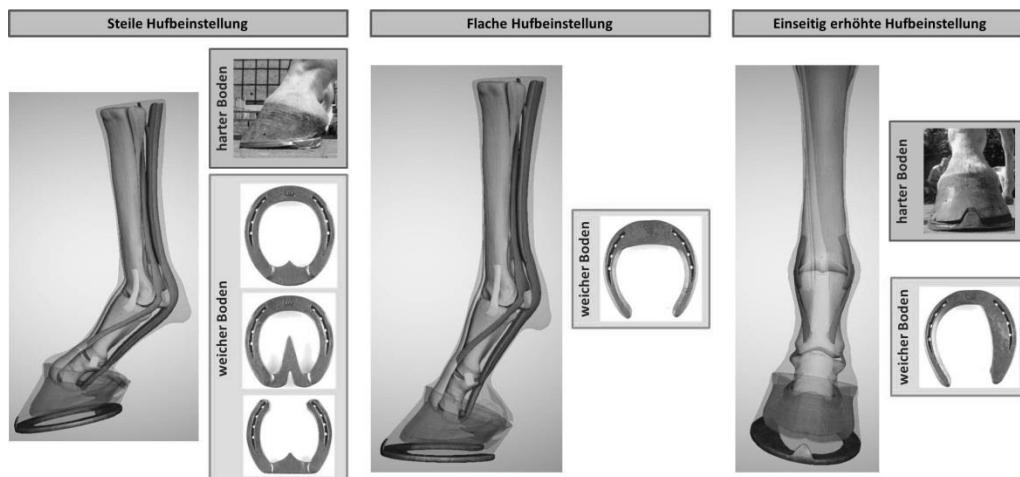


Abb. 1: Darstellung der angenommenen Wirkung von Beschlagsmodifikationen auf die Zehenknochenausrichtung und die damit verbundene Belastung von Sehnen und Bändern (2,4)

Wissenschaftliche Untersuchungen zur Wirkung von Beschlagsmodifikationen

Allerdings wurde die Wirkung etablierter Beschlagsmodifikationen auf die Ausrichtung der Zehenknochen kaum unter praktisch relevanten Bedingungen untersucht. Mit der Anfertigung von

Röntgenaufnahmen wurde der Einfluss von verschiedenen hohen Keilen auf die Knochenausrichtung untersucht, ohne Berücksichtigung von in der Praxis eingesetzten Beschlägen und Bodenbeschaffenheiten. Zudem bilden Röntgenaufnahmen nur ein 2D-Bild komplexer 3D-Strukturen ab und stellen nur eine Momentaufnahme dar. Weitere Fehlerquellen, wie die Ausrichtung des Zentralstrahls, die Positionierung des Pferdes, die Belastung der Gliedmaße und die Genauigkeit der Auswertung, limitieren die Nutzung von radiologischen Messungen zur Erfassung des Effektes von Beschlägen auf die Zehenknochenausrichtung. Untersuchungen in Bewegung über einen längeren Zeitraum mit der Möglichkeit einer 3D Rekonstruktion der Knochensäule stellen eine Optimierung der Methodik dar.

Daher waren die Ziele der im Folgenden vorgestellten Studie:

1. Die Untersuchung des Effektes von praxisrelevanten Beschlagsmodifikationen auf die Ausrichtung der Zehenknochen mit der traditionellen Röntgentechnik in der Statik unter Berücksichtigung verschiedener Bodenbeschaffenheiten (hart, weich).
2. Die Nutzung der High Speed FluoroscopicKinematography (Hochgeschwindigkeitsröntgenvideographie) zur dreidimensionalen Untersuchung des Effektes von Beschlagsmodifikationen auf die Ausrichtung der Zehenknochen in Bewegung.

