

4. Ergebnisse

Alle Proben (Blut-, Haut-, Liquor- und Synoviaprobe), die im Rahmen dieser Arbeit gewonnen wurden, waren auswertbar.

Der indirekte Erregernachweis erfolgte an 337 Serumproben, wovon 195 Proben der Gruppe A – Probanden ohne auffällige Symptomatik im Sinne einer Lyme-Borreliose (LB) – und 142 Proben der Gruppe B – Probanden mit LB-ähnlicher Symptomatik – zugeordnet wurden.

Für den direkten Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. konnte auf Haut- (n=16), Liquor- (n=15), Synovia- (n=26) und Vollblutproben (n=19), die von Pferden mit Verdacht auf LB gewonnen wurden, zurückgegriffen werden. Die Haut-, Liquor- sowie Synoviaprobe fanden zum Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. sowohl in der PCR als auch in der kulturellen Anzucht Verwendung. Die Vollblutproben wurden nur mit Hilfe der PCR auf das Vorhandensein von spezifischer Borrelien-DNA getestet.

Die Einordnung der Probanden (n=337) in die Gruppen A und B erfolgte anhand der für jedes Tier individuell erhobenen Symptome. Die klinische Untersuchung der Probanden wurde in der Klinik für Pferdekrankheiten, Allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Die labordiagnostischen Untersuchungen erfolgten im Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV, Berlin)*.

Die Arbeit konnte zusätzlich auf Untersuchungsergebnisse aus dem Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL, Oberschleißheim) und aus dem Analytischen Labor (ALOMED, Radolfzell-Böhringen) zurückgreifen.

* seit dem 01.11.2002 Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

4.1. Ergebnisse der klinischen Untersuchung

4.1.1. Allgemeine Parameter des Signalements

4.1.1.1. Alter

Die Altersspanne der Tiere lag zwischen 5 Tagen und 36 Jahren. Die meisten Probanden waren zwischen 4 und 11 Jahre alt ($\bar{x}=9,6$). Die nachstehende Abbildung gibt die Altersverteilung der untersuchten Pferde an (Abb. 6).

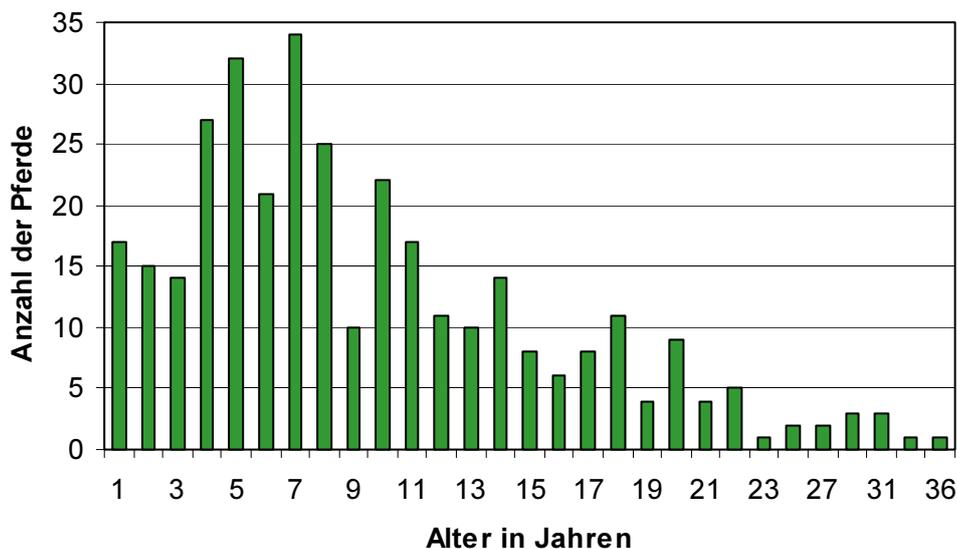


Abb. 6: Altersverteilung der Probanden

Die Altersverteilung der Probanden innerhalb der Gruppen A und B gestaltete sich ähnlich, wobei in Gruppe B die 7- sowie 16-jährigen Pferde stark vertreten waren ($p \leq 0,839$).

4.1.1.2. Geschlecht

Die Probandengruppe ($n=337$) enthielt insgesamt 203 männliche (davon 156 kastriert) und 134 weibliche Tiere. Somit war über die Hälfte der Pferde männlichen Geschlechts (60,2%). Die Geschlechterverteilung in den einzelnen Gruppen ist in der Abbildung 7 dargestellt. Das Verhältnis von männlich-kastrierten zu weiblichen Tieren gestaltete sich in beiden Gruppen ähnlich. In Gruppe A dominierten die Hengste signifikant ($p \leq 0,041$).

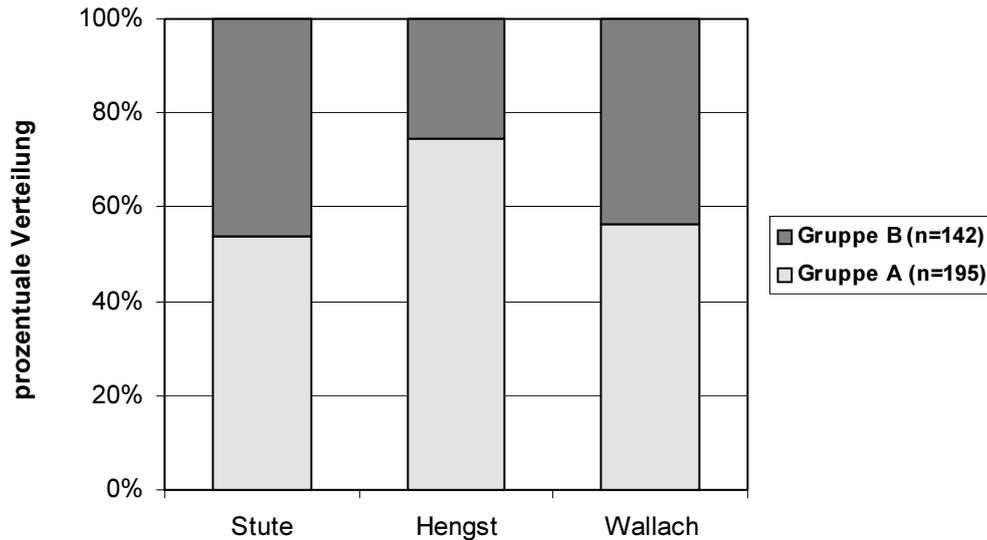


Abb. 7: Geschlechterverteilung in Gruppe A und B

4.1.1.3. Rasse

Die Rassen der untersuchten Pferde verteilten sich vorwiegend auf Vollblut/Traber (n=62), Warmblut (n=182), Kleinpferde (n=30), unterschiedliche Ponyrassen (n=19) sowie andere (n=44). Bei der Gegenüberstellung der Rassenverteilung in den zwei Gruppen lässt sich eine Häufung von Trabern in Gruppe A erkennen, die jedoch nicht signifikant ist (Abb. 8).

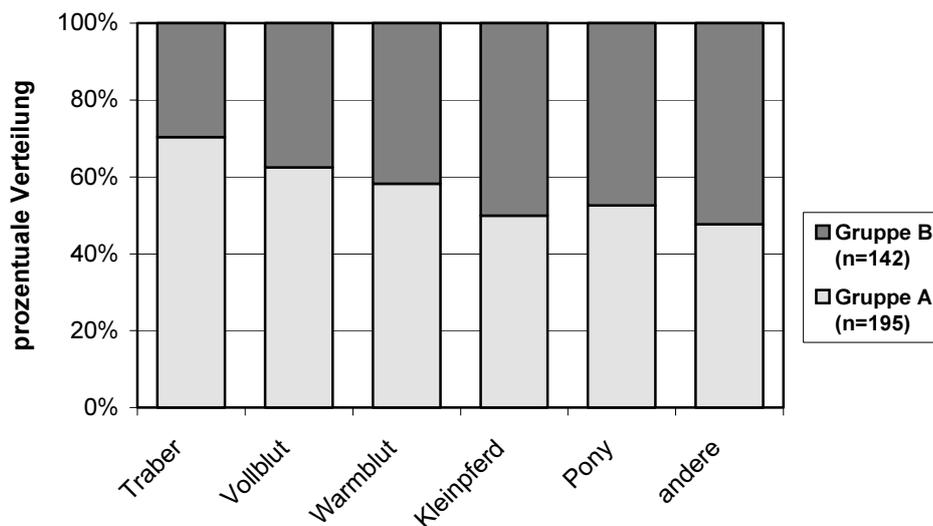


Abb. 8: Rassenverteilung in Gruppe A und B

4.1.1.4. Haltungform

Bei der Einteilung der Haltungform wurde zwischen Offenstallhaltung (O), Stallhaltung mit Weidegang (S+W) oder Paddock (S+P) sowie reiner Stallhaltung (S) unterschieden. Die Verteilung der jeweiligen Haltungformen in der Gesamtprobierendengruppe sowie der zwei Untergruppen verdeutlicht die Abbildung 9.

