

Tierärztliche Hochschule Hannover

**Untersuchung zur Antibiotika-Resistenzsituation
von *Rhodococcus equi* bei Fohlen deutscher Pferdebestände**

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin
- Doctor medicinae veterinariae -
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Astrid Hollberg
Hannover

Hannover 2011

Wissenschaftliche Betreuung: PD. Dr. Dr. habil. Monica Venner, PhD.
Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche
Hochschule Hannover

1. Gutachterin: PD. Dr. Dr. habil. Monica Venner, PhD.

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Waldmann

Tag der mündlichen Prüfung: 21. November 2011

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	11
2	Literaturübersicht.....	12
2.1	<i>Rhodococcus equi</i>	12
2.1.1	Vorkommen und Bedeutung von <i>Rhodococcus equi</i>	12
2.1.2	Virulenzfaktoren von <i>Rhodococcus equi</i>	12
2.2	Epidemiologie und Pathogenese der <i>R. equi</i>-Pneumonie	14
2.3	Therapie der <i>Rhodococcus equi</i> – Pneumonie.....	14
2.4	Antimikrobielle Wirkstoffe in der Therapie der <i>R. equi</i>-Pneumonie.....	16
2.4.1	Trimethoprim-Sulfamethoxazol	16
2.4.2	Gentamicin.....	17
2.4.3	Rifampicin	18
2.4.4	Makrolid-Antibiotika.....	18
2.5	Prophylaxe der <i>Rhodococcus equi</i>-Pneumonie	25
2.6	Methoden zur <i>in-vitro</i> Empfindlichkeitsprüfung	26
3	Material und Methoden	27
3.1	Probanden.....	27
3.1.1	Haltungsbedingungen für Stuten und Fohlen.....	27
3.1.2	Bedingungen für die Aufnahme in die Studie	28
3.1.3	Einteilung der Fohlen in Gruppen	28
3.1.4	Allgemeinuntersuchung.....	28
3.1.5	Spezielle Untersuchung des Respirationstraktes.....	29
3.1.6	Bestimmung der Leukozytenzahl im Blut	29
3.1.7	Weiterführende Untersuchungen	30
3.1.8	Endoskopische Entnahme von Tracheobronchialsekret-Proben.....	31
3.1.9	Behandlung und Versand der entnommenen Proben	31
3.2	Mikrobiologische Untersuchung des Tracheobronchialsekretes	32
3.2.1	Kultureller Nachweis von <i>Rhodococcus equi</i>	32
3.2.2	Nachweis biochemischer Eigenschaften von <i>Rhodococcus ssp.</i>	33
3.2.3	Molekularbiologischer Nachweis von <i>Rhodococcus equi</i> mittels Polymerase Chain Reaction (PCR).....	33
3.2.4	Konservierung und Lagerung der Proben über den Untersuchungszeitraum	33

3.3 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration der <i>Rhodococcus equi</i>-Isolate mittels Mikrodilutionsverfahren	34
3.3.1 Das Mikrodilutionsverfahren.....	34
3.3.2 Kulturelle Anzucht von <i>R. equi</i> aus der Glycerinkultur	34
3.3.3 Herstellung des Inokulums	35
3.3.4 Beschickung der Mikrotiterplatten	36
3.3.5 Auswertung der Mikrotiterplatten	37
4 Ergebnisse	38
4.1 Alter und Geschlecht der Fohlen	38
4.2 Ergebnisse der klinischen, hämatologischen und sonographischen Untersuchung	39
4.2.1 Ergebnisse der klinischen Untersuchung	39
4.2.2 Blutleukozytenzahl	39
4.2.3 Befunde der sonographischen Lungenuntersuchung.....	40
4.3 Nachweis von <i>R. equi</i> aus dem Probenmaterial	40
4.4 Empfindlichkeitsbestimmung von <i>Rhodococcus equi</i>	42
4.4.1 MHK-Werte des Kontrollstamms <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213.....	42
4.4.2 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol	43
4.4.3 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Gentamicin	45
4.4.4 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Rifampicin	47
4.4.5 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Tulathromycin.....	48
4.4.6 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Azithromycin.....	50
4.4.7 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Telithromycin.....	51
4.4.8 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Clarithromycin	53
4.4.9 MHK-Werte von <i>Rhodococcus equi</i> gegenüber Erythromycin	54
5 Diskussion	55
5.1 Probanden	55
5.2 Keimgehalt der entnommenen TBS-Proben	56
5.3 <i>In vitro</i>-Empfindlichkeit von <i>R. equi</i>	56
5.3.1 Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19).....	56
5.3.2 Gentamicin.....	58
5.3.3 Rifampicin	59

5.3.4	Tulathromycin	60
5.3.5	Azithromycin	61
5.3.6	Telithromycin.....	62
5.3.7	Clarithromycin.....	63
5.3.8	Erythromycin.....	64
5.4	Schlussfolgerung	65
6	Zusammenfassung.....	67
7	Summary	69
8	Literaturverzeichnis	71
9	Anhang	98
9.1	Reaktionen des apy-Coryne[®] Testsystems	111
9.2	Nährmedien.....	113
9.3	Abbildungsverzeichnis	115
9.4	Tabellenverzeichnis	116
	Danksagung	118

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
ca.	circa
CAMP	Christie-Aktins-Munch-Petersen
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Centimeter
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EHV	Equines Herpes Virus
h	Stunde
IFN- γ	Interferon- γ
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
k.A.	keine Angaben
KbE	Koloniebildende Einheiten
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse
μ g	Mikrogramm
mg	Milligramm
MHK	Minimale Hemmkonzentration (in μ g/ml)
MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MTP	Mikrotiterplatte
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
PCR	Polymerase Chain Reaction
<i>R. equi</i>	<i>Rhodococcus equi</i>
s.	siehe

s.o.	siehe oben
<i>Staph. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Tab.	Tabelle
TBS	Tracheobronchialsekret
TMS	Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)
u.	und
v.a.	vor allem
Vap A	Virulence-associated-Protein A

Die chemischen Elemente werden gemäß dem internationalen Periodensystem abgekürzt.

1 Einleitung

Enteritiden und Erkrankungen des Nabels gehören zu den häufigsten Krankheiten beim Fohlen. Aber auch Atemwegserkrankungen stellen oft ein Problem in der Fohlenaufzucht dar. Dabei ist *Rhodococcus equi* (*R. equi*), ein grampositives, pleomorphes Stäbchenbakterium, weltweit eines der bedeutungsvollsten Pathogene in der Pferdezucht. Der Erreger ist Verursacher einer eitrigen, mit Abszessbildung einhergehenden Bronchopneumonie beim Fohlen. *R. equi* kann sporadisch oder, insbesondere in größeren Zuchtbetrieben, endemisch vorkommen und verursacht deshalb erhebliche Verluste. Die Morbidität kann bis zu 80% und die Mortalität 5 bis 17% betragen. Wird die Diagnose erst im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung gestellt, so ist selbst eine intensive Behandlung oft erfolglos. Rechtzeitiges Einleiten einer geeigneten Antibiotika-Therapie führt zu einer Genesungsrate von bis zu 90%. *R. equi* parasitiert in den Alveolarmakrophagen des Wirtes. Dort findet auch die Replikation statt. Das ist ein weiterer Grund, warum der Einsatz von Antibiotika nicht immer zum gewünschten Erfolg führt. Bei der Auswahl der antibakteriellen Wirkstoffe (nachfolgend Antibiotika genannt) muss darauf geachtet werden, dass diese die Eigenschaft aufweisen, intrazellulär zu gelangen, um den Erreger abzutöten. Dafür sind beim Fohlen nur wenige Antibiotika geeignet. Außerdem wird der Therapieerfolg in zunehmendem Maße durch die Entwicklung und Verbreitung von Resistenzen beeinträchtigt. Über das Resistenzverhalten von *R. equi* gegenüber antimikrobiellen Stoffen beim Fohlen liegen bisher wenige Daten vor.

Ziel dieser Untersuchung ist die Darstellung der Resistenzlage von *R. equi* aus lungengesunden und lungenkranken Fohlen gegenüber acht ausgewählten Antibiotika innerhalb eines Pferdezuchtbetriebes in Deutschland aus den Jahren 2006 und 2007. Darüber hinaus werden zum Vergleich auch *R. equi*-Isolate aus Fohlen anderer Regionen Deutschlands untersucht.

2 Literaturübersicht

2.1 *Rhodococcus equi*

2.1.1 Vorkommen und Bedeutung von *Rhodococcus equi*

R. equi ist ein weltweit verbreiteter, ubiquitär vorkommender Bodensaprophyt mit hoher Tenazität (MAGNUSSON 1938; TAKAI et al. 1986; DEBEY u. BAILEY 1987; KNOTTENBELT 1993; MAKRAI et al. 2002; MEYER-HAMME 2004; MUSCATELLO et al. 2006). Obwohl in den USA fast alle Pferdebestände mit *R. equi* infiziert zu sein scheinen (GIGUÈRE u. PRESCOTT 1997), treten klinisch manifeste Infektionen mit *R. equi* nur in einigen Beständen endemisch auf. Dies ist auf unterschiedliche Bedingungen in der Umgebung, wie Temperatur, Staub oder pH-Wert des Bodens, außerdem aber auf das Management eines Bestandes sowie auf Virulenzunterschiede der Isolate zurückzuführen (TAKAI et al. 1991). Mittlerweile konnten TAKAI et al. (1991, 1994) und RAHL et al. (1999) nachweisen, dass die Inzidenz der *R. equi*-Pneumonien nicht mit der Keimdichte im Boden, sondern mit dem Vorhandensein von Virulenzprotein-A (Virulence-associated-protein A; Vap A) exprimierenden *R. equi*-Stämmen korreliert. Virulente Stämme von *R. equi* lassen sich nur aus Pferden und deren Umgebung nachweisen (TAKAI 1997; FUKUNAGA et al. 1999). *R. equi* führt bei Fohlen im Alter von zwei Wochen bis sechs Monaten vor allem während der Sommermonate zu abszedierenden Lungenentzündungen, die sporadisch oder endemisch auftreten können (WILSON 1955; PRESCOTT et al. 1984a; YAGER 1987; BEECH u. SWEENEY 1991; ALTHAUS 2004). Die Morbidität der Fohlen beträgt weltweit zwischen 5 und 60% und die Letalität betrug früher 40 bis 80% (ELISSALDE et al. 1980; HILLIDGE 1986; MARTENS et al. 1989). Seit den 90er Jahre ist die Verlustrate dank einer besseren Kenntnis der Erkrankung und deren Behandlung auf unter 20% gesunken (HIGUSHI 1997; ALTHAUS 2004).

2.1.2 Virulenzfaktoren von *Rhodococcus equi*

Die weite Verbreitung von *R. equi* in der Umwelt und die Tatsache, dass der Erreger zwar in den meisten Pferdebeständen nachgewiesen werden kann, nicht aber auf allen Farmen zu endemisch verlaufenden Krankheitsausbrüchen führt

(ROONEY 1966), ließen Unterschiede im Vorkommen von Virulenzfaktoren der verschiedenen Stämme vermuten. Da Pneumonien durch *R. equi* nur bei einigen Tieren eines Bestandes zu beobachten sind, wird angenommen, dass eine Infektion durch das Gleichgewicht zwischen der Virulenz des Erregers und der Empfänglichkeit und Reife des Immunsystems des Wirtes bedingt wird (WADA et al. 1997). Die Virulenz von *R. equi* ist auf die Fähigkeit zurückzuführen, sich intrazellulär vermehren und überleben zu können (NAKAZAWA et al. 1983; HONDALUS u. MOSSER 1994). Die endosomale Reifung wird beeinflusst und die Ansäuerung der Vakuole, in der es sich befindet, verhindert (ZINK et al. 1987; FERNANDEZ-MORA et al. 2005; TOYOOKA et al. 2005). Mögliche Virulenzfaktoren sind Kapselpolysaccharide, die die Phagozytose des Wirtes hemmen, sowie Exoenzyme mit membranolytischen Eigenschaften, wie zum Beispiel Phospholipase C oder Cholesteroxidase, sogenannte „Equi-Faktoren“ (PRESCOTT et al. 1982, 1984c; HONDALUS 1997). Die Fähigkeit, sich in Makrophagen zu vermehren, scheint mit Virulenz assoziiert zu sein und korreliert mit der Ausbildung eines großen Plasmids, das für ein oberflächlich exprimiertes Lipoprotein kodiert: das virulenzassoziierte Protein A (VapA). Das *vapA*-Gen ist auf einem 80-85kb großen Plasmid lokalisiert (TAKAI et al. 1991; GIGUÈRE et al. 1999). *R. equi*-Stämme, die dieses Plasmid nicht besitzen, sind nicht fähig, sich in Makrophagen zu vermehren und sind daher avirulent für Fohlen (HONDALUS u. MOSSER 1994; HONDALUS 1997; WADA et al. 1997; GIGUÈRE et al. 1999; MEIJER u. PRESCOTT 2004). Die Expression der *vap*-Gene ist temperatur- und pH-Wert-abhängig; sie steigt bei höherer Temperatur (37°C) und niedrigerem pH (6,5) (TAKAI et al. 1996; MEIJER u. PRESCOTT 2004). Ein Transkriptionsrepressor, der sogenannte IdeR (Iron-Dependent-Regulatory-Protein), reguliert die eisenabhängige Genexpression und unterdrückt die Transkription in Gegenwart von Eisen, indem es an eine verwandte Bindungsstelle bindet. Da die Promotorregion des *vapA*-Gens eine für IdeR übereinstimmende Bindungsstelle besitzt, ist anzunehmen, daß die eisenabhängige VapA-Expression durch das *ideR*-Gen kontrolliert wird (REN et al. 2003; MEIJER u. PRESCOTT 2004). Ein weiteres Gen, das für die Virulenz von *R. equi* eine Rolle spielt, ist die Isocitratlyase (*aceA*), die für die Assimilation von Fettsäuren und Acetat erforderlich ist (KELLY et al. 2002; WALL et al. 2005).

2.2 Epidemiologie und Pathogenese der *R. equi*-Pneumonie

Als Infektionswege kommen v.a. die orale Aufnahme von Kot und das Einatmen von *R. equi*-haltigem Staub in Frage, was auch das vermehrte Auftreten von *R. equi*-Pneumonien während der trockenen Sommermonate erklären könnte (PRESCOTT et al. 1984a). Auch kontaminierte Ställe stellen einen hohen Risikofaktor dar (MUSCATELLO et al. 2006). Die Infektion der Fohlen findet bereits in den ersten Lebenswochen durch Inhalation von kontaminierten Staub und Aufnahme von kontaminierten Kot statt (CHAFFIN et al. 2003; ALTHAUS 2004; GRAVERT 2006). Laut MUSCATELLO et al. (2006b) ist die Konzentration in der Luft befindlicher virulenter *R. equi* in der Umgebung des Fohlenmauls 5- bis 9-fach höher, als in mit fäkalem Staub kontaminierten Luftproben. Die ausgeatmete Luft eines subklinisch infizierten Tieres scheint eine der Hauptinfektionsquellen zu sein. Nach Untersuchungen von HIETALA und ARDANS (1987) sowie ZINK et al. (1987) vermag *R. equi* in vitro in den Alveolarmakrophagen von Fohlen zu überleben und sich zu vermehren, so dass die Autoren den Keim als einen fakultativ intrazellulär lebenden Organismus beschreiben. Die Alveolarmakrophagen der Fohlen sind aus noch nicht geklärten Gründen nicht in der Lage, *R. equi* in vitro effektiv abzutöten (ZINK et al. 1985). Die Bildung von IFN- γ , für die Aktivierung von Makrophagen notwendig, ist bei neugeborenen Fohlen insuffizient. Sie steigt in den ersten sechs Lebensmonaten erst langsam an (BREATHNACH et al. 2006). Innerhalb der Makrophagen gelingt es *R. equi*, sich durch Inhibierung der Phagosom-Lysosom-Verschmelzung durch die Equi-Faktoren und mit Hilfe des virulenz-assoziierten Proteins A (VapA), zu vermehren (HONDALUS u. MOSSER 1994). Es kommt zu einer irreversiblen Schädigung der Alveolarmakrophagen mit anschließender Freisetzung der Bakterien in das umliegende Gewebe (PRESCOTT et al. 1982, 1984c; YAGER et al., 1986; ZINK et al. 1987; VIVRETTE 1992; PRESCOTT u. HOFFMAN 1993; HONDALUS u. MOSSER 1994).

2.3 Therapie der *Rhodococcus equi* – Pneumonie

Bei bakteriellen Infektionen des Atmungstrakts steht die antimikrobielle Therapie im Vordergrund. Bei der Wahl eines geeigneten Antibiotikums zur Behandlung der von *R. equi* verursachten, abszedierenden Bronchopneumonien muss berücksichtigt

werden, dass der Keim als fakultativ intrazellulärer Erreger in Makrophagen überleben kann. Viele Antibiotika, die *in vitro* gegen *R. equi* wirksam sind, zeigen *in vivo* keine Wirkung (PRESCOTT u. SWEENEY 1985; HILLIDGE 1986; ZERTUCHE u. HILLIDGE 1987; AINSWORTH 1999). Für Fohlen, die an einer Infektion mit *Rhodococcus equi* erkrankt sind, kann zunächst nur eine zweifelhafte bis ungünstige Prognose gestellt werden, wobei der Erfolg der Behandlung maßgeblich vom Zeitpunkt der Diagnosestellung und einer angemessenen Therapie abhängt (BAGGOT u. PRESCOTT 1987). WILSON (1992) stellte fest, dass die Prognose deutlich günstiger ausfällt, wenn eine Erholung der erkrankten Tiere nach sieben Tagen unter Therapie zu verzeichnen ist. Dabei ist eine vollständige Genesung bei ausreichend langer Therapie möglich (PRESCOTT 1987). Die Therapiedauer liegt zwischen vier und neun Wochen. Die Behandlung sollte so lange fortgesetzt werden, bis ultrasonographisch oder röntgenologisch keine Abszesse mehr nachzuweisen sind und die Laborwerte wieder im Referenzbereich liegen (PRESCOTT u. SWEENEY 1985; HILLIDGE 1986, 1987; PILTZ 2004). Nach Abschluss der Therapie benötigen die Fohlen vier bis neun Wochen, um vollständig zu genesen (HILLIDGE 1986; ZERTUCHE u. HILLIDGE 1987). Bei behandelten Tieren sind auf lange Sicht keine Spätschäden zu beobachten. Sogar der Einsatz im Rennsport ist nach vollständig ausgeheilter Krankheit zufriedenstellend (AINSWORTH et al. 1993). Um *R. equi*-Pneumonien erfolgreich behandeln zu können, müssen die eingesetzten Therapeutika bestimmte Eigenschaften erfüllen. Sie müssen sich gut in der Lunge verteilen und dort eine hohe Aktivität erreichen, in granulomatöse Veränderungen eindringen und intrazellulär lebende Bakterien eliminieren können. Dazu müssen die Antibiotika lipophil sein (HILLIDGE 1986). Antiinfektiva, wie Makrolide und Rifampicin, haben sich zur Behandlung der *R. equi*-Pneumonie bewährt (SWEENEY et al. 1987; AINSWORTH 1999; LAKRITZ u. WILSON 2002; GIGUÈRE et al. 2004). Lange Zeit galt die orale Verabreichung von Erythromycin und Rifampicin als Standardtherapie (HILLIDGE 1986, 1987; SWEENEY et al. 1987; ZERTUCHE u. HILLIDGE 1987; VIVRETTE 1992; KENNEY et al. 1994). Die Antibiotika-Kombination Rifampicin-Erythromycin zeigt eine synergistische Wirksamkeit (NORDMANN u. RONCO 1992). Erythromycin kann in Einzelfällen bei Fohlen und Mutterstute zu schweren Durchfällen und Kolitis führen (VIVRETTE 1992; GIGUÈRE u. PRESCOTT 1997; AINSWORTH 1999; LAKRITZ u. WILSON 2002). Azithromycin

ist zwar kostenintensiver, wird von den Fohlen aber besser vertragen als Erythromycin. Außerdem muss es bei gleicher Wirksamkeit nur einmal am Tag verabreicht werden, während Erythromycin drei- bis viermal täglich gegeben werden muss (JACKS et al. 2001; DAVIS et al. 2002; LAKRITZ u. WILSON 2002; PILTZ 2004; REINHOLD 2006). In einer Vergleichsstudie von GIGUÈRE et al. (2004) hat die Kombination von Rifampicin mit Clarithromycin die besten Ergebnisse erzielt, jedoch kann auch Clarithromycin bei Fohlen zu schweren Durchfällen führen. Tulathromycin ist für die Behandlung von *R. equi*-Pneumonien ebenfalls geeignet (KERTH 2005; HÖHENSTEIGER 2005; SCHOCK 2008). Da es nur einmal pro Woche i.m. verabreicht werden muß, stellt es eine vergleichsweise kostengünstige und arbeitserleichternde Alternative dar. Tritt keinerlei Besserung oder sogar eine Verschlechterung während der Therapie auf, so sollte an einen resistenten Stamm gedacht werden (KENNEY et al. 1994). *R. equi* ist zu resistenzverursachenden Mechanismen, wie Phosphorylierung (TANAKA et al. 1996) und Abbau, fähig (DABBS 1987; YAZAWA et al. 1994; TANAKA et al. 1996). Durch den intensiven Gebrauch von Antiinfektiva wurden bereits resistente *R. equi*-Stämme aus Fohlen isoliert (CARLSON et al. 2010). Sie weisen im Vergleich zu Antibiotika-empfindlichen *R. equi*-Stämmen deutlich höhere MHK-Werte bei den zur Therapie einsetzbaren Antibiotika auf. Die Prävalenz des Auftretens Antibiotika-resistenter *R. equi*-Isolate (resistent gegenüber mindestens einem zur Therapie einsetzbaren Antibiotikum) hat sich seit 2002 deutlich erhöht und liegt derzeit bei 3,7%. Dies geht mit einer verminderten Überlebensrate der erkrankten Fohlen einher (GIGUÈRE et al. 2010).

2.4 Antimikrobielle Wirkstoffe in der Therapie der *R. equi*-Pneumonie

2.4.1 Trimethoprim-Sulfamethoxazol

Trimethoprim-Sulfamethoxazol gehört zu den Diamino-benzylpyrimidin-Sulfonamid-Kombinationen und ist ein Antiinfektivum, dass aufgrund seiner Verträglichkeit gut bei Fohlen eingesetzt werden kann (WHITE u. PRIOR 1982; ENSINK et al. 1996; GUSTAFFSON et al. 1999). Die perorale Applikation erfolgt alle 12 Stunden. Allerdings erreicht diese Wirkstoffkombination intrazellulär keinen Wirkspiegel. Eine Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht alle 8 bis 12 Stunden bei Fohlen, welche in einem

frühen Stadium an *R. equi*-Pneumonien erkrankt sind und bei denen sich noch keine Abszesse gebildet haben, wurde empfohlen (WILSON 1992). Allerdings ist die Therapie der Rhodokokkose mit Trimethoprim-Sulfadiazin in Kombination mit Rifampicin der Kombination Rifampicin-Erythromycin oder Azithromycin deutlich unterlegen (GIGUÈRE u. PRESCOTT 1997; PILTZ 2004). In einer Studie von ROTHHAAR (2006) lagen die MHK-Werte gegenüber der Antibiotikakombination Trimethoprim-Sulfamethoxazol (Verhältnis 1:19) bei 0,25/4,8 µg/ml bis 2/38 µg/ml. Die MHK₅₀ betrug 1/19 µg/ml. Die MHK₉₀ lag zwischen 1/19 µg/ml und 2/38 µg/ml. CARLSON (2010) gibt für *R. equi* und die Kombination MHK-Werte von ≤ 0,12/2,375 bis ≥ 4/76 µg/ml an und eine MHK₅₀ von Trimethoprim-Sulfamethoxazol (Verhältnis 1:19) für Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate bei 1/19 µg/ml, eine MHK₉₀ bei 4/76 µg/ml. Die MHK₅₀ und die MHK₉₀ für Makrolid-unempfindliche *R. equi*-Isolate liegen in dieser Studie bei ≥ 4/76 µg/ml.

2.4.2 Gentamicin

Gentamicin ist ein Aminoglykosid-Antibiotikum, dass früher zur Therapie von *R. equi*-Pneumonien beim Fohlen eingesetzt wurde. Sowohl der parenterale Applikationsweg als auch die nephrotoxische Wirkung bei Langzeitbehandlung sind nachteilig (PRESCOTT u. SWEENEY 1985; FORTH et al. 2001). Gentamicin ist zwar *in vitro* gegenüber *R. equi* wirksam (WOOLCOCK u. MUTIMER 1980; PRESCOTT 1981; SWEENEY et al. 1987), aber *in vivo* zur Therapie der Rhodokokkose nicht geeignet. Dies liegt daran, dass Gentamicin hydrophil ist und deshalb weder Makrophagen noch in Lungenabszesse penetriert. Eine Rückbildung der durch *R. equi* gebildeten Abszesse findet nicht statt (LARSON 1980; SWEENEY et al. 1987). Die MHK₅₀ und die MHK₉₀ von Gentamicin gegenüber Makrolid-empfindlichen und Makrolid-unempfindlichen *R. equi*-Isolaten liegen zwischen 0,5 und 1 µg/ml (SORIANO et al. 1995; JACKS et al. 2003; ROTHHAAR 2006; CARLSON et al. 2010).

2.4.3 Rifampicin

Rifampicin ist stark lipophil und zeigt sowohl ein sehr gutes Penetrationsverhalten ins Gewebe, als auch eine gute Gewebeverteilung. Es kann oral appliziert werden und ist gut verträglich (WILSON et al. 1988; GIGUÈRE u. PRESCOTT 1997; KERTH 2004). Rifampicin ist in der Lage, grampositive Bakterien intrazellulär abzutöten, Abszesse und septische Prozesse zu penetrieren und in Phagozyten einzudringen (PROKESCH u. HAND 1982; MANDELL 1983). Die orale Dosis beträgt 10 mg/kg Rifampicin (PRESCOTT u. SWEENEY 1985). So wird eine Plasma- und Gewebekonzentration von 1 µg/kg des Wirkstoffes erreicht. Die MHK von *R. equi* für Rifampicin wird mit einer Empfindlichkeitsverteilung von $\leq 0,03$ -0,5 µg/ml sowie einer MHK₅₀ und MHK₉₀ von 0,03 bis 0,5 µg/ml angegeben (PRESCOTT u. NICHOLSON 1984b; NORDMANN u. RONCO 1992; SORIANO et al. 1995; ROTHHAAR 2006; CARLSON et al. 2010). Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate, die auch Resistenzen gegenüber Rifampicin aufwiesen, erreichten eine MHK₅₀ und MHK₉₀ ≥ 8 µg/ml (CARLSON et al. 2010). Die Resistenz von *R. equi* gegenüber Rifampicin ist mit dem *iri*-Gen (inactivation of rifampin) verbunden. Es besteht aus 1437 Basenpaaren und kodiert ein Protein von 479 Aminosäuren (ANDERSEN et al. 1997). FINES (2001) und ASOH et al. (2003) wiesen eine Rifampicinresistenz von *R. equi* durch Änderung einer Basenpaarung im *rpoB*-Cluster I nach. Die Resistenzentwicklung von Bakterien gegen Rifampicin gehört zum *Streptomycin*-Typ, d.h. es kommt schon sehr schnell nach Therapiebeginn bzw. *in vitro* nach ein- bis viermaliger Exposition zur Resistenz (MUTSCHLER et al. 2001). Darum sollte Rifampicin nie als Monotherapie verabreicht werden (FARR u. MANDELL 1982; THORNSBERRY et al. 1983). Eine Kombination von Rifampicin mit einem Makrolid-Antibiotikum wird für die Therapie von *R. equi*-Pneumonien beim Fohlen empfohlen (PRESCOTT u. NICHOLSON 1984b; PRESCOTT u. SWEENEY 1985).

2.4.4 Makrolid-Antibiotika

Auf Grund ihrer lipophilen Eigenschaften zeigen Makrolide eine gute Gewebepenetration sowie eine gute Aufnahme in polymorphkernige Granulozyten und Gewebsmakrophagen (BURROWS 1980; NEU 1991; DONOWITZ 1994). Die

lipophilen Eigenschaften ermöglichen eine passive, energieunabhängige Diffusion der Makrolide in die Zelle (RAGHOEBAR et al. 1988). Aktiv gelangt das Makrolid über das Nukleosid-Transportsystem in die Zelle (PROKESCH u. HAND 1982). Auf Grund ihres schwach basischen Charakters werden die Makrolide im leicht sauren pH der Zelle protoniert und verlieren ihre Membrangängigkeit (GLADUE et al. 1989; WILLIAMS u. SEFTON 1993). Dies führt zur Kumulation der Makrolide in der Zelle, wodurch sehr hohe intrazelluläre Konzentrationen erreicht werden können (CARBON 1998). In der Zelle gelangen die Makrolide auf Grund ihrer lipophilen Eigenschaften in die Lysosomen. Nach Aufnahme von Bakterien in Makrophagen und mit Bildung des Phagosoms kommt es nach Fusion von Phagosom und Lysosom zur Bildung des Phagolysosoms und somit zum Kontakt zwischen Makrolid-Antibiotikum und Bakterium (DONOWITZ 1994). Im Erreger entfalten Makrolide ihre antibakterielle Wirkung dadurch, dass sie mit der Proteinsynthese der Bakterien interferieren (VANNUFFEL u. COCITO 1996). Die Proteinsynthese wird unterbrochen und die Vermehrung der Bakterien gestoppt (GALE et al. 1972; FRANKLIN u. SNOW 1975). Diese Hemmung der bakteriellen Proteinsynthese ist reversibel (VANNUFFEL u. COCITO 1996).