Mit diesen Untersuchungstechniken sollten die folgenden Hypothesen verifiziert werden:

1. Eine steilere Hufbeinstellung bewirkt ein Absinken von Kron- und Fesselbein mit Zunahme der Hyperextension des Fesselgelenkes (orthopädisches Ziel: Entlastung der tiefen Beugesehne + Hufrolle, Nebenwirkung: Belastung des Fesseltrageapparates)
2. Eine flachere Hufbeinstellung bewirkt ein Aufrichten von Kron- und Fesselbein mit Abnahme der Hyperextension des Fesselgelenkes (orthopädisches Ziel: Entlastung des Fesseltrageapparates, Nebenwirkung: Belastung der tiefen Beugesehne + Hufrolle)

Studiendesign und Methodik

Für die Studie standen 25 Pferde zur Verfügung, welche ausgeschnitten und anschließend barhuf sowie mit einem Standardhufeisen und zwei modifizierten Hufeisen beschlagen radiologisch untersucht wurden. Dies erfolgte mit einem digitalen Röntgensystem (Gierth X-Ray international, Riesa, Detektor Canon CXDI-80C). Die Pferde wurden mit beiden Vorderbeinen parallel auf gleiche Höhe (9cm) gestellt. Der Röntgenblock, auf dem die zu untersuchende Gliedmaße stand, wurde so modifiziert, dass harter (Holzblock) und weicher Untergrund (Polster) simuliert werden konnten. Auf diese Art wurden 90°- und 0°-Aufnahmen angefertigt. Die Auswertung erfolgte mit der Software MetronHoof (Eponatech).

Für die Messungen mit der High Speed FluoroscopicKinematography(FluoKin) standen vier Ponys zur Verfügung. Diese wurden barhuf sowie beschlagen mit einem Standardhufeisen und neun Hufeisenmodifikationen untersucht. Mit Hilfe der FluoKin-Anlage (Böhme Medizintechnik GmbH, Peißen) ist es möglich, die Knochen der distalen Gliedmaße radiologisch in Bewegung darzustellen. Damit lassen sich die dreidimensionalen Positionsänderungen von Huf-, Kron-, Fessel- und Röhrbein in der Dynamik erfassen – ähnlich einer Röntgenvideographie. Zwei Röntgenquellen, zwei Röntgenbildwandler und entsprechende Kameras ermöglichen die bildsynchrone Aufzeichnung einer Bewegungssequenz von bis zu 6s mit je 500 Bildern/s. Aus den biplanaren Messungen kann mit Hilfe eines Knochenmodells, welches durch CT-Messungen erstellt wird, eine 3D Rekonstruktion der Knochen im Bewegungsablauf errechnet werden.

Beschlagsmodifikationen – Möglichkeiten und Einfluss

Die Ergebnisse der durchgeführten Studie zeigen, dass sowohl in der Statik, als auch während der Hauptstützphase eine reproduzierbare, gezielte Beeinflussung der Hufbeinstellung durch Beschlagsmodifikationen zu erreichen ist. Die Verwendung von Trachtenkeilen führt sowohl auf hartem, als auch auf weichem Boden zu einer steileren Ausrichtung des Hufbeins. Der Beschlag mit

Stegeseisen hat auf hartem Boden keinen Effekt, wohingegen auf weichem Boden das Einsinken im palmaren Hufbereich verringert wird und die Zehe verstärkt in den Boden eindringt, was eine steilere Hufbeinstellung zur Folge hat. Der Beschlag mit einem Fesselträgereisen, zeigt seinen Effekt ebenfalls nur in weichem Untergrund, wobei das Einsinken der Zehe verringert wird – das Hufbein stellt sich flacher. Das Breitschenkeleisen bewirkt ein einseitiges Absinken des Hufbeins, da die unterstützte Hufseite weniger und die kontralaterale Seite verstärkt in den Boden einsinkt.

Die Untersuchung der Wirkung eines veränderten Hufbeinwinkels auf die Ausrichtung von Kron- und Fesselbein sowie auf den Fesselgelenkwinkel ergab keine einheitlichen Daten. Beispielsweise wurde das beschriebene Absinken der oberen Phalangen durch eine steilere Hufbeinstellung nur bei einem Teil der Pferde beobachtet. Zumeist waren weder in der Statik, noch in der Dynamik Veränderungen zu erkennen. In wenigen Fällen trat der gegenteilige Effekt ein. Lediglich massive, in der Praxis nicht zu verwendende, experimentelle Modifikationen (4cm Zehen- o. Trachtenkeile) machten die von anderen Autoren beschriebenen Wirkungen nachvollziehbar.