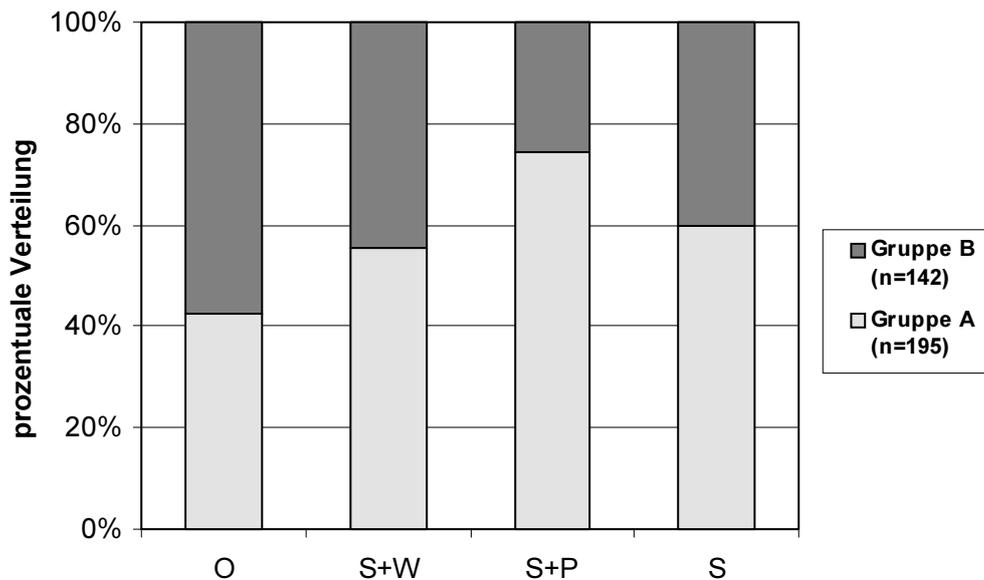


Abb. 9: Verteilung der Probanden hinsichtlich der Haltungform

Legende: O = Offenstallhaltung

S+W = Stallhaltung mit Weidegang

S+P = Stallhaltung mit Paddock

S = reine Stallhaltung

Der Unterschied in den Haltungformen zwischen den Gruppen A und B ist signifikant ($p \leq 0,001$). In Gruppe B lässt sich eine Häufung von Tieren, die im Offenstall gehalten werden, erkennen. Im Gegensatz dazu dominiert die Haltungform Stallhaltung mit Paddock in der Gruppe A (st.R. $\geq 2,0$).

4.1.1.5. Nutzungsrichtung

Bei der Anamnese der Tiere wurde auch die Nutzungsrichtung betrachtet. Dabei konnten vier Gruppen gebildet werden: Turnierpferd (T), Trabrennpferd respektive Galopper (Tr./G), Freizeitpferd (F) sowie Zucht- und Arbeitspferd (Z/A). Die Verteilung der Probanden hinsichtlich der Nutzungsart in den Gruppen A und B ist in Abbildung 10 dargestellt.

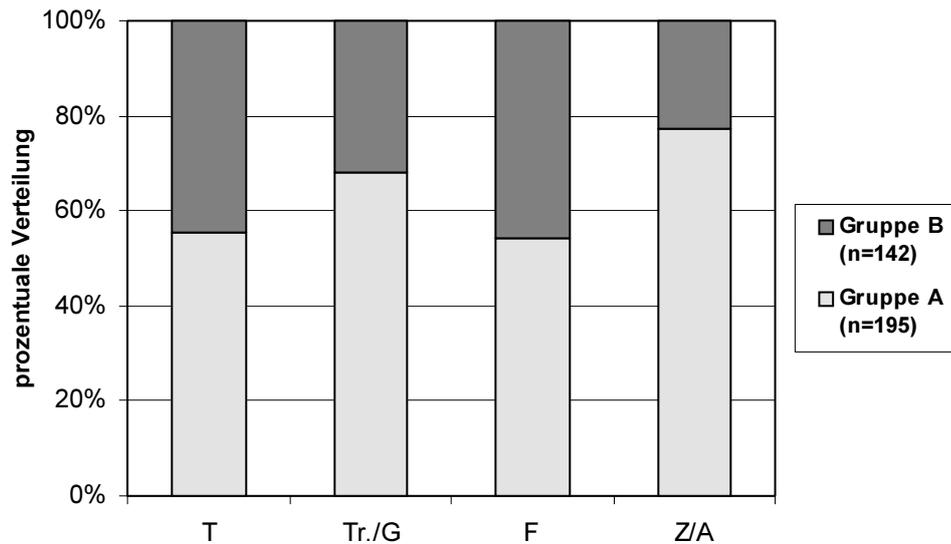


Abb. 10: Verteilung der Probanden hinsichtlich der Nutzungsart

Legende: T = Turnierpferd

Tr./G = Trabrennpferd/Galopper

F = Freizeitpferd

Z/A = Zuchtpferd/Arbeitspferd

Aus der Abbildung lässt sich entnehmen, dass in Gruppe A ein gehäuftes Auftreten von Pferden, die im Rennsport eingesetzt werden, sowie von Zucht- und Arbeitspferden zu verzeichnen ist.

4.1.1.6. Zeckenbefall

Die Anamnese beinhaltete zusätzlich zu den o.g. Parametern auch die Beobachtung von Zeckenbefall seitens des Besitzers. Dabei war der Zeitraum der Infestation der Zecken unterschiedlich und wurde in der Auswertung der Daten nicht berücksichtigt.

Bei 234 der 337 Probanden wurde vom Besitzer ein Befall mit Zecken beobachtet, das entspricht 69,4% der Gesamtprobandenzahl. Die Verteilung der Probanden hinsichtlich des Zeckenbefalls in den einzelnen Gruppen veranschaulicht die Abbildung 11. Bei der vergleichenden Betrachtung der zwei Probandengruppen konnte eine gehäufte Beobachtung von Zecken seitens des Patientenbesitzers in Gruppe B registriert werden. Dieser Unterschied ist signifikant ($p \leq 0,001$).

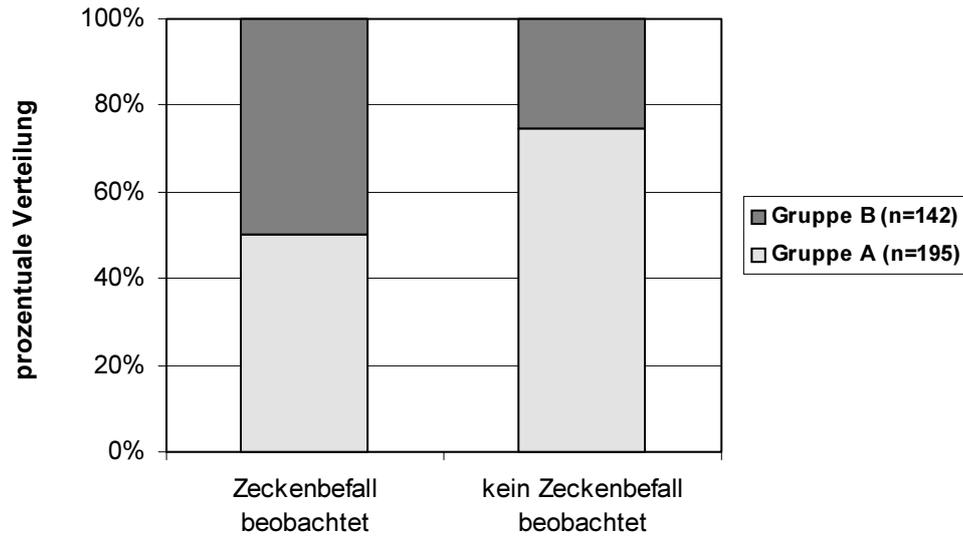


Abb. 11: Vergleich der Probanden mit und ohne Zeckenbefall in den Gruppen A und B

4.1.2. Klinische Parameter

4.1.2.1. Allgemeinzustand

Der Allgemeinzustand war bei 226 von 337 Probanden ungestört. Hingegen zeigten 111 von 337 Pferden einen gering- bis hochgradig gestörten Allgemeinzustand. Eine Gegenüberstellung der zwei Probandengruppen hinsichtlich ihres Allgemeinzustands erfolgt in Abbildung 12.



Abb. 12: Vergleich des Parameters Allgemeinzustand unter den Probanden

Die graphische Darstellung lässt erkennen, dass in Gruppe A ein gehäuftes Auftreten von Pferden mit gestörtem Allgemeinzustand zu beobachten war ($p \leq 0,001$).

Unter Berücksichtigung der Diagnosestellung konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen gestörtem Allgemeinbefinden und Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes, wie z.B. Kolik, registriert werden ($p \leq 0,001$). Da in der Literatur keinerlei Störungen des Magen-Darm-Traktes als Symptom einer LB beschrieben wurden, sind in Gruppe A vor allem Kolikpatienten vertreten.

Damit ist der signifikante Unterschied des Parameters Allgemeinzustand des Pferdes in den Gruppen irrelevant (Tab. 8).

Tab. 8: Zusammenhang der Parameter Allgemeinzustand und Symptomatik

Symptomatik		Allgemeinzustand		gesamt
		ungestört	gestört	
klinisch unauffällig	Anzahl	13	0	13
	Standardisierte Residuen	1,5	-2,1	
Bewegungsapparat	Anzahl	92	11	103
	Standardisierte Residuen	2,8	-3,9	
Haut	Anzahl	20	1	21
	Standardisierte Residuen	1,6	-2,2	
zentrales und peripheres Nervensystem	Anzahl	15	2	17
	Standardisierte Residuen	1,1	-1,5	
Auge	Anzahl	5	0	5
	Standardisierte Residuen	0,9	-1,3	
Atmungsapparat	Anzahl	14	2	16
	Standardisierte Residuen	1,0	-1,4	
Herz-Kreislaufsystem	Anzahl	18	11	29
	Standardisierte Residuen	-0,3	0,5	
Gastrointestinaltrakt	Anzahl	18	76	94
	Standardisierte Residuen	-5,7	8,1	
sonstige Erkrankungen	Anzahl	31	8	39
	Standardisierte Residuen	0,9	-1,4	
gesamt	Anzahl	226	111	337

4.1.2.2. Ernährungszustand

Der Ernährungszustand konnte bei 273 von 337 Pferden als gut bewertet werden. 42 Tiere wiesen einen mäßigen und 22 Probanden einen schlechten Ernährungszustand auf. Die Verteilung hinsichtlich des Ernährungszustandes in den zwei Gruppen stellt Tabelle 9 dar.

Tab. 9: Vergleich des Ernährungszustandes zwischen den zwei Probandengruppen

Ernährungszustand		Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=142)	gesamt (n=337)
gut	Anzahl	172	101	273
	% von Ernährungszustand	63,0	37,0	100,0
	% von Gruppen	88,2	71,1	81,0
mäßig	Anzahl	19	23	42
	% von Ernährungszustand	45,2	54,8	100,0
	% von Gruppen	9,7	16,2	12,5
schlecht	Anzahl	4	18	22
	% von Ernährungszustand	18,2	81,8	100,0
	% von Gruppen	2,1	12,7	6,5

Da ein schlechter Ernährungszustand als eines der LB-ähnlichen Symptome bei der Einteilung der Gruppen Berücksichtigung fand, ist die Häufung von Pferden mit schlechtem Ernährungszustand in Gruppe B statistisch zu vernachlässigen.