Nach oraler Gabe werden Makrolide gut resorbiert und im Lungengewebe werden sie besonders gut gespeichert (MUTSCHLER et al. 2001). Durch die Exkretion der Makrolide in den Darm erreichen diese dort hohe Konzentrationen, die zu einer Beeinträchtigung der Mikroflora führen können. So kann es zum Überwuchern der Darmflora mit resistenten Keimen, wie z.B. *Clostridium difficile*, kommen (PERITI et al. 1993). An der Darmwand zeigen 14- und 15-gliedrige Makrolide Motilin-ähnliche Wirkung, was eine Steigerung der Darmmotilität zur Folge hat (PEETERS et al. 1989; OTTERSON u. SARNA 1990; PERITI et al. 1993). Bei der Therapie der Rhodokokkose mit Makroliden wird genau wie beim Rifampicin von Resistenzsteigerungen des *Streptomycin*-Typs berichtet, d.h. es kommt schon sehr schnell nach Therapiebeginn bzw. *in vitro* nach ein- bis viermaliger Exposition zur Resistenzbildung (MUTSCHLER et al. 2001). Neben der plasmidkodierten Resistenz werden Resistenzen auch über bewegliche DNA-Segmente, den Transposons oder Genkassetten, verbreitet. Diese Transposons sind kleine DNA-Abschnitte, welche von Chromosom zu Chromosom oder von Plasmid zu Chromosom wie auch von Plasmid zu Plasmid innerhalb einer Zelle springen und somit diese Informationen

weitergeben. Liegen die Resistenz-kodierenden Gene zusammen mit dem Enzym *Integrase* vor, so kann der Einbau besonders schnell erfolgen (MUTSCHLER et al. 2001). Ursächlich für die Entwicklung von Resistenzen ist die Produktion eines Enzyms, welches die Bindungsstelle der Makrolide am Ribosom des Bakteriums methyliert (DUBNAU 1984; WEISBLUM 1984). Die entsprechenden *erm*-Gene (*erm* = erythromycin ribosome methylase) können induzierbar oder konstitutiv exprimiert sein. (SCHWARZ u. SCHMITZ 2001). In Abhängigkeit von den Bakterien und der bei diesen vorhandenen *erm*-Gen-Aktivität kann eine Kreuzresistenz zwischen Makroliden und Ketoliden bestehen (SCHWARZ u. SCHMITZ 2002). Ein weiterer Resistenzmechanismus ist der mit Plasmid pNE24 assoziierte, energieabhängige Efflux von 14- und 15-gliedrigen Makroliden aus dem Bakterium (GOLDMAN u. COPOBIANCO 1990). Der am häufigsten auftretende Resistenzmechanismus gram-positiver Kokken ist der *mef*-kodierte Efflux aus der Zelle sowie die *erm*-kodierte Methylierung der 23S rRNA (ZHANEL et al. 2002).

Der Therapienotstand bei der *R. equi*-Pneumonie des Fohlens rechtfertigt das Umwidmen von Makrolid-Antibiotika aus der Humanmedizin unter Berücksichtigung der gesetzlichen Vorgaben.

2.4.4.1 Erythromycin

Erythromycin ist ein Metabolit des Bakteriums *Streptomyces erythreus*. Auf Grund seiner Struktur ist Erythromycin fettlöslich. Im sauren Milieu ist Erythromycin instabil und wird im Magen inaktiviert (CHOW 1984; MUTSCHLER et al. 2001). Um dies zu verhindern, wurden chemische Modifikationen in Form von Estern und Salzen hergestellt, sowie die Medikamentenoberfläche beschichtet. Beim Fohlen wurde der Einsatz von Erythromycin-Estolat per os zur Behandlung der Rhodokokkose in einer Dosierung von 25 mg/kg Körpergewicht alle sechs Stunden (PRESCOTT u. SWEENEY 1985) bzw. alle acht bis zwölf Stunden empfohlen (HILLIDGE 1987). Die orale Gabe ist der parenteralen Applikation deutlich vorzuziehen (PRESCOTT u. BAGGOT 1993; LAKRITZ et al. 1999; STRATTON-PHELPS et al. 2000). Eine orale Anwendung an adulten Pferden ist auf Grund einer hohen Gefahr hochgradiger Colitiden kontraindiziert. Pferde im Fohlenalter vertragen Erythromycin hingegen gut (BURROWS 1980; GUSTAFSSON et al. 1997). Nach oraler Verabreichung von 25 mg/kg wurde die MHK von *R. equi* für mindestens vier Stunden erreicht (LAKRITZ et

al. 1999). Spontane Resistenz-Entstehung von *R. equi* wurde bei Menschen und Fohlen unter Einsatz von Erythromycin im Labor und in klinischen Studien festgestellt (KENNEY et al. 1994; FERNANDEZ-ROBLAS et al. 1999). Für *R. equi* und Erythromycin wird eine MHK von 0,06-1 µg/ml angegeben (PRESCOTT 1981; NORDMANN u. RONCO 1992; SORIANO et al. 1995, ROTHHAAR 2006; CARLSON et al. 2010). Die MHK_{50} und MHK_{90} werden mit 0,25µg/ml bis 0,5 µg/ml angegeben (NORDMANN u. RONCO 1992; SORIANO et al. 1995, ROTHHAAR 2006; CARLSON et al. 2010). Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate weisen eine MHK_{50} und $MHK_{90} \geq 4\mu\text{g/ml}$ für Erythromycin auf (CARLSON et al. 2010).

Auf Grund der Gefahr der chromosomenvermittelten Resistenzbildung wird eine kombinierte Therapie mit Rifampicin empfohlen (PRESCOTT u. SWEENEY 1985; KENNEY et al. 1994).

2.4.4.2 Tulathromycin

Tulathromycin ist Mitglied einer Untergruppe der Makrolide, den Triamilid-Antibiotika (NOWAKOWSKI et al. 2003; GALER et al. 2004; TRAEDEDER u. GROTHUES 2004). Es wurde ausschließlich für den Einsatz in der Veterinärmedizin entwickelt. Es ist zur Injektion unter dem Handelsnamen Draxxin[®] (Pfizer, Karlsruhe) als 10%ige Lösung zur Therapie von Atemwegserkrankungen bei Schwein und Rind zugelassen (TRAEDEDER u. GROTHUES 2004). Auf Grund seiner Struktur hat Tulathromycin einen lipophilen Charakter. Es liegt als ein Gemisch 13- und 15-gliedriger Laktone vor, dem drei Aminogruppen angefügt. Tulathromycin zeigt beim Fohlen im Vergleich zu Erythromycin eine verlängerte Halbwertszeit sowie eine sehr gute Gewebepenetration. Die Halbwertszeit ist fast dreimal höher als beim Schwein (HÖHENSTEIGER 2005). Nach intramuskulärer Injektion beim Fohlen sind höhere Lungenkonzentrationen als beim Schwein festzustellen. Die gemessenen Werte in den Überständen der bronchioalveolären Lavageflüssigkeit bestätigen die gute Gewebeverteilung sowie Gewebepenetration und sind ein Zeichen für die hohe intrazelluläre Anreicherung von Tulathromycin. Nach intramuskulärer Injektion von 2,5 mg/kg Körpergewicht ist die maximale Plasmakonzentration von $584 \pm 302\text{ng/ml}$ beim Fohlen laut HÖHENSTEIGER (2005) fünfmal größer als die von BENCHAOUI et al. (2004) für das Schwein angegebenen Werte. Auch in den BAL-Zellen von behandelten Fohlen wurden hohe Tulathromycin Konzentrationen nachgewiesen

(SCHOCK 2008). TRAEDER und GROTHUES (2004) beschreiben eine Kumulation von Tulathromycin beim Schwein und Rind in Leukozyten und Makrophagen. Dies führt zu einer deutlichen Erhöhung der Wirkstoffkonzentration am Ort der Infektion, da diese Zellen im Falle einer Infektion um ein Zwei- bis Dreifaches stärker an den Infektionsort wandern. Durch diese Kumulation wird eine 4,1-4,8fache Tulathromycinkonzentration im Bereich des infizierten Gewebes erreicht. Des Weiteren zeigt Tulathromycin eine geringe Affinität zur Effluxpumpe der Bakterienzelle. Somit wird es in einem geringeren Maß aus der Bakterienzelle herausgepumpt mit der Folge einer starken Anreicherung des Wirkstoffes in der Bakterienzelle. Mit nur geringer Schwellungsneigung kann die i.m.-Injektion auch beim Fohlen als Applikationsweg gewählt werden. Die Wirksamkeit von Tulathromycin zur Behandlung der Fohlen-Rhodokokkose wurde in einer kontrollierten Studie an einer Gruppe von 37 Fohlen mit Lungenabszessen mit Erfolg belegt (KERTH 2005). Nebenwirkungen nach der Applikation sind nur selten beschrieben. Gelegentlich kann es zu Fieber, Schwellungen an der Injektionsstelle, und leichtem, selbstlimitierendem Durchfall kommen (HÖHENSTEIGER 2005; KERTH 2005). In sehr seltenen Fällen treten Koliksymptome ungefähr eine Stunde nach der Applikation auf, die nach einmaliger Injektion von Metamizol-Natrium (500mg/ml) bei einer Dosierung von 25 mg/kg KGW wieder abklingen (HÖHENSTEIGER 2005). Bei Verdacht auf *R. equi*-Pneumonie wird Tulathromycin in Kombination mit Rifampicin empfohlen, um der Entstehung von Resistenzen vorzubeugen KERTH (2005). Die erste Studie, in der MHK-Werte für *R. equi* gegenüber Tulathromycin bestimmt wurden, stammt von CARLSON et al. (2010). Die MHK_{50} und die MHK_{90} von Tulathromycin liegen bei $\geq 64 \mu\text{g/ml}$. Hierbei unterschieden sich Makrolid-empfindliche nicht von Makrolid-resistenten *R. equi*-Isolaten. HÖHENSTEIGER (2005) gibt intrazelluläre Tulathromycin-Konzentrationen 24 Stunden und acht Tage nach der Verabreichung von Tulathromycin von 0,25 und $0,39 \mu\text{g}/10^9$ Alveolarzellen an. Daraus schließen CARLSON et al. (2010), dass Tulathromycin bei der *R. equi*-Pneumonie nicht wirksam ist.

2.4.4.3 Azithromycin

Azithromycin gehört zu einer Gruppe von Makroliden, welche als Azalide bezeichnet werden (PERITI et al. 1993). Azithromycin weist eine größere Säurestabilität als

Erythromycin auf, ist aber dennoch sehr pH-empfindlich (PETERS et al. 1992; PRESCOTT u. BAGGOT 1993). So ist bei einem pH von 7,2 die MHK 100mal niedriger als bei einem pH von 6,0 (BARRY et al. 1988). Auf Grund des dibasischen und amphiphilen Charakters von Azithromycin gelangt dieses durch passive Diffusion wie auch durch aktiven Transport in die Zelle. Auch hier kommt es vor allem zur Kumulation des Wirkstoffes in Makrophagen (JACKS et al. 2001). Eine Wirksamkeit bei *R. equi*-Pneumonien des Fohlens ist vielfach beschrieben (JACKS et al. 2001; DAVIS et al. 2002; GIGUÈRE et al. 2004; PILTZ 2004). Zur Behandlung der Rhodokokkose beim Fohlen wird eine einmalige tägliche orale Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht Azithromycin für fünf Tage und danach alle 48 Stunden empfohlen (JACKS et al. 2001; DAVIS et al. 2002; GIGUÈRE et al. 2004). Zur Behandlung der Rhodokokkose und zur Vorbeugung von Resistenzen wird eine Kombinationstherapie mit Rifampicin empfohlen (GIGUÈRE et al. 2004). Unverträglichkeiten sind bei Mensch und Tier relativ selten (JACKS et al. 2001; DAVIS et al. 2002). Es wird von Durchfall bei 5% der Fohlen nach oraler Verabreichung des Medikamentes berichtet (GIGUÈRE et al. 2004; PILTZ 2004). In der Studie von ROTHHAAR (2006) lag die MHK_{50} für *R. equi* bei 2 µg/ml und die MHK_{90} bei 4 µg/ml. Für Makrolid-sensible *R. equi*-Isolate ist die $MHK_{90} \leq 2$ µg/ml, für Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate ist die $MHK_{90} \geq 4$ µg/ml (CARLSON et al. 2010).

2.4.4.4 Clarithromycin

Clarithromycin ist ein halbsynthetisch hergestelltes Derivat von Erythromycin (PRESCOTT u. BAGGOT 1993). Es hat eine verbesserte Aktivität gegenüber gram-positiven Kokken im Vergleich zu Erythromycin (CHARLES u. SEGRETI 1997). Andere Autoren bezeichnen Clarithromycin als doppelt so wirksam gegenüber Bakterien im Vergleich zu Erythromycin (PRESCOTT u. BAGGOT 1993). Durch die veränderte Struktur wurde die Inaktivierung durch Salzsäure im Magen wie auch die Motilin ähnliche Wirkung mit Steigerung der Darmmotorik deutlich reduziert. In einer Studie an 81 an *R. equi*-Pneumonie erkrankten Fohlen traten bei 28% der mit Clarithromycin behandelten Fohlen und bei 17% der mit Erythromycin behandelten Fohlen Durchfall auf (GIGUÈRE et al. 2004). Clarithromycin zeigt eine sehr gute Gewebeverteilung und intrazelluläre Penetration (PERITI et al. 1989). Wie bei anderen Makroliden wurde beim Fohlen auch bei Clarithromycin eine höhere

Konzentration im Gewebe und in den Makrophagen im Vergleich zur Konzentration von Clarithromycin im Serum festgestellt (JACKS et al. 2002). Zwölf Stunden nach oraler Verabreichung von 10 mg/kg lag die Serumkonzentration von Clarithromycin beim Fohlen über der MHK_{90} von 0,12 µg/ml welche für *R. equi* angegeben wurde (JACKS et al. 2002). Nach Auswertung der pharmakologischen Parameter und der MHK_{90} -Werte wurde beim Fohlen eine Dosis von 7,5 mg/kg Körpergewicht alle 12 Stunden empfohlen (JACKS et al. 2002). Es werden MHK -Werte für Clarithromycin gegenüber *R. equi* von 0,12-0,25 µg/ml bzw. $\leq 0,015$ µg/ml bis 0,12 µg/ml angegeben. Autoren geben eine MHK_{50} wie auch eine MHK_{90} von 0,06 µg/ml bis 0,12 µg/ml an (SORIANO et al. 1998; ROTHHAAR 2006; CARLSON et al. 2010). In der Studie von CARLSON (2010) ist die MHK_{50} und die MHK_{90} von Clarithromycin für Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate ≥ 4 µg/ml.

2.4.4.5 Telithromycin

Telithromycin ist Stellvertreter einer Untergruppe der Makrolide, den Ketoliden. Ketolide dienen beim Menschen der Therapie von Infektionen der oberen und unteren Atemwege, welche durch makrolidresistente Bakterienstämme ausgelöst werden (ZHANEL et al. 2002). Ketolide sind halbsynthetische Derivate des 14-gliedrigen Erythromycin (ZHANEL et al. 2002; BERISIO et al. 2003). Sie weisen eine verbesserte Aktivität auf (CHAMPNEY u. TOBER 2001). Ketolide sind in der Lage, zu einem größeren Teil als die herkömmlichen Makrolide in Bakterien zu kumulieren (CAPOBIANCO et al. 2000). Sie zeigen eine gute Aktivität gegen *Corynebacterium* ssp., auch wenn es innerhalb der Spezies starke Schwankungen der Empfindlichkeit gibt. Ketolide sind unempfindlich gegenüber dem energieabhängigen Efflux der Bakterien, da sie schlechte Substrate für die bakterielle Effluxpumpe darstellen (BEMER-MELCHIOR et al. 2000; CAPOBIANCO et al. 2000). Die exzellente Pharmakokinetik von Ketoliden wie Telithromycin ermöglicht die einmalige tägliche Applikation und führt zu einer, im Vergleich zum Serum, sehr guten Gewebeverteilung (NAMOUR et al. 2001; ZHANEL et al. 2001; ZHANEL et al. 2002). Die pharmakologischen Eigenschaften von Telithromycin beim Fohlen wurden zum ersten Mal von JAVSICAS (2010) untersucht. Die einmal täglich oral zu verabreichende Dosis liegt bei 15mg/kg. Der Wirkstoff zeigt eine sehr gute intrazelluläre Akkumulation beim Fohlen. Die Telithromycin-Konzentration in BAL-

Zellen 4h nach der Applikation beträgt $50,9 \pm 14,5 \mu\text{g/ml}$ und nach 24h $3,17 \pm 1,20 \mu\text{g/ml}$. Ein Resistenzmechanismus von Bakterien gegen Ketolide ist die Basensubstitution an Position A752, welche eine reduzierte Bindung der Ketolide am Ribosom zur Folge hat (ZHANEL et al. 2002). In geringerem Maße als herkömmliche Makrolide sind Ketolide von Punktmutationen im Bereich der Domäne V des Ribosoms betroffen (DOUTHWAITE et al. 2000). Eine Resistenzinduktion, vergleichbar mit der der Makrolide, wird mit einer Wahrscheinlichkeit von $1:10^{12}$ beziffert und ist somit extrem unwahrscheinlich (SCHWEIGER 2002). Untersuchungen an Staphylokokken zeigten, dass Isolate, die die Gene *erm(A)*, *erm(C)* oder *erm(A)* und *erm(C)* konstitutiv exprimierten, hochresistent gegenüber Telithromycin mit MHK-Werten von $>128 \mu\text{g/ml}$ waren (SCHWARZ u. SCHMITZ 2002). Die MHK_{50} und MHK_{90} für aus Fohlen isolierte Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate liegen bei $0,12$ bis $0,25 \mu\text{g/ml}$ (ROTHHAAR 2006; JAVSICAS et al. 2010). Für aus Fohlen isolierte Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate liegt die MHK_{50} bei $4 \mu\text{g/ml}$, die MHK_{90} bei $8 \mu\text{g/ml}$ und somit über den erreichten intrazellulären Konzentrationen von Telithromycin. Die gemessenen MHK-Werte für Telithromycin gegenüber *R. equi* lagen zwischen $0,25$ - $16 \mu\text{g/ml}$ (JAVSICAS et.al. 2010).

2.5 Prophylaxe der *Rhodococcus equi*-Pneumonie

Verschiedenste Versuche, eine wirksame Immunprophylaxe zur Vorbeugung von *R. equi*-Infektionen des Fohlens zu finden, blieben erfolglos. Hyperimmunplasma (MARTENS et al. 1989; MADIGAN et al. 1991; MÜLLER u. MADIGAN 1992; GIGUÈRE et al. 2002; SCHULTE 2005), Paramunitätsinducer (BAUMANN 2006) und unterschiedliche Impfprogramme (BECÚ et al. 1997; VARGA et al. 1997; GIGUÈRE u. JACKS 2005; HULLMANN 2006; DITTRICH 2008; MÜLLER-ALANDER 2008) konnten bis jetzt nur wenig überzeugende Ergebnisse liefern. Eine prophylaktische Azythromycingabe (10mg/kg KGW oral 1x täglich) bei neugeborenen Fohlen bis zum Alter von zwei Wochen führt nach CHAFFIN et al. (2008) zu einer reduzierten Inzidenz der *R. equi*-Pneumonie. Dies steht im Widerspruch mit den Ergebnissen von REINHOLD (2006), in deren Studie sich die Inzidenz der Erkrankung durch prophylaktische Gabe von Azythromycin nicht verringerte. Vielmehr verschob sich das Erkrankungsalter um 50 Tage nach hinten, was durch höheren Körpergewicht

der Patienten zu höheren Therapiekosten führte. Wichtigste prophylaktische Maßnahme sind Managementstrategien innerhalb des Bestandes, um die Übertragung des Erregers zwischen den Fohlen zu verringern (LEADON 1989; MUSCATELLO et al. 2006b).

2.6 Methoden zur *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung

Die *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen liefert Informationen, die zur Abschätzung des Therapieerfolges unerlässlich sind. Auch wenn in Einzelfällen Unterschiede zwischen der *in-vitro* Empfindlichkeit und der *in-vivo* Wirksamkeit beobachtet werden, liefert die *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung wertvolle Informationen und hilft diejenigen Wirkstoffe auszuschließen, gegenüber denen sich der betreffende Erreger bereits unter *in-vitro* Bedingungen als "resistent" erwiesen hat. Zur Durchführung können verschiedene Methoden und Durchführungsvorschriften herangezogen werden. In der Routinediagnostik am weitesten verbreitet ist der Agardiffusionstest, seltener werden die Dilutionsverfahren (Bouillon-Makrodilution und -Mikrodilution), das Agardilutionsverfahren und der Epsilon-Test (E-Test) eingesetzt (JORGENSEN et al. 1999). Als Methode der Wahl gilt derzeit die Ermittlung von Minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) mittels Bouillon-Mikrodilution nach dem CLSI-Standard M31-A2 (NCCLS 2002) (WERCKENTHIN u. SCHWARZ 2003; LUHOFER et al. 2004; SCHWARZ et al. 2005).

3 Material und Methoden

Ziel der vorliegenden Studie war es, *R. equi*-Stämme von einem Gestüt mit endemischer Rhodokokkose und weitere deutschlandweit isolierte *R. equi*-Stämme auf ihr Resistenzverhalten gegenüber acht verschiedenen Antibiotika zu untersuchen.

3.1 Probanden

Die Probenentnahme fand von März 2006 bis Oktober 2007 auf einem Warmblutgestüt in Norddeutschland statt. Hierzu wurde bei insgesamt 73 Fohlen endoskopisch Tracheobronchialsekret, bei deren mikrobiologischer Untersuchung *Rhodococcus equi* isoliert wurde, gewonnen. 43 Isolate entfielen auf das Jahr 2006 und 30 Isolate auf das Jahr 2007. Zusätzlich wurden uns aus fünf mikrobiologischen Instituten und Laboren Deutschlands insgesamt 37 *R. equi*-Isolate von Fohlen aus den Jahren 1986 bis 2007 zur Verfügung gestellt.

3.1.1 Haltungsbedingungen für Stuten und Fohlen

Insgesamt werden auf diesem Gestüt 4.000 Warmblutpferde verschiedener deutscher Rassen gehalten. Die hochtragenden Stuten werden 4 Wochen vor dem errechneten Abfohltermin aus mit Stroh eingestreuten Laufställen in den vom regulären Betriebsablauf getrennten Abfohlstall verbracht. 14 Tage nach der Abfohlung verlassen Stute und Fohlen den Abfohlstall und werden in Gruppen von maximal 10 Stuten und Fohlen in gereinigte und desinfizierte Laufställe gebracht, die mit Stroh eingestreut werden. Sobald die Fohlen 4 Wochen alt sind werden sie, sofern sie gesund sind, während der Sommersaison auf der Weide in Gruppen von 25 bis 45 Pferden gehalten. Je nach Bedarf werden die Stuten mit Hafer, pelletiertem Mischfutter, Sojaschrot, Heu, Stroh, Gras- und Maissilage gefüttert.

Alle Pferde des Bestandes wurden regelmäßig gegen EHV-1 und EHV-4 sowie Influenza und Tetanus geimpft. Die Fohlen wurden bis zum Absetzalter von 6 Monaten alle 4 Wochen mit wechselnden Präparaten entwurmt.

3.1.2 Bedingungen für die Aufnahme in die Studie

In die Studie wurden 73 Fohlen aufgenommen, die alle auf dem Gestüt geboren wurden und zum Zeitpunkt der Untersuchung nachweislich an Rhodokokkose erkrankt waren oder aber anhand weitergehender Untersuchungen sicher als gesund gelten konnten. Die kranken Fohlen waren bei der Probenentnahme noch nicht mit Antibiotika behandelt worden.

3.1.3 Einteilung der Fohlen in Gruppen

Die Fohlen wurden in 3 Gruppen eingeteilt.

In Gruppe 1 wurden gestütseigene Fohlen aufgenommen, die bei der sonographischen Untersuchung der Lunge mindestens einen Lungenabszess aufwiesen und somit als klinisch an abszedierender Pneumonie erkrankt eingestuft wurden. Diese Gruppe umfasste 53 Fohlen.

In Gruppe 2 wurden gestütseigene Fohlen aufgenommen, die anhand klinischer, sonographischer und röntgenologischer Befunde als lungengesund eingestuft wurden. Diese Gruppe umfasste 20 Fohlen.

In Gruppe 3 wurden Fohlen bzw. die aus ihnen gewonnenen *R. equi*-Isolate aufgenommen, die aus anderen Standorten Deutschlands stammten. Über diese Fohlen liegen keine klinischen Daten vor. Diese Gruppe umfasste 37 Fohlen bzw. Isolate.

3.1.4 Allgemeinuntersuchung

Alle Fohlen des Bestandes wurden ab dem 14. Lebenstag bis zum Absetzen im 6. Lebensmonat einmal wöchentlich untersucht. Hierbei wurde das Verhalten, die Haltung, der Habitus, das Saugverhalten und der Ernährungszustand beurteilt und die rektale Körpertemperatur gemessen. Außerdem wurden der Nabel, die Gelenke und die Kotkonsistenz kontrolliert. Weiterhin erfolgte eine Untersuchung des Atmungstraktes der Fohlen.

3.1.5 Spezielle Untersuchung des Respirationstraktes

Die spezielle Untersuchung des Respirationstraktes, umfasste die Auskultation von Lunge und Trachea, die Beurteilung von Menge und Konsistenz von Nasenausfluss, die Palpation der Mandibularlymphknoten auf ihre Größe, Konsistenz und Schmerzhaftigkeit und die Kontrolle von spontan auftretendem Husten. Die Auskultation der Lunge erfolgte auf beiden Seiten des Thorax an drei verschiedenen Punkten, kranioventral, mittig und kaudodorsal über mindestens zwei Atemzüge. Dabei wurden vorhandene in- oder expiratorisch verschärfte Atemgeräusche in drei verschiedene Grade (gering-, mittel-, hochgradig) eingeteilt und pathologische Nebengeräusche, wie Rasseln oder Giemen, dokumentiert. Die Untersuchungsergebnisse wurden in einen Befundbogen (s. Abb. 12 im Anhang) eingetragen, anhand dessen jedem Befund eine Punktzahl zugeordnet wurde. Die Summe dieser Punkte ergab den „Klinischen Score“, welcher den Schweregrad der Lungenerkrankung repräsentiert. Dies erfolgte in Anlehnung an das Beurteilungsprotokoll nach OHNESORGE et al. (1998) (s. Tab. 21 im Anhang). Anhand dieses Scores ergab sich für den Grad der Atemwegserkrankung folgende Einteilung:

- Score zwischen 0 und 1: Fohlen ist lungengesund,
- Score zwischen 2 und 3: Fohlen ist geringgradig erkrankt,
- Score zwischen 4 und 6: Fohlen ist mittelgradig erkrankt,
- Score >6: Fohlen ist hochgradig erkrankt.

3.1.6 Bestimmung der Leukozytenzahl im Blut

Im Rahmen des Früherkennungsprogrammes der *R. equi*-Pneumonie dieses Gestütes wurde jedem Fohlen bei der wöchentlichen Untersuchung ca. 2 ml Blut aus der Vena jugularis externa mit einer Kanüle (1,2 x 40 mm; Sterican®, B. Braun, Melsungen) entnommen. Das Blut wurde in einem mit Kalium-EDTA beschichteten Probenröhrchen (EDTA K, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) aufgefangen. Im Anschluss wurde mit dem Blutanalysegerät „SYSMEX KX-21N“ (Sysmex Deutschland GmbH, Hamburg) nach dem elektrischen Widerstandsprinzip die Leukozytenzahl pro μl Blut bestimmt.