Biomechanisch lässt sich aus den Ergebnissen ableiten, dass eine gezielte Veränderung der Hufbeinstellung durch den Beschlag erreichbar ist. Daher sind die tiefe Beugesehne und die Hufrollenregion spezifisch durch Beschlagsmodifikationen zu entlasten. Die Wirkung auf den Fesseltrageapparat und die Seitenbänder durch orthopädische Beschläge ist hingegen schwer vorherzusehen. Allerdings ist aus dieser Studie nicht abzuleiten, wie die Spannung der Sehnen und Bänder tatsächlich beeinflusst werden. Möglicherweise kompensieren die entsprechenden Strukturen Stellungsänderungen des Hufbeins. Weitere Studien diesbezüglich werden folgen.

Generell ist bei der Verwendung von orthopädischen Beschlagsmodifikationen davon auszugehen, dass aufgrund des funktionellen Zusammenspiels aller Bauelemente der distalen Gliedmaße die Entlastung eines Abschnitts nicht ohne Wirkung auf den Gegenspieler bleibt. Dabei spielen die Bodenbeschaffenheit und die individuelle Gliedmaßenkonformation eine maßgebliche Rolle in der Ausprägung des jeweiligen Effektes des Beschlages. Die Kommunikation zwischen Tierarzt, Hufschmied und Besitzer diesbezüglich ist ein zentraler Punkt, um das Management des Patienten zu optimieren. Zudem ist bei der Anwendung orthopädischer Beschläge zu beachten, dass eine gezielte Diagnostik vorangestellt wird und somit eine indikationsspezifische Verwendung des therapeutischen Beschlages über einen definierten Zeitraum gewährleistet wird.

Literatur

1. Kaneene JB, Ross WA, Miller R. The Michigan equine monitoring system. II. Frequencies and impact of selected health problems. *Preventive Veterinary Medicine* 1997;29(4):277–92.
2. Lawson SEM, Chateau H, Pourcelot P, Denoix J, Crevier-Denoix N. Effect of toe and heel elevation on calculated tendon strains in the horse and the influence of the proximal interphalangeal joint. *J. Anat.* 2007;210(5):583–91.
3. Chateau H, Degueurce C, Denoix J. Three-dimensional kinematics of the distal forelimb in horses trotting on a treadmill and effects of elevation of heel and toe. *Equine Vet J* 2006;38(2):164–9.
4. Crevier-Denoix N, Roosen C, Dardillat C, Pourcelot P, Jerbi, Hassen, Sanaa M et al. Effects of heel and toe elevation upon the digital joint angles in the standing horse. *Equine Vet J* 2001;33(S33):74–8.
5. Rooney, James R. The Angulation of the Forefoot and Pastern of the Horse. *J Equine Vet Sci* 1983;4(3).

Kontakt

Dr. Jenny Hagen, Veterinär-Anatomisches-Institut, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
hagen@vetmed.uni-leipzig.de

Einfluss von orthopädischen Beschlägen auf das Druckverteilungsmuster und den Fußungsablauf

Michael Hüppler¹, Florian Häfner², Sandra Geiger¹, Daniela Mäder¹, Jenny Hagen¹

¹Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät, Veterinär-Anatomisches Institut

²Werkman Horseshoe Factory, Department for Research and Development, Groningen (Niederlande)

Hintergrund

Der orthopädische Beschlag ist und bleibt eine weitverbreitete ergänzende Maßnahme zur Behandlung verschiedener Erkrankungen der distalen Gliedmaße. Kenntnisse über die Eigenschaften und Wirkungsweisen der verschiedenen Beschläge sind in diesem Tätigkeitsfeld also unumgänglich (1).