4.1.2.3. Körpertemperatur

Die rektal gemessene physiologische Körpertemperatur bewegt sich beim adulten Pferd zwischen 37,3°C und 38,0°C. Anhand der vorgegebenen Messdaten konnten drei Bewertungsgruppen gebildet werden: < 37,3°C (n=8), 37,3 – 38,0°C (n=270) und > 38,0°C (n=56). Die in der Untersuchungsgruppe enthaltenen Probanden (n=3), die unter 3 Monate alt waren, wurden in der nachstehenden Abbildung nicht berücksichtigt, da für Fohlen andere Temperaturangaben gültig sind (Tab. 10).

Tab. 10: Temperaturverteilung in den Probandengruppen

Temperatur		Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=139)	gesamt (n=334)
< 37,3 °C	Anzahl	6	2	8
	% von Temperatur	75,0	25,0	100,0
	% von Gruppen	3,1	1,4	2,4
37,3 – 38,0 °C	Anzahl	159	111	270
	% von Temperatur	58,9	41,1	100,0
	% von Gruppen	81,5	79,9	80,1
> 38,0 °C	Anzahl	30	26	56
	% von Temperatur	53,6	46,4	100,0
	% von Gruppen	15,4	18,7	17,5

Die in der Tabelle 10 erkennbare Häufung von Pferden mit Temperaturerhöhung in Gruppe B basiert auf der Tatsache, dass eine Temperaturerhöhung resp. Fieber ein in der Literatur beschriebenes LB-Symptom darstellt. Somit wurden Probanden, die durch eine Temperaturerhöhung auffällig waren, der Gruppe B zugeordnet.

4.1.2.4. Symptomatik

Die Probanden wurden anhand ihrer Symptome den folgenden neun Gruppen, die sich auf das jeweilige Organsystem beziehen, zugeordnet:

1. klinisch unauffällige Tiere (n=13)
2. Erkrankungen des Bewegungsapparates (n=103)
3. Erkrankungen der Haut (n=21)
4. Erkrankungen des zentralen sowie peripheren Nervensystems (n=17)
5. Augenerkrankungen (n=5)
6. Erkrankungen des Atmungsapparates (n=16)
7. Erkrankungen des Herz-Kreislaufapparates (n=29)
8. Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes (n=94)
9. sonstige Erkrankungen (n=39)

Die Zuordnung der Probanden zu den Gruppen A (Probanden ohne auffällige Symptomatik im Sinne einer LB) und B (Probanden mit LB-ähnlicher Symptomatik) erfolgte unter Berücksichtigung der in der Literatur beschriebenen Fallbeispiele. Diese waren vor allem Erkrankungen des Bewegungsapparates, der Haut, des zentralen sowie peripheren Nervensystems, des Auges und des Herz-Kreislaufapparates (beinhaltet die

Leistungsschwäche). Somit muss die Häufung von Symptomen der o.g. Organsysteme in Gruppe B statistisch vernachlässigt werden (Abb. 13).

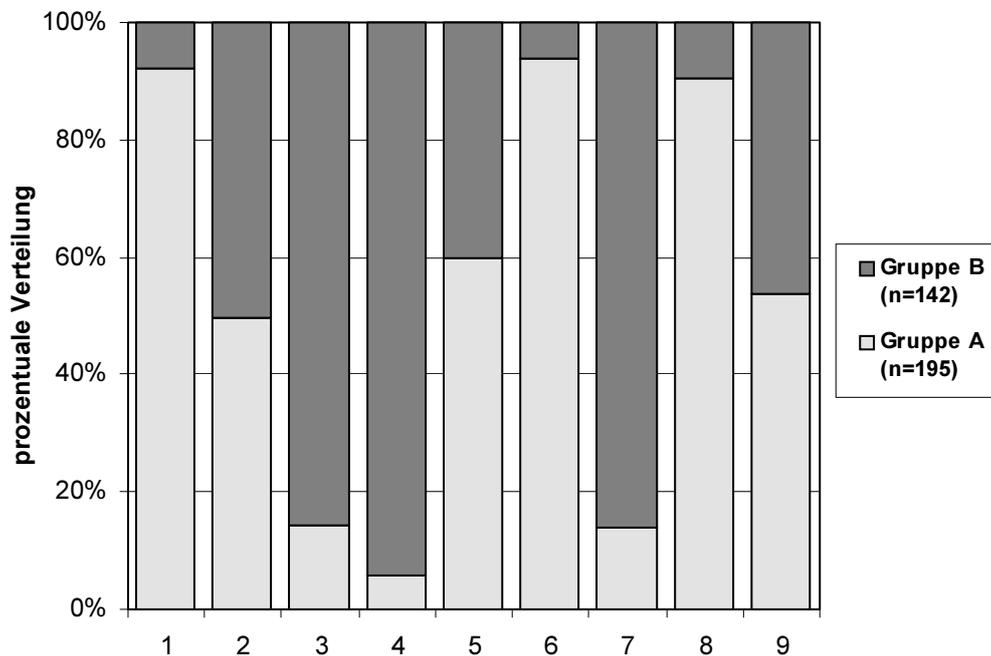


Abb. 13: Verteilung der Symptome in den zwei Probandengruppen

Legende: 1 = klinisch unauffällige Tiere

2 = Erkrankungen des Bewegungsapparates

3 = Erkrankungen der Haut

4 = Erkrankungen des zentralen sowie peripheren Nervensystems

5 = Augenerkrankungen

6 = Erkrankungen des Atmungsapparates

7 = Erkrankungen des Herz-Kreislaufapparates

8 = Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes

9 = sonstige Erkrankungen

4.1.2.5. Blutbild

Für die Auswertung der in dieser Arbeit formulierten Fragestellung wurden nur die absolute Leukozytenkonzentration (G/l) sowie der prozentuale Anteil an stabkernigen und segmentkernigen neutrophilen Granulozyten im Blut der jeweiligen Probanden verwendet. Die absolute Leukozytenkonzentration beim gesunden Pferd beträgt 5-10 G/l. Der prozentuale Anteil an stabkernigen neutrophilen Granulozyten im physiologischen Blutbild

wird mit 0-4% angegeben. Segmentkernige neutrophile Granulozyten sind zu 45-70% im Blutbild eines gesunden Pferdes zu finden.

Von den 337 Pferden wiesen 265 Probanden ein normales Blutbild auf. Bei 22 Tieren wurde eine Leukopenie (< 5 G/l) beobachtet, und bei 50 Pferden lag eine Leukozytose (> 10 G/l) vor. Von den 50 Patienten mit Leukozytose wiesen 28 Tiere (56%) eine Linksverschiebung auf.

Ein signifikanter Unterschied im Blutbild zwischen den Gruppen A und B lag nicht vor (Tab. 11).

Tab. 11: Vergleich des Blutstatus der Pferde in den zwei Probandengruppen

Leukozyten		Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=142)	gesamt (n=337)
Leukopenie	Anzahl	14	8	22
	% von Leukozyten	63,6	36,4	100,0
	% von Gruppen	7,2	5,6	6,5
Referenzbereich	Anzahl	152	113	265
	% von Leukozyten	57,4	42,6	100,0
	% von Gruppen	77,9	79,6	78,6
Leukozytose	Anzahl	29	21	50
	% von Leukozyten	58,0	42,0	100,0
	% von Gruppen	14,9	14,8	14,9

4.2. Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchung

4.2.1. Direkter Erregernachweis

Für den direkten Erregernachweis wurde ausschließlich Probenmaterial von Tieren der Gruppe B verwendet. Dabei konnte auf 16 Haut-, 15 Liquor-, 26 Synovia- und 19 Vollblutproben zurückgegriffen werden.

4.2.1.1. Kulturelle Anzucht

Die kulturelle Anzucht von *B. burgdorferi* s.l. aus dem Probenmaterial Haut (n=16), Liquor (n=15) und Synovia (n=26) verlief in allen Fällen negativ. Hingegen konnte ein gutes

Wachstum des Kontrollstammes registriert werden. Nach einer Inkubation von 1-2 Wochen betrug die Keimzahl der Borrelien in den Kontroll-Röhrchen ohne Hemmstoff 10^7 - 10^8 /ml und in denen mit Hemmstoff 10^6 - 10^7 /ml.

In den Kulturröhrchen einer Hautprobe befanden sich spiralförmige, unbewegliche Gebilde (Abb. 14). Diese Röhrchen enthielten Begleitkeime der *Bacillus* spp., die sich unter dem Mikroskop als plumpe, bewegliche, teilweise zur Kettenbildung neigende Stäbchen darstellten. Auf Agar- und Blutplatten entwickelten die Bakterien nach 24 Stunden bei 37 °C 2 Kolonieförmigkeiten, die anschließend in Tryptose-Bouillon übertragen wurden (Tab. 12).

Tab. 12: Kulturelle Beurteilung der zwei Kolonieförmigkeiten der Begleitkeime

Kriterien	1. Kolonie	2. Kolonie
Größe	stecknadelkopfgroß	stecknadelkopfgroß
Form	rund	rund
Rand	glatt	gezahnt
Oberfläche	leicht glänzend	matt
Farbe	beige-grau	beige-grau
Konsistenz	trocken	trocken
Geruch	geruchlos	geruchlos
Schwärmverhalten	schwärmend	schwärmend
Hämolyse	β -Hämolyse	α -Hämolyse
Gram-Färbung	gram-positiv	gram-positiv
Dörner-Sporenfärbung	zentrale Sporen	leicht dezentrale Sporen
<u>Bunte Reihe:</u>		
Mannit	negativ	negativ
Saccharose	negativ	negativ
Dextrose	negativ	negativ
<u>Tryptose-Bouillon-Röhrchen:</u>		
Häutchenbildung	negativ	negativ
Trübung	positiv	negativ
Bodensatz	positiv	positiv
Beweglichkeit	positiv	positiv

Diese 2 Kolonieförmigkeiten wurden wiederum in separate Kulturröhrchen mit BSK-Medium überimpft und bei 33 °C inkubiert. Mit Hilfe der Dunkelfeldmikroskopie (DFM) konnten nach 2 Tagen wieder die unbeweglichen, spiralförmigen Gebilde detektiert werden, die mit großer Wahrscheinlichkeit Flagellen der Begleitkeime darstellten (Abb. 14).

