Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Infektion mit *Anaplasma phagozytophilum* beim Hund - eine Studie über Prävalenz, Prävention, Klinik -

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Daniela Galke
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3311

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. med. vet. Leo Brunnberg
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. med. vet. Barbara Kohn
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. med. vet. Kurt Pfister
Dritter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. med. vet. Lothar H. Wieler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):
Rickettsiales, *Anaplasmataceae*, Anaplasmosis, tick-borne diseases, dogs, polymerase chain reaction, immunofluorescence, thrombocytopenia, *Ixodes ricinus*

Tag der Promotion: 2. Juli 2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-720-6
Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009
Dissertation, Freie Universität Berlin
D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.
Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.
No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved
© **m**ensch und **b**uch **v**erlag 2009
choriner str. 85 - 10119 berlin
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Patienten
- in Respekt, Ehrfurcht und Dankbarkeit -

Das schönste Denkmal, das ein Mensch bekommen kann,
steht in den Herzen seiner Mitmenschen.
(Albert Schweitzer)

Inhalt

Inhalt ..... **i**

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen ..... **vi**

I Einleitung **1**

II Literaturübersicht **3**

1. *A. phagozytophilum*: Allgemeines **3**

1.1. Geschichtlicher Überblick *3*

1.2. Taxonomie und Eigenschaften *3*

1.3. Epidemiologie *5*

1.4. Vorkommen und Eigenschaften der einzelnen Stämme *8*

1.5. Übertragung *9*

1.6. Vektoren und Reservoirwirte *10*

1.7. Ko-Infektionen *11*

2. Die granulozytäre Anaplasmose **11**

2.1. Pathogenese *11*

2.1.1. Tiermodelle und Immunpathogenität 13

2.1.2. Funktionsänderungen neutrophiler Granulozyten bei Infektionen mit *A. phagozytophilum* 14

2.1.3. Blutbildveränderungen bei Infektionen mit *A. phagozytophilum* 15

2.2. Klinische Befunde *15*

2.2.1. Experimentelle Studien 15

2.2.2. Natürliche Infektion 16

2.3. Laborbefunde *16*

2.3.1. Experimentelle Infektion 16

2.3.2. Natürliche Infektion 16

2.4. Pathologische Befunde *16*

2.5. Diagnose *17*

2.5.1. PCR 17

2.5.2. Zellkultur 18

2.5.3. Serologische Untersuchung 18

3. Die canine granulozytäre Anaplasmose (CGA) **19**

3.1. Blutbildveränderungen *20*

3.2. Klinische Befunde *20*

3.2.1. Experimentelle Infektion 20

3.2.2. Natürliche Infektion 21

3.3. Laborbefunde *28*

3.3.1. Experimentelle Infektionen ... 28
3.3.2. Natürliche Infektionen ... 28
3.4. Pathologische Befunde ... *31*
3.5. Saisonalität ... *31*
3.6. Diagnose ... *32*
3.6.1. Direkte Nachweisverfahren ... 32
3.6.2. Serologische Untersuchung ... 32
3.7. Therapie ... *33*
3.8. Prävention ... *35*
4. Bedeutung für den Menschen ... **36**
III Material und Methoden ... **38**
1. Epidemiologische Studie ... **38**
2. Studie über die Wirksamkeit einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe mit Permethrin-Imidacloprid ... **40**
3. Klinische Studie ... **40**
4. Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* ... **41**
4.1. Indirekter Immunfluoreszenzantikörpertest (IFAT) und enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ... *41*
4.2.Nachweis von Morulae in Blut- und Buffy-Coat-Ausstrichen ... *43*
4.3. Real-Time-PCR ... *45*
5. Labordiagnostische Untersuchungen ... **46**
5.1. Hämatologie ... *46*
5.2. Klinisch-chemische Laborparameter ... *47*
5.3. Prothrombinzeit und aktivierte partielle Thromboplastinzeit ... *47*
5.4. Direkter Coombs-Test ... *48*
5.5. Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper ... *48*
5.6. Urinanalyse ... *48*
5.7. Gelenkpunktion ... *49*
5.8. Ausschluss von Ko-Infektionen ... *49*
6. Statistische Auswertung ... **49**
IV Ergebnisse ... **51**
1. Epidemiologische Studie ... **51**
1.1. Gruppeneinteilung ... *51*
1.2. Rasseverteilung ... *51*

1.3. Altersverteilung *53*

1.4. Geschlechtsverteilung *54*

1.5. Untersuchungen auf A. phagozytophilum *54*
1.5.1. Serologische Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* (IFAT) 54
1.5.2. Direkte Nachweisverfahren 56
1.5.3. Ergebnisse der direkten Nachweisverfahren in Bezug zur Serologie 56

1.6. Ergebnisse der Untersuchungen auf A. phagozytophilum in Bezug zum Signalement *58*
1.6.1. Rasse 58
1.6.2. Alter 61
1.6.3. Geschlecht 62

1.7. Ergebnisse der Untersuchungen auf A. phagozytophilum in Bezug zum Untersuchungsmonat *63*

1.8. Hämatologische Befunde und Antikörpertiter *64*
1.8.1. Leukozytenzahl 65
1.8.2. Erythrozytenzahl 66
1.8.3. Hämatokrit 67
1.8.4. Thrombozytenzahl 68

1.9. Befunde der Hämatologie bei gesunden PCR-positiven Hunden *69*

1.10. Auslandsaufenthalt in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf A. phagozytophilum *71*

1.11. Zeckenbefall und Ektoparasitikaeinsatz in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf A. phagozytophilum *72*

2. Studie über die Wirksamkeit einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe mit Permethrin-Imidacloprid 74

2.1. Signalement *74*

2.2. Zeckenbefall *74*

2.3. Untersuchungen auf A. phagozytophilum *75*

3. Klinische Studie 77

3.1. Untersuchungen auf A. phagozytophilum *77*
3.1.1. PCR *A. phagozytophilum* 78
3.1.2. Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten 78
3.1.3. IFAT und ELISA *A. phagozytophilum* 78

3.2. Signalement *79*

3.3. Anamnese *80*

3.4. Ergebnisse der Hämatologie und klinischen Chemie eines Spenders mit dessen Blut ein Hund über eine Bluttransfusion infiziert wurde *81*

3.5. Klinische Untersuchung *82*

3.6. Hämatologische Untersuchung *82*

3.7. Klinische Chemie *86*

3.8. Prothrombinzeit und aktivierte partielle Thromboplastinzeit *89*

3.9. Direkter Coombs-Test *89*
3.10. Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper *89*
3.11. Urinanalyse *90*
3.12. Gelenkpunktion *90*
3.13. Bildgebende Verfahren *91*
3.14. Untersuchung auf Ko-Infektionen *91*
3.15. Therapie *92*
3.16. Verlauf *92*

V Diskussion **97**

1. Epidemiologische Studie **98**
1.1. Serologische Untersuchungen auf A. phagozytophilum (IFAT) *98*
1.2. Direkte Nachweisverfahren *98*
1.3. Ergebnisse der direkten Nachweisverfahren in Bezug zur Serologie *99*
1.4. Ergebnisse der Untersuchungen auf A. phagozytophilum in Bezug zum Signalement *99*
1.5. Ergebnisse der Untersuchungen auf A. phagozytophilum in Bezug zum Untersuchungsmonat *100*
1.6. Hämatologische Befunde und Ergebnisse der Untersuchungen auf A. phagozytophilum *100*
1.7. Auslandsaufenthalt in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf A. phagozytophilum *101*
1.8. Zeckenbefall und Ektoparasitikaeinsatz in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf A. phagozytophilum *101*

2. Studie über die Wirksamkeit einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe mit Permethrin-Imidacloprid **102**

3. Klinische Studie zur caninen granulozytären Anaplasmose **103**
3.1. Untersuchungen auf A. phagozytophilum *103*
3.2. Signalement *105*
3.3. Anamnese *106*
3.4. Klinische Untersuchung *106*
3.5. Hämatologische Untersuchung *107*
3.6. Klinische Chemie *108*
3.7. Therapie und Verlauf *108*
3.8. Schlussfolgerungen und Ausblick *109*

VI Zusammenfassung **110**

VII Summary **112**

VIII Literaturverzeichnis 114

IX. Anhang 142

X. Teile dieser Dissertation wurden bzw. werden veröffentlicht .....

XI Danksagung .....

Selbständigkeitserklärung .....

Verwendete Abkürzungen

A	Adenin
A. marginale	*Anaplasma marginale*
A. phagozytophilum	*Anaplasma phagozytophilum*
A. platys	*Anaplasma platys*
Abb.	Abbildung
Alb	Albumin
ALT	Alanin-Amino-Transferase
ankA Gen	Gen mit Ankyrin „repeats“, das für das AnkA Protein codiert
AnkA	Ankyrin A
AP	Alkalische Phosphatase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
Aqua dest.	Aqua destillata
ARDS	acute respiratory distress syndrome
AST	Aspartat-Amino-Transferase
B. burgdorferi	*Borrelia burgdorferi*
bes.	besonders
Bili	Bilirubin
bzw.	beziehungsweise
C. phagozytophila	*Cytoecetes phagozytophila*
Ca	Calcium
CD	cluster of differentiation
CGA	canine granulozytäre Anaplasmose
Chol	Cholesterin
CXCR2	Chemokin CXC Rezeptor 2
CYBB	cytochrome b-558, beta polypeptide
d.h.	das heißt
D. immitis	*Dirofilaria immitis*
D. occidentalis	*Dermacentor occidentalis*
D. variabilis	*Dermacentor variabilis*
DIC	disseminierte intravasale Koagulopathie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
3 x tgl.	dreimal täglich
E. canis	*Ehrlichia canis*
E. chaffeensis	*Ehrlichia chaffeensis*
E. equi	*Ehrlichia equi*
E. ewingii	*Ehrlichia ewingii*
E. phagozytophila	*Ehrlichia phagozytophila*
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
1 x tgl.	einmal täglich
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	et alii bzw. aliae
evtl.	eventuell
FSME	Frühsommermeningoencephalitis
GLDH	Glutamatdehydrogenase
Glob	Globulin
ggr.	geringgradig
gp91phox	Glykoprotein 91 Phagozytenoxidase

HGA	humane granulozytäre Anaplasmose
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
HL-60	human leukaemia Zelllinie
I. pacificus	*Ixodes pacificus*
I. persulcatus	*Ixodes persulcatus*
I. ricinus	*Ixodes ricinus*
I. scapularis	*Ixodes scapularis*
ICAM1	intracellular adhesion molecules 1
IFAT	indirekter Immunfluoreszenzantikörpertest
IFN-γ	Interferon-γ
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL-1β	Interleukin-1β
IL-4	Interleukin-4
IL-8	Interleukin-8
IL-10	Interleukin-10
Inc.	Incorporated
incl.	inklusive
insbes.	insbesondere
i.v.	intravenös
juv.	juvenile neutrophile Granulozyten
k.A.	keine Angabe
kDa	Kilodalton
KG-1	sAML/MDS Zelllinie
Krea	Kreatinin
MCH	mean corpuscular hemoglobin
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration
MCP	monocyte chemoattractant protein
MCV	mean corpuscular volume
min	Minuten
MIP-1α	macrophage inflammatory protein-1α
MIP-1β	macrophage inflammatory protein-1β
MIR	minimum infection rate
MMP9	Matrix Metalloprotease 9
MRSA	Methicillin resistenter *Staphylococcus aureus*
msp2	Gen, das für Msp2 codiert
Msp2	major surface protein-2
MyD88	myeloid differentiation primary response gene (88)
NADPH	Nikotinamindinukleotidphosphat
n.d.	nicht durchgeführt
neg.	negativ
NOS2	Nitridoxidsynthase 2
obB	ohne besonderen Befund
P	Phosphat
PCR	Polymerasekettenreaktion
PD/PU	Polydipsie/Polyurie
p.o.	per os
pos.	positiv
Prot	Protein

PSGL-1	P-Selektin-Glykoprotein-Ligand-1
PT	Prothrombinzeit
R. rickettsii	*Rickettsia rickettsii*
RAC2	ras-related C3 botulinum toxin substrate 2
rac2	Gen, das für RAC2 codiert
RANTES	regulated and normal T cell expressed and secreted
RBC	Erythrozyten
Ref.	Referenzbereich
RMSF	Rocky Mountain Spotted Fever
s.	siehe
S.	Seite
sAML/MDS	sekundäre akute myeloische Leukämie, hervorgegangen aus myelodysplastischen Syndromen
s.c.	subcutan
16S rRNA	16 Svedberg ribosomale Ribonukleinsäure
SH	Schleimhäute
sog.	so genannt
T	Thymin
Tab.	Tabelle
Tc	Thrombozytenzahl
THP-1	de novo AML (akute myeloische Leukämie) Zelllinie
TLR-2	toll-like receptor 2
TLR-4	toll-like receptor 4
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TNF-γ	Tumornekrosefaktor-γ
U/min	Umdrehungen pro Minute
u.a.	unter anderem
U-P/C	Urin-Protein/Kreatinin-Verhältnis
Urea	Harnstoff
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
V.	Vena
v. a.	vor allem
WBC	Leukozyten (white blood cells)
ZNS	zentrales Nervensystem
2 x tgl.	zweimal täglich

I Einleitung

Anaplasma (*A.*) *phagozytophilum* ist der neue Name der früher separat benannten Spezies *Ehrlichia (E.) phagozytophila*, *Ehrlichia (E.) equi* und *human granulocytic ehrlichiosis agent (HGE agent)*. Es ist ein gramnegatives von Zecken der Gattung *Ixodes* übertragenes Bakterium, das v. a. neutrophile Granulozyten befällt und bei seiner Vermehrung in diesen typische Einschlusskörperchen, die sog. Morulae bildet. Es wurde bei verschiedenen Tierarten sowie dem Menschen nachgewiesen und kann schwere Krankheitsbilder hervorrufen (DUMLER et al., 2001). Beim Hund führt es zum Krankheitsbild der caninen granulozytären Anaplasmose (CGA, frühere Bezeichnung: canine granulozytäre Ehrlichiose), die als sog. „emerging disease" bei Mensch und Tier gleichermaßen an Bedeutung gewinnt (PAROLA, 2004; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Da es zu einer zunehmenden Ausbreitung der Vektoren kommt, ist auch davon auszugehen, dass die Bedeutung von Infektionen mit *A. phagozytophilum* weiter zunehmen wird. Als Ursachen für die Ausbreitung der Vektoren werden u.a. die Klimaerwärmung, die Anlage von Feuchtgebieten sowie eventuell eine Anpassung der Vektoren und die Renaturierung großer Flächen angesehen. Auf diesen Flächen kommt es zu einer Zunahme von kleinen Nagern und Wildtieren, die als Wirte für die Vektoren wichtig sind (BAUER et al., 2007). Die canine granulozytäre Anaplasmose wurde erstmals 1982 in den USA beschrieben (MADEWELL und GRIBBLE, 1982). In den darauffolgenden Jahren stammten die meisten Berichte aus der Schweiz, Schweden und den USA (WINKLER et al., 1988; BELLSTRÖM, 1989; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; PUSTERLA et al., 1998). Inzwischen ist bekannt, dass *A. phagozytophilum* weltweit verbreitet ist. Dies geht aus Veröffentlichungen aus Europa (STANEK, 2005), Amerika (POITOUT et al., 2005), Asien (SUKSAWAT et al., 2001) und Afrika (SARIH et al., 2005) hervor.