3.1.7 Weiterführende Untersuchungen

3.1.7.1 Auswahlkriterien für eine sonographische Untersuchung

Bei der wöchentlichen Routineuntersuchung wurden Fohlen mit folgenden Befunden sonographisch untersucht:

1. Leukozytose mit über 13.000 Zellen pro μl Blut,
2. hochgradig verschärfte Atemgeräusche sowie Rasseln und / oder Giemen bei der Auskultation von Trachea und Lunge,
3. deutlich sichtbare Dyspnoe mit Nüsternblähen und abdominaler Atmung,
4. Fieber (ab $39,0^{\circ}\text{C}$ bei zweiter Kontrolle),
5. Husten,
6. purulenter Nasenausfluss oder
7. Kümmeren.

Die sonographische Untersuchung wurde bei allen Fohlen der Studie in der Woche der Probenentnahme durchgeführt, um die Diagnose einer Lungenerkrankung zu stellen.

3.1.7.2 Sonographische Untersuchung der Lunge

Die sonographische Untersuchung der Fohlen wurde mit zwei akkubetriebenen, tragbaren Ultraschallgeräten ("Sonovet 2000" der Fa. Kretztechnik AG, Tiefenbach, Österreich und "Esaote Tringa Linear", Fa. Pie Medical, Maastricht, Niederlande) mit einem 7,5 MHz – Linearscanner vorgenommen. Der zu untersuchende Bereich wurde beiderseits dorsal von der Stammuskulatur (Musculus longissimus dorsi), nach cranial durch das Schulterblatt mit seiner Muskulatur (Musculus triceps brachii, Musculus tensor fasciae antebrachii) und nach ventral durch das Sternum und das Zwerchfell begrenzt. Die Ultraschalluntersuchungen wurden in den Laufställen oder Boxen vorgenommen. Dazu wurden die Fohlen im Stehen fixiert und anschließend im Lungenfeld mit Isopropyl-Alkohol (2-Propanol 99 %, Pharma-Depot GmbH, Vermold) entfettet und Transmissionsgel (BLR Sonic Ultraschallgel, Diagonal, Waldeck, Münster) aufgetragen. Zur Durchführung der Untersuchung wurde der Schallkopf senkrecht zur seitlichen Bauchwand gehalten, so dass die Schallechos der Haut und der Pleura waagerecht auf dem Bildschirm zu sehen waren. Der Schallkopf wurde vom 15. bis zum 3. Interkostalraum jeweils von dorsal nach ventral

geführt. Der Thorax wurde zur Lokalisation von Einzelbefunden in drei Felder A (dorsal), B (Mitte), und C (ventral) geteilt, so dass sich auf jeder Körperseite 27 Beurteilungsfelder ergaben. In der Dokumentation der Untersuchung wurden abgrenzbare, schallleitende Veränderungen von mindestens 10 mm Durchmesser als „Abszess“ (A) und Veränderungen und Konsolidierungen mit einem Durchmesser unter 10 mm als Pneumonien (Pn) bezeichnet. Die Durchmesser der Befunde wurden mit einer Zentimeterskala vermessen und auf dem Ultraschallbefundbogen (s. Abb. 13 im Anhang) dokumentiert. Anzahl, Durchmesser und Lokalisation der sonographischen Lungenbefunde wurden in die Krankenkarte des Fohlens übertragen.

Die Diagnose der Pneumonie oder der Lungenabszesse gab den Anlass zu einer Endoskopie der Atemwege und einer Probenentnahme zum Erregernachweis bei den erkrankten Fohlen.

Bei Fohlen mit einer unauffälligen klinischen und sonographischen Lungenuntersuchung wurde zusätzlich eine röntgenologische Untersuchung des Thorax vorgenommen.

3.1.7.3 Röntgenologische Untersuchung klinisch gesunder Fohlen

Um ein Fohlen als gesund einstufen zu können, war eine röntgenologische Untersuchung im latero-lateralen Strahlengang notwendig, da sonographisch tieferliegende Abszesse nicht erfasst werden. Die Durchführung erfolgte nach dem Protokoll von WALTHER (2006).

3.1.8 Endoskopische Entnahme von Tracheobronchialsekret-Proben

Allen gesunden (Gruppe 2) und kranken (Gruppe 1) Fohlen wurde unter endoskopischer Kontrolle Tracheobronchialsekret entnommen. Dies erfolgte nach der von KILIAN (2008) beschriebenen Methode.

3.1.9 Behandlung und Versand der entnommenen Proben

Das aspirierte Tracheobronchialsekret wurde aus dem Entnahmekatheter auf einen sterilen Transporttupfer mit Medium verbracht (Uni-Ter Amies CLR, Fa. MEUS S.r.l.,

Piove di Sacco, Italy) und bei +7°C gelagert. Der Versand der Proben erfolgte gekühlt, per Kurier an das Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsmedizin der Stiftung Tierärztliche Hochschule. Hier fand die mikrobiologische Untersuchung statt.

3.2 Mikrobiologische Untersuchung des Tracheobronchialsekretes

3.2.1 Kultureller Nachweis von *Rhodococcus equi*

Für die Anzucht von *R. equi* wurden die Tupfer, auf die das Tracheobronchialsekret nach der Entnahme aufgetragen worden war, auf Columbia-Agar mit Schafsblut (Oxoid, Wesel), auf Staphylokokken-Streptokokken-Selektivnährböden, auf Wasserblau-Metachromgelb-Laktose-Agar nach Gassner (Oxoid, Wesel) und Kochblut-Agar im zweifach fraktionierten Ausstrichverfahren aufgetragen und bis zu 48 Stunden bei 37°C inkubiert. Alle Nährmedien, außer die Kochblut-Platten, wurden unter aeroben Bedingungen im Brutraum (Firma Eberle, Nürnberg) bebrütet. Die Kochblut-Platten wurden mikroaerophil (10% CO₂) im CO₂-Brutschrank (CO₂-Auto-Zero, Heraeus Holding GmbH, Hannover-Hamburg) inkubiert. Zusätzlich wurden die Tupfer zur Anreicherung in einer Nährbouillon für 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Anschließend wurden sie aus dieser Anreicherung auf Columbia-Agar, Staphylokokken-Streptokokken-Selektivnährböden und Gassner-Platten zweifach fraktioniert ausgestrichen und ebenfalls bei 37°C aerob bebrütet. Nach 24 bis 48 Stunden wurden alle Kulturen visuell untersucht. Kolonien mit feuchtem, transparentem, weißlichem Wachstum wurden auf Columbia-Agar subkultiviert. Die so entstandenen Reinkulturen wurden nach Gram gefärbt und unter dem Mikroskop beurteilt, wobei *Rhodococcus* ssp. sich als grampositive, kokkoide, pleomorphe Stäbchen darstellten. Für die Gattungsdiagnose wurde mit dem api-Coryne[®] Testsystem (bio Merieux, Nürtingen) gearbeitet (Tab. 31). Über den Nachweis des Equi-Faktors im CAMP-Test wurde die abschließende Speziesdiagnose *Rhodococcus equi* gestellt (MEYER-HAMME 2004).

Die semiquantitative Beurteilung der Tupfer des Tracheobronchialsekrets erfolgte mittels des fraktionierten Ausstrichverfahrens. Dazu wurde der Tupfer auf einem Drittel des jeweiligen Nährbodens ausgestrichen. Anschließend wurde in einem weiteren Drittel mit einer heißen Öse ein zweiter Impfstrich aus dem Tupferausstrich und im letzten Drittel eine dritte Fraktionierung aus dem zweiten Impfstrich

angefertigt. Wachstum in der ersten Fraktionierung bedeutete geringgradigen (bis 10^3 Koloniebildende Einheiten), in der zweiten Fraktionierung mittelgradigen (10^4 bis 10^5 KbE) und in der dritten Fraktionierung hochgradigen (mehr als 10^6 KbE) Keimgehalt der Probe.

3.2.2 Nachweis biochemischer Eigenschaften von *Rhodococcus ssp.*

Zur Stellung der Gattungsdiagnose wurden die biochemischen Eigenschaften von *R. equi* mit dem kommerziellen Testsystems api-Coryne[®] (api BIO Mérieux, Nürtingen) nach den Angaben des Herstellers untersucht (siehe Tabellen 31 und 32 im Anhang). Hierbei handelt es sich um ein miniaturisiertes System zur Identifizierung von klinisch relevanten koryneformen Bakterien.

3.2.3 Molekularbiologischer Nachweis von *Rhodococcus equi* mittels Polymerase Chain Reaction (PCR)

Die 37 *R. equi*-Isolate, die aus den mikrobiologischen Instituten der Universitäten Berlin, Giessen, Leipzig und München und aus dem Labor Böse in Harsum stammten, wurden vom jeweiligen Ursprungsort ebenfalls an das Institut für Mikrobiologie in Hannover geschickt. Dort erfolgte eine einheitliche Bestätigung der Diagnose durch eine PCR, damit sichergestellt werden konnte, dass es sich bei den Proben um Reinkulturen von *R. equi* handelte. Aufgrund der Ergebnisse von LORENZ (2005) und HEYERS (2005) wurden für die vorliegende Versuchsreihe die beiden chromosomal-basierten PCRs AceA500 und IdeR500 sowie die plasmid-basierte VP-PCR ausgewählt.

3.2.4 Konservierung und Lagerung der Proben über den Untersuchungszeitraum

Zur Konservierung und Aufbewahrung über den Zeitraum der Studie wurden die 110 Isolate von *R. equi* als Glycerinkultur bei -80°C im Tiefkühler (Typ 6485 Nr. 113235, GFL, Burgwedel, Deutschland) gelagert. Für deren Herstellung wurden 870 μl einer Bakteriensuspension, die aus angesetzter BHI-Lösung (Brain-Heart-Infusion, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) und dem jeweiligen *R. equi*-Isolat bestand, über

24 Stunden bei 37°C unter aeroben Bedingungen und mit Parafilm abgedeckt im Schüttler (Modell TR 125, Serien. Nr.: 921094, Infors AG, Bottmingen, Schweiz) bebrütet. Danach wurde die Bakteriensuspension mit 130 µl sterilem Glycerin gemischt und bei -80°C im Tiefkühler eingefroren.

3.3 Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration der *Rhodococcus equi*-Isolate mittels Mikrodilutionsverfahren

Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen erfolgte durch die Autorin am Institut für Tierzucht der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) in Mariensee.

3.3.1 Das Mikrodilutionsverfahren

Das in dieser Studie zur Anwendung gekommene Mikrodilutionsverfahren folgte den Empfehlungen des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Dokument M31-A2 für die Resistenzbestimmung veterinärmedizinisch relevanter Bakterien. Für die Qualitätssicherung und die Kontrolle der eingesetzten Medien und Antibiotika wurde der Referenzstamm *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 der American Type Culture Collection (ATCC) mitgeführt.

3.3.2 Kulturelle Anzucht von *R. equi* aus der Glycerinkultur

Für die Resistenzprüfung auf den Mikrotiterplatten wurden die als Glycerinkulturen gelagerten *R. equi*-Isolate und der Referenzstamm *Staph. aureus* ATCC® 29213 auf Blutagarplatten (BAP; Zusammensetzung s. Anhang) kultiviert.

Hierzu wurde das Probengefäß geöffnet und mit einer sterilen Öse von der Oberfläche der Glycerinkultur etwas Material abgenommen und fraktioniert auf eine Blutagarplatte ausgestrichen. Die Bebrütung erfolgte unter aeroben Bedingungen für 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank (Typ B 6120, Fabr. Nr.: 9105326, Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland). Der Referenzstamm wurde täglich neu auf eine Blutagarplatte (BAP) ausgestrichen und unter gleichen Verhältnissen bebrütet.

3.3.3 Herstellung des Inokulums

Nachdem die Blutagarplatten 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank bebrütet wurden, erfolgte eine Reinheitsprüfung der angelegten Kulturen. Für die Weiterverarbeitung musste von jedem Isolat eine Bakteriensuspension hergestellt werden. Diese muss nach den Vorgaben des CLSI zur Vereinheitlichung 5×10^5 koloniebildende Einheiten (KBE) pro ml Suspension enthalten. Dies entspricht einem McFarland Standard von 0,5. Diese Konzentration wurde über die Bestimmung der optischen Dichte der Bakteriensuspension im Photometer (Serien Nr.: 121277, Cecil Instruments, Cambridge, England) bei einer Wellenlänge von 600 nm erreicht und musste zwischen 0,05 und 0,09 liegen. Die *R. equi*-Isolate wurden dabei genau wie der Referenzstamm *Staph. aureus* ATCC® 29213 behandelt.

Von der Blutagarplatte wurde mit einer sterilen Öse eine kleine Menge Koloniematerial entnommen, in 5 ml sterile NaCl-Lösung überführt und mit einem Vibrationsschüttler (Vortex Genie 2, Scientific Industries, New York, USA) gemischt. Zur Dichtemessung wurden 1000 µl der Bakteriensuspension mit einer Pipette (Serien Nr.: 150821, Eppendorf, Darmstadt) in eine Einmalküvette (Art. Nr. 2712120, Labor-Brand, Gießen, Deutschland) übertragen und im Photometer bestimmt. Bei Dichte-Werten unter 0,05 oder über 0,09 wurden die Proben entweder durch Zugabe einer entsprechenden Menge Koloniematerial oder durch Verdünnen mit steriler NaCl-Lösung auf den Sollbereich eingestellt. Danach wurden die Bakteriensuspensionen in ein Eisbad gestellt, um ein weiteres Bakterienwachstum zu verhindern. Von diesen *R. equi*-Suspensionen wurden jeweils 30 µl, auch Inokulum genannt, mit einer Pipette (Serien Nr.: 165704, Eppendorf, Darmstadt, Deutschland) in 6 ml CAMHB (Cation-Adjusted-Mueller-Hinton-Bouillon, Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, England), die aufgrund der Wachstumsansprüche von *R. equi* mit 2% Laked Horse Blood (mit Saponin lysiertes Pferdeblut, Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, England) versetzt werden muss, übertragen. Die verwendeten Reagenzgläser wurden sofort mit Parafilm verschlossen und auf Eis gestellt. Das Inokulum des Referenzstammes *Staph. aureus* ATCC® 29213 wurde in 6 ml CAMHB ohne Zusatz von lysiertem Pferdeblut übertragen. Alle so hergestellten Suspensionen wurden mit dem Vibrationsschüttler gut durchmischt und im Anschluss auf die Mikrotiterplatten übertragen.

3.3.4 Beschickung der Mikrotiterplatten

Die verwendeten 50 µl Mikrotiterplatten (MTP) mit 96 Kavitäten wurden nach den Vorgaben des CLSI-Dokumentes M31-A2 (Firma TREK Diagnostik Systems, Cleveland, Ohio, USA) für diesen Versuchsaufbau hergestellt. Die Lagerung fand bei -80°C im Tiefkühlschrank statt. Kurz vor der Beschickung wurden die MTP bei Raumtemperatur angetaut. Auf den MTP waren die Antibiotikakombination Trimethoprim-Sulfamethoxazol (SXT) im Verhältnis 1:19 sowie die Antibiotika Gentamicin (GEN), Rifampicin (RIF), Tulathromycin (TUL), Azithromycin (AZI), Telithromycin (TEL), Clarithromycin (CLA) und Erythromycin (ERY) in den in Tab.1 ersichtlichen Konzentrationen in µg/ml Wirkstoff enthalten.

Tab. 1: Plattenlayout der Mikrodilutionsmethode (Konzentrationen in µg/ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GC	SXT 0,03/0,6	SXT 0,06/1,2	SXT 0,12/2,3	SXT 0,25/4,8	SXT 0,5/9,5	SXT 1/19	SXT 2/38	SXT 4/76	SXT 8/152	SXT 16/304	SXT 32/608
B	GC	GEN 0,06	GEN 0,12	GEN 0,25	GEN 0,5	GEN 1	GEN 2	GEN 4	GEN 8	GEN 16	GEN 32	GEN 64
C	RIF 0,03	RIF 0,06	RIF 0,12	RIF 0,25	RIF 0,5	RIF 1	RIF 2	RIF 4	RIF 8	RIF 16	RIF 32	RIF 64
D	TUL 0,03	TUL 0,06	TUL 0,12	TUL 0,25	TUL 0,5	TUL 1	TUL 2	TUL 4	TUL 8	TUL 16	TUL 32	TUL 64
E	AZI 0,03	AZI 0,06	AZI 0,12	AZI 0,25	AZI 0,5	AZI 1	AZI 2	AZI 4	AZI 8	AZI 16	AZI 32	AZI 64
F	TEL 0,03	TEL 0,06	TEL 0,12	TEL 0,25	TEL 0,5	TEL 1	TEL 2	TEL 4	TEL 8	TEL 16	TEL 32	TEL 64
G	CLA 0,03	CLA 0,06	CLA 0,12	CLA 0,25	CLA 0,5	CLA 1	CLA 2	CLA 4	CLA 8	CLA 16	CLA 32	CLA 64
H	ERY 0,03	ERY 0,06	ERY 0,12	ERY 0,25	ERY 0,5	ERY 1	ERY 2	ERY 4	ERY 8	ERY 16	ERY 32	ERY 64

GC: Growth Control, Wachstumskontrolle; SXT: Trimethoprim-Sulfamethoxazol

GEN: Gentamicin; RIF: Rifampicin; TUL: Tulathromycin; AZI: Azithromycin

TEL: Telithromycin; CLA: Clarithromycin; ERY: Erythromycin

Zur Qualitätskontrolle der Platten wurde an jedem Testtag eine MTP mit dem Referenzstamm von *Staph. aureus* ATCC® 29213 beschickt. Alle *R. equi*-Isolate wurden einmalig auf ihre MHK-Werte untersucht. Jedem Isolat wurde eine MTP, die mit Isolat-Nummer, Datum und Uhrzeit versehen wurde, zugeteilt. Die zugehörige Bakteriensuspension wurde aus dem Eisbad genommen, erneut gut durchmischt und in eine sterile Schale gegossen. Mit einer elektrischen 8-fach-Mehrkanalpipette (Nr.4021685, Fa. Biohit, Steinfurt) wurde die zu testende Suspension aufgenommen

und jeweils 50 µl in jede der 96 Testkavitäten blasenfrei abgegeben. Jeweils vier Mikrotiterplatten wurden übereinander gestapelt von der die oberste zum Schutz vor Austrocknung und Fremdkontamination mit einer sterilen Kunststoff-Folie abgedeckt wurde. Die Bebrütung der beimpften Platten fand bei 35°C für 24 Stunden aerob im Brutschrank (Fabr. Nr.: 96109595, Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland) statt.

3.3.5 Auswertung der Mikrotiterplatten

Die beimpften MTP wurden nach 24 Stunden aus dem Brutschrank genommen und die Schutzfolie entfernt. Die Ergebnisse wurden für jedes Isolat, einschließlich der Nummer und des Datums, auf einem dem Plattenlayout entsprechenden Bogen dokumentiert (s. Abb. 14 und 15 im Anhang). Die Auswertung wurde vom CLSI Dokuments M31-A2 vorgegeben. Mit Hilfe einer speziellen Halterung, die einen Spiegel zum Ablesen der Plattenunterseite enthält, wird jede Mikrotiterplatte in der gespiegelten Durchsicht beurteilt. Die Kavitäten waren bei negativem Bakterienwachstum homogen rötlich-braun und klar durchscheinend. Im Falle des Bakterienwachstums zeichnete sich die Kavität durch eine weiße, mehr oder weniger homogen grob- bis feinkörnige Trübung der schwach rötlich-braunen Kavität aus. Auf dem Dokumentationsbogen wurde jede Kavität, in der ein Wachstum zu verzeichnen war, bei der entsprechenden Konzentrationsstufe des Antibiotikums mit einem Kreuz gekennzeichnet. Der MHK-Wert des jeweiligen Isolates für das einzelne Antibiotikum war die Dilutionsstufe, die über der höchsten bewachsenen Konzentrationsstufe lag. Stämme, die ein resistentes Verhalten gegenüber einem Antibiotikum aufwiesen, wurden zur Bestätigung ein zweites Mal getestet.

4 Ergebnisse

Diese Studie diente der Empfindlichkeitsüberprüfung von 110 deutschen *R. equi*-Isolaten gegenüber verschiedenen zur Rhodokokkose-Therapie eingesetzten Antibiotika. Für die Einteilung der Fohlen in Gruppe 1 (gestütseigene Fohlen mit Lungenabszessen = Krank) und Gruppe 2 (gestütseigene, lungengesunde Fohlen = Gesund) wurden die Befunde der klinischen, hämatologischen, sonographischen und röntgenologischen Untersuchung zum Zeitpunkt der Probenentnahme berücksichtigt. Der Zeitraum der Probenentnahme bezog sich auf die Jahre 2006 und 2007. Die *R. equi*-Isolate, die nicht von diesem Gestüt stammten, wurden unabhängig vom Gesundheitszustand der Fohlen der Gruppe 3 (externe Isolate) zugeteilt. Zu diesen Isolaten gab es außer dem Entnahmejahr und der Art des Probenmaterials keine weiteren Angaben. Sie stammten aus den Jahren 1986 bis 2007.

4.1 Alter und Geschlecht der Fohlen

Bei der Entnahme des Tracheobronchialsekretes waren die Fohlen zwischen 23 und 102 Tage alt. Das Durchschnittsalter betrug 53 Tage. Die Geschlechterverteilung belief sich auf 31 Hengst- und 42 Stutfohlen (s. Tab. 2). Der Anteil der weiblichen Fohlen war mit 43% etwas niedriger, als der Anteil männlicher Fohlen mit 57%.

Tab. 2: Anzahl, Geschlecht und durchschnittliches Alter der Fohlen zum Zeitpunkt der endoskopischen Probenentnahme

	Anzahl der Fohlen	Geschlecht		mittleres Alter in Tagen (d)
		männlich	weiblich	
gestütseigene kranke Fohlen (Gruppe 1)	53	22	31	58,4 ± 15,4
gestütseigene, lungengesunde Fohlen (Gruppe 2)	20	9	11	37,9 ± 8,7
externe Isolate (Gruppe 3)	37	k.A.		k.A.

k.A.: keine Angaben

4.2 Ergebnisse der klinischen, hämatologischen und sonographischen Untersuchung

4.2.1 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Bei der klinischen Untersuchung der Fohlen im Jahr 2006 lag der klinische Score der Fohlen mit Lungenerkrankung (Gruppe 1) zum Zeitpunkt der Probenentnahme bei 2,0, so waren diese Fohlen im Mittel geringgradig klinisch erkrankt. Der klinische Score der gesunden Fohlen (Gruppe 2) lag bei 1,0 (s. Tab. 3).

Im Jahr 2007 betrug der klinische Score der lungenkranken Fohlen (Gruppe 1) bei der TBS-Entnahme ebenfalls 2,0. Somit waren diese Fohlen im Mittel auch geringgradig erkrankt. Der klinische Score der lungengesunden Fohlen (Gruppe 2) lag bei 1,0 (s. Tab. 3).

Tab. 3: Klinischer Score der Fohlen zum Zeitpunkt der Probenentnahme (Median; Q_{25%}-Q_{75%})

	2006	2007
Lungenkranke Fohlen (Gruppe 1)	2,0 (1,0 – 2,0)	2,0 (1,0 – 2,0)
Lungengesunde Fohlen (Gruppe 2)	1,0 (1,0 – 2,0)	1,0 (1,0 – 2,0)

Die kranken Fohlen zeigten signifikant mehr klinische Symptome einer Atemwegserkrankung als die gesunden Fohlen ($p=0,039$). Zwischen dem klinischen Score der Jahre 2006 und 2007 war kein signifikanter Unterschied festzustellen.

4.2.2 Blutleukozytenzahl

Die Anzahl der Blutleukozyten reichte 2006 bei den kranken Fohlen (Gruppe 1) von $4,6 \times 10^9/l$ bis $20,5 \times 10^9/l$ und bei den gesunden Fohlen (Gruppe 2) von $5,8 \times 10^9/l$ bis $8,5 \times 10^9/l$ (s. Tab. 4).

2007 reichte die Leukozytenzahl im Blut bei den kranken Fohlen (Gruppe 1) von $7,8 \times 10^9/l$ bis $24,2 \times 10^9/l$ und bei den gesunden Fohlen (Gruppe 2) von $5,1 \times 10^9/l$ bis $11,2 \times 10^9/l$ (s. Tab. 4).

Tab. 4: Blutleukozytenzahl zum Zeitpunkt der Probenentnahme (Mittelwerte und Standardabweichung)

	2006	2007
Lungenkranke Fohlen (Gruppe 1)	12,1 ± 4,3 x 10 ⁹ /l	15,9 ± 4,5 x 10 ⁹ /l
Lungengesunde Fohlen (Gruppe 2)	7,5 ± 0,9 x 10 ⁹ /l	8,3 ± 1,8 x 10 ⁹ /l

Die lungenkranken Fohlen zeigten eine signifikant höhere Leukozytenzahl als die gesunden Fohlen ($p=0,000002$). Im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 war innerhalb jeder Gruppe wiederum kein signifikanter Unterschied nachzuweisen.

4.2.3 Befunde der sonographischen Lungenuntersuchung

Da die gesunden Fohlen der Gruppe 2 nur dann zugeteilt wurden, wenn sonographisch und röntgenologisch keine Lungenabszesse darstellbar waren, werden hier nur die Ergebnisse der kranken Fohlen (Gruppe 1) betrachtet.

Lungenkranke Fohlen aus dem Jahr 2006 wiesen sonographisch 1 bis 19 Lungenabszesse auf. Im Mittel wurden $2,3 \pm 3,2$ Abszesse beobachtet. Der Abszess-Score (die Summe der Abszessdurchmesser in cm), anhand dessen der Schweregrad der Lungenveränderungen beurteilt werden kann, reichte von 1 bis 32 cm. Im Median lag der Abszess-Score bei 2,0 cm (unteres Quartil = 1,5 cm, oberes Quartil = 3,5 cm). Lungenkranke Fohlen aus dem Jahr 2007 wiesen sonographisch 1 bis 19 und im Mittel $5 \pm 4,6$ Lungenabszesse auf. Der Abszess-Score reichte von 1 bis 27 cm und betrug im Median 5,0 cm (unteres Quartil = 3,0 cm, oberes Quartil = 10,0 cm). Im Jahr 2007 waren die Abszessanzahl und der Abszess-Score der erkrankten Fohlen signifikant größer als im Jahr 2006 (Abszessanzahl $p=0,0006$; Abszess-Score $p=0,002$).

4.3 Nachweis von *R. equi* aus dem Probenmaterial

Bei den 73 Proben der gesunden und kranken Fohlen handelte es sich um Tracheobronchialsekret, aus dem *R. equi* nachgewiesen wurde. Die Menge der

koloniebildenden Einheiten (kbE) wurde in gering-, mittel- und hochgradig eingeteilt. Der Keimgehalt in den Jahren 2006 und 2007 innerhalb der Gruppen 1 und 2 ist in Abb. 1 dargestellt.

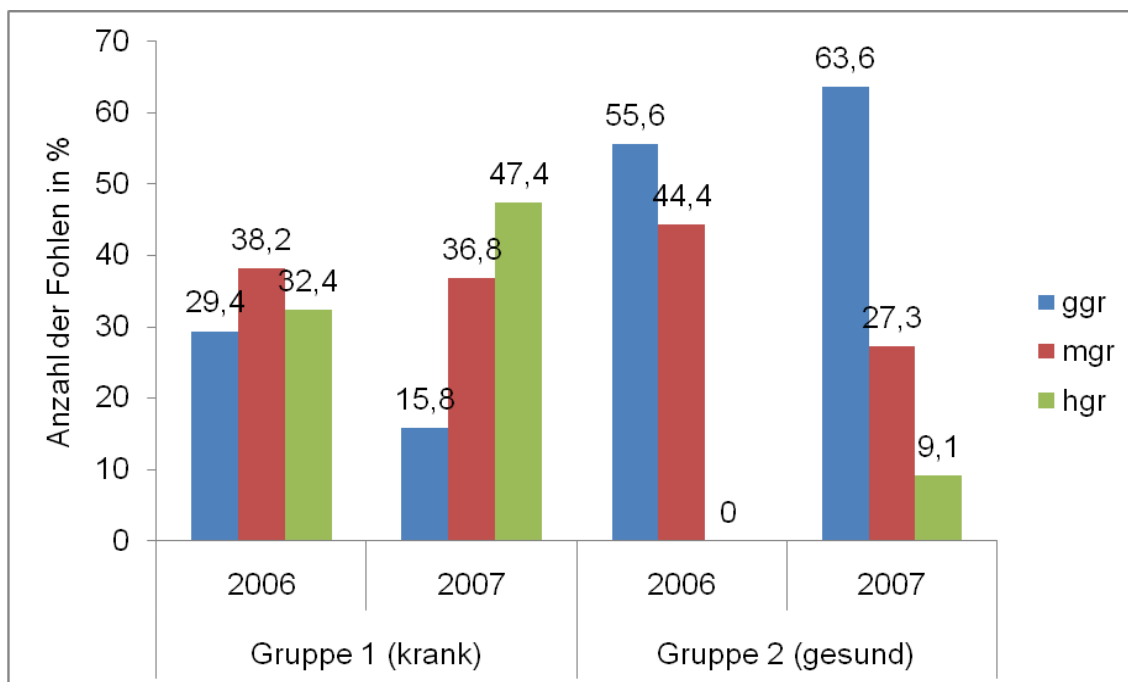


Abb. 1: Keimgehalt von *R. equi* im Tracheobronchialsekret bei den kranken (Gruppe 1: n = 53) und gesunden (Gruppe 2: n = 20) Fohlen

Von den 53 Proben der lungenkranken Fohlen (Gruppe 1) wiesen insgesamt rund 25% der Proben einen geringgradigen und jeweils 38% einen mittel- oder hochgradigen Keimgehalt auf. Bei den 20 Proben der lungengesunden Fohlen (Gruppe 2) war der Anteil der Proben mit geringgradigem Keimgehalt mit 60% deutlich höher als bei den kranken Fohlen (siehe Abb. 1). Die Proben der lungenkranken Fohlen (Gruppe 1) wiesen einen signifikant höheren Keimgehaltsgrad an *R. equi*, als die Proben der lungengesunden Fohlen (Gruppe 2) auf ($p=0,001$). Zwischen den Jahren 2006 und 2007 war der Keimgehalt der Proben nicht unterschiedlich ($p=0,6$).