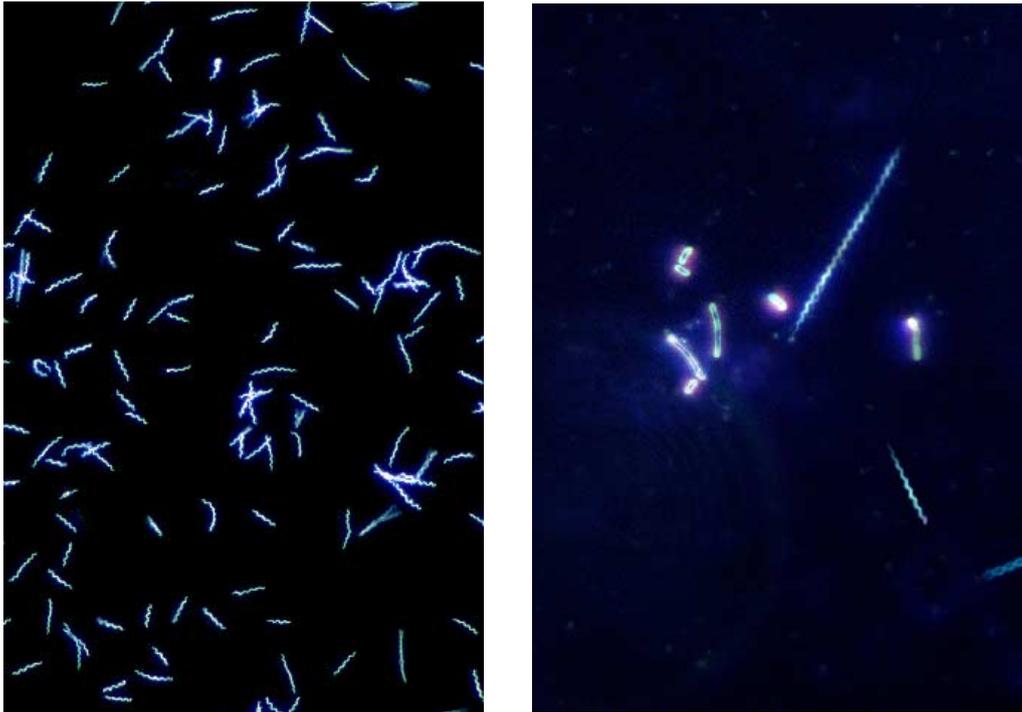


Abb. 14: Darstellung mit Hilfe des DFM (400fache Vergrößerung)
links: *B. garinii*, rechts: spiralförmige Gebilde

4.2.1.2. Polymerase-Kettenreaktion

Bei der Untersuchung der Proben auf *B. burgdorferi* s.l.-DNA mit Hilfe der nested-PCR gelang dies in drei Haut- (3/16), zwei Liquorproben (2/15), sechs Synovia- (6/26) und einer Vollblutprobe (1/19). Eine Liquorprobe wurde als fraglich beurteilt.

In 15,8% der Fälle (12/76) konnte spezifische Borrelien-DNA nachgewiesen werden, 1,3% der Proben (1/76) wurden als fraglich beurteilt und 82,9% der Proben (63/76) waren negativ.

Die nachfolgende Abbildung zeigt am Beispiel von 17 Synoviaprobe die in der Gelelektrophorese aufgetrennten DNA-Banden (Abb. 15). Die spezifische Bande liegt bei 392 bp. Der Leiter sowie die Positiv- und Negativkontrollen befinden sich rechts im Bild.

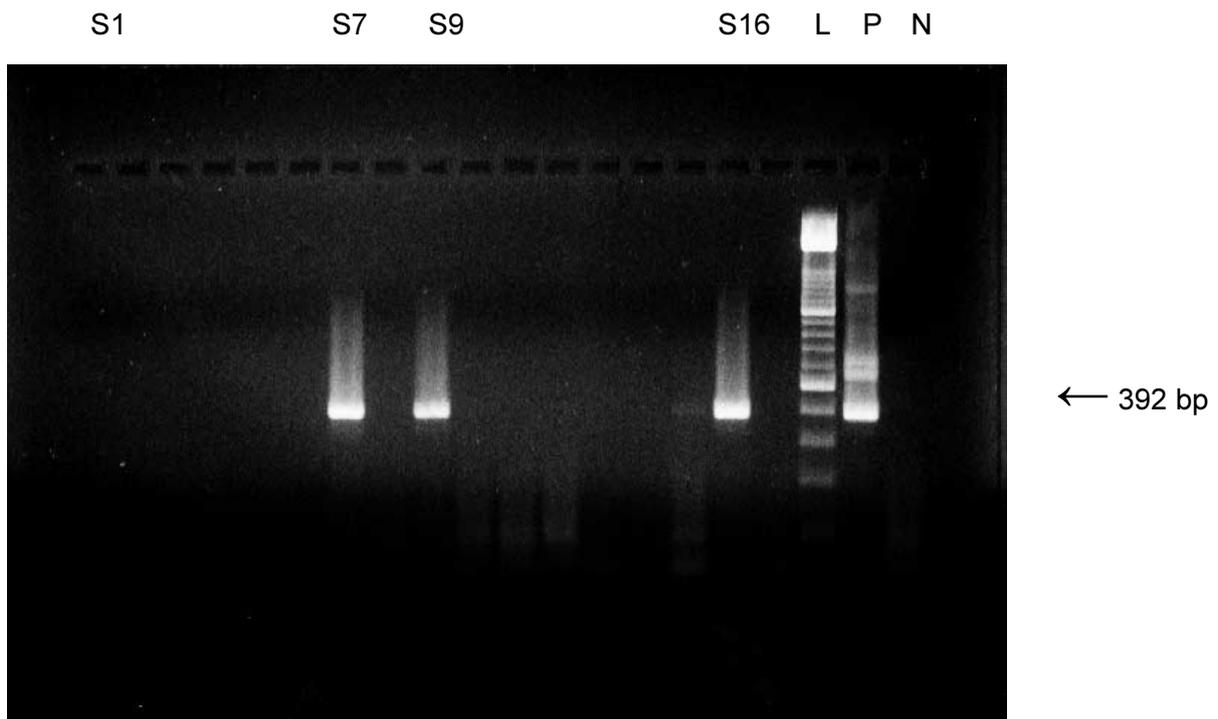


Abb. 15: Amplifikationsprodukte von 17 Synoviaprobe

Legende: S1 = Synoviaprobe 1 (negativ)

S7, S9, S16 = Synoviaprobe 7, 9, 16 (jeweils positiv)

L = Leiter

P = Positivkontrolle

N = Negativkontrolle

4.2.2. Indirekter Erregernachweis

4.2.2.1. Kommerziell erhältliche ELISA

Die Untersuchung der 337 Seren auf AK gegen *B. burgdorferi* s.l. mit Hilfe der kommerziellen ELISA **A** (Medivet Borrelia equi ®, Fa. Medipan Diagnostica GmbH) und **B** (*B. burgdorferi* Veterinär ELISA ®, Fa. Genzym Virotech GmbH) erbrachte folgende Ergebnisse:

Im ELISA **A** wurden von 337 Seren 206 als positiv und 100 als negativ bewertet, 31 Seren lagen im fraglichen Bereich (Tab. 13).

Tab. 13: Untersuchungsergebnisse des ELISA A

ELISA A	Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=142)	gesamt (n=337)
negativ	56 (28,7%)	44 (30,9%)	100 (29,7%)
fraglich	19 (9,7%)	12 (8,5%)	31 (9,2%)
positiv	120 (61,5%)	86 (60,6%)	206 (61,1%)

Bei der vergleichenden Betrachtung der Testergebnisse der einzelnen Gruppen lässt sich in der Gruppe B eine nicht signifikante Abnahme der seropositiven Reagenten registrieren ($p \leq 0,378$).

Der ELISA B wies bei 33 der 337 Proben AK nach, 34 Seren befanden sich im fraglichen Bereich und 270 waren negativ. Eine Gegenüberstellung der Testergebnisse in den jeweiligen Gruppen erfolgt in der Tabelle 14.

Tab. 14: Untersuchungsergebnisse des ELISA B

ELISA B	Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=142)	gesamt (n=337)
negativ	155 (79,5%)	115 (80,9%)	270 (80,1%)
fraglich	21 (10,8%)	13 (9,2%)	34 (10,1%)
positiv	19 (9,7%)	14 (9,9%)	33 (9,8%)

Im Vergleich zu Gruppe A lässt sich eine Zunahme der seropositiven Reagenten in Gruppe B erkennen, die jedoch nicht signifikant ist ($p \leq 0,214$).

4.2.2.2. BgVV-ELISA

Im ELISA C wurden von 337 Seren 11 als positiv und 305 als negativ bewertet. 21 der Seren lagen im fraglichen Bereich. Die Verteilung der Testergebnisse in den einzelnen Gruppen ist in Tabelle 15 angegeben.

Tab. 15: Untersuchungsergebnisse des ELISA C

ELISA C	Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=142)	gesamt (n=337)
negativ	176 (90,2%)	129 (90,9%)	305 (90,5%)
fraglich	14 (7,2%)	7 (4,9%)	21 (6,2%)
positiv	5 (2,6%)	6 (4,2%)	11 (3,3%)

Im ELISA C konnte eine Zunahme der seropositiven Reagenten in der Gruppe B beobachtet werden, die jedoch nicht signifikant ist ($p \leq 0,962$).

4.2.2.3. Indirekter Immunfluoreszenztest

Mit dem IFT wurde bei einem Grenztiter von 1:128 ein Anteil von 33,2% seropositiven und 66,8% seronegativen Tieren ermittelt. Eine Gegenüberstellung der Testergebnisse der zwei Gruppen gibt Tabelle 16.

Tab. 16: Untersuchungsergebnisse des IFT

IFT	Gruppe A (n=195)	Gruppe B (n=142)	gesamt (n=337)
negativ	134 (68,7%)	91 (64,1%)	225 (66,8%)
positiv	61 (31,3%)	51 (35,9%)	112 (33,2%)

Auch hier kann eine Zunahme der seropositiven Reagenten in der Gruppe B registriert werden, die wiederum nicht signifikant ist ($p \leq 0,690$).