Infektionen mit *A. phagozytophilum* können indirekt durch die Bestimmung des Antikörpertiters via Indirektem Immunfluoreszenzantikörpertest (IFAT) (WANER et al., 1998) oder direkt durch den Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten (DUMLER et al., 2001), eine PCR (COURTNEY et al., 2004) oder eine Zellkultur (FOLEY et al., 2008) diagnostiziert werden.

Bisher wurden zur granulozytären Anaplasmose beim Hund nur wenige experimentelle Studien (LEWIS et al., 1975; WINJUM und RILEY, 1993; EGENVALL et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1999; EGENVALL et al., 2000; ALLEMAN et al., 2006) sowie einige Fallberichte (MADEWELL und GRIBBLE, 1982; COWELL et al., 1988; MARETZKI et al., 1994; JOHANSSON et al., 1995; GRAVINO et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; MANNA et al., 2004; ARSENAULT und MESSICK, 2005; BEXFIELD et al., 2005; KIRTZ et al., 2005; LESTER et al., 2005) und klinische Studien (STOCKHAM et al., 1992; GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007) veröffentlicht.

Trotz diverser Literaturstellen ist noch ungenügend über die Prävalenz in verschiedenen Regionen Deutschlands, über die Klinik, über effektive Bekämpfungsmaßnahmen bzw. Prophylaxe sowie über Reservoire für Hunde und Menschen bekannt. Ein Ziel dieser Arbeit war es daher, die Prävalenz von *A. phagozytophilum*-Infektionen bei Hunden im Einzugsgebiet der Kleintierklinik der FU Berlin zu ermitteln. Des Weiteren sollten Symptomatik, Labordiagnostik und Verlauf der Erkrankung bei infizierten Hunden dargestellt werden. Da *A. phagozytophilum* von Zecken der Gattung *Ixodes* (*I.*) übertragen wird, sollte ermittelt werden, wie stark der Zeckenbefall der Hunde war sowie ob und wie bei infizierten bzw. nicht infizierten Hunden eine Zeckenprophylaxe vorgenommen wurde. Zusätzlich wurden sog. Langzeitprobanden mit Ektoparasitika behandelt und über den Zeitraum eines

Jahres im Abstand von drei bis vier Monaten auf Neuinfektionen mit *A. phagozytophilum* untersucht, um Aussagen über die Wirksamkeit der Zeckenprophylaxe treffen zu können.

II Literaturübersicht

1. *A. phagozytophilum*: Allgemeines

1.1. Geschichtlicher Überblick

1932 wurde erstmals das Zeckenfieber (tick-borne fever), eine akute mit Fieber einhergehende Erkrankung, bei schottischen Schafen beschrieben (GORDON et al., 1932). Der Erreger wurde *E. phagozytophila* genannt. Während der 50er und 60er Jahre wurde *E. phagozytophila* als Erreger des sog. Weidefiebers (pasture fever) bei Rindern aus England und Finnland entdeckt (HUDSON, 1950; BJÖERSDORFF, 2005). Die erste equine granulozytäre Ehrlichiose wurde 1969 in Nordkalifornien nachgewiesen, der Erreger wurde als *E. equi* benannt (GRIBBLE, 1969). *E. equi* und *E. phagozytophila* wurden aufgrund ihrer ultrastrukturellen Morphologie und phänotypischen Expression ursprünglich als separate Spezies angesehen (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Die CGA wurde erstmals 1982 in den USA beschrieben (MADEWELL und GRIBBLE, 1982). In den darauffolgenden Jahren stammten die meisten Berichte aus der Schweiz, Schweden und den USA (WINKLER et al., 1988; BELLSTRÖM, 1989; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; PUSTERLA et al., 1998). Bei der Katze wurden Infektionen mit *A. phagozytophilum* in den späten 90er Jahren in Schweden entdeckt, seitdem stammten Berichte aus Großbritannien, Dänemark, Spanien, Italien, Österreich, Irland und Nordamerika (GREIG et al., 1996; LAPPIN et al., 2004; BJÖERSDORFF, 2005; KIRTZ et al., 2005; TARELLO, 2005; SOLANO-GALLEGO et al., 2006). Seit den frühen 90er Jahren steht die 16S rRNA-Gensequenzierung für die mikrobiologische phylogenetische Klassifizierung zur Verfügung (CHEN et al., 1994; BARLOUGH et al., 1996; ENGVALL et al., 1996; PUSTERLA et al., 1997; PUSTERLA et al., 1999). Dies fiel mit dem ersten Auftreten der humanen granulozytären Anaplasmose in Wisconsin und Minnesota zusammen (CHEN et al., 1994). Als eine Gensequenz von 1433 Nukleotiden von *E. equi*, *E. phagozytophila* und dem humanpathogenen Erreger verglichen wurde, zeigte sich, dass diese sehr eng verwandt, aber nicht identisch waren: *E. equi* und *E. phagozytophila* unterschieden sich in 2, der humanpathogene Erreger und *E. phagozytophila* ebenfalls in 2 sowie der humanpathogene Erreger und *E. equi* in 3 Nukleotiden (CHEN et al., 1994; GREIG et al., 1996; DUMLER et al., 2001). Aufgrund der Spekulation, dass diese drei Erreger letztlich einer Spezies angehörten, wurde dem humanpathogenen Erreger kein neuer Speziesname sondern die Bezeichnung HGE agent zugeordnet (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Schließlich erfolgte 2001 auf der Basis molekularbiologischer Untersuchungen der 16S rRNA- und groESL-Gensequenzen die Vereinigung der Spezies *E. phagozytophila*, *E. equi* und HGE agent in eine Spezies, die aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit der Typspezies der Gattung *Anaplasma* (*A. marginale*) *A. phagozytophilum* genannt wurde (DUMLER et al., 2001).

1.2. Taxonomie und Eigenschaften

A. phagozytophilum wird nach dem heutigen Kenntnisstand taxonomisch in die Familie der *Anaplasmataceae* der Ordnung *Rickettsiales* eingeordnet (DUMLER et al., 2001). Die früheren Speziesbezeichnungen *E. phagozytophila*, *E. equi* und HGE agent sind gegenwärtig noch als Namen für die verschiedenen Stämme von *A. phagozytophilum* in Gebrauch (Abb. 1) (GREIG und ARMSTRONG, 2006).

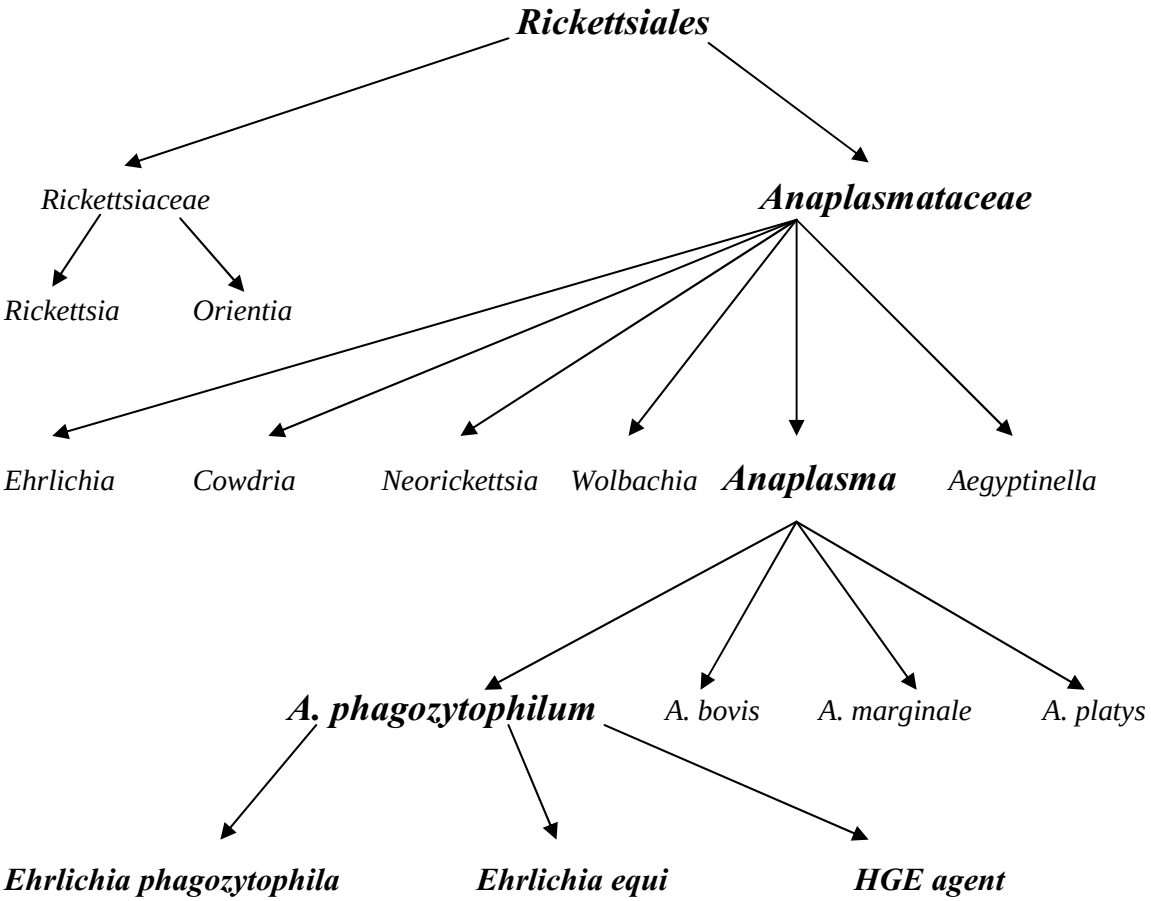


Abbildung 1: Systematik der Ordnung *Rickettsiales* nach DUMLER et al., 2001

A. phagozytophilum ist ein gramnegatives, unbewegliches, kokkoides bis ellipsoides, 0,2 bis 2,0µm großes Bakterium. Es ist obligat aerob, obligat intrazellulär und nicht zur Glykolyse befähigt. Wie alle Spezies der Gattung *Anaplasma* ist es in Vakuolen unreifer oder reifer hämatopoetischer Zellen von Säugetieren zu finden (DUMLER et al., 2001.) *A. phagozytophilum* infiziert neutrophile Granulozyten, selten ist es in eosinophilen Granulozyten zu finden (PUSTERLA et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Es wurde auch von einem Nachweis in Monozyten berichtet (HUDSON, 1950; PUSTERLA et al., 1997).
Obwohl genetische und phänotypische Unterschiede zwischen den Stämmen *E. equi*, *E. phagozytophila* und HGE agent bestehen, sind sie in 99,1% ihrer 16S rRNA-Gensequenz homolog und weisen eine starke antigenetische serologische Kreuzreaktivität auf. Im Vergleich dazu besteht zwischen *A. phagozytophilum* und anderen Spezies der neu klassifizierten Gattung *Ehrlichia* eine Homologie in der 16S rRNA-Gensequenz von lediglich 94,1%. Serologische Kreuzreaktionen zwischen *A. phagozytophilum* und *E. canis*, *E. chaffeensis* und *E. ewingii* sind daher ungewöhnlich und selten (DUMLER et al., 2001).
A. phagozytophilum ist der Erreger der caninen (ENGVALL et al., 1996; GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997), equinen (GRIBBLE, 1969; BARLOUGH et al., 1996; ENGVALL et al., 1996; BARLOUGH et al., 1997), felinen (LAPPIN et al., 2004) und humanen (BAKKEN et al., 1994; AGUERO-ROSENFELD et al., 1996) granulozytären Anaplasmose sowie des Zeckenfiebers der Wiederkäuer (GORDON et al., 1932; ENGVALL et al., 1996; BELONGIA et al., 1997; STUEN et al., 2002).

1.3. Epidemiologie

Die geografische Verbreitung und Saisonalität der Erkrankung bei Mensch und Tier entspricht der Verbreitung der Vektoren. Bei diesen handelt es sich v. a. um Zecken der Gattung *Ixodes* (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Inzwischen ist bekannt, dass *A. phagozytophilum* weltweit verbreitet ist. Dies geht aus Veröffentlichungen aus Europa (STANEK, 2005), Amerika (GREIG et al., 1996), Asien (SUKSAWAT et al., 2001) und Afrika (SARIH et al., 2005) hervor. Zahlreiche Studien über die Untersuchung der Prävalenz bei Zecken sind veröffentlicht. Die Prävalenzen für Europa und die USA sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt.

Tabelle 1: Prävalenz von *A. phagozytophilum* bei Zecken aus Europa

Land	Prävalenz (%)	Zahl der untersuchten Zecken	Autor, Jahr
Bulgarien	19,8	202	CHRISTOVA et al., 2001
Dänemark	23,6	106	SKARPHEDINSSON et al., 2007
Deutschland	2,2	287	BAUMGARTEN et al., 1999
	1,6	492	FINGERLE et al., 1999
	2,3	305	HILDEBRANDT et al., 2003
	4,1	1022	VON LOEWENICH et al., 2003
	1,9	5424	HARTELT et al., 2004
	4,5	625	LEONHARD, 2005
	3,9	127	PICHON et al., 2006
	2,9	2862	SILAGHI et al., 2008
Estland	3	100	MÄKINEN et al., 2003
Finnland	0	343	MÄKINEN et al., 2003
Frankreich	0,4 (Nymphen), 1,2 (Adulte)	1065 (Nymphen), 171 (Adulte)	FERQUEL et al., 2006
	0,1	1049	BEYTOUT et al., 2007
Italien	8	141	SANTINO et al., 2003
	9,84	1212	RIZZOLI et al., 2004
	0	88	DE LA FUENTE et al., 2005
	4,4	1931	PICCOLIN et al., 2006
Norwegen	2,1	341	JENKINS et al., 2001
Österreich	8,7	880	POLIN et al., 2004
Polen	19,2	424	STANCZAK et al., 2002
	4,5	533	SKOTARCZAK et al., 2003
	8,7	559	GRZESZCZUK et al., 2004
	14	701	STANCZAK et al., 2004
	13,1	694	TOMASIEWICZ et al., 2004
	4,1	73	SKOTARCZAK et al., 2006
	14,1	1474	GRZESZCZUK und STANCZAK, 2006
	14,5	372	GRZESZCZUK, 2006
	10,2	684	CHMIELEWSKA-BADORA et al., 2007

Portugal	4 (*I. ricinus*) 2 (*I. ventalloi*) 2 (*I. ricinus*)	142 Nymphen 93 Nymphen 93 Nymphen	SANTOS et al., 2004
Schottland	1,4 (Nymphen) 1,6 (weiblich) 2,1 (männlich)	554	ALBERDI et al., 1998
Schweiz	0,8	653	PUSTERLA et al., 1998
	2	100	LEUTENEGGER et al., 1999
	1,3	1667	PUSTERLA et al., 1999
	1,4	417	LIZ et al., 2000
Slowenien	3,2	93	PETROVEC et al., 1999
Spanien	5	74	OTEO et al., 2001
Ungarn	452	6,6	SRÉTER et al., 2004

Tabelle 2: Prävalenz von *A. phagozytophilum* bei Zecken aus den USA

Region	**Prävalenz (%)**	**Anzahl der untersuchten Zecken**	**Autor, Jahr**
Kalifornien	0,8 (minimum percentage of infected ticks)	1112	BARLOUGH et al., 1997
	2,0 (minimum infection rate)	401	KRAMER et al., 1999
	6,19 (*I. scapularis*) 8,62 (*D. variabilis*) 1,03 (*D. occidentalis*)	776 58 353	HOLDEN et al., 2003
	3,4	234	LANE et al., 2004
Minnesota	3,8	103	LAYFIELD und GUILFOILE, 2002
New Jersey	17	100	VARDE et al., 1998
	1,9	107	ADELSON et al., 2004
	6,1	147	SCHULZE et al., 2005
New York	13,0 ± 3,2	1268	DANIELS et al., 1998
Südkalifornien, Florida, Georgia	1,6	818	FANG et al., 2002

Die Ergebnisse von Prävalenzstudien über Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei Hunden sind den Tabellen 3 und 4 zu entnehmen. Infektionen bei Hunden wurden auch in Südamerika in Venezuela (SUKSAWAT et al., 2001) und in Asien in Japan (INOKUMA et al., 2001) sowie Thailand (SUKSAWAT et al., 2001) nachgewiesen.
Im oberen mittleren Westen und im Nordosten der USA tritt die granulozytäre Anaplasmose bei Menschen und Hunden zwischen Frühling und frühem Sommer, danach wieder im Herbst auf. Wenige Fälle wurden in der Mitte des Sommers und in den Wintermonaten beschrieben (BAKKEN et al., 1994; BAKKEN et al., 1996; GREIG et al., 1996). In Schweden wurde die

Krankheit bei Hunden zwischen Mittsommer bis Herbst nachgewiesen (EGENVALL et al., 1997).