Die 37 von extern eingesandten *R. equi*-Isolate wurden mittels PCR als *R. equi* identifiziert. Das Probenmaterial setzte sich aus Tracheobronchialsekret (n = 5), Kot (n = 5), Synovia (n = 1), Nasensekret (n = 1), Abszess- und Organabstrichen (n = 9) zusammen.

4.4 Empfindlichkeitsbestimmung von *Rhodococcus equi*

Die MHK ist in einer Verdünnungsreihe, wie sie beim Mikrodilutionsverfahren eingesetzt wird, die Konzentrationsstufe eines Antibiotikums, bei der es zu keinem bakteriellen Wachstum mehr kommt. Der MHK-Wert wird in Mikrogramm pro Milliliter ($\mu\text{g/ml}$) angegeben. Der MHK_{50} und der MHK_{90} sind die niedrigste Konzentration einer Substanz, die die Vermehrung von mindestens 50 bzw. 90 % der getesteten Stämme hemmt.

4.4.1 MHK-Werte des Kontrollstamms *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213

Der zur Qualitätssicherung des Mikrodilutionsverfahrens dienende Kontrollstamm *Staph. aureus* ATCC® 29213 der American Type Culture Collection (ATCC) wies bei allen Untersuchungen MHK-Werte gegenüber den untersuchten Antibiotika auf, die innerhalb der im CLSI-Dokument M31-A2 (2002) für diesen Stamm erlaubten Spannweite lagen. Die Ergebnisse für den Kontrollstamm sind der Tab. 5 zu entnehmen. Für Tulathromycin lag bisher kein vom ATCC festgelegter Wert vor. Die in dieser Studie erhaltenen Ergebnisse erfüllen somit die Anforderungen, die international anerkannten Richtlinien nach gefordert werden.

Tab. 5: MHK-Werte von *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213

Antibiotikum	erlaubter MHK-Bereich (µg/ml) gemäß NCCLS M31-A2	gemessene MHK-Werte (µg/ml)
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	≤0,5/9,5	≤ 0,03/0,6 - 0,06/1,2
Gentamicin	0,12 – 1	0,25 - 0,5
Rifampicin	0,004 - 0,016	≤ 0,03
Tulathromycin	k.A.	32 - 64
Azithromycin	0,5 – 2	2
Telithromycin	0,06 - 0,25	0,06
Clarithromycin	0,12 - 0,5	0,25 - 0,5
Erythromycin	0,25 – 1	0,25

(k.A. = keine Angaben)

4.4.2 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber der Antibiotikakombination Trimethoprim-Sulfamethoxazol (im Verhältnis 1:19) reichten von 0,12/2,3 µg/ml bis 0,5/9,5 µg/ml (s. Abb. 2).

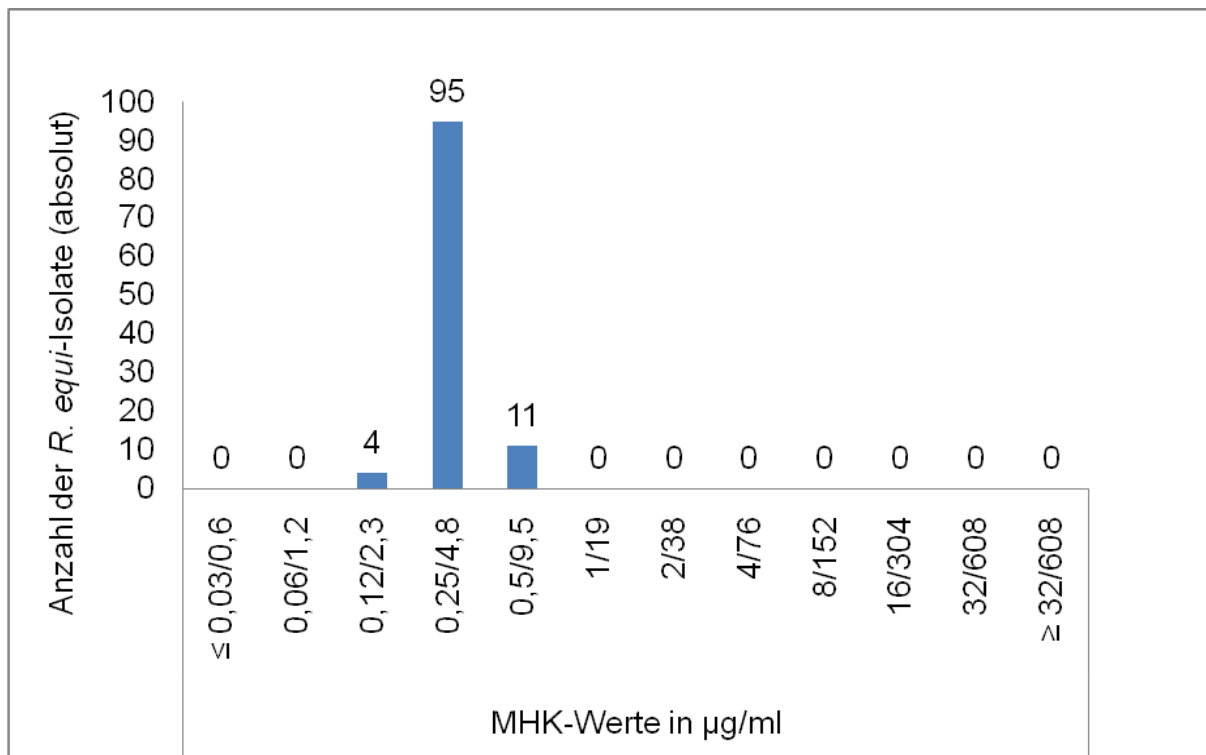


Abb. 2: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)

Der MHK-Wert von *R. equi* gegenüber TMS war sowohl zwischen den kranken (Gruppe 1) und den gesunden Fohlen (Gruppe 2), als auch zwischen den Gruppen 1 und 2 im Vergleich zu den externen Isolaten (Gruppe 3) nicht unterschiedlich (Einzelwerte s. Anhang). Auch zwischen den Jahren 2006 und 2007 unterschieden sich die MHK-Werte von *R. equi* gegenüber TMS nicht.

Prozentual gesehen wiesen 86 % der Isolate einen MHK-Wert von 0,25/4,8 µg/ml, 10 % von 0,5/9,5 µg/ml und 3,6 % von 0,12/2,3 µg/ml auf.

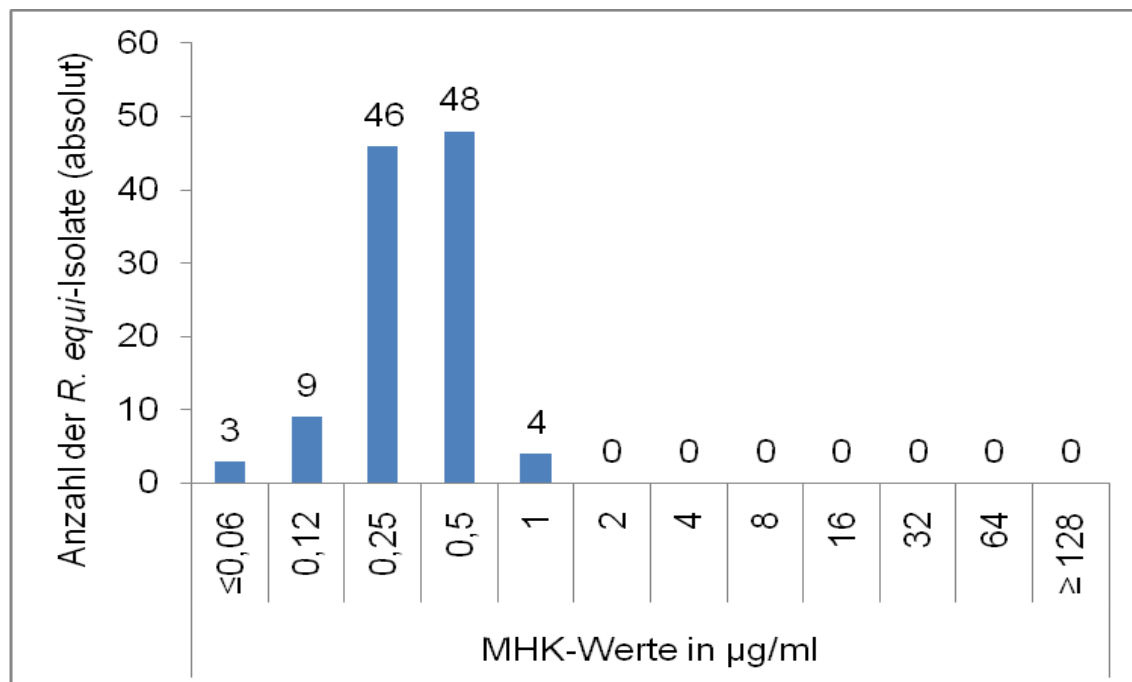
MHK₅₀ und MHK₉₀ –Werte der *R. equi*-Isolate gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol aus den gesunden und den kranken Fohlen aus 2006 und 2007 und bei den externen Isolaten (Gruppe 3) sind in Tab. 6 dargestellt.

Tab. 6: MHK₅₀ und MHK₉₀-Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Trimethoprim-Sulfamethoxazol

	MHK ₅₀ in µg/ml	MHK ₉₀ in µg/ml
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	0,25/4,8	0,25/4,8
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	0,25/4,8	0,25/4,8
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	0,25/4,8	0,25/4,8
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=11)	0,25/4,8	0,25/4,8
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	0,25/4,8	0,5/9,5

4.4.3 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Gentamicin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Gentamicin reichten von $\leq 0,06$ µg/ml bis 1 µg/ml (s. Abb. 3).

Abb. 3: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Gentamicin

Die *R. equi*-Isolate aus lungengesunden Fohlen (Gruppe 2) wiesen signifikant höhere MHK-Werte gegenüber Gentamicin auf als die Isolate der lungenkranken Fohlen (Gruppe 1) ($p=0,01$; s. Abb. 4). Dies spiegelt sich vor allem im MHK₅₀ (s. Tab. 7)

wieder. Im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 lag kein signifikanter Unterschied vor. Die MHK-Werte der *R. equi*-Isolate für Gentamicin aus den lungenkranken und lungengesunden Fohlen waren signifikant höher, als die MHK-Werte der externen Isolate (Gruppe 3) ($p=0,01$, s. Abb. 4).

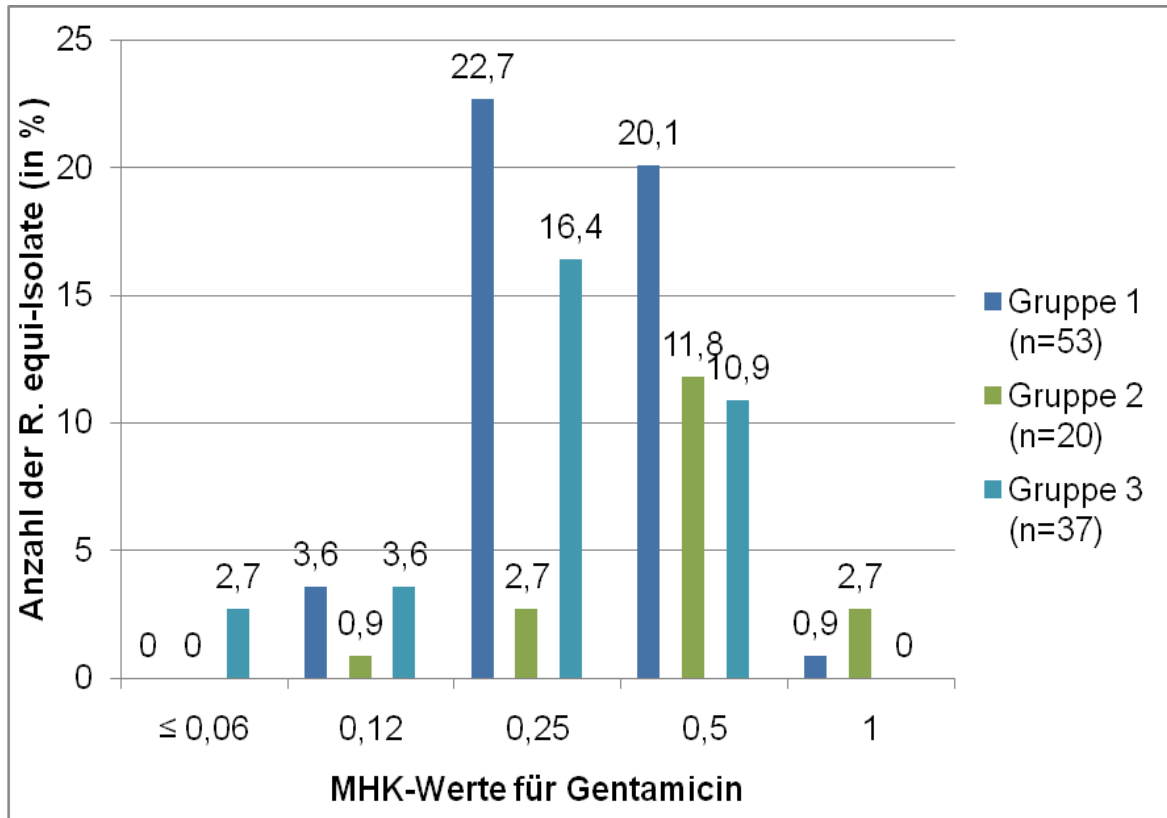


Abb. 4: MHK-Werte von *R. equi* für Gentamicin der kranken (Gruppe 1) und gesunden (Gruppe 2) Fohlen und der externen Isolate (Gruppe 3)

Prozentual gesehen wiesen 43,6 % der Isolate einen MHK-Wert von 0,5 µg/ml, 41,8 % von 0,25 µg/ml, 8,1 % von 0,12 µg/ml, 3,6 % von 1 µg/ml und 2,7 % von ≤ 0,06 µg/ml auf.

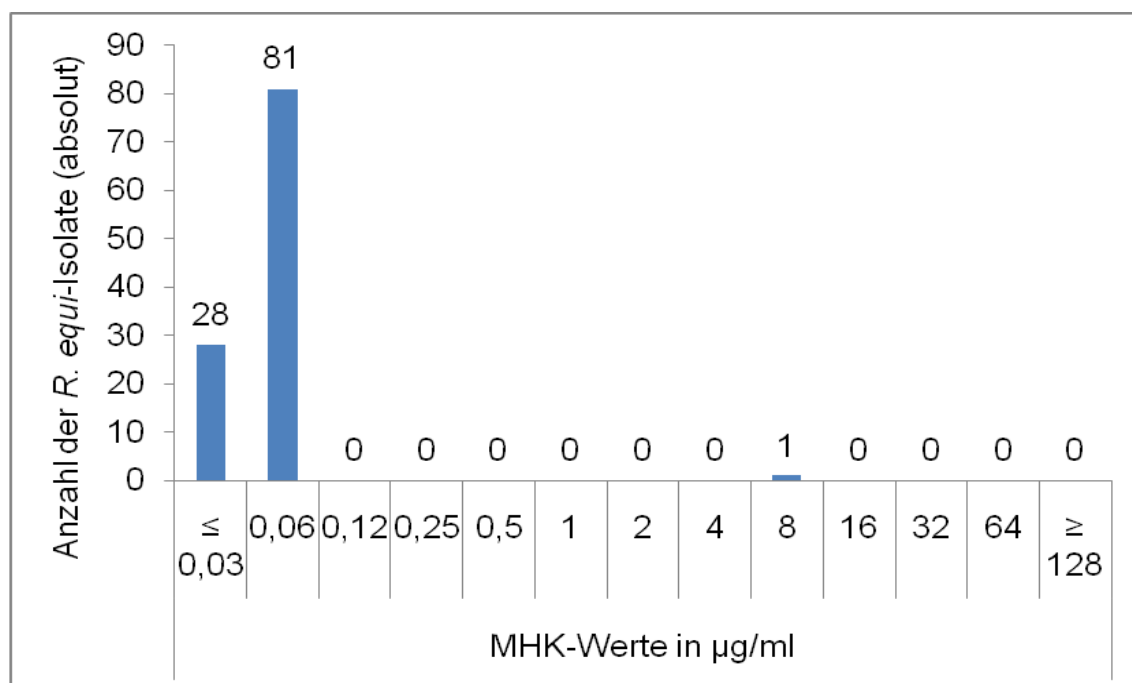
Die MHK_{50} und MHK_{90} sind in Tab. 7 angegeben.

Tab. 7: MHK₅₀ und MHK₉₀-Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Gentamicin

	MHK ₅₀ in µg/ml	MHK ₉₀ in µg/ml
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	0,25	0,5
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	0,25	0,5
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	0,5	0,5
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=11)	0,5	1
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	0,25	0,5

4.4.4 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Rifampicin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Rifampicin befanden sich zu 99 % im Bereich zwischen $\leq 0,03$ µg/ml und $0,06$ µg/ml (s. Abb. 5). Eines der externen Isolate (Gruppe 3) zeigte einen vergleichsweise hohen MHK-Wert von 8 µg/ml. In einer Wiederholungsuntersuchung dieses Isolates wurde der Wert erneut bestätigt.

Abb. 5: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Rifampicin

Sowohl zwischen den Isolaten aus den kranken und gesunden Fohlen und den

externen Isolate, als auch im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 wurde kein Unterschied der MHK-Werte von *R. equi* gegenüber Rifampicin festgestellt.

Prozentual gesehen wiesen 73,6 % der Isolate einen MHK-Wert von $\leq 0,03 \mu\text{g/ml}$, 25,5 % von $0,06 \mu\text{g/ml}$ und 0,9% von $8 \mu\text{g/ml}$ auf.

Der MHK_{50} und der MHK_{90} der kranken Fohlen (Gruppe 1) in 2006 und 2007, der gesunden Fohlen (Gruppe 2) in 2006 und 2007, und der externen Isolate (Gruppe 3) betragen bei Rifampicin konstant $0,06 \mu\text{g/ml}$.

4.4.5 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Tulathromycin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Tulathromycin reichten zu 99 % von $32 \mu\text{g/ml}$ bis $\geq 128 \mu\text{g/ml}$. Der MHK-Wert eines externen Isolates (Gruppe 3) lag bei $16 \mu\text{g/ml}$ (s. Abb. 6).

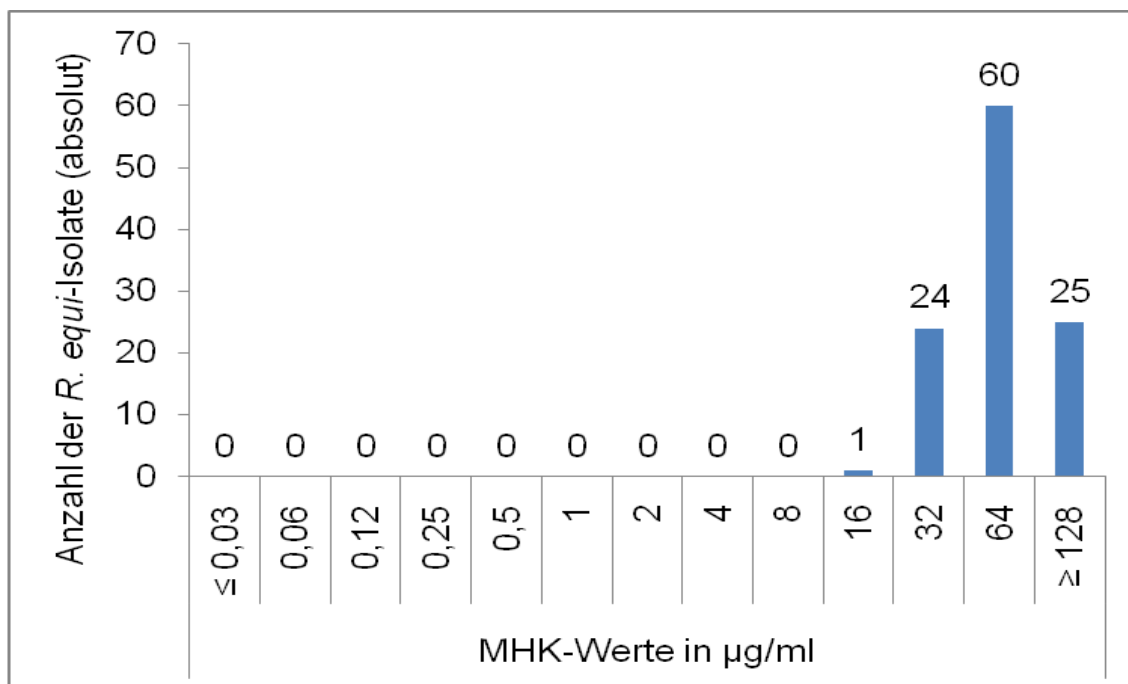


Abb. 6: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Tulathromycin

Die MHK-Werte der *R. equi*-Isolate gegenüber Tulathromycin aus dem Jahr 2006 waren signifikant höher als die MHK-Werte der Isolate aus dem Jahr 2007 ($p=0,02$, s. Abb. 7). Signifikante Unterschiede zwischen den kranken (Gruppe 1) und gesunden Fohlen (Gruppe 2) und zwischen den Gruppen 1/2 und den externen Isolate (Gruppe 3) gab es nicht.

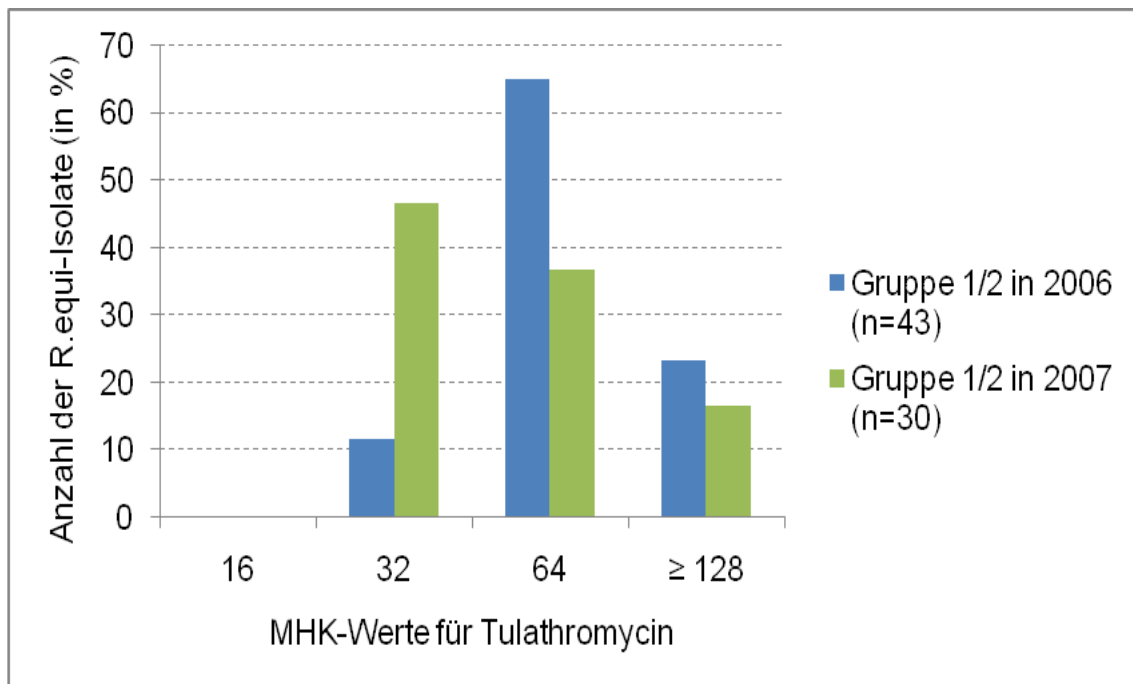


Abb. 7: MHK-Werte von *R. equi* für Tulathromycin der kranken (Gruppe 1) und gesunden (Gruppe 2) Fohlen im Vergleich der Jahre 2006 und 2007

Prozentual wiesen 0,9% der *R. equi*-Isolate gegenüber Tulathromycin einen MHK-Wert von 16 µg/ml, 21,8% von 32 µg/ml, 54,5% von 64 µg/ml und 22,7% von ≥ 128 µg/ml auf.

MHK₅₀ und MHK₉₀ -Werte der *R. equi*-Isolate gegenüber Tulathromycin aus den gesunden und den kranken Fohlen aus 2006 und 2007 und bei den externen Isolaten (Gruppe 3) sind in Tab. 8 dargestellt.

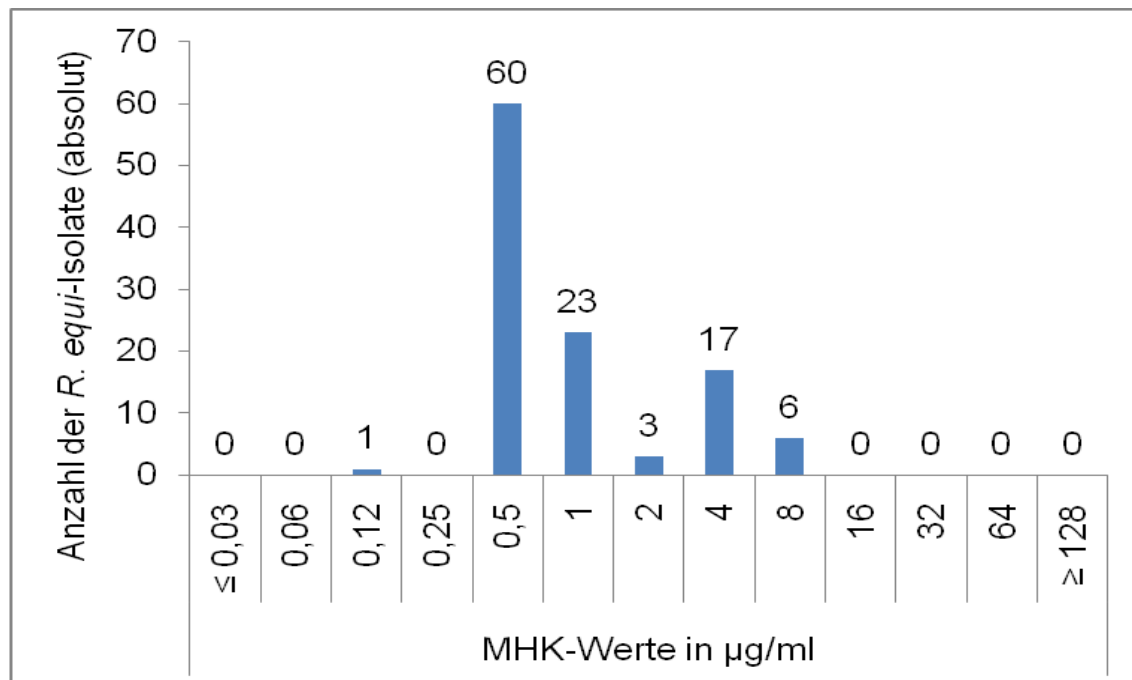
Tab. 8: MHK₅₀ und MHK₉₀-Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Tulathromycin

	MHK ₅₀ in µg/ml	MHK ₉₀ in µg/ml
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	64	≥128
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	32	≥128
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	64	≥128
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=11)	64	≥128
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	64	≥128

4.4.6 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Azithromycin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Azithromycin reichten zu 99 % von 0,5 µg/ml bis 8 µg/ml.

Der MHK-Wert eines externen Isolates (Gruppe 3) lag bei 0,12 µg/ml (s. Abb. 8).

Abb. 8: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Azithromycin

Sowohl zwischen den Isolaten aus den kranken und gesunden Fohlen und den externen Isolaten, als auch im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 wurde kein Unterschied der MHK-Werte von *R. equi* gegenüber Azithromycin festgestellt.