4.2.3. Gegenüberstellung der Ergebnisse des direkten Erregernachweises

Die kulturelle Anzucht von *B. burgdorferi* s.l. aus dem Probenmaterial war erfolglos. Mit der nested-PCR gelang der spezifische DNA-Nachweis in drei Haut- (3/16), zwei Liquor- (2/15), sechs Synovia- (6/26) und einer Vollblutprobe (1/19).

In der Kultur einer Hautprobe wurden unbewegliche, spiralförmige Gebilde beobachtet, die vermutlich Flagellen der Begleitflora (*Bacillus* spp.) darstellten. Aus dieser Hautprobe konnte keine spezifische Borrelien-DNA amplifiziert werden.

4.2.4. Gegenüberstellung der Ergebnisse des indirekten Erregernachweises

Die Abbildung 16 vergleicht die Testergebnisse der zwei kommerziellen ELISA (A und B) sowie des BgVV-ELISA (C).

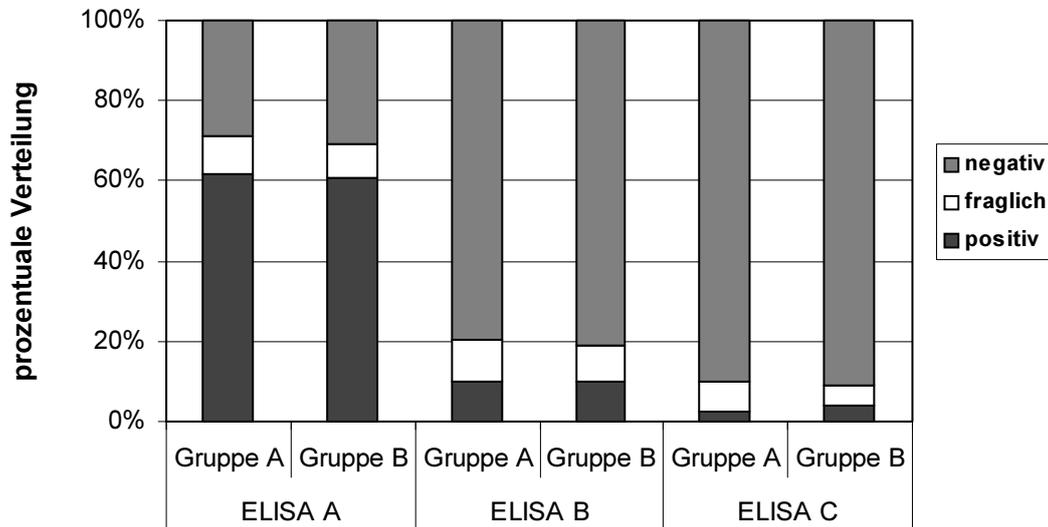


Abb. 16: Gegenüberstellung der serologischen Ergebnisse der Probanden in den ELISA A, B und C (s.a. Tab. 13-15)

Bei der vergleichenden Betrachtung der drei ELISA lässt sich eine hohe Diskrepanz innerhalb der Seroreagenten erkennen. In der Gruppe A wurden im ELISA A 61,5%, im ELISA B 9,7% und im ELISA C 2,6% der Tiere AK-positiv beurteilt. Unter den klinisch auffälligen Pferden (Gruppe B) reagierten im ELISA A 60,6%, im ELISA B 9,9% und im ELISA C 4,2% seropositiv.

Der IFT bewertete in der Gruppe A 31,3% (n=61) sowie in der Gruppe B 35,9% (n=51) der Probanden als seropositiv.

In der nachfolgenden graphischen Darstellung sind die seropositiven Reagenten aller indirekten Nachweisverfahren gegenübergestellt (Abb. 17).

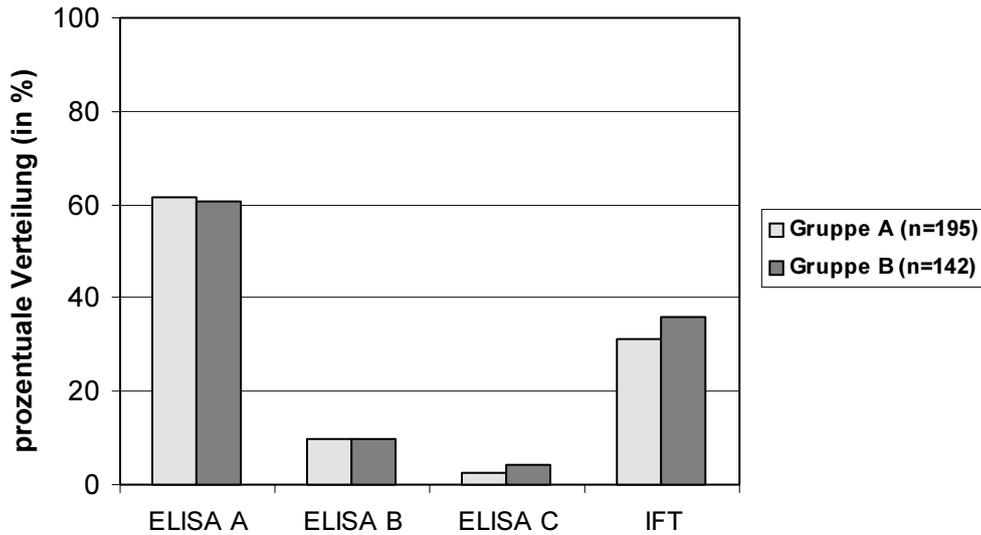


Abb. 17: Gegenüberstellung der seropositiven Reagenten in den verschiedenen serologischen Testverfahren

Eine Übereinstimmung der serologischen Testergebnisse der ELISA **A**, **B**, **C** und des IFT lag bei 74 Tieren (22,0%) vor. Davon zeigten 68 Pferde (20,2%) ein einheitliches seronegatives und 6 (1,8%) ein seropositives Resultat.

4.2.5. Gegenüberstellung der Ergebnisse des direkten und des indirekten Erregernachweises

In die im Anhang B stehenden Tabellen werden die Ergebnisse der kulturellen Anzucht von Haut-, Liquor- und Synoviaprobe sowie der PCR den dazugehörigen serologischen Ergebnissen gegenübergestellt (Tab. 26a-d). Nachfolgend sollen nur die Proben betrachtet werden, bei denen mit Hilfe der PCR ein DNA-Nachweis gelang (Tab. 17).

Tab. 17: Gegenüberstellung der Ergebnisse der direkten und indirekten Nachweisverfahren der 12 *B. burgdorferi* s.l.-DNA enthaltenden Proben

Proben	Kultur	PCR	Serumproben	ELISA A	ELISA B	ELISA C	IFT
H.1	negativ	positiv	S.1	positiv	positiv	negativ	positiv
H.2	negativ	positiv	S.2	positiv	positiv	negativ	positiv
H.3	negativ	positiv	S.3	positiv	fraglich	negativ	negativ
L.1	negativ	positiv	S.4	negativ	negativ	negativ	positiv
L.2	negativ	positiv	S.5	positiv	negativ	negativ	negativ
Sy.1	negativ	positiv	S.6	negativ	negativ	negativ	negativ
Sy.2	negativ	positiv	S.7	negativ	negativ	negativ	negativ
Sy.3	negativ	positiv	S.8	positiv	negativ	negativ	negativ
Sy.4	negativ	positiv	S.9	positiv	negativ	negativ	negativ
Sy.5	negativ	positiv	S.10	positiv	positiv	negativ	positiv
Sy.6	negativ	positiv	S.11	negativ	negativ	negativ	positiv
V.1	negativ	positiv	S.12	negativ	negativ	negativ	positiv

* H. = Hautprobe, L. = Liquorprobe, S. = Serumprobe, Sy. = Synoviaprobe, V. = Vollblutprobe

Aus der Tabelle 17 geht hervor, dass keine der 12 Serumproben von allen serologischen Tests AK-positiv bewertet wurde. Zwei der 12 Probanden (S.6, S.7), bei denen ein positiver Nachweis von Borrelien-DNA aus der Synoviaprobe gelang, waren in allen serologischen Testverfahren AK-negativ (16,7%). In den Serumproben 1, 2 und 10 konnte im ELISA A und B sowie im IFT ein positiver AK-Titer nachgewiesen werden.

Eine Übereinstimmung der Ergebnisse des direkten sowie indirekten Erregernachweises lag in 24,1% der Fälle (19/76) vor, wobei alle 19 Pferde einheitlich ein negatives Resultat zeigten. Ein einheitliches positives Ergebnis wurde nicht registriert.

4.3. Ergebnisse der externen labordiagnostischen Untersuchungen

4.3.1. LGL-ELISA

Im Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit wurden 15 Liquorproben sowie die dazugehörigen Serumproben (n=15) mit Hilfe des ELISA auf IgA-, IgM- und IgG-AK untersucht. In den Liquorproben konnten keine AK gegen die vorgenannten Immunglobulinklassen nachgewiesen werden. Ebenfalls fiel der Nachweis von IgA-AK im Serum negativ aus. Nachstehend sind die qualitativen Ergebnisse des LGL-ELISA den serologischen Ergebnissen der ELISA A, B, C und des IFT gegenübergestellt (Tab. 18). Auf

die Angaben der OD-Werte wird hier verzichtet. Die quantitativen Ergebnisse und ihre Bewertung sind im Anhang B vermerkt (Tab. 27).

Tab. 18: Vergleich der serologischen Ergebnisse aller Tests

Serum- probe	ELISA A	ELISA B	ELISA C	IFT	LGL IgM	LGL IgG	LGL IgG	LGL IgG
	1:50	1:400	1:200		1:50	1:50	1:200	1:400
1	negativ							
2	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv	positiv	<i>fraglich</i>
3	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv
4	positiv	negativ	negativ	positiv	negativ	positiv	positiv	negativ
5	negativ							
6	negativ							
7	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
8	negativ							
9	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ
10	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ
11	positiv	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
12	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ
13	negativ							
14	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ
15	negativ							

Bei der Gegenüberstellung der einzelnen Testverfahren muss darauf hingewiesen werden, dass der „LGL-ELISA IgM“ nur Immunglobulin M-Antikörper (IgM-AK) nachweist. Alle anderen ELISA werden für den Nachweis von IgG-AK verwendet und sind somit mit dem „LGL-ELISA IgM“ nicht vergleichbar. Weiterhin ist zu beachten, dass der IFT, wie oben schon erwähnt, auf einer anderen Nachweismethode basiert und so nicht direkt dem ELISA gegenübergestellt werden kann.