Tabelle 3: Prävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei Hunden aus Europa

Land	Anzahl der untersuchten Hunde (n)	Prävalenz (%)	Untersuchungs-methode	Autor, Jahr
Deutschland	1124	50,1	IFAT	BARUTZKI, 2006
	111	43,2	IFAT	JENSEN et al., 2007
	245	19,2	IFAT	SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007
	5881	21,5	SNAP 4Dx ELISA	KRUPKA et al., 2008
Großbritannien	120	0,8	PCR	SHAW et al., 2005
Italien	344	0	PCR	DE LA FUENTE et al., 2006
	460	0	PCR	SOLANO-GALLEGO et al., 2006
	5634	33	IFAT	TORINA und CARACAPPA, 2006
	1232	8,8	IFAT	EBANI et al., 2008
Österreich	1470	56,5	IFAT	KIRTZ et al., 2007
Polen	192	1	PCR	SKOTARCZAK et al., 2004
Portugal	55	55 0	IFAT PCR	SANTOS et al., 2009
Schweden	611	17,7	IFAT	EGENVALL et al., 2000
	246 Hunde mit ZNS-Symptomen	20,7	IFAT	JÄDERLUND et al., 2007
Schweiz	996	7,5	IFAT	PUSTERLA et al., 1998
Spanien	649	15.6	IFAT	AMUSATEGUI et al., 2008
	466	11,5	IFAT	SOLANO-GALLEGO et al., 2006

Tabelle 4: Prävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei Hunden aus den USA

Region	Anzahl der untersuchten Hunde (n)	Prävalenz (%)	Untersuchungs-methode	Autor, Jahr
Connecticut und New York	106 (krank)	9,4	IFAT Westernblot	MAGNARELLI et al., 1997
Kalifornien	1082 (klinisch gesund)	8,68	IFAT	FOLEY et al., 2001
Kalifornien	97	29 7	IFAT PCR	DRAZENOVICH et al., 2006
Kalifornien	182	40 7,6	IFAT PCR	HENN et al., 2007
Minnesota	731 (642 krank, 89 gesund)	55 9,5 (von 273)	ELISA (SNAP 4Dx) PCR	BEALL et al., 2008
Missouri	88	1,1	PCR	LIDDELL et al., 2003
New York	32 (krank)	31 38 34	IFAT Westernblot ELISA	MAGNARELLI et al., 2001
Nordosten	60 (krank)	11,7	IFAT	MAGNARELLI und ANDERSON, 1993
North Carolina und Virginia	1845 (krank)	1,1	IFAT	SUKSAWAT et al., 2000
Oklahoma	257	33	IFAT	RODGERS et al., 1989
Rhode Island	277	14,4	IFAT	HINRICHSEN et al., 2001
USA gesamt	479640	4,8	ELISA	BOWMAN et al., 2009

1.4. Vorkommen und Eigenschaften der einzelnen Stämme

Der *E. equi*-Stamm löste in verschiedenen europäischen Ländern nur bei Hauswiederkäuern eine Erkrankung aus (GORDON et al., 1932; JONES und DAVIES, 1995; STUEN et al., 2002). Kein *A. phagozytophilum* Stamm wurde bisher aus nordamerikanischen Haus- oder Wildwiederkäuern isoliert (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Alle europäischen Isolate von Menschen, Hunden und Katzen gehörten dem HGE-Stamm an (EGENVALL et al., 1997; PETROVEC et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; BJÖERSDORFF et al., 1999). Auch bei Hunden, Katzen und Menschen aus den USA wurde bisher nur der HGE-Stamm als Erreger nachgewiesen, mit Ausnahme der Isolate weniger Patienten aus Kalifornien, bei denen Abweichungen in einer Nukleotidbase bestanden (BAKKEN et al., 1994; GREIG et al., 1996; FOLEY et al., 1999; IJDO et al., 2000). Alle von Pferden isolierten Stämme aus dem mittleren Westen und Nordosten der USA waren vom HGE-Stamm, bei Pferden aus Kalifornien wurde dagegen entweder der HGE-Stamm oder der *E. equi*-Stamm isoliert, die sich in einer Nukleotidbase unterschieden (JOHANSSON et al., 1995; BARLOUGH et al.,

1996; MADIGAN et al., 1996; FOLEY et al., 1999; PUSTERLA et al., 1999; BULLOCK et al., 2000). Rinder und Schafe, die mit dem HGE-Stamm infiziert waren, erkrankten nicht, serokonvertierten jedoch. Experimentelle Infektionen von Pferden mit dem *E. phagozytophila*-Stamm und Rindern mit dem *E. equi*-Stamm führten zu asymptomatischen Infektionen mit Serokonversion, die eine Kreuzimmunität gegenüber dem für die jeweilige Spezies pathogenen Stamm hervorriefen (PUSTERLA et al., 1999; PUSTERLA et al., 2001).
Sequenzanalysen des Ankyringens verschiedener Isolate von Menschen und Tieren identifizierten konservierte Gensequenzen, die sich innerhalb verschiedener Regionen in den USA und zwischen den USA und Europa unterschieden (MASSUNG et al., 2000; VON LOEWENICH et al., 2003). Kliniker isolierten 16S rRNA-HGE-Stamm-Varianten von Zecken und Wild, aber keine dieser Varianten wurde bei Menschen oder Hunden nachgewiesen (BELONGIA et al., 1997; MAGNARELLI et al., 1999; MASSUNG et al., 2000).
Eine Vielzahl mittels PCR ermittelter geringer Unterschiede in der Nukleotidsequenz des 16S rRNA-Gens des *E. equi*-Stammes bestanden zwischen Isolaten norwegischer Schafe der gleichen Herde und zwischen Isolaten verschiedener Herden. Diese Unterschiede waren mit unterschiedlichen serologischen Antworten assoziiert. So waren nur 43% der Schafe, die mit der *A. phagozytophilum* Variante 2 infiziert waren, seropositiv, dagegen aber 93% der mit der Variante 1 infizierten Schafe (STUEN et al., 2002). Es besteht eine genetische Diversität zwischen den Stämmen von *A. phagozytophilum*, was durch die Untersuchung von Sera von drei Menschen und einem Pferd unterschiedlicher Regionen gezeigt wurde: Es wurden variable serologische Reaktionen auf isolatspezifische *A. phagozytophilum*-Immunoblot-Assays festgestellt. Dem NY-8-Stamm (Stamm aus New York) fehlen einige antigenetische Determinanten anderer Isolate der *E. equi*-Gruppe. Die Immunoblots des NY-8-Isolats produziert weniger und schwächere Banden als die Wisconsin-Isolate Webster und Spooner sowie das MRK-Isolat von *E. equi* (ASANOVICH et al., 1997). Experimentelle Arbeiten lassen den Schluss zu, dass nicht alle genetischen Varianten zu klinischen Symptomen führen müssen. In einer Studie wurden Schafe mit unterschiedlichen genetischen Varianten experimentell infiziert. Mit der genetischen Variante 1 (GenBank accession no. M73220) infizierte Schafe entwickelten Fieber, Inappetenz und Gewichtsverlust. Schafe, die mit der genetischen Variante 2 (GenBank accession no. AF336220) infiziert wurden, blieben dagegen asymptomatisch (STUEN et al., 2003). Bei 8 Hunden einer amerikanischen Studie wurden 5 verschiedene genetische Varianten beschrieben. Sie unterschieden sich in 1 bis 2 Nukleotiden in der 16S rRNA-Gensequenz an den Nukleotidbasen 54, 84, 86 und 120 (POITOUT et al., 2005). Bei 2 Hunden aus der Schweiz wurden identische 16S rRNA-Gensequenzen festgestellt, die mit den 16S rRNA-Gensequenzen einer humanen granulozytären *Anaplasma*-Spezies übereinstimmte (PUSTERLA et al., 1997). Die DNA-Sequenzierung von Isolaten schwedischer Hunde ergab ebenfalls eine Homologie von 100% mit humanen Isolaten (JOHANSSON et al., 1995). Die Untersuchung auf weitere genetische und phänotypische Varianten und die Ermittlung ihrer Bedeutung insbesondere hinsichtlich ihrer Pathogenität ist noch nicht abgeschlossen (GREIG und ARMSTRONG, 2006).

1.5. Übertragung

Die Übertragung erfolgt v. a. über Zecken der Gattung *Ixodes*: *I. scapularis* im oberen mittleren Westen und Nordosten der USA, *I. pacificus* in Kalifornien und Britisch-Kolumbien, *I. ricinus* in Europa (incl. Großbritannien) und *I. persulcatus* und *D. silvarum* in Asien und Russland (RICHTER et al., 1996; TELFORD et al., 1996; CAO et al., 2000). Weitere Arten, die *A. phagozytophilum* übertragen können sind u.a. *Ixodes* (*I.*) *dammini*, *I. trianguliceps*, *I.*

hexagonus und *I. ventalloi* (NIJHOF et al., 2007; BOWN et al., 2008; SANTOS et al., 2008). Diese Zecken werden dem *I. persulcatus*-Komplex zugeordnet (JONES und DAVIES, 1995; MAGNARELLI et al., 1995; PANCHOLI et al., 1995; BARLOUGH et al., 1996; GREIG et al., 1996; RICHTER et al., 1996; TELFORD et al., 1996; BARLOUGH et al., 1997; VON STEDINGK et al., 1997; PETROVEC et al., 1999; PUSTERLA et al., 1999; LIZ et al., 2000; CHRISTOVA et al., 2001; DUMLER et al., 2001; FANG et al., 2002). Des Weiteren wurden die perinatale Übertragung bei Menschen (HOROWITZ et al., 1998) und die transplazentale Übertragung bei Rindern beschrieben (PUSTERLA et al., 1997). Infektionen mit diesem Erreger haben bei Schafen und Rindern zu Aborten geführt, außerdem wurde *A. phagozytophilum* in der Milch nachgewiesen. Daher sollte eine direkte Übertragung auf Neugeborene in Betracht gezogen werden (JONES und DAVIES, 1995; PUSTERLA et al., 1997). Eine weitere Übertragungsmöglichkeit stellt die Infektion über infiziertes Blut dar, was bei experimentellen Studien gezielt genutzt wird, bei Bluttransfusionen jedoch eine Gefahr darstellt (EGENVALL et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1998; REINE, 2004; WARDROP et al., 2005; ALLEMAN et al., 2006; SCORPIO et al., 2008). Berichte über Infektionen via Bluttransfusion stammen aus der Humanmedizin und der Veterinärmedizin. Bisher wurde nur von einer Katze und 2 Menschen berichtet, die über eine Bluttransfusion mit *A. phagozytophilum* infiziert wurde (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008; REINE, 2004).

Eine weitere Möglichkeit der Übertragung von *A. phagozytophilum* stellt der Kontakt mit infiziertem Blut dar. Drei Schlachter aus den USA, die über 250 Rentiere schlachteten und nach eigenen Angaben keinen Zeckenbefall bemerkt hatten, erkrankten an der humanen granulozytären Anaplasmose (BAKKEN et al., 1996). Neuere Studien lassen allerdings vermuten, dass *A. phagozytophilum*-Stämme, die Rentiere infizieren, nicht identisch sind mit humanen *A. phagozytophilum*-Stämmen (DE LA FUENTE et al., 2005; MASSUNG et al., 2005). Es wurde daher vermutet, dass diese Individuen vielleicht unbemerkt von Zecken gebissen wurden (KRAUSE und WORMSER, 2008).

Von einer nosokomialen Übertragung des Erregers wurde vor kurzem in China berichtet (ZHANG et al., 2008). Die Untersuchung eines Krankheitsausbruchs ließ vermuten, dass die Übertragung durch direkten, engen Kontakt mit Blut und Sekreten des Respirationstrakts eines Menschen erfolgte, der an einer humanen granulozytären Anaplasmose starb. Der Erreger konnte nicht kultiviert werden.

1.6. Vektoren und Reservoirwirte

Zecken der Gattung *Ixodes* sind dreiwirtige Zecken. Die drei Entwicklungsstadien der Schildzecken befallen verschiedene Wirte: Larven gewöhnlich Nager, Nymphen v. a. Vögel und mittelgroße Säugetiere und adulte weibliche Zecken große Wirtstiere, wie Rehe und Rotwild (STANEK, 2005). *A. phagozytophilum* wird transstadial zwischen Zecken übertragen, nur Nymphen und Adulte sind potenzielle Träger (DUMLER et al., 2001). Wildtiere, v. a. kleine Säugetiere, bilden das natürliche Reservoir von *A. phagozytophilum*. In den USA werden Weißfußmäuse, Streifenhörnchen, Amerikanische Buschratten, Nordrötelmäuse und Weißwedelhirsche als Reservoirwirte angesehen (PANCHOLI et al., 1995; BELONGIA et al., 1997; WALLS et al., 1997; STAFFORD et al., 1999), in Europa Rötelmäuse, Waldmäuse, Gelbhalsmäuse, Waldspitzmäuse, Füchse sowie Rot- und Schwarzwild (LIZ et al., 2000; PAROLA, 2004). Vögel scheinen bei der geografischen Verbreitung und Ausbreitung der Infektion eine wichtige Bedeutung zu haben. Mit *A. phagozytophilum* infizierte Larvenstadien von *I. ricinus* wurden bei Zugvögeln in Schweden gefunden (BJÖRSDORFF et al., 2001). Diese Vögel überwinterten in Kontinentaleuropa und Afrika. Gleichermaßen waren Vögel in

Nordamerika infiziert und es wird vermutet, dass diese nicht nur bei der Verbreitung eine Rolle spielen, sondern auch als Reservoirwirte durch die Übertragung von *A. phagozytophilum* auf Zeckenlarven in Frage kommen (DANIELS et al., 2002).
Da es zu einer zunehmenden Ausbreitung der Vektoren kommt, ist auch davon auszugehen, dass die Bedeutung von Infektionen mit *A. phagozytophilum* weiter zunehmen wird. Als Ursachen für die Ausbreitung der Vektoren sind u.a. die Klimaerwärmung, die Renaturierung großer Flächen sowie die Anlage von Feuchtgebieten anzusehen. Auf diesen Flächen kommt es zu einer Zunahme von kleinen Nagern und Wildtieren, die als (Reservoir-)Wirt für die Vektoren wichtig sind. Eine weitere Rolle für die Ausbreitung könnte eine Anpassung der Vektoren spielen (BAUER et al., 2007).