Prozentual gesehen wiesen 54,5 % der Isolate einen MHK-Wert von 0,5 µg/ml, 20,9 % von 1 µg/ml, 15,5 % von 4 µg/ml, 5,5 % von 8 µg/ml, 2,7 % von 2 µg/ml und 0,9% von 0,12 µg/ml auf.

MHK₅₀ und MHK₉₀ –Werte der *R. equi*-Isolate gegenüber Azithromycin aus den gesunden und den kranken Fohlen aus 2006 und 2007 und bei den externen Isolaten (Gruppe 3) sind in Tab. 9 dargestellt.

Tab. 9: MHK₅₀ und MHK₉₀-Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Azithromycin

	MHK ₅₀ in µg/ml	MHK ₉₀ in µg/ml
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	0,5	4
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	0,5	4
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	1	8
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=1)	1	4
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	0,5	4

4.4.7 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Telithromycin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Telithromycin reichten von ≤ 0,03 µg/ml bis 0,25 µg/ml (s. Abb 9).

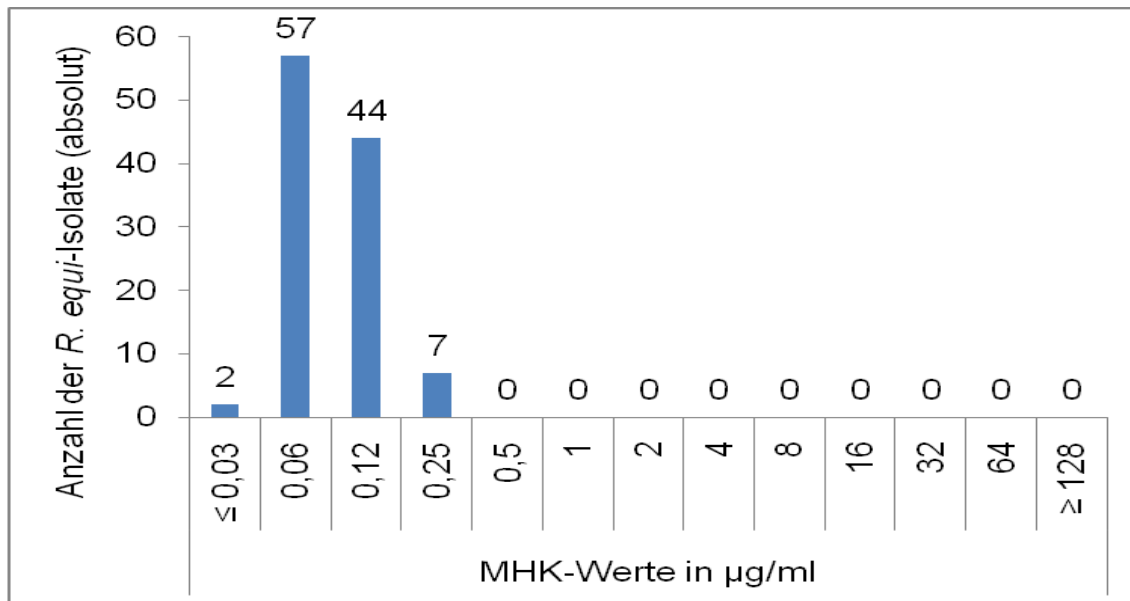


Abb. 9: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Telithromycin

Sowohl zwischen den Isolaten aus den kranken und gesunden Fohlen und den externen Isolaten als auch im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 wurde kein Unterschied der MHK-Werte von *R. equi* gegenüber Telithromycin festgestellt.

Prozentual gesehen wiesen 51,8 % der Isolate einen MHK-Wert von 0,06 µg/ml, 40 % von 0,12 µg/ml, 6,4 % von 0,25 µg/ml und 1,8 % von ≤ 0,03 µg/ml auf.

MHK₅₀ und MHK₉₀ –Werte der *R. equi*-Isolate gegenüber Telithromycin aus den gesunden und den kranken Fohlen aus 2006 und 2007 und bei den externen Isolaten (Gruppe 3) sind in Tab. 10 dargestellt.

Tab. 10: MHK₅₀ und MHK₉₀-Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Telithromycin

	MHK ₅₀ in µg/ml	MHK ₉₀ in µg/ml
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	0,06	0,12
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	0,06	0,12
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	0,06	0,25
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=11)	0,06	0,12
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	0,12	0,25

4.4.8 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Clarithromycin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Clarithromycin reichten von $\leq 0,03 \mu\text{g/ml}$ bis $0,25 \mu\text{g/ml}$ (s. Abb. 10).

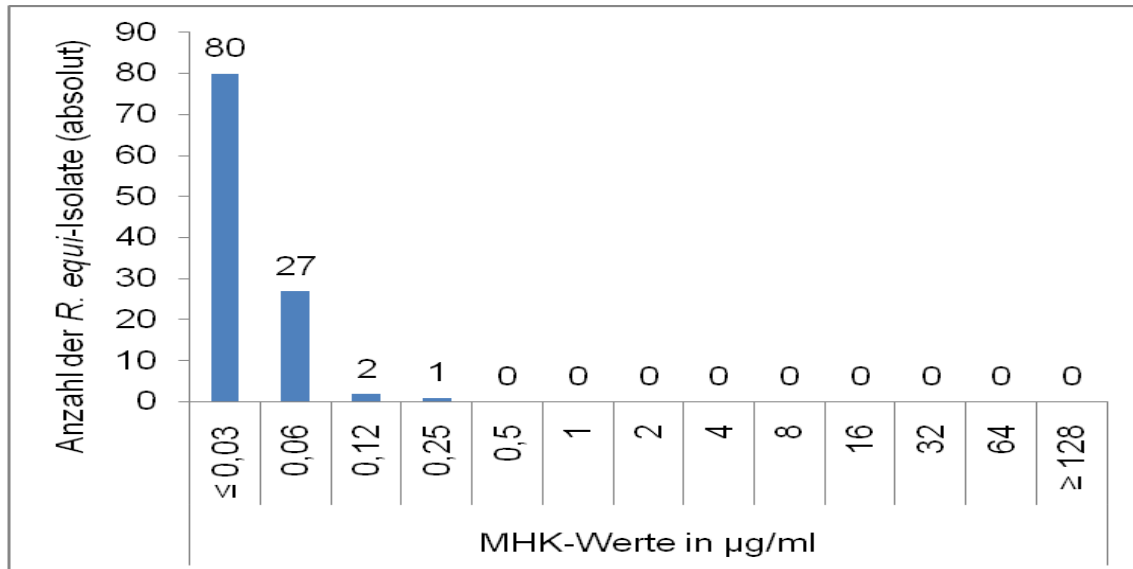


Abb. 10: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Clarithromycin

Sowohl zwischen den Isolaten aus den kranken und gesunden Fohlen und den externen Isolaten, als auch im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 wurde kein Unterschied der MHK-Werte von *R. equi* gegenüber Clarithromycin festgestellt.

Prozentual gesehen wiesen 72,7 % der Isolate einen MHK-Wert von $\leq 0,03 \mu\text{g/ml}$, 24,5 % von $0,06 \mu\text{g/ml}$, 1,8 % von $0,12 \mu\text{g/ml}$ und 0,9 % von $0,25 \mu\text{g/ml}$ auf (s. Tab. 11).

Tab. 11: MHK_{50} und MHK_{90} -Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Clarithromycin

	MHK_{50} in $\mu\text{g/ml}$	MHK_{90} in $\mu\text{g/ml}$
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	$\leq 0,03$	0,06
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	$\leq 0,03$	0,06
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	0,06	0,12
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=11)	$\leq 0,03$	0,06
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	$\leq 0,03$	0,06

4.4.9 MHK-Werte von *Rhodococcus equi* gegenüber Erythromycin

Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Erythromycin reichten von 0,06 µg/ml bis 0,5 µg/ml (s. Abb. 12).

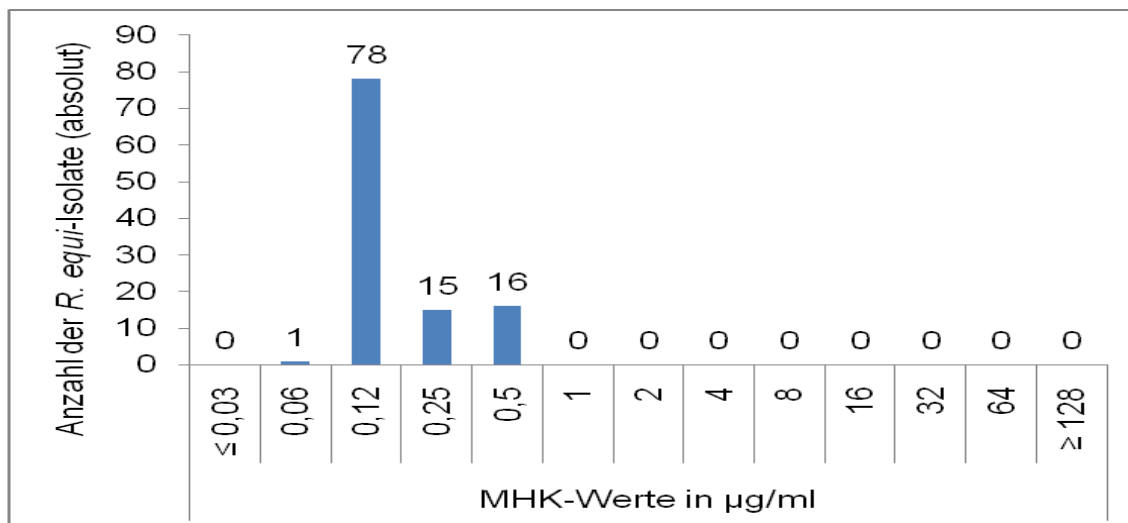


Abb. 11: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate (n = 110) gegenüber Erythromycin

Sowohl zwischen den Isolaten aus den kranken und gesunden Fohlen und den externen Isolaten als auch im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 wurde kein Unterschied der MHK-Werte von *R. equi* gegenüber Erythromycin festgestellt.

Prozentual wiesen 70,9 % der Isolate einen MHK-Wert von 0,12 µg/ml, 14,5 % von 0,5 µg/ml, 13,6 % von 0,25 µg/ml und 0,9 % von 0,06 µg/ml auf (s. Tab. 12).

Tab. 12: MHK₅₀ und MHK₉₀-Werte der 110 *R. equi*-Isolate für Erythromycin

	MHK ₅₀ in µg/ml	MHK ₉₀ in µg/ml
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2006 (n=34)	0,12	0,5
Kranke Fohlen (Gruppe 1) 2007 (n=19)	0,12	0,25
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2006 (n=9)	0,12	0,5
Gesunde Fohlen (Gruppe 2) 2007 (n=11)	0,12	0,25
Externe Isolate (Gruppe 3) (n=37)	0,12	0,5

5 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war, die aktuelle Situation der Antibiotika-Resistenz von *R. equi* aus lungengesunden und lungenkranken Fohlen gegenüber acht ausgewählten Antibiotika innerhalb eines Pferdezuchtbetriebes in Deutschland aus den Jahren 2006 und 2007 darzustellen. Zum Vergleich wurden auch *R. equi*-Isolate aus Fohlen anderer Regionen Deutschlands untersucht.

5.1 Probanden

Die in der Studie untersuchten *R. equi*-Isolate stammen alle aus dem TBS von lungenkranken und von lungengesunden Fohlen, die auf einem Gestüt in der Fohlensaison 2006 und 2007 gewonnen wurden. Es ist deshalb davon auszugehen, dass der Infektionsdruck durch *R. equi* für alle Fohlen ähnlich war. Die Entnahme des TBS erfolgte zwischen Mai und Oktober 2006 bzw. 2007, so dass die jahreszeitlichen Unterschiede keinen Einfluss auf die Ergebnisse nehmen dürften. Zu den externen Isolaten sind, abgesehen von Probenmaterial und Entnahmejahr (1986 bis 2007), keine weiteren Angaben vorhanden.

Zum Zeitpunkt der Probenentnahme waren die kranken Fohlen im Mittel 58 ± 15 Tage und die gesunden Fohlen im Mittel 38 ± 9 Tage alt. Das Erkrankungsalter der Fohlen der Gruppe 1 stimmt somit mit den Angaben von AINSWORTH (1999) und GIGUÈRE und PRESCOTT (1997) überein, die angeben, dass Fohlen im Alter zwischen einem und sechs Monaten an der *R. equi*-Pneumonie erkranken. Hinsichtlich der Verteilung des Geschlechts der Fohlen der Gruppen 1 und 2 wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Der Lungenstatus der Fohlen wurde mittels einer transkutanen, sonographischen Untersuchung der Lunge erhoben. Pleuranahe Abszesse oder pneumonieverdächtige Bereiche ließen sich darüber sehr gut darstellen (COHEN et al. 2000; ALTHAUS 2004). Das Vorliegen von pleurafernen Lungenabszessen bei den lungengesunden Fohlen wurde durch das Anfertigen von zwei Röntgenbildern der Lunge ausgeschlossen.

5.2 Keimgehalt der entnommenen TBS-Proben

Die Proben der lungenkranken Fohlen wiesen einen signifikant höheren Keimgehaltsgrad an *R. equi* als die Proben der lungengesunden Fohlen auf. Dies bestätigt, dass an *R. equi*-Pneumonie erkrankte Fohlen in höherem Maße *R. equi* ausscheiden und somit als massive Infektionsquelle angesehen werden müssen. Eine Besiedelung der Atemwege bei lungengesunden Fohlen scheint mittlerweile eine größere Rolle zu spielen. Solche positiven Befunde lassen sich damit erklären, dass die Fohlen den Erreger über kontaminierten Staub in die Atemwege aufnehmen können. Möglicherweise also stammt der nachgewiesene *R. equi* nicht aus der Lunge, sondern aus der eben eingeatmeten und kontaminierten Luft. (BARTON u. HUGHES 1980; MUSCATELLO et al. 2006b). Möglicherweise haben sich auch die Fohlen kurz vor der Probenentnahme infiziert und klinische Symptome sind jedoch erst viel später aufgetreten.

5.3 *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*

Bisher wurde in Deutschland nur eine Untersuchung zur Antibiotika-Resistenz von *R. equi* beim Fohlen durchgeführt (ROTHHAAR 2006). Die Proben stammten aus demselben Gestüt wie ein Teil unserer Isolate. Die Untersuchungsmethoden waren identisch. Es wurde das Mikrodilutionsverfahren, nach den Vorschriften des CLSI-Dokumentes M31-A2 (2001), angewendet. Somit entspricht das gewählte Verfahren dem höchsten Qualitätsstandard und außerdem erlaubt außerdem den Vergleich der hier erhaltenen Ergebnisse mit anderen Studien. In anderen zum Vergleich herangezogene Studien (CARLSON et al. 2010; GIGUÈRE et al. 2010) wurde ebenfalls das Mikrodilutionsverfahren verwendet. JAVSICAS et al. (2010) wendeten das Makrodilutionsverfahren nach den Vorschriften des CLSI (2008 u. 2009) an.

5.3.1 Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)

Trimethoprim-Sulfamethoxazol wird in Deutschland nach wie vor zur antimikrobiellen Therapie beim Fohlen eingesetzt. Auf dem Gestüt wird es vor allem bei erhöhten Blutleukozytenwerten ($\geq 18.000/\mu\text{l}$) der Fohlen, aber auch ergänzend bei der interstitiellen Pneumonie des Fohlens eingesetzt. Die in dieser Studie ermittelten

MHK-Werte aller 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19) befinden sich im von ROTHHAAR (2006) und CARLSON (2010) angegebenen Bereich (s. Tab. 13). Man kann in der Studie von CARLSON (2010) am Verhalten der Makrolid-resistenten *R. equi*-Isolate aber bereits eine Erhöhung von MHK_{50} und MHK_{90} und somit das Risiko einer Resistenzentwicklung erkennen.

Tab. 13: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	MHK_{90} ($\mu\text{g/ml}$)
ROTHHAAR (2006) n = 127	0,25/4,8 – 2/38	1/19	2/38
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	$\leq 0,12/2,3 - \geq 4/76$	1/19	4/76
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	0,5/9,5 - $\geq 4/76$	$\geq 4/76$	$\geq 4/76$
Eigene Studie n = 110	0,12/2,3 - 0,5/9,5	0,25/4,8	0,25/4,8 ³ 0,5/9,5 ⁴

¹ Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

³ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken und lungengesunden Fohlen (n = 73)

⁴ *R. equi*-Isolate aus externen Fohlen (n = 37)

Der kleine Unterschied beim MHK_{90} bei den externen *R. equi*-Isolaten der Gruppe 3 von nur einer Dilutionsstufe ist nicht von Bedeutung. Somit ist trotz des jahrelangen Einsatzes dieses Antibiotikums innerhalb des Gestütes und der deutschen Pferdepopulation keine Resistenzentwicklung von *R. equi* erkennbar. Die hier ermittelten MHK_{50} und MHK_{90} liegen sogar unter den von ROTHHAAR (2006) angegebenen Werten. In der Therapie der *R. equi*-Pneumonie sollte diese Antibiotika-Kombination aufgrund der geringen Aktivität in verkästem Material sowie gegen intrazelluläre Erreger und vorhandener Alternativen nicht eingesetzt werden (GIGUÈRE u. PRESCOTT 1997).

5.3.2 Gentamicin

Gentamicin wird auf dem Gestüt zur Therapie von bakteriellen Erkrankungen der Fohlen, nicht aber der *R. equi*-Pneumonie eingesetzt. Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Gentamicin liegen alle im Bereich der Vergleichsstudien (s. Tab. 14).

Tab. 14: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Gentamicin

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ROTHHAAR (2006) n = 127	0,12 - 1	0,25	0,5
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	$\leq 0,25$ - 2	0,5	1
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	0,5 - 2	1	1
Eigene Studie n = 110	0,6 - 1	0,25 ³ 0,5 ⁴	0,5 ³ 1 ⁴

¹ Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

³ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken und externen Fohlen (n = 90)

⁴ *R. equi*-Isolate aus lungengesunden Fohlen (n = 20)

Die *R. equi*-Isolate aus lungengesunden Fohlen wiesen signifikant höhere MHK-Werte gegenüber Gentamicin auf als die Isolate der lungenkranken Fohlen. Die MHK-Werte der *R. equi*-Isolate für Gentamicin aus den lungenkranken und lungengesunden Fohlen waren signifikant höher als die MHK-Werte der externen Isolate. Da sich aber alle MHK-Werte im Wirkungsbereich befinden und Unterschiede von einer Dilutionsstufe zu vernachlässigen sind (ROTHHAAR 2006), scheint dies keine Bedeutung bezüglich einer Resistenzentwicklung zu haben.

Gentamicin ist zwar *in vitro* gegen *R. equi* wirksam, *in vivo* zeigt es jedoch keine gute klinische Wirksamkeit auf Grund unzureichender Abszesspenetration (LARSON 1980; SWEENEY et al. 1987). Der Einsatz zur Therapie der *R. equi*-Pneumonie ist damit hinfällig.

5.3.3 Rifampicin

Rifampicin ist in Kombination mit den Makrolid-Antibiotika der Wirkstoff der Wahl zur Therapie der *R. equi*-Erkrankung beim Fohlen. Die MHK-Werte von 109 *R. equi*-Isolaten gegenüber Rifampicin befanden sich alle im Bereich der Vergleichsstudien (s. Tab. 15). Ab einer MHK $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ sprechen CARLSON et al. (2010) und GIGUÈRE et al. (2010) von einer Rifampicin-Resistenz. Dies führt zum Ausbleiben eines Therapieerfolges und somit zu einer deutlich erhöhten Mortalitätsrate erkrankter Fohlen.

Tab. 15: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Rifampicin

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ROTHHAAR (2006) n = 127	$\leq 0,03 - 0,06$	0,06	0,06
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	$\leq 0,5 - \geq 8$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	$\leq 0,5 - \geq 8$	≥ 8	≥ 8
Eigene Studie n = 110	$\leq 0,03 - 8$	0,06	0,06

¹ Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

Ein externes Isolat ist mit einer MHK von $8 \mu\text{g/ml}$ als resistent einzustufen. MUTSCHLER et al. (2001) ordneten das Resistenzmuster von Bakterien gegenüber Rifampicin dem Streptomycin-Typ zu. Dies bedeutet, dass es bereits nach ein- bis viermaliger Exposition zur Resistenzselektion kommt. Mutationen des *rpoB*-Gens (RNA-Polymerase β) und das Vorhandensein des *iri*-Gens (inactivation of rifampin) sind mögliche molekulare Mechanismen der Resistenzselektion (ANDERSEN et al. 1997; FINES et al. 2001; ASOH et al. 2003). Worauf die Resistenz dieses einzelnen Isolates beruht, bleibt ungeklärt. Sie sollte aber Anlass zu regelmäßigen Kontrolluntersuchungen geben, um Veränderungen in der Häufigkeit des Auftretens Rifampicin-resistenter *R. equi*-Isolate rechtzeitig aufzuspüren. Ein Ausbleiben der Wirksamkeit dieses Antibiotikums ist in der Behandlung der Rhodokokkose beim

Fohlen nicht zu ersetzen und würde zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten in der Pferdezucht führen.

5.3.4 Tulathromycin

Tulathromycin wurde in Deutschland bisher noch nicht auf die *in vitro*-Wirksamkeit gegenüber *R. equi* getestet. *In vivo* konnte KERTH (2005) die Eignung von Tulathromycin zur Therapie der *R. equi* Pneumonie beim Fohlen nachweisen. Seitdem wird sowohl auf dem Gestüt, als auch deutschlandweit vermehrt Tulathromycin zur Therapie der Rhodokokkose eingesetzt. Die in der vorliegenden Studie ermittelten MHK (s. Tab. 16) liegen mit einer MHK_{50} von 64 $\mu\text{g/ml}$ und einer MHK_{90} von $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ im Vergleich zu anderen Makroliden deutlich höher. CARLSON et al. (2010), die zum ersten Mal MHK-Werte von Tulathromycin publizierten, erhielten in ihrer Untersuchung ebenfalls eine MHK_{50} und eine MHK_{90} von $\geq 64 \mu\text{g/ml}$. Die Autoren gehen davon aus, dass Tulathromycin sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* gegenüber *R. equi* nicht wirksam ist. Die klinische Wirksamkeit in der Arbeit von KERTH (2005) führen sie auf Infektionen mit anderen Erregern oder spontane Remission der Lungenabszesse zurück. Die bisher veröffentlichten MHK-Werte liegen mehr als 100-fach über den in Serum und bronchoalveolären Zellen erreichbaren Tulathromycin-Konzentrationen (HÖHENSTEIGER 2005 und SCHEUCH et al. 2007). Tulathromycin kumuliert in Leukozyten und Makrophagen, was zu einer vier- bis fünffachen Erhöhung der Wirkstoffkonzentration am Ort der Infektion führt (TRAEDER und GROTHUES 2004). Diese Erhöhung würde zum Erreichen notwendiger Wirkspiegel nicht ausreichen. Es werden ähnliche zugrundeliegende Resistenzmechanismen wie bei den anderen Makroliden vermutet (CARLSON et al. 2010). Als wichtiger Faktor muss berücksichtigt werden, dass die Wirksamkeit von Tulathromycin vom pH-Wert des Mediums beeinflusst wird (NORCIA et al. 2004). Im alkalischen Bereich (pH 8,0) kann es zu einem starken Abfall der MHK gegenüber Tulathromycin kommen. So könnten chemische Eigenschaften des entzündeten Gewebe den pH-Wert und die intrazelluläre Flüssigkeit verändern und somit möglicherweise die Wirkung von Tulathromycin maßgeblich positiv beeinflussen (EVANS 2005). Es ist fraglich, ob die *in vitro*-Untersuchung mit der Mikrodilution zur Resistenzprüfung geeignet ist. Sinnvoll wäre

eine erneute klinische Überprüfung der Wirksamkeit von Tulathromycin bei der Therapie der *R. equi*-Pneumonie oder eine Überprüfung des Testverfahrens.

Tab. 16: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Tulathromycin

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	32 - \geq 64	\geq 64	\geq 64
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	\geq 64	\geq 64	\geq 64
Eigene Studie n = 110	16 - \geq 128	64	\geq 128

¹ Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

5.3.5 Azithromycin

Azithromycin wird in Kombination mit Rifampicin seit mehreren Jahren erfolgreich zur Therapie der *R. equi*-Pneumonie eingesetzt (JACKS et al. 2001; PILTZ 2004). Die MHK-Werte der 110 *R. equi*-Isolate gegenüber Azithromycin reichten von 0,12 bis 8 $\mu\text{g/ml}$ (s. Tab. 17). Die Makrolid-resistenten Isolate aus der Studie von CARLSON et al. (2010) wiesen alle eine MHK von $> 4 \mu\text{g/ml}$ auf. Schon bei ROTHHAAR (2006) wurde eine MHK₉₀ von 4 $\mu\text{g/ml}$ ermittelt. Hier liegt die MHK₉₀ bei den Isolaten der Gruppe 2 aus dem Jahr 2006 sogar bei 8 $\mu\text{g/ml}$, die der restlichen Isolate bei 4 $\mu\text{g/ml}$. GIGUÈRE et al. (2010) gibt für Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate MHK-Werte von 24 - \geq 256 $\mu\text{g/ml}$ an, wobei sie ab einer MHK $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ von einer Resistenz sprechen. Somit scheint Azithromycin im Vergleich zu älteren Angaben (JACKS et al. 2003) *in vitro* an Wirkung eingebüßt zu haben. Sechs Isolate aus dieser Studie wiesen eine MHK von 8 $\mu\text{g/ml}$ und sind somit Azithromycin-resistent. Ähnlich wie bei Tulathromycin ist die pH-Empfindlichkeit von Azithromycin zu berücksichtigen. Bei einem pH von 7,2 die MHK 100mal niedriger als bei einem pH von 6,0 (BARRY et al. 1988). Auch hier kommt es zu einer ausserordentlich hohen Kumulation des Wirkstoffes in Makrophagen (JACKS et al. 2001). Die antimikrobielle Wirksamkeit sollte sowohl *in vivo* als auch *in vitro* weiter regelmäßig überprüft werden.

Tab. 17: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Azithromycin

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ROTHHAAR (2006) n = 127	0,5 – 4	2	4
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	$\leq 0,06$ – 2	1	2
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	≥ 4	≥ 4	≥ 4
Eigene Studie n = 110	0,12 – 8	0,5 ³ 1 ⁴	4 ⁵ 8 ⁶

¹ Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

³ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken und externen Fohlen (n = 90)

⁴ *R. equi*-Isolate aus lungengesunden Fohlen (n = 20)

⁵ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken, lungengesunden (aus dem Jahr 2007) und externen Fohlen (n = 101)

⁶ *R. equi*-Isolate aus lungengesunden Fohlen (aus dem Jahr 2006) (n = 9)

5.3.6 Telithromycin

Telithromycin wird in der Veterinärmedizin bisher nicht eingesetzt. JAVSICAS et al. (2010) haben dieses Antibiotikum klinisch zum ersten Mal am Fohlen getestet. Die MHK von den 110 *R. equi*-Isolate zeigen sich genau wie bei ROTHHAAR (2006) alle sensibel gegenüber Telithromycin (s. Tab. 18). Trotzdem deutet sich anhand des Verhaltens der Makrolid-resistenten *R. equi*-Isolate in der Studie von JAVSICAS (2010) eine Kreuzresistenz gegenüber diesem Wirkstoff an, obwohl beim Fohlen bisher nicht von seinem Einsatz berichtet wurde. Die Autoren empfehlen weitere klinische Prüfungen dieses Wirkstoffes am Fohlen. Im Falle einer Resistenz von *R. equi* gegenüber den Makroliden Azithromycin, Clarithromycin und Erythromycin scheint auch Telithromycin keine Alternative zu sein, da in der Regel eine Multiresistenz gegenüber allen Makroliden vorliegt.