Wie aus der tabellarischen Darstellung erkennbar, wurden 6 der 15 Serumproben (1, 5, 6, 8, 13, 15) von allen serologischen Testverfahren als negativ beurteilt (40,0%). Keine der 15 Serumproben wies in allen Tests einen positiven AK-Titer auf, allerdings wurde die Serumprobe 3 von allen IgG-AK nachweisenden ELISA und dem IFT einheitlich positiv bewertet. In der Serumprobe 11 waren sowohl IgM- als auch IgG-AK nachweisbar. Die Serumprobe 7 wurde nur vom IFT als AK-positiv bewertet.

Weiterhin lässt die Tabelle erkennen, dass die einzelnen Testverfahren mit unterschiedlichen Serumverdünnungen arbeiten. Die Gegenüberstellung der Tests mit gleicher Serumverdünnung macht eine Annäherung der Ergebnisse deutlich. Somit kann eine Testübereinstimmung zwischen ELISA **A** und „LGL-ELISA IgG“ (1:50) von 93,3% registriert werden (14/15). ELISA **B** und „LGL-ELISA IgG“ (1:400) besitzen in 86,7% der Fälle eine Übereinstimmung (13/15). Die Testübereinstimmung zwischen ELISA **C** und „LGL-ELISA IgG“ (1:200) liegt bei 80,0% (12/15).

4.3.2. Western Blot

Im Labor ALOMED wurden mit Hilfe des Western Blots jeweils 5 hochpositive Seren der ELISA **A**, **B**, und **C**, 3 in allen Tests negative Seren sowie die beiden Positivkontrollen (PK) der kommerziellen ELISA (**A** und **B**) untersucht. Nachfolgend sind wiederum nur die qualitativen Ergebnisse dieses Testverfahrens tabellarisch aufgelistet und den serologischen Ergebnissen der ELISA **A**, **B**, **C** und des IFT gegenübergestellt (Tab. 19). Der quantitative Ergebnisteil des Western Blots befindet sich im Anhang B (Tab. 28).

Tab. 19: Vergleich der serologischen Ergebnisse der ELISA **A**, **B**, **C**, des IFT und des Western Blots

Serumprobe	ELISA A 1:50	ELISA B 1:400	ELISA C 1:200	IFT	W-Blot IgM	W-Blot IgG
1	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ	st. positiv
2	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
3	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
4	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	positiv
5	positiv	positiv	<i>fraglich</i>	negativ	negativ	positiv
6	positiv	negativ	negativ	positiv	negativ	sch. positiv
7	positiv	positiv	<i>fraglich</i>	negativ	negativ	positiv
8	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv
9	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	sch. positiv
10	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv
11	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
12	positiv	positiv	positiv	positiv	sch. positiv	st. positiv
13	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	sch. positiv
14	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
15	positiv	positiv	positiv	negativ	<i>fraglich</i>	st. positiv
16	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
17	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
18	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
PK ELISA A	positiv	positiv	<i>fraglich</i>	positiv	negativ	<i>fraglich</i>
PK ELISA B	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ	negativ

* PK = Positivkontrolle, st. = stark, sch. = schwach

Aus der Tabelle geht hervor, dass die jeweils 5 hochpositiven Seren der ELISA **A**, **B** und **C** sowie die 3 in allen Tests negativen Seren im IgG-Western Blot bestätigt wurden. In den beiden Positivkontrollen der kommerziellen ELISA **A** und **B** konnten keine IgG-AK mit Sicherheit im Western Blot ermittelt werden. Der Nachweis von IgM-AK mit Hilfe des Western Blots gelang in Serumprobe 12 und war fraglich in Serumprobe 15.

4.3.3. Realtime-PCR

Zur Überprüfung der Spezifität der positiven PCR-Ergebnisse (n=12) wurde vom Labor ALOMED eine PCR mit Hilfe des LightCyclers durchgeführt. Die Realtime-PCR konnte keine *B. burgdorferi* s.l.-DNA in den Proben nachweisen (0/12).

4.4. Zusammenhang zwischen klinischen und labordiagnostischen Ergebnissen

4.4.1. Ergebnisse der klinischen Untersuchung im Zusammenhang mit den Ergebnissen des direkten Erregernachweises

Nachstehend werden tabellarisch die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen den Ergebnissen des direkten Erregernachweises gegenübergestellt (Tab. 20). Dabei fanden nur die Probanden Berücksichtigung, bei denen in den jeweiligen Proben DNA von *B. burgdorferi* s.l. mittels nested-PCR nachgewiesen werden konnte. Die Hautproben 1 und 2 wurden von einem Tier an unterschiedlichen Lokalisationen des Körpers entnommen (H1 = linker Hals, H2 = linke Brust). Die Proben Liquor 2 und Synovia 4 stammten von einem Pferd.

4.4.2. Ergebnisse der klinischen Untersuchung im Zusammenhang mit den Ergebnissen des indirekten Erregernachweises

Eine Gegenüberstellung der Parameter des Signalelements sowie der klinischen Parameter und der seropositiven Ergebnisse der ELISA **A**, **B** und **C** sowie des IFT erfolgt in der Tabelle 21. Um einen Überblick über evtl. bestehende Zusammenhänge zu erhalten, wird in der Tabelle die vorhandene Korrelation zwischen zwei Parametern quantitativ angegeben und anschließend kurz erläutert. Dabei wird eine Signifikanz von $p \leq 0,05$ zugrunde gelegt.

Tab. 20: Gegenüberstellung der Ergebnisse der direkten Nachweisverfahren und der klinischen Befunde anhand der 12 *B. burgdorferi* s.l.-DNA enthaltenden Proben

Proben	Kultur	PCR	Alter in a	Geschlecht	Rasse	Haltgs.-form	Nutzgs.-art	Zeckenbefall	Allgemeinzustand	Ernährgs.-zustand	Temp. in °C	Diagnose	Leukozyten in G/l
H.1	neg.	pos.	8	Wallach	WB	St.+W.	Turnier	ja	gestört	gut	37,4	Obstipatio caeci	3,7
H.2	neg.	pos.	8	Wallach	WB	St.+W.	Turnier	ja	gestört	gut	37,4	Obstipatio caeci	3,7
H.3	neg.	pos.	14	Stute	WB	St.+W.	Freizeit	ja	ungestört	mäßig	37,7	Alopezie, Sehnendefekt OBS hi li	3,1
L.1	neg.	pos.	15	Stute	WB	St.+W.	Freizeit	ja	ungestört	gut	37,8	Empyem des Sinus maxillaris	5,4 (10)
L.2	neg.	pos.	26	Stute	WB	St.+W.	Freizeit	ja	ungestört	mäßig	37,8	Leistungsschwäche	5,4 (14)
Sy.1	neg.	pos.	6	Wallach	Traber	St.+P.	Trabrennen	nein	gestört	gut	37,6	Obstipatio caeci	11
Sy.2	neg.	pos.	13	Wallach	WB	St.+W.	Freizeit	ja	ungestört	gut	37,5	OCD Fesselgelenk vo. bds.	4,5
Sy.3	neg.	pos.	9	Stute	WB	St.+W.	Turnier	ja	ungestört	gut	37,7	Gonotrochlose re	7,6
Sy.4	neg.	pos.	26	Stute	WB	St.+W.	Freizeit	ja	ungestört	mäßig	37,8	Leistungsschwäche	5,4 (14)
Sy.5	neg.	pos.	14	Stute	Fjord	Offenstall	Freizeit	ja	gestört	schlecht	37,1	Leistungsschwäche	9,3 (11)
Sy.6	neg.	pos.	5	Wallach	WB	St.+W.	Turnier	ja	ungestört	mäßig	37,7	Arthritis TC-Gelenk	7,0
V.1	neg.	pos.	17	Wallach	Hafli.	St.+P.	Freizeit	nein	ungestört	gut	37,6	Fesselringbandentzündung	8,1

- H. = Hautprobe, Hafli. = Haflinger, L. = Liquorprobe, OBS = Oberflächliche Beugesehne, OCD = Osteochondrosis dissecans, St.+P. = Stallhaltung mit Paddock, St.+W. = Stallhaltung mit Weidegang, Sy. = Synoviaprobe, TC-Gelenk = Talocruralgelenk, V. = Vollblutprobe, WB = Warmblut
- Spalte Leukozyten in G/l: absolute Leukozytenzahl (stabkernige neutrophile Granulozyten)

Tab. 21: Korrelation zwischen den Parametern der klinischen Untersuchung und den seropositiven Ergebnissen der ELISA **A**, **B** und **C** sowie des IFT

Parameter	ELISA A	ELISA B	ELISA C	IFT
Alter	p ≤ 0,010	p ≤ 0,042	p ≤ 0,020	p ≤ 0,000
Geschlecht	negativ	negativ	negativ	p ≤ 0,015
Rasse	negativ	negativ	negativ	p ≤ 0,000
Haltungsform	negativ	negativ	negativ	negativ
Nutzungsrichtung	negativ	negativ	negativ	p ≤ 0,020
Zeckenbefall	negativ	p ≤ 0,049	p ≤ 0,028	p ≤ 0,020
Allgemeinzustand	negativ	negativ	negativ	negativ
Ernährungszustand	negativ	negativ	negativ	negativ
Temperatur	negativ	negativ	negativ	negativ
Symptomatik	negativ	negativ	negativ	negativ
Blutbild	negativ	negativ	negativ	negativ

Aus der tabellarischen Darstellung ist ersichtlich, dass ein Zusammenhang zwischen dem Parameter Alter und den Ergebnissen aller serologischen Nachweisverfahren existiert. Die Parameter Geschlecht, Rasse sowie Nutzungsrichtung korrelieren mit den Ergebnissen des IFT. Eine deutliche Korrelation lässt sich zwischen dem Parameter Zeckenbefall und den serologischen Befunden des ELISA **B** und **C** sowie IFT erkennen. Weitere Zusammenhänge waren nicht festzustellen.