1.7. Ko-Infektionen

Ko-Infektionen mit *A. phagozytophilum* und anderen sog. „Arthropod-borne-pathogens" sind möglich und können das Krankheitsbild der CGA komplizieren. Ursachen für Ko-Infektionen sind die Übertragung verschiedener Krankheitserreger aus einer und/oder mehreren Zecken. Das Vorhandensein von Antikörpern gegen andere „tick-borne-pathogens" kann als ein Risikofaktor für Infektionen mit *A. phagozytophilum* angesehen werden. In einer Kohorte von 27 Hunden aus dem Süden North Carolinas wurde eine hohe Zahl an Ko-Infektionen mit *Ehrlichia* spp., *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. und *Babesia* spp. festgestellt. Von 27 untersuchten Hunden waren 24 seropositiv für *A. phagozytophilum*, 26 für *Ehrlichia* spp., 16 für *B. canis*, 25 für *Bartonella vinsonii* und 22 für *R. rickettsii*. Bei 2 *A. phagozytophilum*-seropositiven Hunden und einem *A. phagozytophilum*-seronegativen Hund war die *A. phagozytophilum*-PCR positiv. Die *E. canis*-PCR war bei 15 Hunden, die PCR für *E. chaffeensis* bei 9 Hunden, die PCR für *E. ewingii* bei 8 Hunden und die PCR für *A. platys* bei 9 Hunden positiv. Ko-Infektionen, d.h. ein positiver Antikörpertiter gegen mindestens 2 verschiedene Erreger, wurden bei allen Hunden festgestellt (KORDICK et al., 1999).
Da *B. burgdorferi* wie *A. phagozytophilum* von Zecken der Gattung *Ixodes* übertragen wird, sind Ko-Infektionen mit diesen beiden Erregern häufig, was zu einer Erhöhung der Pathogenität der Erreger führen könnte (NYARKO et al., 2006; NIETO und FOLEY, 2008). In den USA wurden Ko-Infektionen mit diesen beiden Erregern in diversen Studien nachgewiesen (FOLEY et al., 2007; BEALL et al., 2008; BOWMAN et al., 2009).

2. Die granulozytäre Anaplasmose

2.1. Pathogenese

Die Übertragung von *A. phagozytophilum* erfolgt zwischen 24 und 48 Stunden nach dem Zeckenbiss (KATAVOLOS et al., 1998; DES VIGNES et al., 2001). Die Inkubationszeit beträgt ein bis zwei Wochen, im Durchschnitt lag sie bei experimentell über Zecken infizierten Pferden bei 10,5 Tagen (PUSTERLA et al., 1999).
A. phagozytophilum besitzt einen ausgeprägten Zelltropismus: In vitro infiziert *A. phagozytophilum* sowohl granulozytäre als auch monozytäre Vorläuferzellen des Knochenmarks. Eine Vermehrung wurde in einigen humanen Zelllinien promyelozytärer Leukämiezellen (HL-60 [human leukaemia cellline] und KG-1 [sAML/MDS-Zelllinie]), myelomonozytären Zellen (THP-1 [de novo akute myeloische Leukämie Zelllinie]), endothelialen Zellkulturen und Zecken-Zellkulturen beschrieben. HL-60 Zellen, die zu einer Differenzierung in neutrophile Zellen induziert wurden, stellten nach der Infektion mit *A.*

phagozytophilum zwar ihr Wachstum ein, *A. phagozytophilum* vermehrte sich in diesen Zellen jedoch weiter. Differenzierten sich HL-60 Zellen dagegen in monozytäre Zellen, fand keine weitere Vermehrung von *A. phagozytophilum* statt. Am empfänglichsten für eine Infektion mit *A. phagozytophilum* sind differenzierte Zellen der neutrophilen Zelllinie (DUMLER et al., 2005).

A. phagozytophilum bindet an fukosylierte und sialysierte Gerüstproteine an der Oberfläche neutrophiler Granulozyten: PSGL-1 und das Tetrasaccharid Sialyl Lewis X. Es gelangt durch Caveolae-mediierte Endozytose in neutrophile Granulozyten des Wirtes (GOODMAN et al., 1999; HERRON et al., 2000; CARLYON und FIKRIG, 2006). Der bisher am besten untersuchte Ligand ist PSGL-1 (P-Selektin-Glykoprotein-Ligand-1, CD162), an das *A. phagozytophilum* zumindest teilweise über Msp2 (major surface protein 2) bindet. Msp2 ist vermutlich Teil eines Adhäsin-Komplexes, bei dem Msp2-Oligomere eine Bindung mit anderen Oberflächenproteinen eingehen. Nach der Bindung von *A. phagozytophilum* an neutrophile Granulozyten kommt es zwar noch zur Internalisierung des Bakteriums, die Endosomen reifen jedoch nicht weiter. Außerdem akkumulieren sie auch keine Marker, die für reife Endosomen oder Phagolysosomen charakteristisch sind. *A. phagozytophilum* konstruiert letztlich über starke Veränderungen in einem sog. „endocytic pathway“ eine protektive Vakuole. (WEBSTER et al., 1998). Dadurch findet weder eine Ansäuerung der Vakuole noch die Fusion zum Lysosom statt. Dies hat zur Folge, dass *A. phagozytophilum* nicht von lysosomalen Enzymen abgetötet werden kann. *A. phagozytophilum* teilt sich in den Vakuolen weiter, bis es schließlich zur Zelllyse kommt. Diese ermöglicht die Infektion weiterer Zellen (DUMLER et al., 2005). *A. phagozytophilum* kann in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut und in Zellen des mononukleären Phagozytosesystems (Milz, Leber und Knochenmark) gefunden werden (EGENVALL et al., 1998; EGENVALL et al., 2000; DUMLER et al., 2001).

Die Anzahl der beschriebenen Proteine von *A. phagozytophilum* ist limitiert, obwohl Genomsequenzen bei der Definition der Strukturen und Funktionen hilfreich sein können. Das mengenmäßig häufigste Protein von *A. phagozytophilum* ist Msp2, das durch eine Multigenfamilie von mindestens 22 paralogen Genen im Webster-Stamm-Genom und 52 oder mehr paralogen Genen im HZ-Stamm-Genom codiert wird (SCORPIO et al., 2004). Paraloge Gene sind durch Duplikation innerhalb eines Genoms entstanden und haben meist neue, aber verwandte Funktionen (KUHN, 2006). Die Vielfalt der Antigene (aus dem englischen für antibody generating) zwischen den *A. phagozytophilum*-Stämmen verschiedener Regionen wird durch die msp2-(Gen, das für Msp2 codiert) Genkonversion erhöht. Es wird vermutet, dass die Diversität durch Immunselektion vorangetrieben wird und eine wichtige Rolle bei der Persistenz der Infektion in Reservoirwirten spielt. Eine eingeschränkte msp2-Transkription und Msp2-Expression über mehrere Passagen und in Zeckenzellen lässt eine Selektion durch Fitness für neue Nischen vermuten, was durch die Rolle von Msp2 als Adhäsin unterstrichen wird (PARK et al., 2003; SCORPIO et al., 2004).

Neben msp2 ist ankA (Gen mit Ankyrin-repeats, das für Ankyrin A codiert) die am intensivsten studierte Komponente von *A. phagozytophilum* (CATUREGLI et al., 2000; PARK et al., 2004). Dieses Gen codiert für Ankyrin A (AnkA), ein 153-160kDa großes Protein mit mindestens 11 N-terminalen Ankyrin-Wiederholungen und einem C-Terminus mit mehreren Tandem-Wiederholungen. Es bestehen keine Homologien zu anderen Proteinen. AnkA-Sequenzen unterscheiden sich je nach geografischem Ursprung des entsprechenden *A. phagozytophilum*-Stammes. Bei den nordamerikanischen Stämmen liegt eine relative Konservierung vor, bei den europäischen Stämmen dagegen eine Diversität. Inwiefern die ankA-Diversität mit der Schwere der Erkrankung durch den entsprechenden *A. phagozytophilum*-Stamm in Verbindung steht, ist nicht bekannt (DUMLER et al., 2005). Eine interessante Beobachtung hinsichtlich AnkA ist die Lokalisation im Nukleus infizierter

neutrophiler Granulozyten, wo die Komplexbildung mit Chromatin erfolgt. Obwohl wenig darüber bekannt ist, ob AnkA das Überleben oder die Pathogenese von *A. phagozytophilum* beeinflusst, ist es derzeitig das einzige bekannte von *A. phagozytophilum* sezernierte Protein, das die Bakterien- und Vakuolenmembran passiert, durch das Zytoplasma gelangt und die Kernmembran passiert, um ein Ziel am Nukleus zu finden. Im Nukleus infizierter neutrophiler Granulozyten oder HL-60 Zellen bindet AnkA an Kernproteine und -komplexe Adenin (A)- und Thymin (T)-reicher Kern-DNA, denen spezifische konservierte Bereiche fehlen (PARK et al., 2004; DUMLER et al., 2005). Allein ihre Präsenz im Zellkern von Zellen, in denen die Transkription verändert erscheint, erfordert weitere Untersuchungen der direkten pathogenetischen Rolle in der Regulation eukaryoter Genexpression (DUMLER et al., 2005).

2.1.1. Tiermodelle und Immunpathogenität

Die Diskrepanz zwischen Bakterienlast und histopathologischen Veränderungen bei der granulozytären Anaplasmose lassen vermuten, dass diese Erkrankung mit Immuneffektoren in Zusammenhang steht, durch die es unbeabsichtigt zu einer Gewebeschädigung kommt. In vivo werden humane Zytokinantworten durch IFN-γ (Interferon-γ) und IL-10 (Interleukin-10) dominiert, dagegen kommt es zu einem Mangel an TNF-α (Tumornekrosefaktor-α), IL-1β (Interleukin-1β) und IL-4 (Interleukin-4) (DUMLER et al., 2000). Dies lässt auf eine Bedeutung der Makrophagenaktivierung bei Genesung und Krankheit schließen (DUMLER et al., 2005). In einem Mausmodell wurde ein ähnliches Zytokinmodell wie beim Menschen ermittelt (LEPIDI et al., 2000). In diesem Modell war die Bakterienlast an Tag 7 am höchsten und nahm dann wieder rasch ab. IFN-γ erreichte am Tag 10 sein Maximum und sank danach ebenfalls schnell. Die histopathologischen Veränderungen waren an den Tagen 7 bis 10 minimal, erreichten am Tag 14 ihr Maximum und nahmen anschließend wieder ab. Dies lässt vermuten, dass IFN-γ eine Rolle bei den histopathologischen Veränderungen und der Restriktion der Infektion spielt. Bewiesen wurde dies dadurch, dass histopathologische Läsionen bei IFN-γ-Knock-out-Mäusen ausblieben und es zu einem 5- bis 8-fachen Anstieg der Bakterienzahl kam. Im Gegensatz dazu kam es bei IL-10-knock-out-Mäusen mit einer nur gering eingeschränkten IFN-γ-Produktion zu keiner erhöhten Bakterienlast und histopathologische Läsionen waren signifikant stärker als bei der Kontrollgruppe (MARTIN et al., 2001). Die Mechanismen der Restriktion des Bakterienwachstums scheinen klar mit der IFN-γ-Produktion in Verbindung zu stehen; inwiefern die Nitridoxidsynthase 2 (NOS2) in diesem Prozess eine Rolle spielt, ist noch ungeklärt. Die Aktivierung der angeborenen Abwehr durch TLR-2 (toll-like receptor 2), TLR-4 (toll-like receptor 4), MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88), TNF-α und CYBB (cytochrome b-558, beta polypeptide) führt zu keiner Kontrolle von *A. phagozytophilum* (DUMLER et al., 2005). Mehrere Mausmodelle zeigen keine Korrelation zwischen histopathologischen Läsionen und Bakterienlast. Gleichermaßen werden bei der Infektion von TLR-2-, TLR-4-, MyD88-, TNF-α- und CYBB-Knockout-Mäusen sowohl Bakterienlast als auch histopathologische Veränderungen nicht beeinflusst. Derartige Ergebnisse unterstützen eine Immunantwort-auslösende Rolle von *A. phagozytophilum* als Krankheitsmechanismus (DUMLER et al., 2005).
IFN-γ und IL-10 stellen Schlüsselmarker oder Effektoren von Läsionen bei Infektionen mit *A. phagozytophilum* dar. Ihr Ursprung ist jedoch unklar. Eine Infektion von Neutrophilen und HL-60-Zellen (differenziert in neutrophil-like cells) produziert einen bemerkenswerten Anstieg von CXC- und CC-Chemokinen, incl. IL-8, RANTES (regulated and normal T cell expressed and secreted), MIP-1α (macrophage inflammatory protein-1α), MIP-1β (macrophage inflammatory protein-1β) und MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1),

aber nicht IL-10, TNF-α, IL-1β oder IL-4 (KLEIN et al., 2000). Dies lässt vermuten, dass *A. phagozytophilum* teilweise neutrophile Granulozyten aktiviert (DUMLER et al., 2005). Eine verminderte Bakteriämie wurde durch eine Blockade der Chemokinrezeptoren (CXCR2) und bei CXCR2-knockout-Mäusen beobachtet (AKKOYUNLU et al., 2001). Dies verschafft dem Bakterium vermutlich einen Überlebensvorteil durch die Rekrutierung neuer neutrophiler Granulozyten und die Erhöhung der Konzentration infizierter Zellen im Blut, die bei einem erneuten Zeckenbiss von diesen aufgenommen werden können. Trotz der gesteigerten Bakteriämie werden nicht vermehrte histopathologische Läsionen beobachtet, was durch frühere Studien bestätigt wird. Der Nachteil der Chemokinproduktion für den Wirt ist also die Rekrutierung von aktivierten Entzündungszellen, die zu einer IFN-γ-induzierten Entzündung führen und Gewebe schädigen können (DUMLER et al., 2005).