Grundsätzlich können unterschiedliche Modifikationen am Hufeisen angebracht werden um die partielle Höhe oder die lastaufnehmende Fläche in der mediolateralen oder dorsopalmaren Ebene zu verändern. Somit können die wirkenden Kräfte zwischen Huf und Boden im Vergleich zu einem Standardbeschlag oder dem Barhuf beeinflusst werden. Zusätzlich zum Beschlag sollte auch der Boden, auf dem das Pferd während der Rekonvaleszenz gehalten und gearbeitet wird, und der individuelle Körperbau des Patienten in Betracht gezogen werden (2). Nur wenn alle diese Parameter beachtet werden, kann der Einfluss verschiedener Beschlagsmodifikationen auf die Biomechanik, die Funktionalität und die Anatomie des Hufes gezielt genutzt werden..

Die vorliegende Studie untersuchte den Einfluss verschiedener orthopädischer Beschlagsmodifikationen auf das Druckverteilungsmuster und das individuelle Fußungsmuster im Zusammenhang mit unterschiedlichen Bodenbeschaffenheiten. Die Erkenntnisse sollen Schmieden, Tierärzten und Besitzern gleichermaßen als Wissens- und Diskussionsgrundlage dienen.

Material & Methoden

Tiere

Für die Studie wurden insgesamt 25 Warmblutpferde zufällig auf 5 Gruppen verteilt (N=5). In jeder Gruppe wurden 2 unterschiedliche Beschlagsmodifikationen (10 insgesamt) untersucht und der Barhuf sowie der Standardbeschlag dienten als Referenz für die spätere Auswertung der Daten.



Abb. 1: Instrumentalisierung des Hufes für die Untersuchung(A); Anbringung der zwei Sensoren am Huf (B); Kinetische Untersuchung auf Betonboden (C)

Druckmessung

Alle Messungen wurden an der linken Vordergliedmaße jedes Pferdes durchgeführt.

Für die Druckmessungen wurde ein folienbasiertes Druckmesssystem der Firma TekScan™ verwendet (3), wobei zwei Sensoren gleichzeitig am Pferdehuf angebracht wurden (Abb.1).

Sensor 1 konnte ohne Verlust von Sensitivität mit 2 Nägeln zwischen Huf und Hufeisen fixiert werden, Sensor 2 wurde mit Klebeband zwischen Hufeisen und Boden angebracht. Es wurde darauf geachtet, dass die Mitte der Sensoren mit der longitudinalen Mitte des Hufes übereinstimmen (4, 5). Die Pferde wurden ohne Seitwärtsbewegungen des Kopfes auf vier direkt aufeinanderfolgenden Bahnen mit unterschiedlichen Bodenbeschaffenheiten im Schritt geführt (Beton, Gummi, harter und tiefer Sand). Alle Bahnen waren ca. 30 m lang und die Messdauer auf einer Bahn betrug durchschnittlich 10 s. Demnach überstieg die gesamte Zeit der Untersuchung eines Pferdes kaum die Dauer von ein bis zwei Minuten – eine Zeitspanne bei der die Sensitivität des Sensors erhalten bleibt (6).

Datenauswertung

Zur weiteren Analyse wurden für jede Messung sechs bis sieben stabile Schritte zu einem Druckmessbild gemittelt (3). Dieses wurde, um eine Standardisierung der Auswertung zu gewährleisten, anhand geometrischer Aspekte, unabhängig von anatomischen Gegebenheiten, in verschiedene Zonen eingeteilt: Zehe ($\frac{1}{4}$), Mitte des Hufs ($\frac{1}{2}$), Trachten ($\frac{1}{4}$), lateral ($\frac{1}{2}$), medial ($\frac{1}{2}$). Für die entsprechenden Zonen wurde anschließend der prozentuale Anteil der einwirkenden Druckkräfte ermittelt. Anhand der Wanderung des Kräfteschwerpunktes in der Stützphase während der einzelnen Schritte, wurde zudem noch das individuelle Aufußen der Pferde charakterisiert (Abb. 2).