Tab. 18: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Telithromycin

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ROTHHAAR (2006) n = 127	0,06 – 0,5	0,12	0,5
JAVSICAS et al. (2010) ¹ n = 25	0,25 – 0,5	0,25	0,25
JAVSICAS et al. (2010) ² n = 14	0,5 – 16	4	8
Eigene Studie n = 110	$\leq 0,03$ – 0,25	0,06 ³ 0,12 ⁴	0,12 ⁵ 0,25 ⁶

¹ Makrolid-emfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

³ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken und lungengesunden Fohlen (n = 73)

⁴ *R. equi*-Isolate aus externen Fohlen (n = 37)

⁵ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken und lungengesunden (aus dem Jahr 2007) Fohlen (n = 64)

⁶ *R. equi*-Isolate aus lungengesunden (aus dem Jahr 2006) und externen Fohlen (n = 46)

5.3.7 Clarithromycin

Clarithromycin wurde bisher auf dem Gestüt nur sehr limitiert eingesetzt. Die 110 *R. equi*-Isolate aus dieser Studie sind mit einer MHK $\leq 0,03$ – 0,25 $\mu\text{g/ml}$ alle sensibel gegenüber Clarithromycin (s. Tab. 19). Im Vergleich zu ROTHHAAR (2006) zeigen sich nur leichte Veränderungen von einer Verdünnungsstufe in der MHK. In den Studien von CARLSON et al. (2010) und GIGUÈRE et al. (2010) zeigen sich aber Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate mit einer MHK ≥ 4 bis ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$ auch gegenüber Clarithromycin unempfindlich. Ab einer MHK ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ wird von einer Clarithromycin-Resistenz ausgegangen. Obwohl die von WOMBLE et al. (2006) und BLOCK (2010) angegebenen Konzentrationen in Zellen der broncho-alveolären Lavage weitaus höher liegen, blieb der Therapieerfolg bei sechs mit Makrolid-

resistenten *R. equi*-Isolaten infizierten Fohlen aus (GIGUÈRE et al. 2010). Somit ist Clarithromycin im Falle einer Therapieresistenz als antimikrobieller Wirkstoff nicht geeignet. Warum es trotz erreichter intrazellulärer Wirkstoffkonzentrationen zu keiner Abtötung des Bakteriums kam, blieb ungeklärt. Da die Wirkstoffkonzentrationen im Plasma mit 0,88 µg/ml unter der notwendigen MHK liegt, könnte eine nicht erfolgte systemische Abtötung des Erregers zur Reinfektion und damit zum Ausbleiben der Genesung führen.

Tab. 19: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Clarithromycin

Studie	MHK-Range (µg/ml)	MHK ₅₀ (µg/ml)	MHK ₉₀ (µg/ml)
ROTHHAAR (2006) n = 127	≤ 0,03 – 0,12	0,06	0,06
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	≤ 0,06 – 0,12	≤ 0,06	0,12
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	4 - ≥ 4	≥ 4	≥ 4
Eigene Studie n = 110	≤ 0,03 – 0,25	≤ 0,03 ³ 0,06 ⁴	0,06 ³ 0,12 ⁴

¹ Makrolid-empfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

³ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken, lungengesunden (aus dem Jahr 2007) und externen Fohlen (n = 101)

⁴ *R. equi*-Isolate aus lungengesunden Fohlen (aus dem Jahr 2006) (n = 9)

5.3.8 Erythromycin

Die Behandlung der *R. equi*-Pneumonie mit Erythromycin wurde mittlerweile weitestgehend durch Azithromycin und Clarithromycin ersetzt (GIGUÈRE et al. 2004). Das Risiko von Nebenwirkungen und die häufige Applikation alle sechs Stunden (PRESCOTT u. SWEENEY 1985; LAKRITZ et al. 1999) sind die Hauptnachteile gegenüber den neueren Makroliden. Deshalb wird es seit 2003 auf dem Gestüt nicht mehr eingesetzt. Alle hier untersuchten Isolate sind gegenüber Erythromycin sensibel (s. Tab. 20). CARLSON et al. (2010) und GIGUÈRE et al.

(2010) sprechen ab einer MHK von ≥ 4 von einer Erythromycinresistenz.

Tab. 20: *In vitro*-Empfindlichkeit von *R. equi*-Isolaten gegenüber Erythromycin

Studie	MHK-Range ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MHK ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
ROTHHAAR (2006) n = 127	0,12 – 0,5	0,25	0,25
CARLSON et al. (2010) ¹ n = 77	0,12 - 1	0,5	0,5
CARLSON et al. (2010) ² n = 19	4 - ≥ 4	≥ 4	≥ 4
Eigene Studie n = 110	0,06 – 0,5	0,12	0,25 ³ 0,5 ⁴

¹ Makrolid-emfindliche *R. equi*-Isolate

² Makrolid-resistente *R. equi*-Isolate

³ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken (aus dem Jahr 2007) und lungengesunden (aus dem Jahr 2007) Fohlen (n = 30)

⁴ *R. equi*-Isolate aus lungenkranken (aus dem Jahr 2006), lungengesunden (aus dem Jahr 2006) und externen Fohlen (n = 80)

5.4 Schlussfolgerung

In dieser Studie wurde die Antibiotikaempfindlichkeit von 110 *Rhodococcus equi* – Isolaten gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19), Gentamicin, Rifampicin und den Makroliden Tulathromycin, Azithromycin, Telithromycin, Clarithromycin und Erythromycin im Mikrodilutionsverfahren getestet.

In Nord-Amerika liegt die Prävalenz für das Auftreten von Makrolid- bzw. Rifampicin-resistenten *R. equi*-Isolaten bei 4% (GIGUÈRE et al. 2010). 103 Isolate wurden außer für Tulathromycin sensibel auf alle oben genannten Antibiotika getestet. Ein externes Isolat wies mit einer MHK von 8 $\mu\text{g/ml}$ eine Resistenz gegenüber Rifampicin auf. Bei fünf Isolaten aus dem Jahr 2006 und einem externen Isolat wurde mit einer MHK von 8 $\mu\text{g/ml}$ eine Resistenz gegenüber Azithromycin festgestellt. Im Vergleich zur vorherigen Untersuchung (ROTHHAAR 2006) hat der häufige Einsatz von

Azithromycin zu einer Verschlechterung der Resistenzsituation geführt. Die Ursachen hierfür blieben jeweils ungeklärt. Die im Vergleich zu allen anderen Makroliden hohen MHK-Werte gegenüber Tulathromycin deuten auf eine nicht vorhandene klinische Wirksamkeit hin. Bisher wurden auf dem Gestüt allerdings viele an Rhodokokkose erkrankte Fohlen erfolgreich mit Tulathromycin in Kombination mit Rifampicin behandelt (KERTH 2005). Bedeutende Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsprotokollen gab es nicht (KERTH 2005). Die vorliegende Studie macht neben anderen aktuellen Untersuchungen deutlich, dass das Risiko der Resistenzentwicklung von *R. equi* besteht. Dies könnte in Zukunft die Mortalitätsrate der erkrankten Fohlen wieder deutlich erhöhen, da es keine alternativen Behandlungsmöglichkeiten gibt. Bezüglich der Wirksamkeit von Tulathromycin sollte eine erneute klinische Studie durchgeführt werden. Die Therapie der Rhodokokkose beim Fohlen sollte von einer regelmäßigen Resistenzprüfung begleitet werden, um Veränderungen der Antibiotika-Empfindlichkeit sofort aufzudecken. Inwiefern sich das *in vitro*-Verhalten dieses Erregers vom *in vivo*-Verhalten unterscheidet, ist dringend untersuchungswürdig.

6 Zusammenfassung

Hollberg, Astrid:

Untersuchung zur Antibiotika-Resistenzsituation von *Rhodococcus equi* bei Fohlen deutscher Pferdebestände

In der vorliegenden Studie wurde die Antibiotikaempfindlichkeit von 110 *Rhodococcus equi*-Isolaten gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19), Gentamicin, Rifampicin und den Makroliden Tulathromycin, Azithromycin, Telithromycin, Clarithromycin und Erythromycin im Mikrodilutionsverfahren getestet.

Hierzu wurde bei insgesamt 73 Fohlen endoskopisch Tracheobronchialsekret, deren mikrobiologische Untersuchung die Isolierung *Rhodococcus equi* lieferte, gewonnen. 43 Isolate entfielen auf das Jahr 2006 und 30 Isolate auf das Jahr 2007. Zusätzlich wurden uns aus fünf mikrobiologischen Instituten und Labore Deutschlands insgesamt 37 *R. equi*-Isolate von Fohlen aus den Jahren 1986 bis 2007 zur Verfügung gestellt. Die Fohlen wurden in drei Gruppen aufgeteilt: 53 Tiere waren an abszedierender Pneumonie erkrankt, 20 Fohlen waren lungengesund und zu 37 Probanden waren keine weiteren Daten verfügbar.

Zur Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit wurde nach Empfehlung des Clinical and Laboratory Standards Institute die Mikrodilutionsmethode gewählt.

Die minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) für die Kombination **Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)** ergaben Werte von 0,12/2,3 µg/ml bis 0,5/9,5 µg/ml. Die MHK₅₀ betrug bei allen Gruppen 0,25/4,8 µg/ml. Die MHK₉₀ lag außer für die externen Isolate ebenfalls bei ,25/4,8 µg/ml. Für die externen Isolate lag die MHK mit 0,5/9,5 µg/ml eine Dilutionsstufe höher.

Die MHK-Werte für **Gentamicin** lagen zwischen $\leq 0,06$ und 1 µg/ml. Die MHK₅₀ der lungenkranken und externen Fohlen betrug 0,25 µg/ml, die der lungengesunden Fohlen 0,5 µg/ml. Die MHK₉₀ lag außer bei den lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2007 (1 µg/ml) bei 0,5 µg/ml.

Für **Rifampicin** reichten die MHK-Werte von $\leq 0,03$ bis 0,06 µg/ml. Ein externes Isolat wies mit einer MHK von 8 µg/ml eine Resistenz auf. Die MHK₅₀ und die MHK₉₀

lag bei allen Gruppen konstant bei 0,06 µg/ml.

Tulathromycin, das in Deutschland erstmalig auf seine Resistenz untersucht wurde, weist mit Ergebnissen der MHK von 16 bis ≥ 128 µg/ml im Vergleich zu allen anderen Antibiotika sehr hohe Werte auf. Außer bei den lungenkranken Fohlen aus dem Jahr 2007 (32 µg/ml) lag die MHK_{50} bei 64 µg/ml. Die MHK_{90} ergab für alle Gruppen einen Wert ≥ 128 µg/ml. *In vitro* weist Tulathromycin also keine Wirkung auf *R. equi* auf. Die *in vivo*-Wirksamkeit bedarf dringend weiterer Untersuchungen.

Gegenüber **Azithromycin** zeigten die getesteten Isolate MHK-Werte zwischen 0,12 µg/ml und 8 µg/ml. 6 Isolate wiesen mit 8 µg/ml eine Resistenz gegenüber diesem Antibiotikum auf. Die MHK_{50} lungenkranker und externer Fohlen lag bei 0,5 µg/ml, die der lungengesunden Fohlen bei 1 µg/ml. Die MHK_{90} betrug außer für die lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2006 (8 µg/ml) 4 µg/ml.

Telithromycin, das in Deutschland bisher nicht als Therapeutikum beim Fohlen eingesetzt wird, wies MHK-Werte zwischen $\leq 0,03$ bis 0,25 µg/ml auf. Die MHK_{50} der lungengesunden und lungenkranken Fohlen lag bei 0,06 µg/ml, die der externen Fohlen 0,12 µg/ml. Die MHK_{90} betrug bei den lungenkranken und den lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2007 0,12 µg/ml, bei den lungengesunden aus dem Jahr 2006 und den externen Fohlen 0,25 µg/ml.

Für **Clarithromycin** ergaben sich MHK-Werte von $\leq 0,03$ bis 1 µg/ml. Die MHK_{50} lag außer für die lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2006 bei $\leq 0,03$ µg/ml. Die MHK_{90} betrug außer für die lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2006 0,06 µg/ml. Die MHK_{50} und die MHK_{90} der lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2006 lag bei 0,06 bzw 0,12 µg/ml.

Für **Erythromycin** reichten die MHK-Werte von 0,06 bis 0,5 µg/ml. Die MHK_{50} betrug 0,12 µg/ml, die MHK_{90} lag bei den lungenkranken und lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2007 bei 0,25 µg/ml, bei den lungenkranken und lungengesunden Fohlen aus dem Jahr 2006 sowie den externen Fohlen bei 0,5 µg/ml.

Neben anderen aktuellen Untersuchungen zeigen diese Ergebnisse, dass das Risiko der Resistenzentwicklung von *R. equi* besteht. Dies könnte in Zukunft die Mortalitätsrate der erkrankten Fohlen wieder deutlich erhöhen, da es keine alternativen Behandlungsmöglichkeiten gibt. Unterschiede im *in vitro*- und *in vivo*-Verhalten dieses Erregers sind dringend untersuchungswürdig.

7 Summary

Hollberg, Astrid:

Examination of antibiotic sensitivity by *Rhodococcus equi* in german foals

The prospective of this study was to determine the antibiotic sensitivity of 110 *Rhodococcus equi* isolates to trimethoprim-sulfamethoxazole (1:19), gentamicin, rifampicin and macrolides tulathromycin, azithromycin, telithromycin, clarithromycin and erythromycin with a micro-dilution method.

For this purpose Tracheo bronchial secretions of 73 foals were taken endoscopically whose microbiological examination delivered the isolation of *Rhodococcus equi*. 43 isolates date back to the year 2006 and 30 to the year 2007. In addition 37 *R. equi* isolates from the years 1986 to 2007 from foals were provided by five german microbiological institutes and laboratories. The foals were divided into three groups: 53 animals (individuals) were diagnosed with abscess-forming pneumonia, 20 foals were lung healthy and for 37 animals (subjects) there were no more data available.

For the determination of antibiotic sensitivity as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute, the micro-dilution method was elected.

The minimal inhibitory concentration (MIC) for the combination of **trimethoprim-sulfamethoxazole (1:19)** result in values of 0.12/2.3 µg/ml to 0.5/9.5 µg/ml. The MIC₅₀ was 0.25/4.8 µg/ml for all groups. The MIC₉₀ was except for the external isolates 0,25 / 4,8 µg/ml. For the external isolates the MIC increased one dilution level to 0.5/9.5 µg/ml.

The MIC values for **gentamicin** ranged between ≤ 0.06 and 1 µg/ml. The MIC₅₀ of foals with lung disease and external foals was 0.25 µg/ml, for the foals with healthy lungs 0.5 µg/ml. The MIC₉₀ was 0.5 µg/ml for all samples, except for the foals with healthy lungs from the year 2007 (1 µg/ml).

For **rifampicin** the MIC values ranged from ≤ 0.03 to 0.06 µg/ml. An external isolate had an MIC of 8 µg/ml and showed a resistance. The MIC₅₀ and MIC₉₀ in all groups was constantly at 0.06 µg/ml.

Tulathromycin that was first tested on its resistance in Germany showed very high

values with MIC results from 16 to ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ compared to all other antibiotics. Except for the foals with lung disease from the year 2007 (32 $\mu\text{g/ml}$), the MIC₅₀ was 64 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₉₀ for all groups represented a value ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$. Therefore *in vitro* tulathromycin has no effect on *R. equi*. The *in vivo* efficacy urgently needs further studies.

Concerning **azithromycin** the isolates tested showed MIC values between 0.12 $\mu\text{g/ml}$ and 8 $\mu\text{g/ml}$. Six isolates were identified resistant to this antibiotic with 8 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₅₀ of foals with lung disease and external foals was 0.5 $\mu\text{g/ml}$, for the foals with healthy lungs 1 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₉₀ was 4 $\mu\text{g/ml}$, except for the foals with healthy lungs from the year 2006 (8 $\mu\text{g/ml}$).

Telithromycin, that has never been used as a therapeutic agent in foals in Germany, showed MIC values ranging from ≤ 0.03 to 0.25 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₅₀ of foals with healthy lungs and lung disease was 0.06 $\mu\text{g/ml}$, of external foals 0.12 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₉₀ of the foals with lung disease and healthy lungs from the year 2007 was 0.12 $\mu\text{g/ml}$, the foals with healthy lungs from the year 2006 and external foals 0.25 $\mu\text{g/ml}$. For **clarithromycin** MIC resulted in values of ≤ 0.03 to 1 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₅₀ was ≤ 0.03 $\mu\text{g/ml}$ for all groups except for the foals with healthy lungs from 2006. The MIC₉₀ was 0.06 $\mu\text{g/ml}$ for all groups except for the foals with healthy lungs from 2006. The MIC₅₀ and MIC₉₀ of the foals with healthy lungs from the year 2006 was 0.06 and 0.12 $\mu\text{g/ml}$.

For **erythromycin** the MIC values ranged from 0.06 to 0.5 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₅₀ was 0.12 $\mu\text{g/ml}$, the MIC₉₀ was 0.25 $\mu\text{g/ml}$ for the foals from the year 2007 with lung disease and healthy lungs, 0.5 $\mu\text{g/ml}$ for the foals from the year 2006 with lung disease and healthy lungs plus external foals.

Among other recent studies these results indicate that there is a risk of a resistance development in *R. equi*. In the future this could clearly increase the mortality rate of sick foals, as there are no alternative treatment options. The investigation of differences in *in vitro* and *in vivo* behavior of this pathogen is required urgently.

8 Literaturverzeichnis

AINSWORTH, D.M., K.A. BECK, C.E. BOATWRIGHT, K.A. SNEDDEN u.

W.C. REBHUN (1993):

Lack of residual lung damage in horses in which *Rhodococcus equi*-induced pneumonia had been diagnosed.

Am. J. Vet. Res. 54, 2115-2120

AINSWORTH, D.M. (1999):

Rhodococcal infections in foals.

Equine Vet. Educ. 11, 191-198

ALTHAUS, O. (2004):

Sonographie der Lunge: Eine Hilfe zur Früherkennung der *Rhodococcus equi*-Pneumonie beim Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

ANDERSEN, S.J., S. OUAN, B. GOWAN u. E.R. DABBS (1997):

Monooxygenase-like sequence of a *Rhodococcus equi* gene conferring increased resistance to rifampin by inactivating this antibiotic.

Antimicrob. Agents Chemother. 41, 218-221

ASOH, N., H. WATANABE, M. FINES-GUYON, K. WATANABE, K. OISHI, W.

KOSITSAKULCHAI, T. SANCHAI, K. KUNSUIKMENGRAI, S. KAHINTAPONG,

B. KHANTAWA, P. THARAVICHITKUL, T. SIRISANTHANA u. T. NAGATAKE

(2003):

Emergence of rifampin-resistant *Rhodococcus equi* with several types of mutations in the *rpoB* gene among AIDS patients in Northern Thailand.

J. Clin. Microbiol. 41, 2337-2340

BAGGOT, J.D., u. J.F.PRESCOTT (1987):

Antimicrobial selection and dosage in the treatment of equine bacterial infections.

Equine Vet. J. 19, 92-96

BARRY, A.L., R.N. JONES u. C. THORNSBERRY (1988):

In vitro activities of azithromycin (CP 62, 993), clarithromycin (A-56268, TE-031), erythromycin, roxithromycin and clindamycin.

Antimicrob. Agents Chemother. 32, 752-754

BARTON, M.D., u. K.L. HUGHES (1980):

Corynebacterium equi: a review.

Vet. Bull. 50, 65-80

BAUMANN, I. (2006):

Untersuchung der Wirksamkeit des Paramunitätsinducers Zylexis® zur Prophylaxe von Lungenabszessen beim Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

BECÚ, T., G. POLLEDO u. J.M. GASKIN (1997):

Immunoprophylaxis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.

Vet. Microbiol. 56, 193-204

BEECH, J., u. C.R. SWEENY (1991):

Infections caused by bacteria, mycoplasmas, parasites and fungi.

In: BEECH, J. (Hrsg.): Equine Respiratory Disorders

Lea and Febiger, Philadelphia, 181-194

BEMER-MELCHIOR, P., M.E. JUVIN, S. TASSIN, A. BRYSKIER, G.C. SCHITO

u. H.B. DRUGEON (2000):

In vitro activity of the new ketolide telithromycin compared with those of macrolides against *Streptococcus pyogenes*: influences of resistance mechanisms and methodological factors.

Antimicrob. Agents Chemother. 44, 2999-3002

BENCHAOUI, H.A., M. NOWAKOWSKI, J. SHERINGTON, T.G. ROWAN u.
S.J. SUNDERLAND, (2004):
Pharmacokinetics and lung tissue concentrations of tulathromycin in swine.
J. Vet. Pharmacol. Ther. 27, 203-210

BERISIO, R., J. HARMS , F. SCHLUENZEN, R. ZARIVACH, H.A.S. HANSEN,
P. FUCINI u. A. YONATH (2003):
Structural insight into the antibiotic action of telithromycin against resistant
mutants.
J. Bacteriology 185, 4276-4279

BLOCK, W. (2010)
Pharmakokinetik von Clarithromycin nach der Monotherapie mit Clarithromycin und
nach der kombinierten Gabe von Clarithromycin mit Rifampicin beim Fohlen
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

BREATHNACH, C.C., T.L. STURGILL-WRIGHT u. J.A. STILTNER (2006):
Foals are interferongamma-deficient at birth.
Vet. Immunol. Immunopathol. 112, 199-209

BURROWS, G.E. (1980):
Pharmacotherapeutics of macrolides, lincomycins and spectinomycin.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 176, 1072-1077

CARLSON, K.L., K.R. KUSKIE, M.K. CHAFFIN, M.C. LIBAL, S. GIGUÈRE, S.D.
LAWHON u. N.D. COHEN (2010):
Antimicrobial Activity of Tulathromycin and 14 Other Antimicrobials Against Virulent
Rhodococcus equi In Vitro
Veterinary Therapeutics, Vol. 11, No. 2, Summer 2010

CAPOBIANCO, J.O., Z. CAO, V.D. SHORTRIDGE, Z. MA, R.K. FLAMM u. P. ZHONG (2000):

Studies of the novel ketolide ABT-773: transport, binding to ribosomes, and inhibition of protein synthesis in *Streptococcus pneumoniae*.

Antimicrob. Agents Chemother. 44, 1562-15

CARBON, C. (1998):

Pharmacodynamics of macrolides, azalides and streptogramins: Effect on extracellular pathogens.

Clin. Inf. Dis. 27, 28-32

CHAFFIN, M.K., N.D. COHEN u. R.J. MARTENS (2003)

Foal-related risk factors associated with development *Rhodococcus equi* pneumonia on farms with endemic infection.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 223 1791-1799

CHAFFIN, M.K., N.D. COHEN u. R.J. MARTENS (2008)

Chemoprophylactic effects of azithromycin against *Rhodococcus equi*-induced pneumonia among foals at equine breeding farms with endemic infections.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 232, 1035-1047

CHAMPNEY, W.S., u. C.L. TOBER (2001):

Structure-activity relationships for six ketolide antibiotics.

Curr. Microbiol. 42, 203-210

CHARLES, L., u. J. SEGRETI (1997):

Choosing the right macrolide antibiotic.

Drugs 53, 349-357

CHOW, A.W. (1984):

Erythromycin.

In: RISTUCCIA, A.M. u. B.A. CUNHA (Hrsg.):

In Antimicrobial Therapy.

Verlag Raven Press New York, S. 209-219

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)

(2002):

Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standard – Second edition. CLSI document M31-A2 (ISBN 1-56238-377-9).

CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, USA

COHEN, N.D., M.K. CHAFFIN u. R.J. MARTENS (2000):

Control and prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.

Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 22, 1062-1069

DABBS, E.R. (1987):

Rifampicin inactivation by *Rhodococcus* and *Mycobacterium* species.

FEMS Microbiol. Lett. 44, 395-399

DAVIS, J.L., S.Y. GARDNER, S.L. JONES, B.A. SCHWABENTON u.

M.G. PAPICH (2002):

Pharmacokinetics of azithromycin in foals after i.v. and oral dose and disposition into phagocytes.

J. Vet. Pharmacol. Therap. 25, 99-104

DEBEY, M.C., u. W.E. BAILEY (1987):

Rhodococcus equi in faecal and environmental samples from Kansas horse farms.

Vet. Microbiol. 14, 251-257

DITTRICH, N. (2008)

Prophylaxe der Rhodococcus equi-Pneumonie bei Fohlen durch Vakzination mit Rhodococcus equi-Impfstoff und Adjuvans CpG X: Vergleich eines kurzen und langen Impfprotokolls.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

DONOWITZ, G.R. (1994):

Tissue-directed antibiotics and intracellular parasites: Complex interactions of phagocytes, pathogens and drugs.

Clin. Infect. Dis. 19, 926-930

DOUTHWAITE, S., L.H. HANSEN u. P. MAUVAIS (2000):

Macrolide-ketolide inhibition of MLS-resistant ribosomes is improved by alternative drug interaction with domain II of 23S rRNA.

Mol. Microbiol. 36, 183-193

DUBNAU, D. (1984):

Translational attenuation: The regulation of bacterial resistance to the macrolide-lincosamide-streptogramin B antibiotics.

CRC Critical Reviews in Biochemistry 16, 103-132

ELISSALDE, G.S., H.W. RENSHAW u. J.A. WAHLBERG (1980):

Corynebacterium equi: an interhost review with emphasis on the foal.

Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 3, 433-445

ENSINK, J.M., W.R. KLEIN, A. BARNEVALD, A.S. VAN MIERT u. A.G. VULTO (1996):

Side effects of oral antimicrobial agents in the horse: a comparison of pivampicillin and trimethoprim/sulfadiazin.

Vet. Rec. 138, 253-256

EVANS, N. A. (2005):

Tulathromycin: An Overview of an New Triamilide Antimicrobial for Lifestock Respiratory Disease

Veterinary Therapeutics, Vol. 6, No. 2, Summer 2005

FARR, B., u. G.L. MANDELL (1982):

Rifampicin.

Med. Clin. North. Am. 66, 157-168

FERNANDEZ-MORA, E., M. POLIDORI, A. LÜHRMANN, U.E. SCHAIBLE u. A. HAAS (2005):

Maturation of *Rhodococcus equi*-containing vacuoles is arrested after completion of the early endosome stage.

Traffic 6, 635-653

FERNANDEZ-ROBLAS, R., R. CALVO, J. ESTEBAN, A. BRYSKIER u. F. SORIANO (1999):

The bactericidal activities of HMR 3004, HMR 3647 and erythromycin against gram-positive bacilli and development of resistance.

J. Antimicrob. Chemother. 43, 285-289

FINES, M., S. PRONOST, K. MAILLARD, S. TAOUJI u. R. LECLERCQ (2001):
Characterization of mutations in *rpoB* gene associated with rifampin resistance in *Rhodococcus equi* isolated from foals.

J. Clin. Microbiol. 39, 2784-2787

FRANKLIN, T.J., u. G.A. SNOW (1975):

Biochemistry of Antimicrobial Action.

Ed2, New York, John Wiley & Sons, 109-138

FORTH, W., D. HENSCHLER u. W. RUMMEL (2001):

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie

8. Auflage

Verlag: Urban & Fischer, München, Jena, S. 800-803, 828ff

FUKUNAGA, N., T. OKADA, M. KATSUMI u. S. TAKAI (1999):

Restriction cleavage patterns of plasmid DNA of intermediately virulent *Rhodococcus equi* isolates from the mandibular lymph nodes of pigs in Kagoshima, Aomori and Miyagi prefectures and the environment of pig-breeding farms.

J. Jpn. Vet. Med. Assoc. 52, 789-792

GALE, E.F., E. CUNDLIFF u. P.E. REYNOLDS (1972):

The Molecular Basis of Antibiotic Action.

New York, John Wiley & Sons, 332-341

GALER, D., S. HESSONG, B. BEATO, J. RISK, P. INSKEEP, C.

WEERASINGHE, R.P. SCHNEIDER, C. LANGER, J. LAPERLE, D. RENOUF,

A. BESSIRE, E. ESPANOL, R. RAFKA, C. RAGAN, W. BOETTNER, T.

MURPHY, D. KELLER, H. BENCHAOUI u. M.A. NOWAKOWSKI (2004):

An analytical method for the analysis of tulathromycin, an equilibrating triamilide, in bovine and porcine plasma and lung.

J. Agric. Food. Chem. 52, 2179-2191

GIGUÈRE, S., u. J.F. PRESCOTT (1997):

Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals.

J. Vet. Microbiol. 56, 313-334

GIGUÈRE, S., M.K. HONDALUS, J.A. YAGER, P. DARRAH, D.M. MOSSER u.

J.F. PRESCOTT (1999):

Role of the 85-kilobase plasmid and plasmid-encoded virulence-associated protein A in intracellular survival and virulence of *Rhodococcus equi*.

Infect. Immun. 67, 3548-3557

GIGUÈRE, S., J.M. GASKIN, C. MILLER u. J.L. BOWMAN (2002):

Evaluation of a commercially available hyperimmune plasma product for prevention of naturally acquired pneumonia caused by *Rhodococcus equi* in foals.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 220, 59-63

GIGUÈRE, S., S. JACKS, G.D. ROBERTS, J. HERNANDEZ, M.T. LONG u. C. ELLIS (2004) :

Retrospective comparison of azithromycin, clarithromycin and erythromycin for the treatment of foals with *Rhodococcus equi* pneumonia.

J. Vet. Intern. Med. 18, 568-573

GIGUÈRE, S., u. S. JACKS (2005):

Immunity to *Rhodococcus equi* infections in foals and adult horses: Implications for vaccine design.

In: Ainsworth D. M., B. C. Mc Gorum , L. Viel , N. E. Robinson und N. G. Ducharme (Eds.): Third World Equine Airways Symposium

GIGUÈRE, S., M.K. CHAFFIN u. R.P. FRANKLIN (2010):

Determination of the prevalence of antimicrobial resistance to macrolide antimicrobials or rifampin in *Rhodococcus equi* isolates and treatment outcome in foals infected with antimicrobial-resistant isolates of *R. equi*

J. Am. Vet. Med. Assoc. 237, 74-81

GLADUE, R.P., G.M. BRIGHT, R.E. ISAACSON u. M.F. NEWBORG (1989):

In vitro and *in vivo* uptake of azithromycin (CP-62, 993) by phagocytic cells: possible mechanism of delivery and release at site of infection.

