

## Die zuchthygienische Untersuchung von Hengsten

Stand 03/2017

Sowohl die Belegung im Natursprung als auch die Besamung einer Stute birgt ein gewisses Risiko der Übertragung von ansteckenden Krankheiten. Nicht nur spezifische Deckinfektionen, sondern auch andere Infektionskrankheiten wie beispielsweise die Equine Infektiöse Anämie können über den Samen übertragen werden. Durch zuchthygienische Untersuchungen muss diese Ansteckungsgefahr möglichst gering gehalten werden. Daher sind Zuchthengste in Besamungsstationen entsprechend den gesetzlichen Grundlagen regelmäßig auf bestimmte ansteckende Erkrankungen zu untersuchen.

Hengste in **Besamungsstationen mit nationaler Zulassung** werden nach der Verordnung über die Gewinnung, Abgabe und Verwendung von Samen, Eizellen und Embryonen von Zuchttieren (Samenverordnung) kontrolliert. Hengste in **Besamungsstationen mit EU-Zulassung** werden nach der Richtlinie 92/65/EWG über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen für den Handel mit Tieren, Samen, Eizellen und Embryonen in der Gemeinschaft untersucht. Die Untersuchungsschemata unterscheiden sich v. a. dahingehend, dass Hengste in EU-Besamungsstationen teilweise in kürzeren Abständen untersucht werden müssen. Hierbei sind serologische Blutuntersuchungen auf **Equine Infektiöse Anämie (EIA)** und **Equine Virale Arteritis (EVA)** sowie bakteriologische oder molekularbiologische Untersuchungen auf *Taylorella equigenitalis*, den Erreger der **Contagiösen Equinen Metritis (CEM)**, durchzuführen. Für die Untersuchung auf *T. equigenitalis* wird je ein Tupfer aus der Harnröhre, der Eichelgrube und vom Penischaft genommen. Darüber hinaus wird die **Bestimmung des allgemeinen Keimgehalts** aus mindestens einer Tupferprobe (Harnröhre) **empfohlen** (Handbuch für Pferdebesamungsstationen).



FOTO: STEPHAN KUBE

Für **Deckhengste, die im Natursprung** eingesetzt werden, gibt es **keine gesetzlichen Regelungen**. Nach dem baden-württembergischen Hygienekonzept für Natursprung-Hengste müssen diese Hengste mindestens einmal jährlich vor Beginn der Decksaison durch drei Tupferproben aus den oben genannten Lokalisationen (siehe Abbildungen unten) auf den Erreger der CEM untersucht werden.



Die Laborkosten für die erste bakteriologische Untersuchung eines Hengstes im laufenden Jahr werden von der Tierseuchenkasse Baden-Württemberg (TSK BW) übernommen.

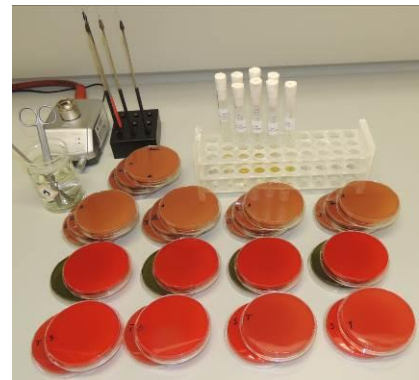
Neben spezifischen Genitalinfektionen können beim Hengst **unspezifische mikrobielle Genitalbesiedelungen** vorkommen. Diese bakteriellen Besiedelungen, die beim Hengst meist symptomlos bleiben, können unter Umständen bei gedeckten oder besamten Stuten zu Genitalinfektionen und entsprechenden Fruchtbarkeitsstörungen führen. Vor allem  **$\beta$  - hämolysierende Streptokokken und Staphylokokken, seltener Klebsiellen, hämolysierende E. coli oder Pseudomonaden** sind hier relevant.

Um die Aussagekraft einer allgemeinen bakteriologischen Untersuchung (BU) abzusichern, sollte der zu untersuchende Hengst mindestens zehn Tage vor der Tupferentnahme nicht gedeckt haben. Die Entnahme von Tupferproben in einem Zeitraum von weniger als sieben Tagen nach dem letzten Deckakt führt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit zu einem irreführenden, scheinbar pathologischen Befund.

Der Hengsthalter bzw. der behandelnde Tierarzt kann im STUA – Diagnostikzentrum (DZ) sowohl die Untersuchung auf CEM als auch eine allgemeine bakteriologische Untersuchung (BU) durchführen lassen. Für den **Nachweis von CEM** müssen **Tupfersysteme mit Aktivkohlemedium** verwendet werden. Der

Versand sollte am besten gekühlt (entsprechend einem Frischsamenversand) und rasch erfolgen, so dass die Laboruntersuchung innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme beginnen kann.