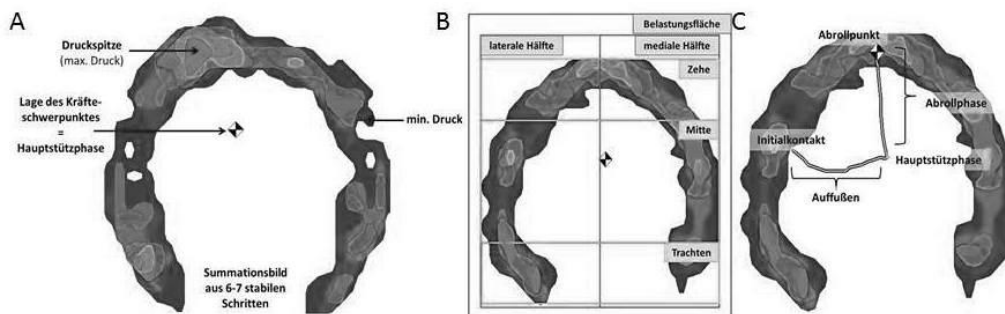


Abb. 2: Lesart eines Druckmessbildes (A); Zonierung des Druckmessbildes für die Auswertung der Daten der vorliegenden Studie (B); Fußungsablauf mit definierten Phasen im Summationsbild (C)

Ergebnisse & Diskussion

Hier sollen exemplarisch die Ergebnisse der Druckmessungen einzelner Modifikationen und deren Interpretation vorgestellt werden.

Ein Standardhufeisen, wie es in dieser Studie verwendet wurde, zeigt auf festem Boden eine große Unterstüztungsfläche und abhängig von der individuellen Fußung mehr oder weniger starke Druckspitzen im Bereich der Trachten und der Zehe. Ein Herzeisen zeigt im Vergleich eine deutlich sichtbare palmare Unterstüztung. Die vergrößerte lastaufnehmende Fläche kann den Druck gleichmäßiger verteilen und Druckspitzen werden deutlich reduziert.

Betrachten wir den Einfluss der Hufeisenmodifikationen auf die Hufkapsel, sehen wir, dass anders als beim Standardbeslag mit einem Herzeisen der Strahl (in Abhängigkeit von der individuellen Strahlform) auch auf festem Boden Belastung aufnimmt. Dieser Druck ändert sich auf

weicheren Böden allerdings kaum. Somit kann mithilfe eines Herzeisens der Druck im Bereich des Strahls auf verschiedenen Böden annähernd konstant gehalten werden. In Anbetracht der Deaktivierung des Hufmechanismus und der deutlichen Druckspitzen im Bereich der Trachten, sollte nur eine zeitlich limitierte Intervention mit diesem Beschlag vorgenommen werden.

Ein weiteres Beispiel ist das Fesselträgereisen, unter der verbreiterten Zehe des Eisens verteilt sich der Druck gleichmäßig, wodurch die Zehenregion der Hufkapsel und Teile der Sohle (abhängig von der Sohlenwölbung) allerdings mehr belastet werden. Auf weichem Boden verhindert die breite Zehe des Eisens das Einsinken der vorderen Hufregionen und erzeugt verstärkte Bodenreaktionskräfte, wohingegen die schmalen Schenkel sehr leicht in den Untergrund einsinken können, wodurch auch palmare Hufregionen zum Tragen herangezogen werden und der Druck gleichmäßig verteilt wird.

Ein Breitschenkeleisen auf festem Boden zeigt unter der modifizierten Seite sowohl im Bereich des Eisens, als auch an der Hufkapsel eine deutliche Belastungszunahme mit Druckspitzen, welche auf weichen Böden abnehmen aber trotzdem nachvollziehbar bleiben.

Zehenoffene Eisen reduzieren zwar die Belastung der Zehe, allerdings entstehen unter den Schenkelenden massive Druckspitzen, welche direkt an die Hornkapsel weitergegeben werden. Zudem sind die Seitenwände insgesamt bis zu 30% stärker belastet als bei einem Standardbeschlag.

Die Änderung der partiellen Höhe zog sehr eindrucksvolle Änderungen der Druckmessbilder nach sich, die Gesamtbelastung verteilt sich nur auf sehr kleine Flächen im Bereich der Zehe und der Trachten, was massive Druckspitzen sowohl unter dem Eisen, als auch an der Hufkapsel nach sich zieht. Auf weichem Boden allerdings drangen die verwendeten Keile sehr leicht in den Boden ein und diese Effekte wurden minimiert.