2.1.2. Funktionsänderungen neutrophiler Granulozyten bei Infektionen mit *A. phagozytophilum*

Eine Infektion mit *A. phagozytophilum* resultiert in einer signifikanten Störung der normalen Neutrophilenfunktion, incl. der endothelialen Zelladhäsion und Transmigration, Motilität, Degranulation, „respiratory burst"-Aktivität und Phagozytose.
A. phagozytophilum überlebt das initiale Zusammentreffen durch die Entgiftung des von neutrophilen Granulozyten gebildeten Superoxids, was evtl. auf die Wirkung des bakterieneigenen Enzyms Superoxiddismutase zurückgeführt werden kann (OHASHI et al., 2002; CARLYON et al., 2004). Infizierten HL-60 Zellen fehlt die respiratory-burst-Aktivität aufgrund reduzierter Transkriptionskomponenten der Phagozytenoxidase, u.a. auch der Untereinheit gp91phox (Glykoprotein 91 Phagozytenoxidase) und RAC2 (ras-related C3 botulinum toxin substrate 2) (CARLYON et al., 2002; CHOI und DUMLER, 2003). Dies wurde bisher bei infizierten neutrophilen Granulozyten noch nicht nachgewiesen. Die Reduktion der Phagozytenoxidase bewirkt eine Reduktion der lokalen Entzündungsregulation. Dies resultiert aus der Unfähigkeit, Entzündungsmediatoren, wie Leukotriene, Komplement und vielleicht andere Komponenten zu zerlegen.
Eine andere normale Funktion neutrophiler Granulozyten ist die Apoptose. Hierüber werden gewöhnlich innerhalb von 24 bis 48 Stunden Entzündungen über einen programmierten Zelltod aktivierter Neutrophiler reguliert. Die Aktivierung der Opsonophagozytoserezeptoren und die Degranulation gehen gewöhnlich mit einem schnellen Zelltod (Apoptose) einher. Die Induktion der Apoptose ist bei neutrophilen Granulozyten, die mit *A. phagozytophilum* infiziert sind, um 24 Stunden verzögert und steht in Zusammenhang a) mit einer aufrechterhaltenen Transkription von Genen der Genfamilie bc12, b) der Stabilisation des Mitochondrien-pathways, der das Procaspase-3-Processing verhindert und c) einer Verlängerung des Zeitraums der Degranulation, was die Entzündung verstärkt (CHOI und DUMLER, 2003; CHOI et al., 2004; GARYU et al., 2005). Dadurch werden das Überleben, die Vermehrung von *A. phagozytophilum* in kurzlebigen, differenzierten Leukozyten und die Aufnahme von *A. phagozytophilum* in Zecken ermöglicht (GE et al., 2005). Mit *A. phagozytophilum* infizierte neutrophile Granulozyten und HL-60-Zellen können nicht an mikrovaskuläre Endothelzellen binden. Dieser Adhäsionsdefekt resultiert aus dem sog. Shedding der neutrophilen Bindungsrezeptoren PSGL-1 und L-Selektin, die den ersten kritischen Schritt in der Rekrutierung von Entzündungszellen ausmachen. Die Rekrutierung bleibt – trotz der schnellen Mobilisation der β2-Integrine (CD11b/CD18) und ICAM-1 (CD54), die die zweite Phase der festen endothelialen Bindung mediieren – aus. Daher sind infizierte neutrophile Granulozyten trotz der stimulierten Motilität nicht in der Lage, endotheliale Zellbarrieren zu passieren. Zum Selektinshedding kommt es aufgrund der

Degranulation infizierter Zellen. Hierbei werden verschiedene Enzyme freigesetzt (EDTA-inhibitable Sheddase [Metalloprotease], β2-Integrine, CD66b und andere Entzündungskomponenten, wie Gelatinase (MMP9 [Matrix Metalloprotease 9]) (CHOI et al., 2003; CHOI et al., 2004).
Alles in allem kommt es zu einer steigenden Anzahl infizierter Zellen im peripheren Blut, die für die Gewebsrekrutierung unempfindlich sind und eine verlängerte Lebensspanne haben. Für den Wirt bedeutet dies eine Aktivierung von neutrophilen Granulozyten zur Beteiligung an proinflammatorischen Prozessen, während diese als mikrobizide Effektoren oder Regulatoren der Entzündung ungeeignet sind. Für *A. phagozytophilum* dagegen liegt die Bedeutung in der Sicherung von Überleben, Replikation und Aufnahme in Zecken (DUMLER et al., 2005).

2.1.3. Blutbildveränderungen bei Infektionen mit *A. phagozytophilum*

Komplexe immunologische Vorgänge können zur Entstehung von Thrombozytopenie, Anämie und Leukopenie beitragen. Der genaue Pathomechanismus ist derzeit noch nicht geklärt. In vitro stimulieren *A. phagozytophilum*-infizierte neutrophile Granulozyten eine gesteigerte Produktion von IL-8 und anderen Zytokinen (MIP-1α, MCP-1 und RANTES). MIP1α, MIP-1β und IL-8 hemmen die Hämatopoese in vitro (ECKERSALL, 1995).
Eine Thrombozytopenie kann auf verschiedene Mechanismen zurückgeführt werden. Hierzu gehören ein erhöhter Verbrauch an Thrombozyten aufgrund einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC), die Sequestration von Thrombozyten in der Milz, die immunbedingte Zerstörung von Thrombozyten oder die Produktion von hemmenden Faktoren (SMITH et al., 1975; WANER et al., 1995; WONG und THOMAS, 1998). In einer Arbeit aus der Humanmedizin wurde festgestellt, dass 80% der Patienten, die mit *A. phagozytophilum* infiziert waren, einen positiven Thrombozyten-Antikörpertest aufwiesen (WONG und THOMAS, 1998). Auf die Entstehung von Anämie und Leukopenie wird im Abschnitt 3.1. näher eingegangen.

2.2. Klinische Befunde

2.2.1. Experimentelle Studien

Experimentelle Studien wurden u.a. bei Pferden, Kühen und Lämmern durchgeführt (PUSTERLA et al., 1997; PUSTERLA et al., 1999; FRANZEN et al., 2005; FRANZEN et al., 2007; STUEN et al., 2008). Pferde wiesen folgende Symptome auf: Fieber, Mattigkeit, Inappetenz, erhöhte Herz- und Atmungsfrequenz, Ataxie, Bewegungsunlust und Gliedmaßenödeme (FRANZEN et al., 2005). Ein Pferd der schwedischen Studie starb plötzlich 8 Tage post infectionem. Es wies die gleiche Symptomatik wie die übrigen Pferde auf (FRANZEN et al., 2005; FRANZEN et al., 2007). Alle experimentell infizierten Kühe erkrankten nach einer Inkubationsphase von 5 bis 9 Tagen. Die häufigsten Symptome waren Fieber (40,2-41,7°C), verminderte Milchleistung und eine gering- bis mittelgradige Störung des Allgemeinbefindens. Zusätzlich wurden respiratorische Symptome beobachtet: Polypnoe, Nasenausfluss, Husten und abnorme Lungengeräusche. Die Tiere wurden nicht behandelt, und waren nach durchschnittlich 8 Tagen wieder klinisch gesund (PUSTERLA und BRAUN, 1997). Experimentell infizierte Schafe erkrankten nach einer Inkubationszeit von 4 Tagen und hatten über einen Zeitraum von 8 Tagen Fieber (STUEN et al., 2008). Weitere unspezifische

Symptome, die bei Schafen beschrieben wurden, waren Inappetenz und Gewichtsverlust (STUEN et al., 2008).

2.2.2. Natürliche Infektion

Bei Pferden wurden Fieber, Lethargie, Anorexie, Schwäche, Muskelverhärtung, Ataxie, petechiale Blutungen, Gliedmaßenödeme und Ikterus beobachtet (GRIBBLE, 1969; MADIGAN und GRIBBLE, 1987; MADIGAN et al., 1996; BERMANN et al., 2002), bei Katzen Fieber, Lethargie, Anorexie, Hyperästhesie, Lahmheit, Polyarthritis, Lymphadenopathie, Gewichtsverlust und Augenveränderungen (BJÖERSDORFF et al., 1999; LAPPIN et al., 2004; KIRTZ et al., 2005; TARELLO, 2005).

2.3. Laborbefunde

2.3.1. Experimentelle Infektion

Experimentell infizierte Pferde wiesen während der febrilen Phase Leukopenien, Neutropenien und Lymphopenien auf. Alle Pferde hatten eine Thrombozytopenie, die länger andauerte als die Leukopenie. Außerdem fiel bei allen Pferden eine Anämie auf (FRANZEN et al., 2005). Ein Pferd dieser Studie, das am 8. Tag post infectionem starb, wies keine weiteren abnormen Laborbefunde auf (FRANZEN et al., 2007). Kühe wiesen ähnliche abnorme Laborbefunde auf: Leukopenie (aufgrund von Neutropenie, Lymphopenie und Eosinopenie), Thrombozytopenie und Anämie. Bei jeweils 3 Kühen kam es zu einem Anstieg von Kreatinin- und Bilirubinkonzentrationen über den Referenzwert (PUSTERLA et al., 1997). Auch bei Schafen wurde von einer Neutropenie berichtet (STUEN et al., 2008).

2.3.2. Natürliche Infektion

Katzen hatten folgende abnorme Laborbefunde: Anämie, Thrombozytopenie, Hyperglobulinämie, Neutrophilie und eine stressbedingte ggr. Hyperglykämie (LAPPIN et al., 2004; KIRTZ et al., 2005; TARELLO, 2005). Bei Wiederkäuern traten folgende Laborveränderungen auf: Leukopenie, Neutropenie, Thrombozytopenie. Des Weiteren wurde von einem Abfall der Aktivität der Alkalischen Phosphatase sowie der Zink- und Eisenspiegel im Plasma berichtet. Auch eine Hyperbilirubinämie und erhöhte Kreatininwerte wurden festgestellt (WOLDEHIWET, 2006). Bei Pferden wurden abnorme Laborbefunde wie Thrombozytopenie, Leukopenie, Anämie, Hyperbilirubinämie, Hypoalbuminämie und Hyperfibrinogenämie erhoben (BERRINGTON et al., 1996; BERMANN et al., 2002).

2.4. Pathologische Befunde

Pathologische Läsionen, die durch Infektionen mit *A. phagozytophilum* ausgelöst wurden, waren bei Menschen und experimentell infizierten Hunden, Affen, Mäusen, Pferden und Schafen gering (EGENVALL et al., 1998; HODZIC et al., 1998; FOLEY et al., 1999; LEPIDI et al., 2000; MARTIN et al., 2000; BORJESSON et al., 2001; HODZIC et al., 2001).
In einer equinen Studie wurde eine Vaskulitis im Skelettmuskel und in Sehnen beschrieben (LEPIDI et al., 2000). Bei einem Pferd, das 8 Tage post infectionem starb, fielen

Hämorrhagien in den inneren Organen sowie eine Vaskulitis und Thrombose der Nieren auf, was mit einer DIC in Verbindung gebracht wurde. Dies war der erste Fall, bei dem ein Todesfall allein auf eine Infektion mit *A. phagozytophilum* und die daraus resultierende granulozytäre Anaplasmose zurückgeführt wurde. Dieses Pferd war 19 Jahre alt, aber in guter physischer Kondition und klinisch gesund. Es ist möglich, dass das Unvermögen die Infektion zu kontrollieren und eine daraus resultierende DIC auf einer altersabhängigen verminderten Immunkompetenz basierte (FRANZEN et al., 2007).
Weitere pathologische Befunde, die bei der Untersuchung von Hunden erhoben wurden, sind dem Abschnitt 3.4. zu entnehmen.

2.5. Diagnose

Die Jahreszeit, Anamnese, klinischen Symptome, hämatologischen und klinisch-chemischen Befunde und die Ergebnisse der serologischen Untersuchung können bei der Stellung der Verdachtsdiagose *A. phagozytophilum*-Infektion hilfreich sein (GREIG und ARMSTRONG, 2006).

Kriterien für die Diagnosestellung humane granulozytäre Anaplasmose sind (BAKKEN und DUMLER, 2006):

- vierfacher oder höherer Anstieg oder Abfall des Antikörperspiegels gegen *Anaplasma phagozytophilum* mittels Bestimmung des IFAT aus zwei Serumproben, die im Abstand von vier Wochen gewonnen werden **oder**
- positives PCR-Ergebnis **oder**
- Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut bei gleichzeitigem positiven PCR- oder IFAT-Ergebnis **oder**
- Kultivierung von *Anaplasma phagozytophilum* aus Patientenblut

2.5.1. PCR

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist sensitiver als der Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten und erlaubt die Amplifikation definierter DNA-Abschnitte (KOOLMAN und RÖHM, 1998). Die PCR ermöglicht eine spezifische Diagnose, während bei der serologischen Untersuchung Kreuzreaktionen mit eng verwandten Rickettsien auftreten können. Als Untersuchungsmaterial eignet sich am besten EDTA-Blut, des Weiteren kann ein DNA-Nachweis aus dem Buffy-Coat, Knochenmark oder Milzgewebe erfolgen (EGENVALL et al., 2000). Die Proben müssen vor Beginn der Antibiotikatherapie genommen werden (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Mittels der PCR können folgende Gene amplifiziert werden: 16S rRNA, msp2 (p44), msp4, groESL, rrs, epank1 oder ankA (EGENVALL et al., 2000; MASSUNG und SLATER, 2003; SANTOS et al., 2004; DE LA FUENTE et al., 2008). Einige dieser Assays amplifizieren lediglich die DNA von *A. phagozytophilum*, andere Assays amplifizieren die DNA verschiedener Rickettsien, so dass eine anschließende Sequenzierung des DNA-Produkts erforderlich ist, um die Identifikation des Infektionserregers zu ermöglichen. Die meisten PCRs amplifizieren die 16S rRNA oder das msp2 (p44). Assays, die auf dem msp2-Gen basieren, sind gewöhnlich spezifisch für den Nachweis von *A. phagozytophilum*. Im Gegensatz dazu werden mit Assays zum Nachweis der 16S rRNA auch die Gene anderer *Anaplasma* spp. und sogar anderer Bakterien, wie z.B. *Bartonella henselae* erfasst (EGENVALL et al., 2000). Ein real-time-Assay wurde für die Amplifikation der DNA des msp2-Gens einer Vielzahl verschiedener Stämme

unterschiedlicher Regionen entwickelt (DRAZENOVICH et al., 2006). Kreuzreaktionen zwischen *A. phagozytophilum* und *A. platys* wurden nicht nachgewiesen, sofern das msp2-Gen amplifiziert wurde, wohl aber bei Amplifikation der Gene rrs und groESL (SANTOS et al., 2009).
Die ersten Arbeiten zum Nachweis von *A. phagozytophilum* im Blut mittels verschiedener PCR-Verfahren sind in den 1990er Jahren erschienen (CHEN et al., 1994; BARLOUGH et al., 1996; ENGVALL et al., 1996; PUSTERLA et al., 1997; PUSTERLA et al., 1999). In den ersten Jahren wurde je nach eingesetztem Verfahren auch die DNA nah verwandter Bakterien amplifiziert. Ziele weiterer Studien war daher eine Verbesserung der Spezifität zum Nachweis von Infektionen mit *A. phagozytophilum*. In den letzten Jahren ist es gelungen, eine Genogruppen-spezifische PCR für *A. phagozytophilum* zu entwickeln (PUSTERLA et al., 2000; COURTNEY et al., 2004). Mit einer sog. „one-tube-PCR" ist eine spezifische Amplifikation von DNA der *E. phagozytophila*-Genogruppe-zugeordneteten Bakterien (*E. equi*, *E. phagozytophila*, HGE-Agent) möglich. Eine Unterscheidung der einzelnen Stämme ist mit diesem Verfahren nicht möglich. Eine Amplifikation der DNA nah verwandter Spezies (*E. risticii*, *E. chaffeensis*, *E. canis*, *N. helminthoeca*, *A. marginale*, *R. rickettsii*, *R. typhi*) erfolgte nicht, sodass Kreuzreaktionen ausgeschlossen werden können (PUSTERLA et al., 2000). Auch mit der Multiplex-PCR wurden alle getesteten *A. phagozytophilum*-Stämme erkannt (USG3, MRK und Webster), die DNA von *A. marginale*, *R. rickettsii*, *R. prowazekii*, *Escherichia coli*, *Bartonella henselae*, *E. canis*, *E. chaffeensis* und *N. sennetsu* wurde dagegen nicht amplifiziert. Folglich können auch mit diesem Verfahren zwar die verschiedenen Stämme von *A. phagozytophilum* nachgewiesen werden, Kreuzreaktionen mit anderen nah verwandten Spezies treten jedoch nicht auf. Bisher wurde noch kein Verfahren entwickelt, mit dem die verschiedenen Stämme routinemäßig im Rahmen der Diagnostik unterschieden werden. Dies muss Gegenstand weiterer Studien sein (COURTNEY et al., 2004). Es ist zu beachten, dass nur ein positives Ergebnis aussagekräftig ist (GREIG und ARMSTRONG, 2006; BJÖERSDORFF, 2005).