Antimicrob. Agents Chemother. 33, 277-282

GOLDMAN, R.C., u. J.O. CAPOBIANCO (1990):

Role of an energy-dependent efflux pump in plasmid pNE24-mediated resistance to 14- and 15-membered macrolides in *Staphylococcus epidermidis*.

Antimicrob. Agents Chemother. 34, 1973-1980

GRAVERT, I. (2006):

Zur Entwicklung von früh erkannten Lungenabszessen beim Fohlen ohne
Behandlung.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

GUSTAFSSON A, V. BÅVERUD, A. GUNNARSSON, M. HORN AF RANTZIEN,
A. LINDHOLM u. A. FRANKLIN (1997):

The association of erythromycin ethylsuccinate with acute colitis induction in
horses in Sweden.

Equine Vet. J. 4, 314-318

GUSTAFSSON, A., V. BÅVERUD, A. FRANKLIN, A. GUNNARSSON, G.
ÖGREN u. C. INGVAST-LARSSON (1999):

Repeated administration of trimethoprim/sulfadiazine in the horse
pharmacokinetics, plasma protein binding and influence on the intestinal
microflora.

J. Vet. Pharm. Therap. 22, 20-26

HEYERS, P. (2005):

Vergleich des Nachweises von *Rhodococcus equi* durch mikrobiologische Kultur mit
dem Nachweis durch die polymerase chain reaction in endoskopisch entnommenem
Tracheobronchialsekret bei Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

HIETALA, S.K., u. A.A. ARDANS (1987):

Neutrophil phagocytic and serum opsonic response of the foal to *Corynebacterium
equi*.

Vet. Immun. Immunopathol. 14, 279-294

HIETALA, S.K., u. A.A. ARDANS (1987):

Interaction of *Rhodococcus equi* with phagocytic cells from R. equi-exposed and -
nonexposed foals.

Vet. Microbiol. 14, 307-320

HIGUCHI, T., S. HASHIKURA, C. GOJO, T. INUI, S. SATOH, M. YOSHIDA, T. ISHIYAMA, H. YAMADA u. S. TAKAI (1997):
Clinical evaluation of the serodiagnostic value of enzyme-linked immunosorbent assay for *Rhodococcus equi* infection in foals.
Equine Vet. J. 29, 274-278

HIGUCHI, T., S. HASHIKURA, S. HAGIWARA, C. GOJO, T. INUI, S. SATOH, M. YOSHIDA, M. FUJII, D. HIDAKA, S. TSUBAKI u. S. TAKAI (1997):
Isolation of virulent *Rhodococcus equi* from transtracheal aspirates of foals serodiagnosed by enzyme-linked immunosorbent assay.
J. Vet. Med. Sci. 59, 1097-1101

HILLIDGE, C.J. (1986):
Review of *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* lung abscesses in foals: pathogenesis, diagnosis and treatment.
Vet. Rec. 119, 261-264

HILLIDGE, C.J. (1987):
Use of erythromycin-rifampin combination in treatment of *Rhodococcus equi* pneumonia.
Vet. Microbiol. 14, 337-334

HÖHENSTEIGER, N. (2005):
Nachweis der Konzentration von Tulathromycin im Plasma und in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit beim Fohlen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit zweifacher Massenspektroskopie nach i.m. Applikation, mit und ohne Kombination von Rifampicin.
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

HONDALUS, M.K., u. D.M. MOSSER (1994):
Survival and replication of *Rhodococcus equi* in macrophages.
Infect. Immun. 62, 4167-4175

HONDALUS, M.K. (1997):

Pathogenesis and virulence of *Rhodococcus equi*.

Vet. Microbiol. 56, 257-268

HULLMANN, A. (2006):

Prophylaxe der *Rhodococcus equi*-Pneumonie bei Fohlen durch Vakzination mit einem *R. equi*-Impfstoff und Adjuvans CpG XXXX.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

JACKS, S., S. GIGUÈRE, R.R. GRONWALL, M.P. BROWN, A. KELLY u. B.S. MERRITT (2001):

Pharmacokinetics of azithromycin and concentration in body fluids and bronchoalveolar cells in foals.

Am. J. Vet. Res. 62, 1870-1875

JACKS, S., S. GIGUÈRE, R.R. GRONWALL, M.P. BROWN u. K.A. MERRITT (2002):

Disposition of oral clarithromycin in foals.

J. Vet. Pharmacol. Ther. 25, 359-362

JACKS, S., S. GIGUÈRE u. A. NGUYEN (2003):

In vitro susceptibilities of *Rhodococcus equi* and other common equine pathogens to Azithromycin, Clarithromycin, and 20 other Antimicrobials.

Antimicrob. Agents Chemother. 47, 1742-1745

JAVSICAS, L.H., S. GIGUÈRE u. A.Y. WOMBLE (2010):

Disposition of oral telithromycin in foals and *in vitro* activity of the drug against macrolide-susceptible and macrolide-resistant *Rhodococcus equi*

J. Vet. Pharmacol. Therap. 33, 383-388

JORGENSEN, J.H., J.D. TURNIDGE u. J.A. WASHINGTON (1999):
Antibacterial susceptibility tests: Dilution and disk diffusion methods.
in: MURRAY, P.R., E.J. BARON, M.A. PFALLER, F.C. TENOVER u. R.H.
YOLKEN (Hrsg.): Manual of Clinical Microbiology. 7. Aufl.
ASM Press Washington, D.C., 1526-1543

KELLY, B.G., D.M. WALL, C.A. BOLAND u. W.G. MEIJER (2002):
Isocitrat lyase of the facultative intracellular pathogen *Rhodococcus equi*.
Microbiol. 148, 793-798

KENNEY, D.G., S.C. ROBBINS, J.F. PRESCOTT, A. KAUSHIK u. J.D. BAIRD
(1994):
Development of reactive arthritis and resistance to erythromycin and rifampin in
a foal during treatment for *Rhodococcus equi* pneumonia.
Equine Vet. J. 25, 246-248

KERTH, R. (2005):
Untersuchung der Wirksamkeit von Tulathromycin bei der Behandlung von
Lungenabszessen bei Fohlen.
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

KILIAN, K. (2008)
Vergleichende Untersuchung von *Rhodococcus equi* in der Atemluft, im
Tracheobronchialsekret und im Kot von Fohlen.
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

KNOTTENBELT, D.C. (1993):
Rhodococcus equi infections in foals: a report of an outbreak on a thoroughbred stud
in Zimbabwe.
Vet. Rec. 132, 79-85

LAKRITZ, J., W.D. WILSON u. J.E. MIHALYI (1999):

Comparison of microbiologic and high-performance liquid chromatography assays to determine plasma concentrations, pharmacokinetics, and bioavailability of erythromycin base in plasma of foals after intravenous or intragastric administration.

Am. J. Vet. Res. 60, 414-419

LAKRITZ, J., u. W.D. WILSON (2002):

Erythromycin and other macrolide antibiotics for treating *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.

Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 24, 256-261

LARSON, V.L. (1980):

Antibacterial therapy for pulmonary infections.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 176, 1091-1094

LEADON, D.P. (1989)

An outbreak involving six cases of *Rhodococcus equi* on a studfarm.

Equine Vet. Educ. 1, 24-32

LORENZ, N. (2005):

Etablierung und Validierung einer PCR in der Routinediagnostik zum Nachweis von *Rhodococcus equi* in Untersuchungsmaterial aus dem Atemtrakt von Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

LUHOFER, G., A. BÖTTNER, H.M. HAFEZ, M. KASKE, C. KEHRENBURG, M. KIETZMANN, D. KLARMANN, G. KLEIN, P. KRABISCH, T. KÜHN, A. RICHTER, C. SIGGE, W. TRAEDER, K.H. WALDMANN, J. WALLMANN, C. WERCKENTHIN u. S. SCHWARZ (2004):

Layoutvorschläge der Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ für die Belegung von Mikrotiterplatten zur Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Routinediagnostik- Mastitis- und Großtierlayouts.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 117, 245-251

MAGNUSSON, H. (1938):

Pyæmia in foals caused by *Corynebacterium equi*.

Vet. Rec. 50, 1359-1468

MADIGAN, J.E., S. HIETALA u. N. MÜLLER (1991):

Protection against naturally acquired *Rhodococcus equi* pneumonia in foals by administration of hyperimmune plasma.

J. Reprod. Fert. Suppl. 44, 571-578

MAKRAI, L., S. TAKAI, M. TAMURA, A. TSUKAMOTO, R. SEKIMOTO, Y. SASAKI, T. KAKUDA, S. TSUBAKI, J. VARGA, L. FODOR, N. SOLYMOSI u. A. MAJOR (2002):

Characterization of virulence plasmid types in *Rhodococcus equi* isolates from foals, pigs, humans and soil in Hungary.

Vet. Microbiol. 88, 377-384

MANDELL, G.L. (1983):

The antimicrobial activity of rifampicin: emphasis on the relation to phagocytes.

Rev. Infect. Dis. 5, Suppl., 463-467

MARTENS, R.J., J.G. MARTENS u. R.A. FISKE (1989):

Rhodococcus equi foal pneumonia: Protective effects of immune plasma in experimentally infected foals.

Equine Vet. J. 21, 249–255

MEIJER, W.G., u. J.F. PRESCOTT (2004):

Rhodococcus equi.

Vet. Res. 35, 383-396

MEYER-HAMME, M.B. (2004):

Rhodococcus equi und *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* aus Nasentupfern und Tracheobronchialsekret bei lungenkranken Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

MÜLLER, N.S., u. J.E. MADIGAN (1992):

Methods of implementation of an immunoprophylaxis program for the prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia: Results of a 5-year field study.

Proc. Am. Ass. Equine Pract. 38, 193-201

MÜLLER-ALANDER, E. (2008):

Prophylaxe der *Rhodococcus equi*-Pneumonie bei Fohlen durch Vakzination mit einem *R. equi*-Totimpfstoff mit einem unterschiedlich dosierten CpG-Adjuvans.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

MUSCATELLO, G., S. GERBAUD, C. KENNEDY, J.R. GILKERSON, T. BUCKLEY, M. KLAY, D.P. LEADON u. G.F. BROWNING (2006a):

Comparison of concentrations of *Rhodococcus equi* and virulent *R. equi* in air of stables and paddocks on horse breeding farms in a temperate climate.

Equine Vet. J. 38, 263-265

MUSCATELLO, G., G. A. ANDERSON, J.R. GILKERSON u. G.F. BROWNING (2006b):

Associations between the ecology of virulent *Rhodococcus equi* and the epidemiology of *R. equi* pneumonia on Australian Thoroughbred farms

Appl. Environ. Microbiol., 72, 6152-6160

MUTSCHLER, E., G. GEISLINGER, H.K. KROEMER u. SCHLÄFERKORTING (2001):

Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Auflage 8

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 773-776, 806-809, 816-

820

NAKAZAWA, M., M. HARITANI, C. SUGIMOTO u. Y. ISAYAMA (1983):

Virulence of *Rhodococcus equi* for mice.

Jpn. J. Vet. Sci. 45, 679-682

NAMOUR, F., D.H. WESSELS, M.H. PASCUAL, D. REYNOLDS, E. SULTAN u.
B. LENFANT (2001):

Pharmacokinetics of the new ketolide telithromycin (HMR 3647) administered in ascending single and multiple doses.

Antimicrob. Agents Chemother. 45, 170-175

NEU, H.C. (1991):

Clinical microbiology of azithromycin.

Am. J. Med. 91, Suppl. 3A, 12S-18S

NORCIA L.J.L., SILVIA A.M., SANTORO S.L., RETSEMA J., LETAVIC M.A., BRONK B.S., LUNDY K.M., YANG B, EVANS N.A. u. HAYASHI S.F. (2004)

In vitro microbiological characterisation of a novel azalide, two triamilides and an azalide ketal against bovine and porcine respiratory pathogens

J. Antibiot., 57, 280-288

NORDMANN, P., u. E. RONCO (1992):

In vitro antimicrobial susceptibility of *Rhodococcus equi*.

J. Antimicrob. Chemother. 29, 383-393

NOWAKOWSKI, M., M. LINHARES, A.BUNGER, E. WARRAKAH, L. OLSSON, K. ALLEN, J. GASH, E. ESPANOL, J. RISK, C. WEERASINGHE, P. INSKEEP u. J. YANG (2003):

Pharmacokinetic profiles of some triamilides, a new class of macrolides, in mice and cattle.

J. Vet. Pharmacol. Therap. 26, Suppl.1, 100

OHNESORGE, B., C. TRÖTSCHEL u. E. DEEGEN (1998) :

Bestimmung von Totraum und expiratorischem Mischluftvolumenverhältnis zur Diagnostik chronischer Lungenerkrankungen.

Pferdeheilkunde 14, 450-455

OTTERSON, M.F., u. S.K. SARNA (1990):

Gastrointestinal motor effects of erythromycin.

Am. J. Physiol. 259, G355-G363

PEETERS, T., G. MATTHIJS, I. DEPOORTERE, T. CACHET, J.

HOOGMARTENS u. G. VANTRAPPEN (1989):

Erythromycin is a motilin receptor agonist.

Am. J. Physiol. 257, G470-G474

PERITI, P., T. MAZZEI, E. MINI u. A. NOVELLI (1989):

Clinical pharmacokinetic properties of the macrolide antibiotics. Effects of age and various pathophysiological states Part I-II.

Clin. Pharmacol. 16, 193-214 & 261-282

PERITI, P., T. MAZZEI, E. MINI u. A. NOVELLI (1993):

Adverse effects of macrolide antibacterials.

Drugs Safety 9, 346-364

PETERS, D.H., H.A. FRIEDEL u. D. McTAVISH (1992):

Azithromycin. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy.

Drugs 44, 750-799

PILTZ, K. (2004):

Vergleichende Behandlung von *Rhodococcus equi*-Pneumonien bei Fohlen mit Azithromycin und Rifampicin in Kombination mit Erythromycin bzw.

Trimethoprim/Sulfadiazin.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

PRESCOTT J.F. (1981)

The susceptibility of isolates of *Corynebacterium equi* to antimicrobial drugs.

J. Vet. Pharmacol. Therap. 4, 27-31

PRESCOTT, J.F., M. LASTRA u. L. BARKSDALE (1982):

Equi factors in the identification of *Corynebacterium equi* .

J. Clin. Microbiol. 16, 988-990

PRESCOTT, J.F., M. TRAVERS u. J.A. YAGER-JOHNSON (1984a):

Epidemiological survey of *Corynebacterium equi* infections on five Ontario horse farms.

Can. J. Comp. Med. 48, 10-13

PRESCOTT, J.F., u. V.M. NICHOLSON (1984b):

The effects of combination of selected antibiotics on the growth of *Corynebacterium equi*.

J. Vet. Pharm. Therap. 7, 61-64

PRESCOTT, J.F., R. COSHAN-GAUTHIER u. L. BARKSDALE (1984c):

Antibody to equi factor(s) in the diagnosis of *Corynebacterium equi* pneumonia of foals.

Can. J. Comp. Med. 48, 370-373

PRESCOTT, J.F., u. C.R. SWEENEY (1985):

Treatment of *Corynebacterium equi* pneumonia of foals: a review.

J. Am. Vet. Assoc. 187, 725-727

PRESCOTT, J.F. (1987):

Epidemiology of *Rhodococcus equi* infection in horses.

Vet. Microbiol. 14, 211-214

PRESCOTT, J.F., u. A.M. HOFFMAN (1993):

Rhodococcus equi.

Vet. Clin. North. Am. Equine Pract. 9, 375-384

PRESCOTT, J.F., u. J.D. BAGGOT (1993):

Lincosamides, Macrolides and Pleuromutilins.

In: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine.

Verlag Iowa State University Press, Ames, S.186-202

PROKESCH, R.C., u. W.L. HAND (1982):

Antibiotic entry into human polymorphonuclear leukocytes.

Antimicrob. Agents Chemother. 21, 373-380

RAHL, K., A. KODJO u. D. GREZEL (1999):

Isolation of a new type of virulence plasmid DNA in *Rhodococcus equi* strains from horse and equine environment in France.

Rev. Med. Vet. 150, 349-352

RAGHOEBAR, M., E. LINDEYER, W.B. VAN DEN BERG u. C.A.M. VAN GINNEKEN (1988):

On the mechanisms of association of the macrolide antibiotic erythromycin with isolated human polymorphonuclear leucocytes.

Biochem. Pharmacol. 37, 3221-3227

REINHOLD, B. (2006):

Einsatz von Azithromycin zur Prophylaxe von Lungenabszessen beim Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

REN, J., u. J.F. PRESCOTT (2003):

Analysis of virulence plasmid gene expression of intra-macrophage and in vitro grown *Rhodococcus equi* ATCC 33701.

Vet. Microbiol. 94, 167-182

ROONEY, J.R. (1966):

Corynebacterial infection in foals.

Mod. Vet. Pract. 47, 43-45

ROTHHAAR, E. (2006):

Zur Entwicklung der Empfindlichkeit von *Rhodococcus equi* gegenüber Antibiotika.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

SCHEUCH E., J. SPIEKER, M. VENNER u. W. SIEGMUND (2007):

Quantitative determination of the macrolide antibiotic tulathromycin in plasma and broncho-alveolar cells of foals using tandem mass spectrometry.

J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 850, 464-470

SCHOCK, B. (2008)

Single Dose- und Steady State-Kinetik von Tulathromycin beim Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

SCHULTE, S. (2005):

Wirksamkeit von Hyperimmenserum zur Prophylaxe der *Rhodococcus equi*-Pneumonie beim Fohlen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

SCHWARZ, S., u. F.J. SCHMITZ (2001)

Genetische Grundlagen der Resistenz gegenüber Makroliden, Lincosamiden und Streptograminen.

Der Mikrobiologe 11, 203-209

SCHWARZ, S., u. F.J. SCHMITZ (2002)

Ketolide zur Behandlung von Staphylokokken-Infektionen: Zur Problematik des Einsatzes unter besonderer Berücksichtigung der Selektion resistenter Bakterien.

Chemother. J. 11, 214-221

SCHWARZ, S., A. BÖTTNER, H.M. HAFEZ, M. KASKE, C. KEHRENBURG, M. KIETZMANN, D. KLARMANN, G. KLEIN, P. KRABISCH, T. KÜHN, G. LUHOFFER, A. RICHTER, C. SIGGE, W. TRAEDER, K-H. WALDMANN, J. WALLMANN u. C. WERCKENTHIN (2005):
Standardisierung der Empfindlichkeitsprüfung bei Bakterien von Tieren.
Tierärztl. Prax. 31 (G), 98

SCHWEIGER, A. (2002):
Ketolid bietet sichere First-Line-Therapie.
Fachpresse-Infotainment, „Ketek® NewsTicker“
Journal Med. 2, 24-27

SELBITZ, H.J. (2002):
Infektionen mit *Rhodococcus equi*.
in: ROLLE, M., MAYR, A. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 7. Auflage, 553-554

SORIANO, F., J. ZAPARDIEL u. E. NIETO (1995):
Antimicrobial susceptibilities of *Corynebacterium* species and other non-sporeforming gram-positive bacilli to 18 Antimicrobial Agents.
Antimicrob. Agents Chemother. 39, 208-214

SORIANO, F., R. FERNÁNDEZ-ROBLAS, R. CALVO u. G. GARCIA-CALVO (1998):
In vitro Susceptibilities of Aerobic and Facultative Non-Spore-Forming Gram-Positive Bacilli to HMR 3647 (RU 66647) and 14 Other Antimicrobials.
Antimicrob. Agents Chemother. 42, 1028-1033

STRATTON-PHELPS, M., W.D. WILSON u. I.A. GARDNER (2000):
Risk of adverse effects in pneumonic foals treated with erythromycin versus other antibiotics: 143 cases (1986-1996).
J. Am. Vet. Med. Assoc. 217, 68-73

SWEENEY, C.R., R.W. SWEENEY u. T.J. DIVERS (1987):

Rhodococcus equi Pneumonia in 48 Foals: Response to Antimicrobial Therapy.

Vet. Microbiol. 14, 329-336

TAKAI, S., K. NARITA, K. ANDO u. S. TSUBAKI (1986):

Ecology of *Rhodococcus (Corynebacterium) equi* in soil on a horse-breeding farm.

Vet. Microbiol. 12, 169-177

TAKAI, S., S. OHBUSHI, K. KOIKE, S. TSUBAKI, H. OISHI u. M. KAMADA (1991):

Prevalence of virulent *Rhodococcus equi* in isolates from soil and feces of horses from horse-breeding farms with and without endemic infections.

J. Clin. Microbiol. 29, 2887-2889

TAKAI, S., T. SUGAWARA, Y. WATANABE, Y. SASAKI, S. TSUBAKI u.

T. SEKIZAKI (1994):

Effect of growth temperature on maintenance of virulent *Rhodococcus equi*.

Vet. Microbiol. 39, 187-192

TAKAI, S., N. FUKUNAGA, K. KAMISAWA, Y. IMAI, Y. SASAKI u.

S. TSUBAKI (1996):

Expression of virulence-associated antigens of *Rhodococcus equi* is regulated by temperature and pH.

Microbiol. Immunol. 40, 591-594

TAKAI, S. (1997):

Epidemiology of *Rhodococcus equi* infections: a review.

Vet. Microbiol. 56, 167-176

TANAKA, Y., K. YAZAWA, E.R. DABBS, H. NISHIKAWA, H. KOMAKI, Y.

MIKAMI, M. MIYAJI, N. MORISAKI u. S. IWASAKI (1996):

Different rifampicin inactivation mechanisms in *Nocardia* and related taxa.

Microbiol. Immunol. 40, 1-4

THORNSBERRY, C., B.C. HILL, J.M. SWENSON u. L.K. McDOUGAL (1983):

Rifampin: Spectrum of antibacterial activity.

Rev.Infect.Dis. 5, Suppl. 3, 5412-5417

TOYOOKA, K., S. TAKAI u. T. KIRIKAE (2005):

Rhodococcus equi can survive a phagolysosomal environment in macrophages by suppressing acidification of the phagolysosome.

J. med. Microbiol. 54, 1007-1015

TRAEDER, W., u. M. GROTHUES (2004):

Pharmakologische Eigenschaften und Wirksamkeit von Tulathromycin, dem ersten Vertreter der Triamilid-Antibiotika.

Tierärztliche Umschau 59, 102-113

VARGA, J., L. FODOR, M. RUSVAI, I. SOÓS u. L. MAKRAI (1997):

Prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia of foals using two different inactivated vaccines.

Vet. Microbiol. 56, 205-212

VANNUFFEL, P., u. C. COCITO (1996):

Mechanism of action of streptogramins and macrolides.

Drugs 51, Suppl. 1, 20-30

VIVRETTE, S. (1992):

The diagnosis, treatment and prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.

Vet. Med. 2, 144-150

WADA, R., M. KAMADA, T. ANZAI, A. NAKANISHI, T. KANEMARU, S. TAKAI u.

S. TSUBAKI (1997):

Pathogenicity and virulence of *Rhodococcus equi* in foals following intratracheal challenge.

Vet. Microbiol. 56, 301-312

WALL D. M., P.S. DUFFY, C. DUPONT , J.F. PRESCOTT u. W.G. MEIJER
(2005):

Isocitrate lyase activity is required for virulence of the intracellular pathogen
Rhodococcus equi.

Infect. Immun. 73, 6736-6741

WALTHER, S. (2006):

Diagnostik von Lungenabszessen beim Fohlen: Vergleich von sonographischen und
röntgenologischen Befunden.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

WEISBLUM, B. (1984):

Inducible erythromycin resistance in bacteria.

British Medical Bullentin 40, 47-53

WERCKENTHIN, C., u. S. SCHWARZ (2003):

Kreuzresistenzen: Beurteilung von Antibiogrammen, Auswahl von antimikrobiellen
Wirkstoffen für die *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung und molekulare Grundlagen.
22. Arbeits- und Fortbildungstagung des Arbeitskreises Veterinärmedizinischer
Infektionsdiagnostik, Staffelstein, 17.-19.09.2003.

WHITE, G., u. S.D. PRIOR (1982):

Comparative effects of oral administration of trimethoprim/sulfadiazine or
oxytetracycline of the faecal flora of horses.

Vet. Rec. 111, 316-318

WILSON, M.M. (1955):

A study of *Corynebacterium equi* infections in a stud of thoroughbred horses in
Victoria.

Aust. Vet. J. 31, 175-181

WILLIAMS, J.D., u. A.M. SEFTON (1993):

Comparison of macrolide antibiotics.

J. Antimicrob. Chemother. 31, Suppl. C, 11-26

WILSON, W.D., M.S. SPENSLEY, J.D. BAGGOT u. S.K. HIETALA (1988):

Pharmakokinetics, bioavailability, and *in vitro* antibacterial activity of rifampin in the horse.

Am. J. Vet. Res. 49, 2041-2046

WILSON, W.D. (1992):

Rhodococcus equi

in: ROBINSON, N.E. (Hrsg.): Current medicine in equine medicine.

Saunders Company, Philadelphia, 3. Auflage, 466-470

WOMBLE, A. Y., S. GUIGÈRE, E. A. LEE u. T. W. VICKROY (2006):

Pharmacokinetics of Clarithromycin and concentrations in body fluids and bronchoalveolar cells of foals.

Am. J. Vet. Res. 67, 1681-1687

WOOLCOCK, J.B., u. M.D. MUTIMER (1980):

Corynebacterium equi: *In vitro* susceptibility to twenty-six antimicrobial agents.

Antimicrob. Agents Chemother. 18, 976-977

YAGER, J.A., S.F. FOSTER, M.C. ZINK., J.F. PRESCOTT u. J.H. LUMSDEN (1986):

In vitro bactericidal efficacy of equine polymorphonuclear leukocytes against *Corynebacterium equi*.

Am. J. Vet. Res. 47, 438-440

YAGER, J.A. (1987):

The pathogenesis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.