Fußungsmuster

Betrachten wir das individuelle Fußungsmuster auf verschiedenen Böden, kann zuerst festgehalten werden, dass unabhängig von der Art der Fußung und des Beschlages auf weichen Böden die Fußung zunehmend planer und gerader wird, da ein Einsinken ermöglicht wird.

Von allen untersuchten Modifikationen zeigten lediglich Keile, Stollen und Rockereisen einen sichtbaren Effekt auf das Fußungsmuster. Modifikationen der partiellen Höhe sorgen dabei für eine erhöhte Instabilität in der Hauptstützphase und resultieren außerdem in einer deutlichen Zehenfußung. Rockereisen setzten den Abrollpunkt entsprechend ihrer Intention deutlich nach hinten.

Die Verwendung von Seitenkeilen zur Beeinflussung der Fußung hin zu einer planen Landung konnte in dieser Studie nicht reproduzierbar nachgewiesen werden. Nur eines der 5 untersuchten Pferde zeigte nach der entsprechenden Anbringung des Keiles auch eine planere Fußung.

Zusammenfassung

Bei der Benutzung von Beschlagsmodifikationen werden häufig die Effekte auf Sehnen, Bänder, Knochen oder dynamische Prozesse in den Vordergrund gestellt, während die Einflüsse auf die Hufkapsel eine untergeordnete Rolle spielen. Doch durch die Veränderung der einwirkenden Druckkräfte wird mitunter starker Einfluss auf sensible Strukturen, wie z.B. eine dünne Sohle oder eine schmerzhaft ausgeübte Hufrolle ausgeübt, was eine Intoleranz des Beschlages nach sich ziehen kann.

Die anatomischen Strukturen, welche die distale Gliedmaße formen, bilden insgesamt eine enge und funktionale Gemeinschaft. Es kann daher mit großer Sicherheit davon ausgegangen werden, dass eine Entlastung einer Struktur immer auch eine vermehrte Belastung einer anderen nach sich zieht. Um also den optimalen Nutzen aus einem orthopädischen Beschlag ziehen zu können, müssen alle Faktoren von Fall zu Fall individuell in Betracht gezogen werden.

Literatur

1. Balch OK, Butler D, Collier MA. Balancing the normal foot: hoof preparation, shoe fit and shoe modification in the performance horse. *Equine Vet Educ* 1997; 9(3):143–54.
2. Chateau H, Holden-Douilly L, Robin D, Falala S, Pourcelot P, Estoup P et al. Biomechanical analysis of hoof landing and stride parameters in harness trotter horses running on different tracks of a sand beach (from wet to dry) and on an asphalt road. *Equine Vet J Suppl* 2010 [cited 2015 Jun 16]; (38):488–95.
3. Reilly PT. In-Shoe Force Measurements and Hoof Balance. *J Equine Vet Sci* 2010; 30(9):475–8.
4. Kummer M, Geyer H, Imboden I, Auer JA, Lischer CJ. The effect of hoof trimming on radiographic measurements of the front feet of normal Warmblood horses. *Vet J* 2006; 172(1):58–66.
5. Cauldron I, Grulke S, Farnir F, Aupaix, B., Serteyn D. Radiographic Assessment of equine Interphalangeal Joints Asymmetry: Articular Impact of Phalangeal Rotations (Part I). 1998; 45:319–25.
6. Perino VV, Kawcak CE, Frisbie DD, Reiser RF, McIlwraith CW. The Accuracy and Precision of an Equine In-Shoe Pressure Measurement System as a Tool for Gait Analysis. *J Equine Vet Sci* 2007; 27(4):161–6.