2.5.2. Zellkultur

Alle Stämme von *A. phagozytophilum* können in vitro in einer bestimmten Zelllinie, der sog. humanen leukämischen Zelllinie (HL-60-Zellen) kultiviert werden (GOODMAN et al., 1996). Seitdem wurde diese Methode in verschiedenen Laboren zur Untersuchung der Erkrankung eingesetzt, wird aber kommerziell nicht angeboten und ist sehr aufwendig (GREIG und ARMSTRONG, 2006).

2.5.3. Serologische Untersuchung

Eine Untersuchung auf *A. phagozytophilum* via IFAT kann erforderlich sein, falls keine Morulae in neutrophilen Granulozyten zu finden waren und/oder die PCR negativ ist (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Es wurden sowohl ein polyklonaler indirekter Immunfluoreszenzantikörpertest (IFAT) als auch ein Westernblot entwickelt. Das gängigste Verfahren ist der IFAT. Zwischen *A. phagozytophilum* und *A. platys* wurden ebenfalls Kreuzreaktionen festgestellt (INOKUMA et al., 2001). Es ist daher allein über die Serologie kein eindeutiger Schluss auf den einer Infektion oder Erkrankung zugrunde liegenden Erreger möglich (SANTOS et al., 2009).
Trotz der beschriebenen Kreuzreaktivität bleibt die serologische Untersuchung die häufigste Untersuchungsmethode für den Nachweis einer Infektion mit *A. phagozytophilum*, falls keine

Morulae in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden konnten oder falls eine Unterscheidung zwischen *A. phagozytophilum* und *E. ewingii* unmöglich ist. Im oberen mittleren Westen der USA sind Infektionen mit *E. canis* oder *E. ewingii* selten bis nicht vorhanden, sodass ein positiver Antikörpertiter für *A. phagozytophilum* mit großer Wahrscheinlichkeit für eine *A. phagozytophilum*-Infektion spricht. Da alle *Ehrlichia* und *Anaplasma* spp. empfindlich für Tetrazyklin sind, ist eine Unterscheidung zwischen diesen verschiedenen Organismen weniger von klinischer als von akademischer oder zoonotischer Bedeutung. Der Ausschluss einer Infektion mit *E. canis* ist aufgrund des Potenzials, eine lebensbedrohliche chronische Erkrankung auszulösen, von größter Wichtigkeit (GREIG und ARMSTRONG, 2006).
Die Unterschiede zwischen den verschiedenen *A. phagozytophilum*-Stämmen sind groß genug, um in verschiedenen Laboren unterschiedliche Ergebnisse bei der Untersuchung der gleichen Probe zu erhalten (MAGNARELLI et al., 1998). Daher ist bes. bei Wiederholungsuntersuchungen, in denen Titeranstiege für die Diagnose oder Titerabnahmen als Antwort auf eine Therapie ermittelt werden sollen, darauf zu achten, die Proben in das gleiche Labor zu schicken (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Immunoblotassays sind für die Antikörpertiterbestimmung speziesspezifischer. Kreuzreaktionen mit anderen verwandten Spezies können sowohl bei der Untersuchung via IFAT als auch über einen Immunoblot auftreten. Die serologische Kreuzreaktivität kommt durch das Vorhandensein immundominanter Oberflächenproteine auf dem Erreger zustande. Diese sind sich sehr ähnlich, was bes. für die Familie immundominanter „outer membrane proteins“ gilt, die bei *Ehrlichia* spp., *A. phagozytophilum* und anderen Mikroorganismen, insbes. durch Zecken übertragene Erreger, vorhanden sind (DUMLER et al., 2001). Die serologische Kreuzreaktivität zwischen *A. phagozytophilum* und diversen anderen Mikroorganismen, v. a. durch Zecken übertragene Erreger, wurde untersucht. Dabei wurde eine starke Kreuzreaktivität zwischen den verschiedenen Stämmen von *A. phagozytophilum* festgestellt. Zwischen *A. phagozytophilum* und weiteren Bakterien der Familie der *Ehrlichiae* (*E. canis*, *E. ewingii*, *E. chaffeensis*) ist eine serologische Kreuzreaktivität ungewöhnlich. Keine Kreuzreaktivität wurde zwischen *A. phagozytophilum* und *B. burgdorferi*, *Bartonella* spp. und *Rickettsia* (*R.*) *rickettsii* nachgewiesen (DUMLER et al., 1995; MAGNARELLI et al., 1995; EGENVALL et al., 1997; MAGNARELLI et al., 1997; SUKSAWAT et al., 2000; DUMLER et al., 2001). Das immundominante äußere 44kDa Oberflächenprotein, das im Westernimmunoblot als Marker für Infektionen mit *A. phagozytophilum* eingesetzt wird, weist eine geringe Kreuzreaktivität mit anderen *Ehrlichia* oder *Anaplasma* spp. auf (IJDO et al., 1997; MAGNARELLI et al., 2001; IJDO et al., 2002).

3. Die canine granulozytäre Anaplasmose (CGA)

Die CGA wurde erstmals 1982 in den USA beschrieben (MADEWELL und GRIBBLE, 1982). In Europa wurde die granulozytäre Anaplasmose beim Hund erstmals 1988 in der Schweiz beschrieben (WINKLER et al., 1988). In den nächsten Jahren kamen die meisten Fallberichte aus Schweden und der Schweiz (BELLSTRÖM, 1989; JOHANSSON et al., 1995; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; PUSTERLA et al., 1998).
Bisher wurden weltweit verschiedene experimentelle Studien (LEWIS et al., 1975; WINJUM und RILEY, 1993; EGENVALL et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1999; EGENVALL et al., 2000; ALLEMAN et al., 2006) sowie einige Fallberichte (MADEWELL und GRIBBLE, 1982; COWELL et al., 1988; MARETZKI et al., 1994; JOHANSSON et al., 1995; GRAVINO et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; MANNA et al., 2004; ARSENAULT und MESSICK, 2005; BEXFIELD et al., 2005; KIRTZ et al., 2005;

LESTER et al., 2005) und klinische Studien (STOCKHAM et al., 1992; GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007) über die CGA veröffentlicht.

3.1. Blutbildveränderungen

Eine geringe bis mittelgradige Thrombozytopenie wurde sowohl bei Infektionen mit *A. phagozytophilum* als auch bei Infektionen mit verschiedenen anderen *Ehrlichia* spp. festgestellt (WOODY und HOSKINS, 1991; EGENVALL et al., 1997; NEER et al., 2002; BEXFIELD et al., 2005). In einer experimentellen Studie sank die Thrombozytenzahl von 423 x 10^9/l ± 96 auf 63 x 10^9/l ± 33 ($p < 0{,}001$) zum Zeitpunkt des Infektionspeaks. Dabei nahm die Thrombozytenzahl abrupt ab als Morulae in neutrophilen Granulozyten nachweisbar waren (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Bei einem natürlich infizierten Hund konnten Thrombozyten-Antikörper nachgewiesen werden (BEXFIELD et al., 2005).
In einer experimentellen Studie wurden 9 Hunde mit *A. phagozytophilum* infiziert und entwickelten eine leichte normozytäre normochrome Anämie wie sie auch bei entzündlichen Prozessen auftritt (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Faktoren, die bei Entzündungen eine Rolle spielen, sind u.a. erhöhte Konzentrationen der Zytokine IL-1, IFN-γ und TNF-α, die die Knochenmarkaktivatoren Erythropoetin und colony-forming unit-erythroid hemmen (WALTER et al., 1997). Weitere Mechanismen, die im Zusammenhang mit Entzündungen stehen, sind ein funktionaler Eisenmangel trotz retikuloendothelialer Eisenspeicher (WALTER et al., 1997) und eine verkürzte Lebensdauer der Erythrozyten (WEISS und KREHBIEL, 1981). Es wurde vermutet, dass diese Mechanismen auch bei der CGA eine Rolle spielen (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Antierythrozytäre Antikörper und die Agglutination von Erythrozyten wurde bei 3 Hunden aus den USA nachgewiesen (GOLDMAN et al., 1998).
In der experimentellen Studie von LILLIEHÖÖK et al. (1998) wurde eine moderate Neutropenie von kurzer Dauer beobachtet. Bei der Untersuchung von Knochenmark wurde eine myeloide Hyperplasie mit einer Verschiebung zugunsten unreifer myeloider Zellen beobachtet. Im Gegensatz dazu konnte im Blut keine Linksverschiebung festgestellt werden, es wurde daher eine gestörte Myelopoese als möglicher Pathomechanismus diskutiert. Zusätzlich wurde bei allen Hunden eine Eosinopenie festgestellt, die bei Infektionskrankheiten häufig auftritt. Während der parasitämischen Phase war die Lymphozytenzahl für einige Tage mittelgradig bis stark reduziert. (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Bei Schafen war dies assoziiert mit einer Abnahme von B- und T-Lymphozyten (WOLDEHIWET, 1991).

3.2. Klinische Befunde

3.2.1. Experimentelle Infektion

In einer schwedischen Studie wurden 7 Hunde mit einem schwedischen *A. phagozytophilum*-Isolat intravenös mit 3ml frischem EDTA-Blut infiziert, das ungefähr 3,3 x 10^6 Neutrophile mit Morulae enthielt. Die Hunde entwickelten folgende Symptome: Fieber (5), Mattigkeit für einige Tage (2 mittelgradig, 3 leichtgradig), Inappetenz während der febrilen Phase (2) und Apathie während der febrilen Phase (1). Ein Hund zeigte eine Lahmheit und schwankenden Gang (EGENVALL et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1998; EGENVALL et al., 2000). In einer Studie wurden spontan geheilten Hunden ein Monat nach Genesung und Elimination

von *A. phagozytophilum* aus dem Blut (bestätigt durch den fehlenden Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut und durch ein negatives PCR-Ergebnis) Glukokortikoide in einer immunsuppressiven Dosis appliziert. Nach der Immunsuppression wurden die Hunde erneut bakteriämisch, blieben allerdings asymptomatisch. Dies wurde auch beobachtet, wenn die Immunsuppression 6 Monate nach der Infektion ausgelöst wurde (EGENVALL et al., 2000). Die Studie lässt erkennen, dass Hunde potenziell chronische Träger darstellen, was insofern Bedeutung hat, da Rezidive einer latenten Infektion auftreten können. In einer weiteren experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass Infektionen mit *A. phagozytophilum* trotz Doxyzyklingabe persistieren können. Nach einer Glukokortikoid-applikation wurden die Hunde erneut bakteriämisch und somit positiv in der PCR (ALLEMAN et al., 2006).

3.2.2. Natürliche Infektion

Die Diagnose bei den bisher beschriebenen Hunden mit CGA basierte auf dem Nachweis von Morulae in zirkulierenden neutrophilen Granulozyten und/oder einer positiven *A. phagozytophilum*-PCR (Tab. 5 und 6). Genetisch nicht bestätigte Fälle stammten aus für *A. phagozytophilum* endemischen Gebieten, wobei in diesen *E. ewingii* bzw. dessen Vektor, *Amblyomma americanum*, bekannterweise nicht vorkommen und daher eine Infektion mit *A. phagozytophilum* vermutet wurde (Tab. 5 und 6). Hinsichtlich der Untersuchungen auf Ko-Infektionen bestehen zwischen den einzelnen Studien und Fallberichten große Unterschiede (Tab. 7 und 8). Ursachen hierfür sind zum einen das Vorkommen bzw. Nicht-Vorkommen bestimmter Infektionen in den entsprechenden Regionen und zum anderen der zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vorliegende Kenntnisstand über Infektionskrankheiten.

Tabelle 5: Übersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* verschiedener klinischer Studien
(1: EGENVALL et al., 1997; 2: GOLDMAN et al., 1998; 3: GREIG et al., 1996; 4: POITOUT et al., 2005; 5: TARELLO, 2003; 6: SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007; n.d. = nicht durchgeführt; k.A. = keine Angabe)

Befund	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Morulae	14/14	6/6	17/17	8/8	35/35	k.A.
Serologie	pos. (9/13)	pos. (4/5)	pos. (9/12)	pos. (5/8)	n.d.	pos. (39/51)
PCR	n.d.	pos. (3/5)	pos. (8/8)	7/7	n.d.	51/51
Anzucht	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Tabelle 6: Übersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* verschiedener Fallberichte
(1: ARSENAULT und MESSICK, 2005; 2: BEXFIELD et al., 2005; 3: KIRTZ et al., 2005; 4: LESTER et al., 2005; 5: MADEWELL und GRIBBLE, 1982; 6: MARETZKI et al., 1994; 7: PUSTERLA et al., 1997; n.d. = nicht durchgeführt)

Befund	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Morulae	1	n.d.	1	1	2	1	pos. (2/2)
Serologie	neg./pos. (2 Labore)	n.d.	pos.	n.d.	n.d.	pos.	n.d.
PCR	pos./pos. (2 Labore)	1	pos.	pos.	n.d.	n.d.	pos. (2/2)
Anzucht	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	neg.	n.d.

Tabelle 7: Ergebnisse der Untersuchungen auf Ko-Infektionen bei Hunden mit CGA (klinische Studien)
(1: EGENVALL et al., 1997; 2: GOLDMAN et al., 1998; 3: GREIG et al., 1996; 4: POITOUT et al., 2005; 5: TARELLO, 2003; 6: SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007; n.d. = nicht durchgeführt)

Befund	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
IFAT *B. canis*	n.d.	pos. (1/5)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *E. canis*	neg. (5/14); Verlaufs-untersuchung: pos. (12/14) → Kreuz-reaktion	pos. (3/6)	neg. (14/14)	neg. (5/5)	pos. (2/35)	neg. (51)
IFAT *E. chaffe-ensis*	n.d.	pos. (4/5)	neg. (2/17)	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *B. burg-dorferi*	neg. (13/14)	pos. (3/5)	pos. (4/11)	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *E. risticii*	neg. (5/14)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *R. rickettsii*	neg. (5/14)	pos. (4/6)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *B. vinsonii*	n.d.	pos. (1/5)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *R. prowa-zekii*	n.d.	neg (6/6)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *R. canada*	n.d.	neg (6/6)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *R. belii*	n.d.	neg (6/6)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
***L. infantum* (Aus-strich)**	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	pos. (1/35)	n.d.
***H. canis* (Aus-strich)**	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	pos. (1/35)	n.d.
***B. canis* (Aus-strich)**	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	pos. (19/35)	n.d.

Tabelle 8: Ergebnisse der Untersuchungen auf Ko-Infektionen bei Hunden mit CGA (Fallberichte)
(1: ARSENAULT und MESSICK, 2005; 2: BEXFIELD et al., 2005; 3: KIRTZ et al., 2005; 4: LESTER et al., 2005; 5: MADEWELL und GRIBBLE, 1982; 6: MARETZKI et al., 1994; 7: PUSTERLA et al., 1997; n.d. = nicht durchgeführt)

Befund	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
IFAT *B. canis*	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *E. canis*	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	neg.	pos.	n.d.
IFAT *E. platys*	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *E. chaffeensis*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *B. burg-dorferi*	≥ 1:60 (kurz zuvor geimpft)	n.d.	pos.	n.d.	n.d.	neg.	n.d.
IFAT *RMSF*	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCR *B. burg-dorferi*	n.d.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IFAT *R. rickettsii*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	pos.	n.d.
PCR *E. ewingii*	n.d.	n.d.	n.d.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.
PCR *A. platys*	n.d.	n.d.	n.d.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.
PCR *E. chaffeensis*	n.d.	n.d.	n.d.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.
PCR *E. canis*	n.d.	n.d.	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.