Nachfolgend werden nur die positiven Korrelationen beschrieben und graphisch dargestellt.

Alter

Bei der Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Nachweismethoden und dem Alter der Tiere wird eine Häufung der AK-positiven Befunde mit zunehmendem Alter der Probanden im ELISA **A** ($p \leq 0,01$), im ELISA **B** ($p \leq 0,042$), im ELISA **C** ($p \leq 0,02$) und im IFT ($p \leq 0,000$) erkennbar. Die nachstehende Abbildung soll am Beispiel der Seroreagenten im IFT die Beziehung Alter der Pferde und Serumbefunde darstellen (Abb. 18).

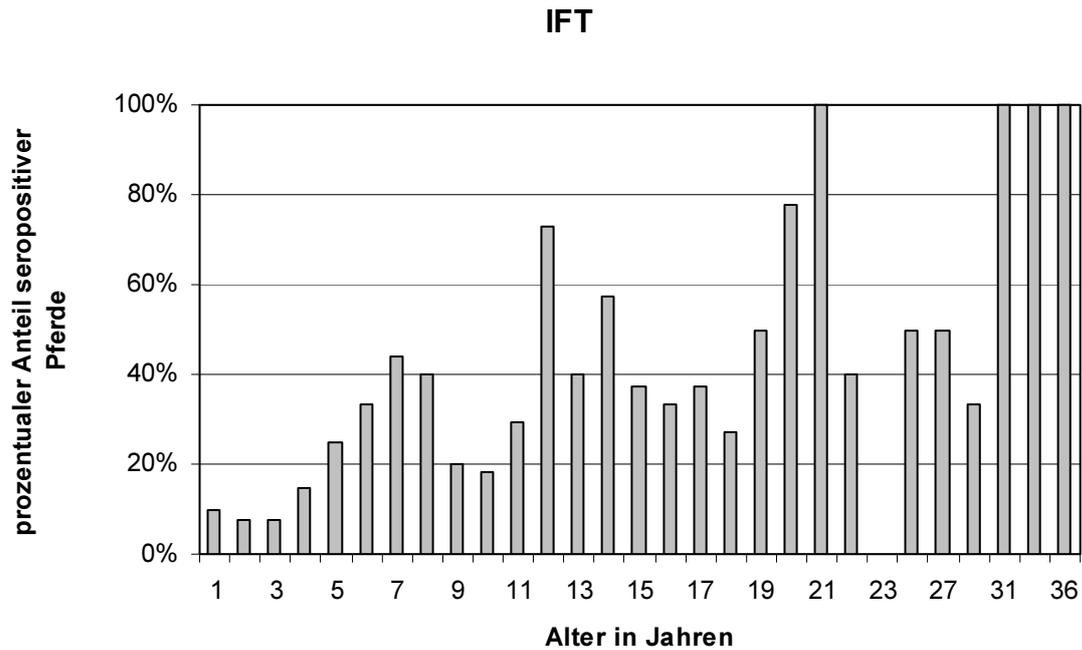


Abb. 18: Gegenüberstellung des Parameters Alter und dem AK-Befund im IFT

Geschlecht

Im IFT sind signifikant weniger Hengste in der Gruppe der seropositiven Reagenten zu verzeichnen als Stuten oder Wallache ($p \leq 0,015$). Die nachstehende Tabelle gibt die Verteilung des Geschlechts hinsichtlich der Ergebnisse des IFT an (Tab. 22).

Tab. 22: Verteilung des Geschlechts in Abhängigkeit der Befunde des IFT

Geschlecht		IFT		gesamt
		negativ	positiv	
Stute	Anzahl	84	50	134
	Standardisierte Residuen	-0,6	0,8	
Hengst	Anzahl	40	7	47
	Standardisierte Residuen	1,5	-2,2	
Wallach	Anzahl	101	55	156
	Standardisierte Residuen	-0,3	0,4	
gesamt	Anzahl	225	112	337

Rasse

Im IFT kann auch eine gewisse Rassendisposition registriert werden (Tab. 23). So werden bei den Trabern signifikant mehr seronegative Reagenten beobachtet als bei den Pferden anderer Rassen ($p \leq 0,000$).

Tab. 23: Verteilung der Rassen in Abhängigkeit der Befunde des IFT

Rasse		IFT		gesamt
		negativ	positiv	
Traber	Anzahl	51	3	54
	Standardisierte Residuen	2,5	-3,5	
Vollblut	Anzahl	5	3	8
	Standardisierte Residuen	-0,1	0,2	
Warmblut	Anzahl	115	67	182
	Standardisierte Residuen	-0,6	0,8	
Kleinpferd	Anzahl	14	16	30
	Standardisierte Residuen	-1,3	1,9	
Pony	Anzahl	13	6	19
	Standardisierte Residuen	0,1	-0,1	
andere	Anzahl	27	17	44
	Standardisierte Residuen	-0,4	0,6	
gesamt	Anzahl	225	112	337

Nutzungsrichtung

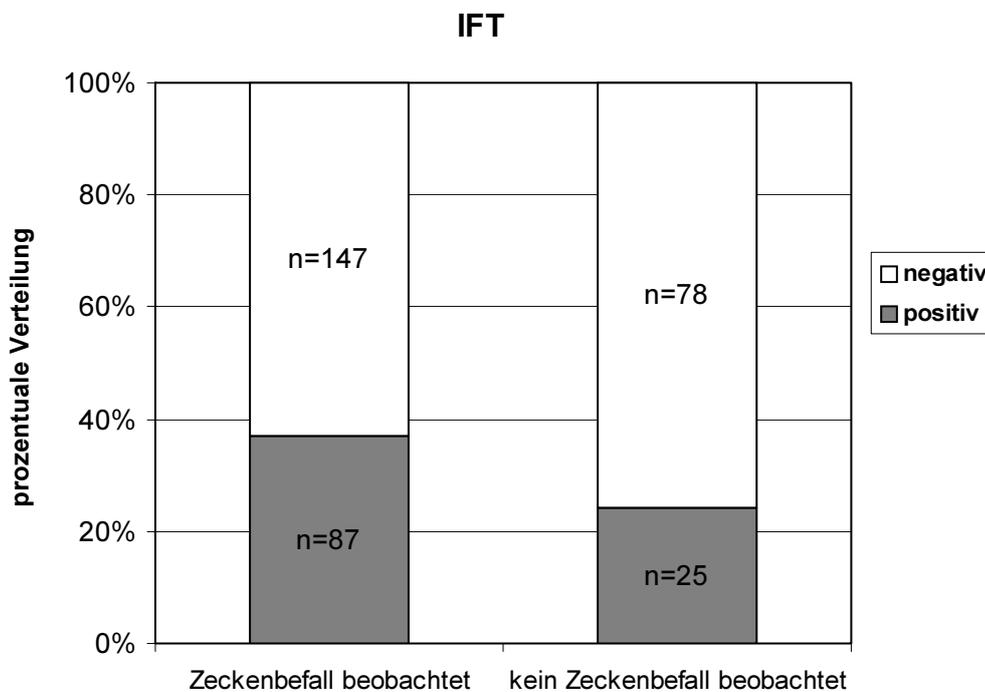
Die Tabelle 24 stellt heraus, dass Tiere, die im Rennsport/Trabrennsport ihren Einsatz finden, signifikant häufiger einen seronegativen AK-Befund im IFT zeigen als anderweitig genutzte Pferde ($p \leq 0,002$).

Tab. 24: AK-Nachweis im IFT in Abhängigkeit der Nutzung der Seroreagenten

Nutzungsrichtung		IFT		gesamt
		negativ	positiv	
Turnierpferd	Anzahl	41	24	65
	Standardisierte Residuen	-0,4	0,5	
Trabrennpferd/Galopper	Anzahl	43	4	47
	Standardisierte Residuen	2,1	-2,9	
Freizeitpferd	Anzahl	128	75	203
	Standardisierte Residuen	-0,6	0,9	
Zucht-/Arbeitspferd	Anzahl	13	9	22
	Standardisierte Residuen	-0,4	0,6	
gesamt	Anzahl	225	112	337

Zeckenbefall

Sowohl im ELISA **B** ($p \leq 0,049$) und **C** ($p \leq 0,028$) als auch im IFT ($p \leq 0,02$) korreliert der Nachweis von AK im Serum mit der Beobachtung von Zecken bei den Probanden (Abb. 19).

**Abb. 19:** Zeckenbefall im Vergleich zum AK-Nachweis mit Hilfe des IFT

4.5. Einzelfallanalysen

In dieser Arbeit konnte bei keinem der Probanden eine apparente Infektion, d.h. eine Lyme-Borreliose (LB), eindeutig diagnostiziert werden.

Die sechs Probanden, die in allen serologischen Tests dieser Arbeit AK-positiv bewertet sowie im Western Blot bestätigt wurden, sollen nachstehend beschrieben werden. In den Tabellen 25 und 25a wird ein Überblick über die Anamnese sowie die klinischen Befunde gegeben.

Fall 1:

Es handelte sich um einen 20jährigen Warmblutwallach, der am 19. Oktober 2000 mit Koliksymptomen in die Klinik für Pferdekrankheiten, Allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin überwiesen wurde. Sein Allgemeinzustand war gestört. Er wies einen guten Ernährungszustand auf und die rektal gemessene Körpertemperatur betrug 37,3 °C. Das Tier wurde im Stall ohne Zugang zu Weide oder Paddock gehalten und diente als Turnierpferd. Der Besitzer des Tieres ritt oft in das walddreiche Gelände aus, jedoch beobachtete er keinen Zeckenbefall.

Das Pferd wurde der Gruppe A (Probanden ohne auffällige Symptomatik im Sinne einer LB) zugeordnet.

Die Diagnose lautete Torsio coli um 180°, und das Pferd wurde umgehend operiert. Nach erfolglosem Operationsversuch musste das Tier noch in der Narkose euthanasiert werden.