Kontakt

Michael Hüppler, Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät, Veterinär-anatomisches Institut
michael-hueppler@vetmed.uni-leipzig.de

Dialog zwischen Tierarzt und Hufschmied bei der Behandlung des orthopädischen Patienten

Charlotte von Zadow

Sottrum

Grundlage eines jeden Beschlages sind Kenntnisse der Anatomie der Gliedmaße, seiner Biomechanik und des aufzubringenden Materials. Soll ein Beschlag angewendet werden, um ein Pferd mit Lahmheit bei seiner Heilung zu unterstützen, ist zudem eine präzise Diagnose sehr hilfreich. Da die Diagnose und Beschlagsempfehlung in der Regel vom behandelnden Tierarzt gestellt werden ist die Übermittlung dieses Wissens zum Hufschmied, also die Kommunikation zwischen Tierarzt und Hufschmied, essentiell für die erfolgreiche Behandlung des Patienten. Denn was nützt eine präzise Diagnose, wenn dieser Diagnose kein präziser Beschlag folgt?

Tierarzt und Hufschmied sollten dabei über ein gutes Fundament an Anatomie und Biomechanik verfügen und beiden sollte klar sein, was durch den Beschlag prinzipiell verändert werden kann, nämlich: Hebelkräfte, Zugkräfte, Druckkräfte, Unterstützungsfläche, das Einsinken in den Boden, Dämpfung, Fliehkräfte und der Schutz der Hornkapsel. Diese Parameter können maximal in drei Ebenen verändert werden. Nimmt man dies als Grundlage, so ist es möglich, verständlich Beschlagsempfehlungen zu formulieren und zu diskutieren. Es sollte sich dabei wirklich um eine „Empfehlung“ handeln, die deutlich macht, was prinzipiell bei diesem Pferd erreicht werden soll. Man braucht viel Erfahrung, um zu erkennen wie und ob ein spezieller Beschlag bei dem individuellen Huf umgesetzt werden kann. Nicht alle Beschläge lassen sich bei jeder Hornkapsel umsetzen, nicht alle Beschläge sind unter allen Haltungsbedingungen möglich. Nicht jedes Eisenfabrikat passt auf jeden Huf und nicht jeder Nagel in jedes Eisen. Es gibt im Hufbeschlag keine „Schubladelösungen“.

Bei der Entscheidung, wie der Beschlag aussehen soll, müssen natürlich auch die Kräfte bedacht werden, die auf den Huf wirken. Die Form der Hornkapsel ist immer ein Spiegelbild der Gliedmaßenstellung des Pferdes. Die Beschlagslösung wird passend zu dieser Hornkapsel gewählt. Hinzu kommt dass gerade bei therapeutischen Beschlügen der Boden auf dem das Pferd gearbeitet wird und lebt einen großen Einfluss auf die Belastung der Strukturen hat. Zwischen den Kräften, die vom Pferd ausgehen, und den Kräften, die von Umgebung und Untergrund ausgehen, befindet sich der Beschlag. Hier wirkt er auf die Gliedmaße, im Stand und bei jedem Schritt. Der Huf ist der Bereich, über den wir das gesamte Pferd und seinen Bewegungsablauf beeinflussen.

Fast endlos ist die Palette der Möglichkeiten, die im Hufbeschlag angewendet werden kann. Der Hufschmied kann unterschiedliche Materialien verwenden, wie Stahl, Aluminiumlegierungen, Kunststoffe, Verbundwerkstoffe, Leder, Gips oder Holz. Er kann diese Materialien so formen und bearbeiten, dass sie dem Pferd bestmöglich dienen. Er kann entscheiden ob ein permanenter Hufschutz genagelt oder geklebt werden soll, ob ein temporärer Hufschutz bei diesem Pferd sinnvoll ist, oder ob es für dieses Pferd ausreichend ist barhuf zu bleiben.