Die bisher beschriebenen klinischen Befunde stammen fast alle ausschließlich aus der akuten bakteriämischen Phase der Erkrankung. Chronische Infektionen mit *A. phagozytophilum* wurden bei natürlich infizierten Hunden bisher nicht dokumentiert. Mindestens ein Hund war jedoch bereits 30 Tage krank, bis die Diagnose CGA gestellt wurde (EGENVALL et al., 1997). Vorausgesetzt, dass der Hund ein unnatürlicher Wirt für diese Infektion ist, würde eine selbst-limitierende Infektion erwartet werden (GREIG und ARMSTRONG, 2006).
Eine Geschlechtsprädisposition für *A. phagozytophilum*-Infektionen beim Hund wurde bisher nicht nachgewiesen (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Bisher wurden zu wenige Fälle der CGA identifiziert, um Aussagen über eine mögliche Rasseprädisposition treffen zu können. Bei einer Untersuchung von 178 Hunden aus Minnesota und Wisconsin, bei denen Morulae in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen wurden, zeigte sich folgende Rasseverteilung: Labrador Retriever 28%, Golden Retriever 18%, Mischlinge 14%, Cocker Spaniel 9%, Samojede 6%, Shih Tzu 4%, Brittany Spaniel 3%, Chow-Chow 3%, Springer Spaniel 3%, Dobermann Pinscher 1%, Viszla 1%, Zwergspitz 1%, Boxer 1%, 11 andere Rassen 0,6% (GREIG et al., 1996; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Das Rasseverhältnis stellte sich bei 14 Hunden mit CGA aus Schweden folgendermaßen dar: Golden Retriever (6), Samojede (2), andere Rassen (6) (EGENVALL et al., 1997). Golden und Labrador Retriever sind sehr populäre Hunde, und die hohe Zahl infizierter Hunde dieser Rassen spiegelt wahrscheinlich lediglich ihre Popularität wieder (GREIG und ARMSTRONG, 2006). In einer Prävalenzstudie aus Österreich waren

Berner Sennenhunde überrepräsentiert. Sie scheinen anfälliger für eine Infektion mit *A. phagozytophilum* als andere Rassen zu sein (KIRTZ et al., 2007).
Das Alter der Hunde kann ein Faktor für die Anfälligkeit von Infektionen mit *A. phagozytophilum* darstellen. 37% der Hunde aus Minnesota und Wisconsin mit nachgewiesenen Morulae in neutrophilen Granulozyten waren zwischen 8 und 10 Jahre alt, 56% der Hunde waren mindestens 8 Jahre alt (GREIG et al., 1996; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Ein Drittel der an CGA erkrankten Hunde aus Schweden waren über 9 Jahre alt (EGENVALL et al., 1997). Nur 3% der Hunde aus Minnesota und Wisconsin und kein Hund aus der schwedischen Studie waren unter einem Jahr alt (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Auch beim Menschen scheint das Alter eine Rolle zu spielen, so erkranken Menschen v. a. zwischen ihrem 50. und 60. Lebensjahr, Kinder dagegen selten (BAKKEN et al., 1994; BAKKEN et al., 1996; BELONGIA et al., 2001). Bevor Rückschlüsse über eine altersabhängige Empfindlichkeit gezogen werden können, müssen die bezüglich des Alters bisher zur Verfügung stehenden Daten demografisch mit den Daten der gesamten Hundepopulation verglichen werden (GREIG und ARMSTRONG, 2006).
Die Mehrzahl der Hunde mit CGA hatte unspezifische Symptome (Tab. 9 und 10). Fieber (≥ 39,2°C), Lethargie und Anorexie waren die häufigsten Befunde, die bei über 75% der Hunde gesehen wurden (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Muskelschmerz oder Unwohlsein trat bei mehr als der Hälfte der Hunde auf und war charakterisiert durch Bewegungsunlust, Steifheit, Schwäche, Schmerzhaftigkeit und Lahmheit. Weniger als 10% der Hunde zeigten offensichtlichen Gelenkschmerz (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Eine neutrophile Synovitis wurde bei einem der Hunde aus Minnesota zum Zeitpunkt des Auftretens von Morulae in neutrophilen Granulozyten des peripheren Blutes nachgewiesen; dieser Hund war seropositiv für *Ehrlichia (E.). equi* und *Borrelia (B.) burgdorferi*, war aber seronegativ für *E. canis*. Es erfolgte keine Kontrolluntersuchung (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Hunde mit einer *A. phagozytophilum*-Infektion eine inflammatorische Arthritis entwickeln können (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Eine geringe Zahl der Hunde hatte Vomitus und/oder Diarrhoe oder respiratorische Symptome wie Husten oder eine angestrengte Atmung (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Hunde können auch eine Lymphadenomegalie, Splenomegalie, Hepatomegalie und zentralnervöse Symptome, wie Anfälle und Ataxien, aufweisen (MARETZKI et al., 1994; GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006; SCHAARSCHMIDT-KIENER et al., 2008). Bei drei Hunden aus Deutschland fielen fast ausschließlich neurologische Symptome auf. Ein Hund zeigte Ataxie, Hinterhandschwäche, epileptische Anfälle, Kopfschiefhaltung und Kreislaufen. Bei dem zweiten Hund wurden Zittern, Unruhe und klonische Anfälle beobachtet. Der dritte Hund hatte seit 1,5 Jahren Anfälle, weiterhin fielen Zittern, Verhaltensauffälligkeiten, Angstattacken und Wesensveränderungen auf. Die hämatologische und klinisch-chemische Untersuchung war mit Ausnahme einer Leukozytose bei einem Hund bei allen Hunden unauffällig. Die *A. phagozytophilum* PCR war bei allen Hunden positiv. Ko-Infektionen mit *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, dem Frühsommer-Meningoencephalitis- (FSME) Virus und *Borrelia burgdorferi* wurden ausgeschlossen. Alle Hunde waren innerhalb einer Woche nach begonnener Antibiose mit Doxyzyklin symptomfrei (SCHAARSCHMIDT-KIENER et al., 2008). Bei einem Hund wurden Morulae in neutrophilen Granulozyten im Liquor cerebrospinalis nachgewiesen. Dieser Hund war jedoch koinifiziert mit *E. canis* und *Rickettsia rickettsii*. Da keine weiteren molekularbiologischen Untersuchungen erfolgten, ist nicht ausgeschlossen, dass es sich bei den Morulae um *E. ewingii* und nicht um *A.*

phagozytophilum handelte. Selten wurde von Blutungen berichtet (EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998). Über das gleichzeitige Auftreten von CGA mit malignen Lymphomen, Phosphofruktokinasedefizienz, systemischem Lupus erythematodes, Kardiomyopathie und Epilepsie wurde berichtet (GREIG et al., 1996; PUSTERLA et al., 1997).

Hunde scheinen für Reinfektionen mit *A. phagozytophilum* empfänglich zu sein. Bei einzelnen Hunden wurde die Diagnose *A. phagozytophilum*-Infektion zweimal gestellt. Bei diesen lag ein fünfmonatiges krankheitsfreies Intervall zwischen den dokumentierten Infektionen (EGENVALL et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Serumantikörperspiegel nahmen bei behandelten Tieren innerhalb von 7 bis 8 Monaten nach Therapie ab, sodass diese Hunde seronegativ wurden bzw. niedrige Antikörpertiter aufwiesen, was sie für eine Reinfektion empfänglich machen könnte (EGENVALL et al., 1997). Derzeit sind noch keine Studien veröffentlicht worden, in denen Serumantikörpertiter über längere Zeit kontrolliert wurden.

Tabelle 9: Übersicht über klinische Symptome und radiologische Befunde von Hunden mit caniner granulozytärer Anaplasmose (klinische Studien)
(1: EGENVALL et al., 1997; 2: GOLDMAN et al., 1998; 3: GREIG et al., 1996; 4: POITOUT et al., 2005; 5: TARELLO, 2003; 6: SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007; k.A. = keine Angabe. Die kursiv geschriebene Zahl gibt die Anzahl der Hunde ohne Ko-Infektionen an)

Symptome	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Fieber	14/14 1 Hund nach 3 Wochen	4/6	15/17	7/8	9/35 *4*	22/51
Lethargie	k.A.	3/6	15/17	7/8	16/35 *6*	24/51
Mattigkeit	13/14	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Anorexie	k.A.	3/6	k.A.	5/8	24/35 *13*	17/51
Schwäche	k.A.	3/6	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Bewegungs-unlust	14/14	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Lahmheit	k.A.	2/6	1/17	5/8	7/35 *4*	k.A.
Gelenkbie-geschmerz	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	4/35 *1*	21/51
Gelenk-erguss	k.A.	2/6	k.A.	0/8	k.A.	k.A.
Ataxie	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	6/35 *3*	k.A.
ZNS-Symptome	k.A.	k.A.	2/17	k.A.	k.A.	25/51
Blutungen	1/14	1/6	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Blasse SH	k.A.	3/6	k.A.	1/8	5/35 *1*	k.A.
Vomitus	k.A.	3/6	k.A.	k.A.	k.A.	11/51
Diarrhoe	k.A.	3/6	k.A.	k.A.	3/35 *2*	k.A.
Ikterus	k.A.	1/6	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Husten	k.A.	k.A.	k.A.	3/8	k.A.	k.A.
Konjunkti-vitis	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	11/35 *5*	k.A.
Lymph-adeno-pathie	k.A.	k.A.	2/17	0/8	7/35 *3*	19/51
Radiolo-gische Befunde	k.A.	Hepato-megalie (2/6), Splenomega-lie (1/6)	Splenomegalie (2/17), Hepatomega-lie (1/17)	k.A.	k.A.	Spleno-megalie (14/51)

Tabelle 10: Übersicht über klinische Symptome und radiologische Befunde bei Hunden mit caniner granulozytärer Anaplasmose (Fallberichte)
(1: ARSENAULT und MESSICK, 2005; 2: BEXFIELD et al., 2005; 3: KIRTZ et al., 2005; 4: LESTER et al., 2005; 5: MADEWELL und GRIBBLE, 1982; 6: MARETZKI et al., 1994; 7: PUSTERLA et al., 1997; k.A. = keine Angabe)

Symptome	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Fieber	1	1	1	1	k.A.	k.A.	1
Lethargie	1 (30 Tage vor Überweisung)	1	k.A.	1	k.A.	1	k.A.
Mattigkeit	1	1	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Inappetenz	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Anorexie	1	k.A.	1	1	k.A.	1	k.A.
Schwäche	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Bewegungs-unlust	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Lahmheit	1 (30 Tage vor Überweisung)	k.A.	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.
Gelenkbiege-schmerz	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	1	k.A.
Gelenkerguss	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Blutungen	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	1	k.A.
Blasse SH	k.A.	1	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Diarrhoe	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1
Vomitus	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Weicher Kot	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Tachykardie	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Tachypnoe	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Gliedmaßen-ödeme	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Uveitis anterior	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Lymphadeno-pathie	1 (mild)	1	k.A.	k.A.	1 (Hund hatte Lym-phom)	k.A.	k.A.
Radiologische Befunde	Leber diffus hypoechoisch, Milz heterogen mit hypo-echoischem Knoten	Hepato-megalie	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.

3.3. Laborbefunde

3.3.1. Experimentelle Infektionen

Hunde, die experimentell mit einem schwedischen *A. phagozytophilum*-Stamm infiziert wurden, entwickelten in der akuten Phase der Erkrankung eine Thrombozytopenie mit einem Anstieg des mittleren Thrombozytenvolumens. Innerhalb einer Woche lag die Thrombozytenzahl wieder im Referenzbereich. Außerdem wurde eine Lymphopenie mit einer Dauer von 1 bis 3 Tagen, der eine Lymphozytose folgte, festgestellt. Ein weiterer Befund war eine leichte nichtregenerative normochrome normozytäre Anämie (EGENVALL et al., 1998; EGENVALL et al., 2000). Während der bakteriämischen Phase fiel bei den Hunden eine Eosinopenie auf (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Verringerte Eisenkonzentrationen und eine Abnahme der totalen Eisenbindungskapazität traten in der bakteriämischen Phase auf, erreichten aber eine Woche nach dem Verschwinden der Morulae wieder Normalwerte (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Eine Hypoalbuminämie und eine Hyperfibrinogenämie war bei Hunden mit Fieber vorhanden, eine Woche nach dem Verschwinden des Fiebers lagen die Werte jedoch wieder im Referenzbereich (EGENVALL et al., 1998).

3.3.2. Natürliche Infektionen

Fast alle Berichte über Laborwertveränderungen stammten aus der bakteriämischen Phase, die experimentellen Infektionen zufolge zwischen 1 und 9 Tage dauern kann (EGENVALL et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1998; EGENVALL et al., 2000). Eine Übersicht über die abnormen hämatologischen und klinisch-chemischen Laborparameter geben die Tabellen 11 bis 14. Die Zahl der neutrophilen Granulozyten war fast immer im Referenzbereich (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Bei einem Hund wurden Döhle-Körper und eine zytoplasmatische Basophilie in neutrophilen Granulozyten festgestellt (ARSENAULT und MESSICK, 2005). Bei einem anderen Hund mit Anämie fielen Polychromasie, Anisozytose, Autoagglutination und Sphärozyten auf (BEXFIELD et al., 2005). Es wurde auch eine Proteinurie beschrieben (n = 8), doch wurden lediglich 19 von 37 Hunde hierauf untersucht (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998). Weitere abnorme Befunde, die beim Harnstatus festgestellt wurden, waren Hämoglobinurie (n = 3), Hämaturie (n = 2), Pyurie (n = 2) und der Nachweis von Bakterien (n = 2) (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998). Bei zwei Hunden wurden Morulae in 1-7% der Neutrophilen in der Synovia identifiziert, bei einem Hund fiel eine Pleozytose auf (GOLDMAN et al., 1998; BEXFIELD et al., 2005). Bisher konnten bei keinem Hund antinukleäre Antikörper nachgewiesen werden (EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998). Bei einem Hund mit Halsbiegeschmerz, aber ohne neurologische und ophthalmologische Defizite wurden bei der Liquoruntersuchung Morulae nachgewiesen. Zusätzlich lag eine Pleozytose (32 kernhaltige Zellen/µl) vor (MARETZKI et al., 1994). Bei wenigen Hunden waren der Thrombozytenantikörper- (2/5) und/oder Coombs-Test positiv (2/5), doch wurden bisher nur wenige Hunde hierauf untersucht. Bei einem Hund konnte aufgrund einer starken auch nach dem Waschen der Erythrozyten bestehen bleibenden Autoagglutination kein Coombs-Test durchgeführt werden (MARETZKI et al., 1994; GOLDMAN et al., 1998; BEXFIELD et al., 2005; LESTER et al., 2005). Bei einem Hund waren ein Monat vor Diagnosestellung CGA sowohl der Coombs- als auch der Thrombozytenantikörpertest positiv. Dieser Hund wurde daher mit Glukokortikoiden behandelt, doch wies der Hund weiterhin Abweichungen in der

Hämatologie auf: regenerative Anämie, Thrombozytopenie, Leukozytose (MADEWELL und GRIBBLE, 1982).