Die Blutanalyse ergab eine ausgeprägte Leukopenie (3,3 G/l) mit Erhöhung der stabkernigen neutrophilen Granulozyten (22%). Die serologischen Befunde werden nachfolgend aufgeführt:

ELISA A (> 250 U/ml = positiv):	1755,2 U/ml
ELISA B (\geq 12,0 VE = positiv):	47,1 VE
ELISA C (> 35% = positiv):	74,7%
IFT (1:128 = positiv):	1:256
Western Blot:	IgG positiv, IgM negativ

Fall 2:

Wiederum handelte es sich um einen 20jährigen Warmblutwallach, der am 25. Oktober 2000 ebenfalls mit Koliksymptomen in die Klinik eingeliefert wurde. Der Allgemeinzustand des Tieres war gestört, der Ernährungszustand konnte als gut bezeichnet werden. Die rektal gemessene Körpertemperatur betrug 37,4 °C. Der Besitzer berichtete, dass sein Pferd im

Stall mit Weideauslauf gehalten und ausschließlich für Freizeitwecke genutzt wird. Zeckenbefall wurde vermehrt im Sommer beobachtet.

Dieses Tier wurde ebenfalls der Gruppe A (Probanden ohne auffällige Symptomatik im Sinne einer LB) zugeordnet.

Es konnte eine Tympania coli et caeci diagnostiziert werden, und das Pferd wurde dementsprechend behandelt.

Die Blutanalyse erbrachte keine nennenswerte Abweichung vom physiologischen Blutbild.

Die serologischen Befunde lauteten wie folgt:

ELISA A (> 250 U/ml = positiv):	2681,9 U/ml
ELISA B (\geq 12,0 VE = positiv):	23,7 VE
ELISA C (> 35% = positiv):	70,1%
IFT (1:128 = positiv):	1:256
Western Blot:	IgG positiv, IgM negativ

Fall 3:

Am 01. November 2000 wurde eine 7jährige Warmblutstute zur ambulanten Untersuchung in die Pferdeklinik gebracht. Der Allgemeinzustand der Stute war ungestört und sie zeigte einen guten Ernährungszustand. Die rektal gemessene Körpertemperatur betrug 38,1 °C. Sie wurde als Freizeitpferd im Stall mit Weidegang gehalten, und die Besitzerin beobachtete bei ihr vor allem im Sommer Zecken. Die Stute zeigte an der linken dorsalen Halsseite eine im Durchmesser ca. 5 cm messende haarlose, stark verhornte, höckerige Hautveränderung, die als equines Sarkoid diagnostiziert wurde.

Dieses Pferd wurde aufgrund der beschriebenen Hautveränderung der Gruppe B (Probanden mit LB-ähnlichen Symptomen) zugeordnet.

Die Blutanalyse erbrachte keine nennenswerte Abweichung vom physiologischen Blutbild.

Die serologischen Befunde sind nachfolgend aufgelistet:

ELISA A (> 250 U/ml = positiv):	3857,9 U/ml
ELISA B (\geq 12,0 VE = positiv):	19,9 VE
ELISA C (> 35% = positiv):	91,3%
IFT (1:128 = positiv):	1:1024
Western Blot:	IgG positiv, IgM negativ.

Weitere Proben, z.B. eine Hautbiopsie, konnte aufgrund der ablehnenden Haltung seitens der Besitzerin nicht entnommen werden.

Fall 4:

Bei dem nächsten Fall handelte es sich um eine 28jährige Shetlandponystute, die am 16. November 2000 aufgrund von Kreislaufproblemen und Leistungsschwäche sowie ödematisierten Gliedmaßen in die Pferdeklinik überwiesen wurde. Ihr Allgemeinzustand war gestört. Sie wies einen mäßigen Ernährungszustand auf, und die rektal gemessene Körpertemperatur betrug 37,3 °C. Die Stute wurde im Offenstall gehalten und diente als Freizeitpferd. Auch bei ihr konnte seitens des Besitzers Zeckenbefall beobachtet werden.

Diese Stute wurde ebenfalls der Gruppe B (Probanden mit LB-ähnlichen Symptomen) zugeordnet. Der Grund dieser Zuordnung lag vor allem in der beschriebenen Leistungsschwäche (Ödeme an den Gliedmaßen) und dem mäßigen Ernährungszustand.

Trotz intensiver Betreuung musste die Stute am 20. November 2000 aufgrund eines Kreislaufkollapses euthanasiert werden.

Die Blutanalyse präsentierte eine geringgradige Leukozytose (10,4 G/l) mit Linksverschiebung (stabkernige neutrophile Granulozyten 9%). Die serologischen Untersuchungen erbrachten folgende Befunde:

ELISA A (> 250 U/ml = positiv):	2084,7 U/ml
ELISA B (\geq 12,0 VE = positiv):	12,7 VE
ELISA C (> 35% = positiv):	66,1%
IFT (1:128 = positiv):	1:256
Western Blot:	IgG stark positiv, IgM schwach positiv.

Zusätzlich konnten Liquor- sowie Synoviaprobe gewonnen werden. Die kulturelle Anzucht von *B. burgdorferi* s.l. sowie der Nachweis spezifischer Borrelien-DNA mit Hilfe der nested-PCR aus diesen Proben verliefen in beiden Fällen negativ.

Fall 5:

Der fünfte Proband, der in allen serologischen Tests einen AK-positiven Befund zeigte, war ein 31jähriger Warmblutwallach, der am 04. Januar 2001 aufgrund von Zahnproblemen sowie einer hochgradigen Lahmheit des linken Hinterbeines in die Klinik kam. Der Wallach zeigte einen ungestörten Allgemein- und einen schlechten Ernährungszustand. Die rektal gemessene Körpertemperatur betrug 38,3 °C. Das Pferd wurde im Offenstall gehalten und ausschließlich für Freizeitzwecke genutzt. Der Besitzer berichtete von vermehrtem Zeckenbefall vor allem im Sommer.

Dieses Tier wurde der Gruppe A (Probanden ohne auffällige Symptomatik im Sinne einer LB) zugeordnet. Zwar sprachen die Symptome Abmagerung sowie Lahmheit gegen diese

Einteilung, allerdings konnte der schlechte Ernährungszustand auf Zahnschmerzen sowohl an den Prämolaren und Molaren des Ober- als auch des Unterkiefers und der damit einhergehenden schlechten Futteraufnahme sowie -verwertung zurückgeführt werden. Die hochgradige Lahmheit der linken Hintergliedmaße verursachte ein Adduktorenabriss.

Die Blutanalyse zeigte eine deutliche Leukozytose (13,2 G/l) mit Linksverschiebung (stabkernige neutrophile Granulozyten 13%). Die Befunde der serologischen Untersuchungen werden nachfolgend aufgeführt:

ELISA A (> 250 U/ml = positiv):	2669,2 U/ml
ELISA B (\geq 12,0 VE = positiv):	14,8 VE
ELISA C (> 35% = positiv):	53,6%
IFT (1:128 = positiv):	1:256
Western Blot:	IgG schwach positiv, IgM negativ.

Fall 6:

Der letzte Fall war ein 5jähriger Warmblutwallach, der am 12. März 2001 aufgrund von Hautveränderungen an den Gliedmaßen in der Pferdeklinik zur ambulanten Untersuchung vorgestellt wurde. Der Wallach zeigte einen ungestörten Allgemeinzustand. Der Ernährungszustand konnte als gut bezeichnet werden. Die rektal gemessene Körpertemperatur betrug 37,5 °C. Das Pferd wurde im Stall mit Weideauslauf gehalten und ausschließlich für Freizeitwecke genutzt. Auch hier konnte ein Zeckenbefall seitens des Besitzers beobachtet werden.

Dieses Pferd wurde aufgrund der beschriebenen Hautveränderung der Gruppe B (Probanden mit LB-ähnlichen Symptomen) zugeordnet.

Die Untersuchung der Hautprobe ergab die Diagnose equines Sarkoid.

Die Blutanalyse erbrachte keine nennenswerte Abweichung vom physiologischen Blutbild.

Die serologischen Befunde sind nachfolgend aufgelistet:

ELISA A (> 250 U/ml = positiv):	1509,6 U/ml
ELISA B (\geq 12,0 VE = positiv):	21,7 VE
ELISA C (> 35% = positiv):	51,7%
IFT (1:128 = positiv):	1:512
Western Blot:	IgG positiv, IgM negativ.

Eine Hautbiopsie wurde im Bereich der Hautveränderung entnommen und mit Hilfe der kulturellen Anzucht sowie der nested-PCR auf Anwesenheit von *B. burgdorferi* s.l. überprüft. Beide Verfahren konnten keinen Erregernachweis erbringen.

Tab. 25: Klinische Parameter der in allen serologischen Tests AK-positiven Probanden (n=6)

Proben	Alter in a	Geschlecht	Rasse	Haltungsform	Nutzungsart	Zeckenbefall	Allgemeinzustand	Ernährungszustand	Temperatur in °C
P.1	20	Wallach	WB	reine St.	Turnierpferd	nein	gestört	gut	37,3
P.2	20	Wallach	WB	St.+ W.	Freizeitpferd	ja	gestört	gut	37,4
P.3	7	Stute	WB	St.+ W.	Freizeitpferd	ja	ungestört	gut	38,1
P.4	28	Stute	Shetlandpony	Offenst.	Freizeitpferd	ja	gestört	mäßig	37,3
P.5	31	Wallach	WB	Offenst.	Freizeitpferd	ja	ungestört	schlecht	38,3
P.6	5	Wallach	WB	St.+ W.	Freizeitpferd	ja	ungestört	gut	37,5

P. = Proband, Offenst. = Offenstallhaltung, St. = Stallhaltung, St.+ W. = Stallhaltung mit Weidegang, WB = Warmblut

Tab. 25a: Fortsetzung

Proben	Symptome	Diagnose	Leukozyten in G/l	Stabk. neutrophile Granulozyten in %	Segm.k. neutrophile Granulozyten in %
P.1	Kolik	Torsio coli	3,3	22	41
P.2	Kolik	Tympania coli et caeci	6,8	2	75
P.3	Hautveränderung am Hals	Equines Sarkoid	6,9	0	55
P.4	Leistungsschwäche	Leistungsinsuffizienz	10,4	9	63
P.5	Lahmheit linke Hintergliedmaße	Zahnspitzen und Adduktorenabriss	13,2	13	72
P.6	Hautveränderungen an Gliedmaßen	Equines Sarkoid	7,1	2	49

segm.k. = segmentkernig, stabk. = stabkernig