Vet. Microbiol. 14, 225-232

YAZAWA, K., Y. MIKAMI, N. MAEDA, M. MORISAKI u. S. IWASAKI (1994):
Phosphorylative inactivation of rifampicin by *Nocardia otitidiscaviarum*.
J. Antimicrob. Chemother. 33, 1127-1135

ZERTUCHE, J. M., u. C. J. HILLIDGE (1987):
Therapeutic Considerations for *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 9, 965-971

ZHANEL, G.G., M. DUECK, D.J. HOBAN, L.M. VERCAIGNE, J.M. EMBIL, A.S.
GIN u. J.A. KARLOWSKY (2001):
Review of macrolides and ketolides: focus on respiratory tract infections.
Drugs 61, 443-498

ZHANEL, G.G., M. WALTERS, A. NOREDDIN, L.M. VERCAIGNE, A.
WIERZBOWSKI, J.M. EMBIL, A.S. GIN, S. DOUTHWAITE u. D.J. HOBAN
(2002):
The ketolides: A critical review.
Drugs 62, 1771-1804

ZINK, M.C., J.A. YAGER, J.F. PRESCOTT u. B.N. WILKIE (1985):
In vitro phagocytosis and killing of *Corynebacterium equi* by alveolar macrophages of
foals.
Am. J. Vet. Res. 46, 2171-2174

ZINK, M.C., J.A. YAGER, J.F. PRESCOTT u. M.A. FERNANDO (1987):
Electron microscopic investigation of intracellular events after ingestion of
Rhodococcus equi by foal alveolar macrophages.
Vet. Microbiol. 14, 295-305

9 Anhang

Tab. 21: Klinischer Score zur Beurteilung des Schweregrads der klinischen respiratorischen Symptome (nach OHNESORGE et al. 1998)

Untersuchung	Befund	Punkte
Nasenausfluss	Nein	0
	serös, mukös	1
	Purulent	2
Hustenauslösung	nicht auslösbar	0
	Spontan	2
Lnn. Mandibulares	o.b.B	0
	Vergrößert	1
Lungenauskultation	vesikulär, vesikulär verschärft	0
	Rasseln, Knistern, Giemen	2
Tracheaauskultation	o.b.B., rauh	0
	Rasseln	2
Gesamtscore		0-9

Wochen	Datum	Temp.	Lunge			Trachea			Nasenausfluss				Lnn		Husten		Nabel	Leukos	A/Pn	Therapie	sonstige Behandlung
			obB	verschärft	rasseln/geräuschen	obB	Rauh	rasseln	ohne	serös	mukös	purulent	obB	vergrößert	nein	ja					
	Score		0	h=1	2	0	0	1	0	1	1	2	0	1	0	1					
1																					
2																					
3																					
4																					
5																					
6																					
7																					
8																					
9																					
10																					
11																					
12																					

Abb. 12: Untersuchungsblatt für Fohlen

Ultraschalluntersuchung der Lunge

Stutenummer, Stall	Datum	Gruppe	Untersuchung Nr.:
--------------------	-------	--------	-------------------

	12.	11.	10.	9.	8.	7.	6.	5.	4.
A									
B									
C									
rechts									
	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
A									
B									
C									
links									
					behandelt ab mit Nachkontrolle am: Untersucher: Sonstiges: Gerät:				

Abb. 13: Befundbogen für die sonographische Untersuchung der Lunge

R. equi:

Datum:

Nr. des Isolates:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GC	SXT 0,03/0,6	SXT 0,06/1,2	SXT 0,12/2,3	SXT 0,25/4,8	SXT 0,5/9,5	SXT 1/19	SXT 2/38	SXT 4/76	SXT 8/152	SXT 16/304	SXT 32/608
B	GC	GEN 0,06	GEN 0,12	GEN 0,25	GEN 0,5	GEN 1	GEN 2	GEN 4	GEN 8	GEN 16	GEN 32	GEN 64
C	RIF 0,03	RIF 0,06	RIF 0,12	RIF 0,25	RIF 0,5	RIF 1	RIF 2	RIF 4	RIF 8	RIF 16	RIF 32	RIF 64
D	AZI 0,03	AZI 0,06	AZI 0,12	AZI 0,25	AZI 0,5	AZI 1	AZI 2	AZI 4	AZI 8	AZI 16	AZI 32	AZI 64
E	TEL 0,03	TEL 0,06	TEL 0,12	TEL 0,25	TEL 0,5	TEL 1	TEL 2	TEL 4	TEL 8	TEL 16	TEL 32	TEL 64
F	CLA 0,03	CLA 0,06	CLA 0,12	CLA 0,25	CLA 0,5	CLA 1	CLA 2	CLA 4	CLA 8	CLA 16	CLA 32	CLA 64
G	ERY 0,03	ERY 0,06	ERY 0,12	ERY 0,25	ERY 0,5	ERY 1	ERY 2	ERY 4	ERY 8	ERY 16	ERY 32	ERY 64
H												

Abb. 14: Bogen zur Auswertung der Mikrotiterplatten für *R. equi***S. aureus ATCC® 29213**

Datum:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GC	SXT 0,03/0,6	SXT 0,06/1,2	SXT 0,12/2,3	SXT 0,25/4,8	SXT 0,5/9,5	SXT 1/19	SXT 2/38	SXT 4/76	SXT 8/152	SXT 16/304	SXT 32/608
B	GC	GEN 0,06	GEN 0,12	GEN 0,25	GEN 0,5	GEN 1	GEN 2	GEN 4	GEN 8	GEN 16	GEN 32	GEN 64
C	RIF 0,03	RIF 0,06	RIF 0,12	RIF 0,25	RIF 0,5	RIF 1	RIF 2	RIF 4	RIF 8	RIF 16	RIF 32	RIF 64
D	AZI 0,03	AZI 0,06	AZI 0,12	AZI 0,25	AZI 0,5	AZI 1	AZI 2	AZI 4	AZI 8	AZI 16	AZI 32	AZI 64
E	TEL 0,03	TEL 0,06	TEL 0,12	TEL 0,25	TEL 0,5	TEL 1	TEL 2	TEL 4	TEL 8	TEL 16	TEL 32	TEL 64
F	CLA 0,03	CLA 0,06	CLA 0,12	CLA 0,25	CLA 0,5	CLA 1	CLA 2	CLA 4	CLA 8	CLA 16	CLA 32	CLA 64
G	ERY 0,03	ERY 0,06	ERY 0,12	ERY 0,25	ERY 0,5	ERY 1	ERY 2	ERY 4	ERY 8	ERY 16	ERY 32	ERY 64
H												

Abb. 15: Bogen zur Auswertung der Mikrotiterplatten des Referenzstammes *S. aureus ATCC® 29213*

Tab. 22: lungenkranke Fohlen (Gruppe 1) aus dem Jahr 2006: Geschlecht, Keimgehalt im TBS, klinische, hämatologische und sonographische Befunde zum Zeitpunkt der Probenentnahme

2006						
Nummer	Ergebnis TBS	Geschlecht	Klinischer Score	Leukos	Abszessanzahl	Abszess-Score
1	2	2	2	13.100	1	2,0
2	3	2	4	5.300	2	3,0
3	2	1	2	15.100	1	1,0
4	2	2	1	6.900	1	1,0
5	1	2	2	20.500	1	1,5
6	2	2	4	4.600	6	12,5
7	2	1	1	5.400	19	32,0
8	3	2	2	14.300	1	1,5
9	2	1	2	13.700	1	1,5
10	3	2	1	10.800	3	3,5
11	3	1	4	18.500	2	2,0
12	3	2	2	14.100	1	1,0
13	1	1	1	13.500	2	2,0
14	2	2	1	13.700	1	1,0
15	2	1	2	8.100	2	2,5
16	3	2	1	5.100	3	7,5
17	2	1	1	12.600	1	4,0
18	1	1	2	14.600	1	1,5
19	1	2	1	17.600	1	1,0
20	1	2	1	15.600	1	2,0
21	1	1	0	16.200	3	5,0
22	1	2	1	6.300	1	3,0
23	3	1	1	9.400	2	2,5
24	3	2	1	14.400	2	4,0
25	3	1	1	16.900	2	4,0
26	2	2	2	12.000	1	1,0
27	2	2	3	12.900	5	9,5
28	1	1	2	14.600	1	1,0
29	1	1	1	17.900	1	2,0
30	3	2	2	14.400	2	3,5
31	1	1	2	9.000	1	1,5
32	3	1	2	11.200	2	3,5
33	2	1	2	5.800	2	3,0
34	2	2	2	8.600	2	2,0

Ergebnis TBS: 1 = geringgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

2 = mittelgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

3 = hochgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

Geschlecht: 1 = weiblich

2 = männlich

klinischer Score: klinischer Score modifiziert nach OHNESORGE et al., 1998

Leukos: Anzahl der Leukozyten pro μl Blut

Abszessanzahl: Anzahl der Abszesse bei der Untersuchung

Abszess-Score: Summe der einzelnen Durchmesser der Lungenabszesse in cm

Tab. 23: lungenkranke Fohlen (Gruppe 1) aus dem Jahr 2007: Geschlecht, Keimgehalt im TBS, klinische, hämatologische und sonographische Befunde zum Zeitpunkt der Probenentnahme

2007						
Nummer	Ergebnis TBS	Geschlecht	Klinischer Score	Leukos	Abszessanzahl	Abszess-Score
1	2	2	1	7.800	3	3
2	3	1	2	21.000	4	11
3	3	1	1	9.700	7	11,5
4	1	1	2	15.900	1	2,5
5	2	1	2	13.500	6	6
6	3	1	2	14.400	4	6,5
7	3	1	1	19.800	4	5
8	3	1	1	13.500	3	3
9	3	1	7	10.600	19	27
10	2	2	6	24.200	8	10
11	3	1	2	19.200	2	4
12	2	1	6	16.900	14	20
13	1	2	2	17.200	2	3
14	1	1	1	16.000	3	3
15	2	1	2	13.300	1	1
16	2	2	3	23.700	6	6
17	3	1	1	14.600	5	6
18	2	2	2	12.000	2	3,5
19	3	1	2	18.100	1	2

Nummer: fortlaufende Fohlennummer in Gruppe 1

Ergebnis TBS: 1 = geringgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

2 = mittelgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

3 = hochgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

Geschlecht: 1 = weiblich

2 = männlich

klinischer Score: klinischer Score modifiziert nach OHNESORGE et al., 1998

Leukos: Anzahl der Leukozyten pro μl Blut

Abszessanzahl: Anzahl der Abszesse bei der Untersuchung

Abszess-Score: Summe der einzelnen Durchmesser der Lungenabszesse in cm

Tab. 24: lungengesunde Fohlen (Gruppe 2) aus dem Jahr 2006: Geschlecht, Keimgehalt im TBS, klinische und hämatologische Befunde zum Zeitpunkt der Probenentnahme

2006				
Nummer	Ergebnis TBS	Geschlecht	Klinischer Score	Leukos
1	1	1	1	7.300
2	1	1	2	7.500
3	2	1	1	8.500
4	2	1	1	6.400
5	2	2	1	7.600
6	1	2	1	8.400
7	1	1	1	5.800
8	1	2	2	8.300
9	2	1	2	7.900

Nummer: fortlaufende Fohlennummer in Gruppe 2

Ergebnis TBS: 1 = geringgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

2 = mittelgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

Geschlecht: 1 = weiblich

2 = männlich

klinischer Score: klinischer Score modifiziert nach OHNESORGE et al., 1998

Leukos: Anzahl der Leukozyten pro μl Blut

Tab. 25: lungengesunde Fohlen (Gruppe 2) aus dem Jahr 2007: Geschlecht, Keimgehalt im TBS, klinische und hämatologische Befunde zum Zeitpunkt der Probenentnahme

2007				
Nummer	Ergebnis TBS	Geschlecht	Klinischer Score	Leukos
1	1	2	2	11.200
2	1	2	0	9.900
3	2	1	1	7.900
4	1	2	2	8.200
5	2	2	1	7.100
6	1	1	2	5.100
7	1	1	1	8.000
8	3	1	1	6.000
9	2	1	2	8.800
10	1	2	1	10.300
11	1	2	1	9.300

Nummer: fortlaufende Fohlennummer in Gruppe 2

Ergebnis TBS: 1 = geringgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*
2 = mittelgradiger kultureller Gehalt an *Rhodococcus equi*

Geschlecht: 1 = weiblich
2 = männlich

klinischer Score: klinischer Score modifiziert nach OHNESORGE et al., 1998

Leukos: Anzahl der Leukozyten pro μl Blut

Tab. 26: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate lungenkranker Fohlen (Gruppe 1) aus dem Jahr 2006

2006	MHK-Werte in µg/ml							
	Nr.	TMS	Gentamicin	Rifampicin	Tulathromycin	Azithromycin	Telithromycin	Clarithromycin
1	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
2	0,25 / 4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12
3	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
4	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
5	0,25/4,8	0,25	0,06	32	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
6	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
7	0,25 / 4,8	0,12	0,06	64	0,5	0,12	≤ 0,03	0,25
8	0,25 / 4,8	0,12	0,06	64	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
9	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
10	0,25/4,8	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	≤ 0,03	0,5
11	0,5/9,5	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
12	0,25 / 4,8	0,25	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
13	0,25/4,8	0,25	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
14	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
15	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
16	0,25 / 4,8	0,25	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
17	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
18	0,25 / 4,8	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
19	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
20	0,25/4,8	0,25	0,06	≥ 128	8	0,12	0,06	0,5
21	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
22	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12
23	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
24	0,25 / 4,8	0,25	0,06	32	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
25	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
26	0,25 / 4,8	0,5	≤ 0,03	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12
27	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
28	0,5/9,5	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,5
29	0,25 / 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
30	0,25 / 4,8	0,5	0,06	≥ 128	8	0,25	0,12	0,5
31	0,25 / 4,8	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,25
32	0,25 / 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
33	0,25 / 4,8	0,5	≤ 0,03	≥ 128	8	0,25	0,06	0,5
34	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12

Nr.: fortlaufende Nummer in Gruppe 1

TMS: Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)
 MHK: minimale Hemmkonzentration in µg/ml

Tab. 27: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate lungenkranker Fohlen (Gruppe 1) aus dem Jahr 2007

2007	MHK-Werte in µg/ml								
	Nr.	TMS	Gentamicin	Rifampicin	Tulathromycin	Azithromycin	Telithromycin	Clarithromycin	Erythromycin
	1	0,25/ 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
	2	0,25 / 4,8	0,25	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	3	0,25 / 4,8	0,12	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	4	0,12 / 2,3	0,25	0,06	32	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
	5	0,25 / 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	6	0,25 / 4,8	0,25	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,5
	7	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12
	8	0,25 / 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	9	0,25 / 4,8	0,25	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	10	0,25 / 4,8	0,25	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	11	0,25 / 4,8	1	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,25
	12	0,25 / 4,8	0,25	0,06	≥ 128	2	0,12	≤ 0,03	0,25
	13	0,25 / 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	14	0,25 / 4,8	0,12	0,06	32	0,5	0,12	≤ 0,03	0,25
	15	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	1	0,12	0,06	0,12
	16	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
	17	0,25 / 4,8	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,25
	18	0,25 / 4,8	0,25	≤ 0,03	64	0,5	0,12	0,06	0,12
	19	0,25 / 4,8	0,25	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12

Nr.: fortlaufende Nummer in Gruppe 1

TMS: Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)
 MHK: minimale Hemmkonzentration in µg/ml

Tab. 28: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate lungengesunder Fohlen (Gruppe 2) aus dem Jahr 2006

2006	MHK-Werte in µg/ml							
Nr.	TMS	Genta- micin	Rifam- picin	Tulathro- mycin	Azithro- mycin	Telithro- mycin	Clarithro- mycin	Erythro- mycin
1	0,25/4,8	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
2	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
3	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	1	0,06	0,06	0,12
4	0,25/4,8	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,5
5	0,25/4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
6	0,25/4,8	0,5	0,06	≥ 128	8	0,12	0,06	0,5
7	0,25 / 4,8	0,5	≤ 0,03	≥ 128	8	0,25	0,12	0,5
8	0,25/4,8	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,12
9	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12

Nr.: fortlaufende Nummer in Gruppe 2

TMS: Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)

MHK: minimale Hemmkonzentration in µg/ml

Tab. 29: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate lungengesunder Fohlen (Gruppe 2) aus dem Jahr 2007

2007	MHK-Werte in µg/ml							
Nr.	TMS	Genta- micin	Rifam- picin	Tulathro- mycin	Azithro- mycin	Telithro- mycin	Clarithro- mycin	Erythro- mycin
1	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
2	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	1	0,12	0,06	0,12
3	0,25 / 4,8	0,12	≤ 0,03	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
4	0,25 / 4,8	0,25	≤ 0,03	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
5	0,25 / 4,8	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
6	0,25 / 4,8	1	≤ 0,03	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
7	0,5 / 9,5	0,5	0,06	64	2	0,12	≤ 0,03	0,5
8	0,25 / 4,8	1	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,25
9	0,25 / 4,8	1	0,06	≥ 128	2	0,12	0,06	0,25
10	0,25 / 4,8	0,5	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
11	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	4	0,12	0,06	0,25

Nr.: fortlaufende Nummer in Gruppe 2

TMS: Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)

MHK: minimale Hemmkonzentration in µg/ml

Tab. 30: MHK-Werte der *R. equi*-Isolate externer Fohlen (Gruppe 3)

Nummer	MHK-Werte in µg/ml							
	TMS	Gentamicin	Rifampicin	Tulathromycin	Azithromycin	Telithromycin	Clarithromycin	Erythromycin
1	0,12 / 2,3	0,25	≤ 0,03	32	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
2	0,25 / 4,8	0,5	≤ 0,03	≥ 128	4	0,12	0,06	0,5
3	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,12	0,06	0,12
4	0,25/4,8	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,5
5	0,25/4,8	0,25	0,06	32	1	0,12	≤ 0,03	0,12
6	0,25/4,8	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
7	0,25/4,8	0,25	0,06	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
8	0,5/9,5	0,5	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,25
9	0,25 / 4,8	0,25	0,06	64	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
10	0,25 / 4,8	≤ 0,06	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
11	0,25 / 4,8	0,5	0,06	≥ 128	8	0,25	0,06	0,5
12	0,12 / 2,3	0,5	≤ 0,03	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
13	0,25 / 4,8	0,5	0,06	64	0,5	0,06	0,06	0,12
14	0,25 / 4,8	≤ 0,06	0,06	16	0,12	≤ 0,03	≤ 0,03	0,06
15	0,25/4,8	0,25	0,06	64	1	0,06	≤ 0,03	0,12
16	0,25/4,8	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
17	0,25/4,8	≤ 0,06	≤ 0,03	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
18	0,5/9,5	0,5	0,06	≥ 128	4	0,06	0,06	0,25
19	0,5/9,5	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
20	0,25/4,8	0,25	0,06	64	0,5	≤ 0,03	≤ 0,03	0,12
21	0,5/9,5	0,25	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
22	0,12/2,3	0,25	0,06	≥ 128	1	0,25	0,25	0,25
23	0,25/4,8	0,5	≤ 0,03	64	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
24	0,5/9,5	0,5	0,06	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
25	0,25/4,8	0,25	≤ 0,03	≥ 128	4	0,12	0,06	0,25
26	0,25/4,8	0,12	0,06	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
27	0,5/9,5	0,12	8	64	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
28	0,25/4,8	0,12	0,06	64	0,5	0,12	≤ 0,03	0,12
29	0,5/9,5	0,25	0,06	≥ 128	4	0,12	0,06	0,5
30	0,25/4,8	0,5	0,06	64	1	0,12	≤ 0,03	0,25
31	0,25/4,8	0,25	0,06	64	1	0,12	≤ 0,03	0,25
32	0,5/9,5	0,25	≤ 0,03	32	0,5	0,06	≤ 0,03	0,12
33	0,25/4,8	0,5	0,06	≥ 128	4	0,25	0,06	0,5
34	0,25/4,8	0,25	0,06	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12
35	0,25/4,8	0,25	0,06	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12
36	0,25/4,8	0,25	0,06	≥ 128	4	0,25	0,06	0,5
37	0,25/4,8	0,12	0,06	64	1	0,12	≤ 0,03	0,12

Nummer: fortlaufende Nummer in Gruppe 3
TMS: Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19)
MHK: minimale Hemmkonzentration in $\mu\text{g/ml}$

9.1 Reaktionen des apy-Coryne® Testsystems

Tab. 31: Enzymatische Reaktionen des api-Coryne® Testsystems

enzymatische Reaktion	Farbumschlag	Ergebnis im api-Coryne®	Code
Nitritreduktion	kräftiges rosa, rot	positiv	1
Pyrazinamidase	farblos, sehr helles braun, sehr helles orange	negativ	0
Pyrrolidonyl-Arylamidase	farblos, sehr helles orange	negativ	0
alkalische Phosphatase	purpur	positiv	1
β -Glucuronidase	farblos, hellgrau, hellbeige	negativ	0
β -Galaktosidase	farblos, beige-hellpurpur	negativ	0
α -Glukosidase	purpur	positiv	1
N-Acetyl- β -Glucosaminidase	farblos, beige-hellpurpur, hellbraun, hellgrau	negativ	0
Aeskulin	farblos, grau	negativ	0
Urease	gelb, orange	negativ	0
Gelatinehydrolase	keine Diffusion des Pigments	negativ	0

Tab. 32: Kohlenhydratfermentation des api-Coryne[®] Testsystems

Kohlenhydratfermentation	Farbumschlag	Ergebnis im api-Coryne [®]	Code
Glukose	rot, orange	negativ	0
Ribose	rot, orange	negativ	0
Xylose	rot, orange	negativ	0
Manitol	rot, orange	negativ	0
Maltose	rot, orange	negativ	0
Lactose	rot, orange	negativ	0
Saccharose	rot, orange	negativ	0
Glykogen	rot, orange	negativ	0
Katalase	nach Zugabe von H ₂ O ₂ (3%) Blasenbildung	positiv	4

9.2 Nährmedien

Staphylokokken-Streptokokken-Selektivagar

43,0 g Staphylokokken-Streptokokken-Selektiv-Agar (Art. Nr. 1.05468, VWR-International, Hannover, Deutschland)

1,5 g Agar (Art.-Nr. L11, Oxoid, Wesel, Deutschland)

1000ml Aqua dest.

15 min. quellen, autoklavieren; Abkühlen auf 52°C, anschließend 70 ml Rinderblut zugeben, gut mischen, bei 4°C lagern

Kochblutplatten

Columbia Agar (Art. Nr. CM 0331T, Fa. Oxoid, Wesel, Deutschland)

2 g Agar (Art. Nr. CM L11, Fa. Oxoid, Wesel, Deutschland)

1000 ml Aqua dest.

15 min. bei 121°C autoklavieren, dem noch heißen Agar setzt man 100 ml Rinderblut hinzu und schwenkt gut durch, bei 4°C lagern

NANAT-Medium

Columbia-Agar (Art.-Nr. CM 0331T, Fa. Oxoid, Wesel, Deutschland)

20 µg/ml = 0,02g/l Nalidixinsäure

25 µg/ml = 0,025 g/l Novobiocin

40 µg/ml = 0,04 g/l Cycloheximid

0,005 % 3,6 ml/l Tellurit (5 ml zum Auflösen)

Blutagarplatten (BAP)

20 g Blut-Agar-Basis-Nr. 2

500 ml Aqua bidest.

Medium autoklavieren, Abkühlen auf 52°C, 25 ml defibriniertes Schafblut zugeben, gut durchmischen, Platten mit Schichtdicke von ca. 4 mm gießen, bei 4°C lagern

Nährbouillon (1 Liter)

10 g Fleischextrakt (Fa. Oxoid, Wesel, Deutschland)

10 g Pepton (Fa. Oxoid, Wesel, Deutschland)

5 g NaCl

(pH-Wert auf 7,2–7,4 einstellen)

CAMHB

100 ml Mueller-Hinton-Bouillon (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)

0,1 ml Magnesiumchlorid-Stocklösung

0,2 ml Calciumchlorid-Stocklösung

Die beiden Zusätze aseptisch der gebrauchsfertigen MH-Bouillon zugeben, gut mischen, bei 4°C lagern

CAMHB + lysiertes Pferdeblut (2%)

100 ml Mueller-Hinton-Bouillon (Fa. Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)

0,1 ml Magnesiumchlorid-Stocklösung

0,2 ml Calciumchlorid-Stocklösung

2 ml Laked horse blood (Fa. Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)

Die beiden Zusätze aseptisch der gebrauchsfertigen MH-Bouillon zugeben, gut mischen, das mit Saponin lysierte Pferdeblut zugeben, gut mischen und bei 4°C lagern

Brain-Heart-Infusion

37 g Brain-Heart-Infusion CM0225 (Fa. Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)

1 l Aqua dest.

Brain-Heart-Infusion-Pulver in Aqua dest. lösen, gut mischen, 15 min. bei 115°C autoklavieren, bei 4°C lagern

9.3 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Keimgehalt von <i>R. equi</i> im Tracheobronchialsekret bei den kranken (Gruppe 1: n = 53) und gesunden (Gruppe 2: n = 20) Fohlen	41
Abb. 2: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19).....	44
Abb. 3: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Gentamicin.....	45
Abb. 4: MHK-Werte von <i>R. equi</i> für Gentamicin der kranken (Gruppe 1: n = 53) und gesunden (Gruppe 2: n = 20) Fohlen und der externen Isolate (Gruppe 3: n = 37) ..	46
Abb. 5: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Rifampicin	47
Abb. 6: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Tulathromycin	48
Abb. 7: MHK-Werte von <i>R. equi</i> für Tulathromycin der kranken (Gruppe 1: n = 53) und gesunden (Gruppe 2: n = 20) Fohlen im Vergleich der Jahre 2006 und 2007 ...	49
Abb. 8: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Azithromycin	50
Abb. 9: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Telithromycin.....	52
Abb. 10: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Clarithromycin	53
Abb. 11: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate (n = 110) gegenüber Erythromycin	54
Abb. 12: Untersuchungsblatt für Fohlen	99
Abb. 13: Befundbogen für die sonographische Untersuchung der Lunge.....	100
Abb. 14: Bogen zur Auswertung der Mikrotiterplatten für <i>R. equi</i>	101
Abb. 15: Bogen zur Auswertung der Mikrotiterplatten des Referenzstammes <i>S. aureus</i> ATCC® 29213	101

9.4 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Plattenlayout der Mikrodilutionsmethode (Konzentrationen in µg/ml)	36
Tab. 2: Anzahl, Geschlecht und durchschnittliches Alter der Fohlen zum Zeitpunkt der endoskopischen Probenentnahme	38
Tab. 3: Klinischer Score der Fohlen zum Zeitpunkt der Probenentnahme (Median; Q _{25%} -Q _{75%})	39
Tab. 4: Blutleukozytenzahl zum Zeitpunkt der Probenentnahme (Mittelwerte und Standardabweichung).....	40
Tab. 5: MHK-Werte von <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213.....	43
Tab. 6: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Trimethoprim-Sulfamethoxazol	45
Tab. 7: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Gentamicin.....	47
Tab. 8: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Tulathromycin	50
Tab. 9: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Azithromycin	51
Tab. 10: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Telithromycin	52
Tab. 11: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Clarithromycin.....	53
Tab. 12: MHK ₅₀ und MHK ₉₀ -Werte der 110 <i>R. equi</i> -Isolate für Erythromycin.....	54
Tab. 13: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (1:19).....	57
Tab. 14: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Gentamicin.....	58
Tab. 15: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Rifampicin	59
Tab. 16: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Tulathromycin	61
Tab. 17: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Azithromycin	62
Tab. 18: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Telithromycin	63
Tab. 19: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Clarithromycin.....	64
Tab. 20: <i>In vitro</i> -Empfindlichkeit von <i>R. equi</i> -Isolaten gegenüber Erythromycin.....	65
Tab. 21: Klinischer Score zur Beurteilung des Schweregrads der klinischen respiratorischen Symptome (nach OHNESORGE et al. 1998)	98
Tab. 23: lungenkranke Fohlen (Gruppe 1) aus dem Jahr 2007: Geschlecht, Keimgehalt im TBS, klinische, hämatologische und sonographische Befunde zum Zeitpunkt der Probenentnahme	103

Tab. 24: lungengesunde Fohlen (Gruppe 2) aus dem Jahr 2006: Geschlecht, Keimgehalt im TBS, klinische und hämatologische Befunde zum Zeitpunkt der Probenentnahme	104
Tab. 27: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate lungenkranker Fohlen (Gruppe 1) aus dem Jahr 2007	107
Tab. 29: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate lungengesunder Fohlen (Gruppe 2) aus dem Jahr 2007	108
Tab. 30: MHK-Werte der <i>R. equi</i> -Isolate externer Fohlen (Gruppe 3)	109
Tab. 31: Enzymatische Reaktionen des api-Coryne [®] Testsystems	111
Tab. 32: Kohlenhydratfermentation des api-Coryne [®] Testsystems	112

Danksagung

Frau Dr. Dr. habil. Monica Venner, PhD, möchte ich für die Überlassung dieses interessanten Themas, die fachliche Unterstützung, jederzeitige Hilfsbereitschaft und die Korrektur meiner Dissertation danken. Was lange währt wird endlich gut.

Paul Schockemöhle danke ich für seine Zustimmung zur Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Philipp Baumgart und Herrn Wilken Treu und allen Mitarbeitern des Gestüts Lewitz gilt mein Dank für die unkomplizierte und kooperative Zusammenarbeit und ihre Hilfe bei der praktischen Durchführung dieser Studie.

Herrn Prof. Dr. S. Schwarz danke ich sehr für sein Engagement und die fachliche Unterstützung, die einen komplikationsfreien und zügigen Ablauf des Laborteils überhaupt erst ermöglichten.

Frau Roswita Becker danke ich für die gute Einführung und die permanente Unterstützung bei der Laborarbeit. Ohne dich wäre der Laborteil nicht so reibungslos abgelaufen.

Den Mitarbeitern des Institutes für Mikrobiologie des Zentrums für Infektionsmedizin der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover danke ich für die Bearbeitung der Proben. Besonders danke ich Dr. Jutta Verspohl für die fachliche Unterstützung im Bereich der Mikrobiologie.

Den Leitern der mikrobiologischen Untersuchungseinrichtungen Deutschlands danke ich für das Zurverfügungstellen der externen *R. equi*-Isolate.

Der Firma Pfizer Animal Health danke ich für die großzügige finanzielle Unterstützung.

Ich danke auch Dr. Wolfgang Reimers für die Hilfe bei der Auswertung und dem Beantworten der vielen Fragen der Statistik.

Ich danke meiner Schwester Chris, die mir beim Formatieren geholfen hat. Ohne Dich wäre ich wohl verzweifelt.

Meiner Schwester Steffi danke ich recht herzlich, dass sie mir bei der englischen Übersetzung zur Seite stand.

Mein herzlicher Dank gilt Kathrin Kilian, Sandra Wittmaack und Marc Lämmer für die Unterstützung bei der Probengewinnung und die wunderschöne Zeit, die wir gemeinsam verbracht haben. Diesen Sommer werde ich nie vergessen.

Ein besonderer Dank an meine Kollegen Simone Schneider, Natalia Domanska, Rita Millere-Winter und den Rest der Klinik, die mir den Rücken gestärkt haben und meine Auszeiten zum Fertigstellen der Arbeit ermöglicht haben. Ihr seid die Besten.

Der größtmögliche Dank gilt vor allem meinen Eltern, die mir mein gesamtes Studium, sowie die Dissertation, überhaupt erst ermöglicht haben. Danke, dass Ihr trotz mancher Eskapaden immer an mich geglaubt habt.