Die Hornkapsel ist eine dreidimensionale Struktur und reagiert auf jede Veränderung des Beschlages: wenn Druck oder Hebelkräfte an einer Stelle der Hornkapsel verändern werden, wird dies immer einen Einfluss auf alle anderen Bereiche des Hufes haben. Häufig geht es bei therapeutischen Beschlügen darum, eine geschädigte Struktur gezielt zu entlasten. Um das zu erreichen, müssen zwangsläufig andere Strukturen vermehrt belastet werden und es kann zu sekundären Schädigungen durch Überbelastung kommen. Manche therapeutischen Beschlüge, die in der akuten Phase der Erkrankung von großem Nutzen sein können, führen zu Problemen, wenn

sie über einen langen Zeitraum angewendet werden. Es kommt vor, dass ein therapeutischer Beschlag der ursprünglich mit dem besten Vorsatz angewendet wurde um eine Struktur zu entlasten, inzwischen andere Strukturen der Gliedmaße so überbelastet oder komprimiert, dass durch den Beschlag eine Lahmheit ausgelöst wird. So können Keile durchaus sinnvoll sein, wenn z.B. eine akute Entzündung des Strahlbeinapparates vorliegt. Ein Trachtenkeil von 6 Grad verringert den Druck der von der tBS auf das Strahlbein ausgeübt wird um 24% (Willemen et al., 1999). Aber Trachtenkeile sollten nur solange verwendet werden, wie sie unbedingt nötig sind. Durch Keile wird die Belastung der Gliedmaße verändert, der hintere Hufbereich und die Trachten nehmen deutlich mehr Last auf (Chateau et al., 2004). Werden die Keile so verwendet, dass nur die Hufwand hochgekeilt wird, also ohne Polster und Platte, so verschiebt sich die Trachtenwand gegenüber dem Hufbein nach oben (proximal) und es kann in schlimmen Fällen zu spontanen Trachtenhornspalten kommen (Castelijns, 2006). Sind Keile notwendig, so empfiehlt es sich, die gesamte hintere Fläche des Hufes zu erhöhen z.B. durch eine Keilplatte mit Polster. Dadurch wird der vermehrte Druck auf eine größere Fläche verteilt, und Strahl, Strahlfurchen und Eckstreben nehmen die Last mit auf. Mit höhergestellten Trachten wird auch das Hufgelenk in vermehrter Beugung belastet, die Gelenkflächen stehen anders zueinander und der Druck im Hufgelenk steigt an. Ein Trachtenkeil vermindert zwar die Zugkräfte an der tiefen Beugesehne und ihrem Unterstützungsband, erhöht aber die Zugbelastung des Fesselträgers (Riemersma et al., 1996). Wenn ein Keil notwendig ist, weil eine akute Entzündung des Strahlbeinapparates vorliegt, sollte wenn möglich der Keil entfernt werden sobald diese akute Entzündung abgeklungen ist, und durch weniger drastische Maßnahmen ersetzt werden, wie z.B. einem zurückgesetzten Abrollpunkt, der das Abrollen bei an Strahlbeinerkrankung leidenden Pferden deutlich erleichtern kann.

Es ist also wichtig das Pferd immer wieder neu zu beurteilen und zu prüfen, ob der therapeutische Beschlag noch notwendig ist und seinen Zweck erfüllt, ob die Schädigung inzwischen ausgeheilt ist, oder ob eine andere Struktur inzwischen durch Überbelastung in Mitleidenschaft geraten ist. Es hilft, mit der Beschlagempfehlung einen Zeitrahmen anzugeben, wie lange der Beschlag so verwendet werden soll, bzw. wann das Pferd nachkontrolliert wird.

Literatur

1. Willemen MA, Savelberg HH, Barneveld A. The effect of orthopaedic shoeing on the force exerted by the deep digital flexor tendon on the navicular bone in horses. *Equine Vet J* 1999; 31:25–30
2. Chateau H, Degueurce C, Denoix JM. Effects of 6 degree elevation of the heels on 3D kinematics of the distal portion of the forelimb in the walking horse. *Equine Vet J* 2004;36: 649–54.
3. Castelijns HH. Pathogenesis and treatment of spontaneous quarter cracks - quantifying vertical mobility of the hoof capsule at the heels. *Pferdeheilkunde* 2006 (22); 5:569-576,
4. Riemersma DJ, van den Bogert AJ, Jansen MO, et al. Influence of shoeing on ground reaction forces and tendon strains in the forelimbs of ponies. *Equine Vet J* 1996;28:126–32.

Kontakt

Dr. Charlotte von Zadow, Großer Fährhof 1, Sottrum
cvzadow@yahoo.com