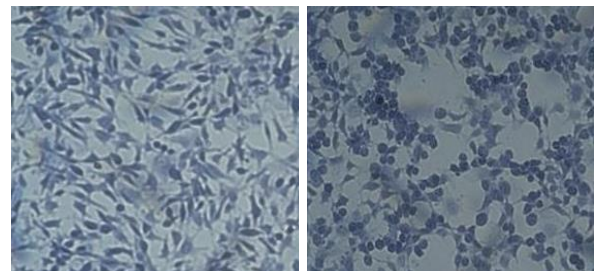
Die **Tupferproben** werden direkt nach ihrer Ankunft im Labor auf einem Blut-Agar und einem Spezialnährboden für Enterobacteriaceae (z. B. Klebsiellen) ausgestrichen (Direktanzucht). Zusätzlich erfolgt die Beimpfung zweier Flüssignährmedien, die das Wachstum von pathogenen Streptokokken bzw. Staphylokokken fördern (Anreicherung). Die allgemeine BU ist nach zwei Tagen abgeschlossen. Der **klassische kulturelle Nachweis von *T. equigenitalis*** erfolgt mit Hilfe von drei speziellen Nährböden (Pferdekochblutagar mit jeweils unterschiedlichen Zusätzen von Antibiotika und Antimykotika), die **mind. sieben Tage** unter sauerstoffarmer Atmosphäre bebrütet werden. Der **Nachweis mittels PCR** dauert ca. **zwei Tage** und kann v. a. dann von Vorteil sein, wenn lediglich eine CEM-Untersuchung ohne Bestimmung des allgemeinen Keimgehalts benötigt wird. Mehrere Tupfer eines Hengstes können dann kostengünstig als ein Pool untersucht werden.



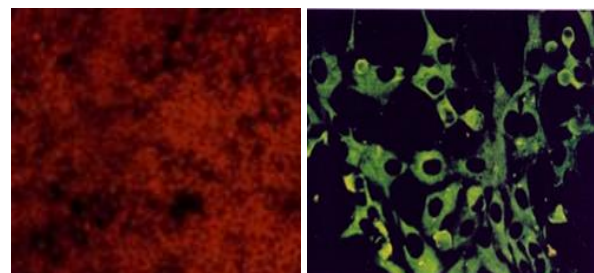
PLATTENSATZ FÜR DIE BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG VON VIER TUPFERPROBEN EINES HENGSTES

In der **Decksaison 2016** wurden im STUA – DZ 116 Aufträge mit 619 Tupferproben untersucht. Neben der physiologischen, nicht pathogenen Mischflora der Genitalschleimhaut konnten aus 10 % der Proben mögliche Krankheitserreger in der kulturellen Untersuchung isoliert werden. Dabei waren hämolyzierende Staphylokokken mit 62 % am häufigsten nachweisbar. Weitaus seltener wurden  $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken (15 %), *Klebsiella pneumoniae* (15 %) sowie hämolyzierende *E. coli* (7 %) isoliert. Die Keime konnten vorwiegend aus Penischaft und Eichelgrube angezüchtet werden; nur vereinzelt fanden sich die Erreger auch in der Harnröhre. *T. equigenitalis* wurde 2016 nicht nachgewiesen.

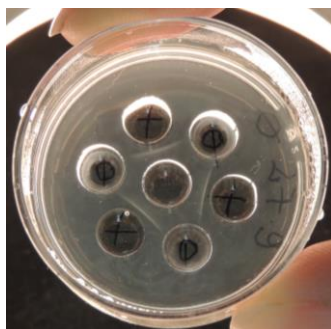
Die **Diagnostik der Equinen Viralen Arteritis (EVA)** erfolgt indirekt über den Nachweis von Antikörpern aus Serumproben im **Serumneutralisationstest (SNT)**. Dabei macht man sich das Prinzip zu Nutze, dass Viren empfängliche Zellkulturen infizieren und dadurch sichtbar schädigen können. Eine definierte Virusmenge wird mit Verdünnungen der Probe (1:2 bis 1:128) gemischt und auf eine Zellkultur verimpft. Befinden sich keine Antikörper in der Probe, werden die Zellen durch das Virus zerstört. Befinden sich EVA-Antikörper in der Probe, binden diese das Virus, so dass die Zellen in Abhängigkeit vom Antikörper-Titer bis zu einer bestimmten Serumverdünnung unversehrt bleiben. Die Beurteilung erfolgt vier bis fünf Tage nach dem Testansatz. Ein Antikörper-Titer von  $\geq 1:4$  ist als positiv zu werten. In diesem Falle ist eine Spermaprobe (Vollejakulat) des Hengstes auf EVA-Virus zu untersuchen. Das Sperma wird auf eine Zellkultur verimpft, die täglich mikroskopisch begutachtet und zwei Mal nach jeweils fünf Tagen mittels Immunfluoreszenztechnik (IFT) auf Virus geprüft wird. Es ist auch ein PCR-Nachweis des EVA-Genoms möglich.



SNT: LINKS INTAKTER ZELLRASEN BEI EAV - ANTIKÖRPERPOSITIVEN SERUMPROBEN, RECHTS ZELLYSE NACH VIRUSINFektion BEI ABWESENHEIT VON EVA - ANTIKÖRPER



VIRUSISOLIERUNG UND IF - FÄRBUNG NACH BEIMPfung VON SPERMA AUF EVA - EMPFÄNGLICHE ZELLEN. LINKS NEGATIVE, RECHTS EAV - INFIZIERTE ZELLKULTUR



COGGINS - TEST ZUM AUSSCHLUSS VON ANTIKÖRPERN GEGEN EIAV

Zum **Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Equinen Infektiösen Anämie (EIA)** werden die Serumproben im Agargel-Immudiffusionstest, besser bekannt als **Coggins-Test**, untersucht. In das zentrale Loch der Agar-Testplatte wird EIA-Virus und in die peripheren Löcher der Positionen "12, 4 und 8 Uhr" jeweils positives Kontrollserum pipettiert. In die drei verbleibenden Löcher werden die zu testenden Serumproben eingefüllt. Sind in einer Probe Antikörper gegen EIA-Virus enthalten, treffen diese auf das Testvirus und bilden Präzipitationslinien, die zwei Tage nach dem Testansatz abgelesen werden können.

Weitere Auskünfte zu diesen Themen erteilen der Pferdegesundheitsdienst der TSK BW sowie das STUA – DZ in Aulendorf.