Tabelle 11: Übersicht über die abnormen Befunde der hämatologischen Untersuchung bei an caniner granulozytärer Anaplasmose erkrankten Hunden verschiedener klinischer Studien (1: EGENVALL et al., 1997; 2: GOLDMAN et al., 1998; 3: GREIG et al., 1996; 4: POITOUT et al., 2005; 5: SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007; k.A. = keine Angabe)

Befunde	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Leukopenie	1/14	0/6	3/15	5/8	33/51
Leukozytose	1/14	2/6	1/15	0/8	k.A.
Neutropenie	0/14	0/6	1/15	3/8	k.A.
Neutrophilie	k.A.	2/6	2/15	0/8	k.A.
Linksver-schiebung	k.A.	3/6	3/15	0/8	k.A.
Eosinopenie	3/14	4/6	k.A.	k.A.	k.A.
Lymphopenie	k.A.	3/6	10/15	8/8	k.A.
Lymphozytose	0/14	0/6	1/15	0/8	k.A.
Monozytose	0/14	1/6	0/15	0/8	k.A.
Anämie	k.A.	3/6	3/15	3/8	30/51
Verminderte Hämoglobin-Konzentration	3/11	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Thrombozytopenie	6/7	5/6	6/7	7/8	43/51

Tabelle 12: Übersicht über die abnormen Befunde der hämatologischen Untersuchung bei an caniner granulozytärer Anaplasmose erkrankten Hunden verschiedener Fallberichte (1: ARSENAULT et al., 2005; 2: BEXFIELD et al., 2005; 3: KIRTZ et al., 2005; 4: LESTER et al., 2005; 5: MADEWELL und GRIBBLE, 1982; 6: MARETZKI et al., 1994; 7: PUSTERLA et al., 1997; k.A. = keine Angabe)

Befunde	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Leukopenie	k.A.	0	0	k.A.	k.A.	k.A.	1/2
Leukozytose	k.A.	0	0	k.A.	1	k.A.	0
Neutrophilie	k.A.	0	1	k.A.	1	1	0/2
Lymphopenie	1	1	0	1	2	1	1/2
Linksver-schiebung	k.A.	k.A.	0	k.A.	k.A.	1	k.A.
Anämie	1	1*	0	k.A.	1	1	0/2
Thrombo-zytopenie	1	1	1	1	2	1	2/2
Monozytose	k.A.	1	k.A.	k.A.	2	2	0/2
Monozytopenie	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1

* = Blutausstrich: Polychromasie, Anisozytose, Autoagglutination und Sphärozyten

Tabelle 13: Übersicht über abnorme Befunde der klinisch-chemischen Untersuchung bei an caniner granulozytärer Anaplasmose erkrankten Hunden verschiedener klinischer Studien (1: EGENVALL et al., 1997; 2: GOLDMAN et al., 1998; 3: GREIG et al., 1996; 4: POITOUT et al., 2005; 5: TARELLO, 2003; 6: SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007; kursiv angegebene Zahl = Hunde ohne Ko-Infektionen, k.A: = keine Angabe)

Befund	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Hyperproteinämie	k.A.	k.A.	0/11	k.A.	16/16 *4*	41/51
Hypoproteinämie	k.A.	k.A.	2/11	k.A.	k.A.	k.A.
Hypoalbuminämie	k.A.	3/6	4/9	k.A.	k.A.	34/51
Hyperglobulinämie	k.A.	3/6	k.A.	k.A.	10/16 *6*	k.A.
Alkalische Phosphatase ↑	1/7	3/6	9/9	6/8	k.A.	34/51
Alanin-Amino-Transferase ↑	0/7	3/6	k.A.	k.A.	k.A.	14/51
Amylase ↑	k.A.	k.A.	4/8	k.A.	k.A.	k.A.
Lipase ↑	k.A.	k.A.	k.A.	2/7	k.A.	k.A.
Kreatinkinase ↑	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	5/12 *3*	k.A.
Hypophosphatämie	k.A.	k.A.	k.A.	5/8	k.A.	k.A.
PCO_2 ↓	k.A.	k.A.	k.A.	3/7	k.A.	k.A.
Thyroxin (T4) ↓	k.A.	k.A.	k.A.	2/7	k.A.	k.A.
Eisen↓	k.A	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	43/51

Tabelle 14: Übersicht über abnorme Befunde in der klinisch-chemischen Untersuchung bei an caniner granulozytärer Anaplasmose erkrankten Hunden verschiedener Fallberichte
(1: ARSENAULT et al., 2005; 2: BEXFIELD et al., 2005; 3: KIRTZ et al., 2005; 4: LESTER et al., 2005; 5: MADEWELL und GRIBBLE, 1982; 6: MARETZKI et al., 1994; 7: PUSTERLA et al., 1997; k.A: = keine Angabe)

Befund	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Hyperglobulinämie	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1	k.A.
Alkalische Phosphatase ↑	1	1	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.
Hyperbilirubinämie	k.A.	1	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Amylase ↑	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Lipase ↑	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Kreatinkinase ↑	k.A.	1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.

3.4. Pathologische Befunde

Bei allen sieben experimentell infizierten Hunden wurde eine gering- bis mittelgradige Splenomegalie festgestellt. Die Milz war bei diesen Tieren gestaut und hatte eine fleischige Konsistenz. Mikroskopisch wurde eine reaktive Hyperplasie mit vergrößerten aktivierten Lymphnoduli und einer erhöhten Anzahl von Makrophagen und Plasmazellen in der roten Pulpa diagnostiziert (EGENVALL et al., 1998). Die Leber wies vereinzelt eine hepatozelluläre Apoptose, wenige periportale oder peribiliäre lymphohistiozytäre Infiltrate, eine ggr. lobuläre Hepatitis und eine ggr. benigne sinusoidale Histiozytose auf. In vielen Geweben wurden wenige lymphohistiozytäre perivaskuläre Infiltrate gefunden. Lymphknoten bilden eine benigne Histiozytose mit einer Lymphopenie oder benignen leichten paracortikalen Hyperplasie aus. Das Knochenmark zeigte normale Zellularität oder Hyperzellularität und konnte eine leichte Plasmazytose und benigne Histiozytose aufweisen (HODZIC et al., 1998; LILLIEHÖÖK et al., 1998; FOLEY et al., 1999; LEPIDI et al., 2000; MARTIN et al., 2000; BORJESSON et al., 2001; HODZIC et al., 2001).

3.5. Saisonalität

A. phagozytophilum ruft eine jahreszeitlich und regional abhängige Erkrankung hervor, die von der Aktivität der übertragenden Vektoren abhängig ist. Im mittleren Westen und Nordosten der USA ist *I. scapularis* v. a. in den Zeiträumen früher Frühling bis früher Sommer und im Herbst aktiv. Diese saisonale Zeckenaktivität stimmt mit der Inzidenz caniner und humaner *A. phagozytophilum*-Infektionen überein, die in Minnesota und Wisconsin diagnostiziert wurden (BAKKEN et al., 1994; BAKKEN et al., 1996; GREIG et al., 1996). 80% der caninen Infektionen in Wisconsin und Minnesota wurden in Mai, Juni, Oktober und November diagnostiziert (GREIG et al., 1996; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Im Gegensatz dazu wurde die Diagnose CGA bei allen Hunden einer schwedischen Studie zwischen Mittsommer und Herbst gestellt (EGENVALL et al., 1997). Infektionen treten selten bis gar nicht im Mittwinter, Mittsommer und frühen Herbst in Minnesota und Wisconsin auf. Das Wetter beeinflusst die Zeckenaktivität, d.h., dass auch in untypischen Monaten (im frühen Frühling bzw. warmen Herbst oder Winter) Krankheitsfälle auftreten können (GREIG und ARMSTRONG, 2006).

3.6. Diagnose

Die Kriterien für die Diagnosestellung canine granulozytäre Anaplasmose wurden aus der Humanmedizin übernommen (BAKKEN und DUMLER, 2006):

- vierfacher oder höherer Anstieg oder Abfall des Antikörperspiegels gegen *A. phagozytophilum* mittels Bestimmung des IFAT aus zwei Serumproben, die im Abstand von vier Wochen gewonnen werden **oder**
- positives PCR-Ergebnis **oder**
- Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut bei gleichzeitigem positiven PCR- oder IFAT-Ergebnis **oder**
- Kultivierung von *A. phagozytophilum* aus Patientenblut

3.6.1. Direkte Nachweisverfahren

3.6.1.1. Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten

Fast alle Fälle natürlich infizierter und an CGA erkrankter Hunde wurden durch den Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut mittels Lichtmikroskopie diagnostiziert. Es ist jedoch zu beachten, dass die Einschlusskörperchen von *A. phagozytophilum* nicht von den durch Infektionen mit *Ehrlichia* (*E.*) *ewingii* zirkulierenden Einschlusskörperchen unterschieden werden können, die ebenfalls in neutrophilen Granulozyten zu finden sind (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Zum Zeitpunkt der Diagnose wurden in 7 bis 37% der neutrophilen Granulozyten Morulae nachgewiesen (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; PUSTERLA et al., 1997). Diese Ergebnisse stimmten mit denen experimenteller Studien überein: Morulae waren in 3 bis 34% der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten nachweisbar (EGENVALL et al., 1998; EGENVALL et al., 2000). Sie konnten für 4 bis 9 Tage in neutrophilen Granulozyten gefunden werden. Bei einem Hund konnten Morulae in neutrophilen Granulozyten aus dem Liquor cerebrospinalis identifiziert werden (MARETZKI et al., 1994), bei zwei Hunden wurden Morulae in 1 bis 7% der neutrophilen Granulozyten in der Synovia nachgewiesen (GOLDMAN et al., 1998).

3.6.1.2. PCR

In experimentell infizierten Hunden war die PCR (Untersuchungsmaterial Vollblut) über einen Zeitraum von 6 bis 8 Tagen vor bis 3 Tage nach dem Auftreten von Morulae positiv (EGENVALL et al., 1998; EGENVALL et al., 2000). Kreuzreaktionen zwischen *A. platys* und *A. phagozytophilum* sind möglich, wenn folgende Gene sequenziert werden: rrs und groESL. Dagegen wurden keine Kreuzreaktionen bei der Sequenzierung des Gens msp2 festgestellt (SANTOS et al., 2009).

3.6.2. Serologische Untersuchung

Mit Hilfe experimenteller Studien bei Pferden und Hunden konnte ermittelt werden, dass eine Serokonversion 2 bis 5 Tage nach dem ersten Auftreten von Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut erfolgt (EGENVALL et al., 1998; PUSTERLA et al., 1999).

Langzeitstudien über den Antikörpertiterverlauf fehlen bislang. Antikörpertiter gegen *A. phagozytophilum* können 7 bis 8 Monate nach einer akuten experimentellen Infektion so niedrig sein, dass die serologische Untersuchung negativ ist. Der Antikörpertiter kann aber auch für mindestens 7 bis 8 Monate nachweisbar sein, die Titerhöhe ist in diesen Fällen niedrig (EGENVALL et al., 1997; EGENVALL et al., 1998). In einer experimentellen Studie (n = 3 Hunde) wurde gezeigt, dass Antikörpertiter über den gesamten Untersuchungszeitraum (120 - 200 Tage) hoch blieben (EGENVALL et al., 2000). Bei Einsatz des IFATs ist ein vierfacher Titeranstieg innerhalb von vier Wochen erforderlich, um die Diagnose akute CGA zu stellen, da 40% der Hunde, bei denen Morulae nachgewiesen wurden, zu diesem Zeitpunkt seronegativ waren. Außerdem können Hunde aufgrund eines früheren Erregerkontaktes seropositiv für *A. phagozytophilum* sein (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; BJÖERSDORFF, 2005; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Letzteres ist insbesondere bei der Interpretation eines einzigen Antikörpertiters bei kranken oder klinisch gesunden Hunden zu beachten, bei denen keine Morulae in neutrophilen Granulozyten gefunden werden können (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Akutes und konvaleszentes Antiserum von natürlich mit *A. phagozytophilum* infizierten Hunden aus Minnesota und Wisconsin zeigte keine Kreuzreaktivität zwischen *A. phagozytophilum* und *E. canis* (GREIG et al., 1996; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Weder via IFAT, noch via Westernimmunoblot wurde eine Kreuzreaktivität zwischen *E. canis*-positivem Antiserum und *A. phagozytophilum*-positivem Antiserum von Hunden aus New York und Connecticut nachgewiesen (MAGNARELLI et al., 1997). Im Gegensatz dazu waren alle in der akuten Phase der Erkrankung auf *E. canis* getesteten Hunde einer schwedischen Studie (n = 5) seronegativ für *E. canis*, bei einer Wiederholungsuntersuchung allerdings die Hälfte der untersuchten Hunde (6/12) seropositiv (EGENVALL et al., 1997). Zwei Hunde aus North Carolina und Virginia, bei denen eine Infektion mit *E. ewingii* mithilfe der PCR diagnostiziert wurde, wurden via IFAT positiv getestet für *A. phagozytophilum* (GOLDMAN et al., 1998).

3.7. Therapie

Untersuchungen über die Empfindlichkeit von *A. phagozytophilum* gegenüber verschiedenen Antibiotika zeigten, dass Doxyzyklin, Rifampicin und Levofloxacin am effektivsten sind (MAURIN et al., 2003). Tetrazykline sind für die Behandlung von *A. phagozytophilum*-Infektionen empfohlen, bei Welpen unter einem Jahr sollte Chloramphenicol eingesetzt werden, um eine Gelbverfärbung der Zähne zu vermeiden. Angaben über die Dauer der Anwendung sind sehr unterschiedlich. Nach einer Empfehlung sollten Doxyzyklin (5-10mg/kg 1 x tgl. oder 2 x tgl. p.o. für 10 Tage) oder Tetrazyklin (22mg/kg 3 x tgl. p.o. über 14 bis 21 Tage) gegeben werden (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Gemäß dem ACVIM Consensus Statement wird eine Gabe von Doxyzyklin über 28 Tage in einer Dosierung von 10mg/kg 1 x tgl. p.o. empfohlen. In dieser Richtlinie wurde *A. phagozytophilum* taxonomisch jedoch noch in das Genus *Ehrlichia* eingeordnet und eine Unterscheidung in der Behandlungsdauer zwischen Infektionen mit *E. canis*, *E. phagozytophilum*, *E. equi* und HGE agent fand nicht statt (NEER et al., 2002). Die meisten Hunde sprechen schnell auf eine antibiotische Therapie an und sind häufig 24 bis 48 Stunden nach Therapiebeginn klinisch unauffällig. In Einzelfällen kann es jedoch Monate bis Jahre bis zu einer vollständigen Genesung dauern (GREIG und ARMSTRONG, 2006). So berichtete der Besitzer eines schwedischen Hundes, dass der Hund für zwei Jahre Gelenkbiegeschmerz aufwies (EGENVALL et al., 1997). In einer experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass trotz Doxyzyklintherapie 2 Hunde nach einer oralen Applikation von Prednisolon über 2 Wochen erneut PCR-positiv waren, was für eine persistierende Infektion spricht (ALLEMAN et al.,

2006). Falls der Therapieerfolg mit Tetrazyklinen ausbleibt, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass der Hund eine Begleiterkrankung aufweist (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Eine Übersicht über die Therapie bisher veröffentlichter klinischer Studien ist der Tabelle 15 zu entnehmen. Zusätzlich zur antibiotischen Therapie wurden die Hunde abhängig von den klinischen Symptomen behandelt. Drei anämische Hunde wurden mit Vollblut transfundiert (GOLDMAN et al., 1998). Vier Hunde wurden vor der Überweisung mit Glukokortikoiden behandelt, da sie an chronischen Anämien oder chronischen Lahmheiten litten. Bei drei Hunden wurde diese Therapie fortgesetzt (GOLDMAN et al., 1998). Zwei Hunde wurden aufgrund einer Polyarthritis mit Phenylbutazon oder Acetylsalicylsäure behandelt (GOLDMAN et al., 1998). Bei drei Hunden wurde eine Borreliose vermutet, sie erhielten daher oral Amoxicillin oder Trimetoprim-Sulfonamid (GOLDMAN et al., 1998). Hunde, bei denen gleichzeitig eine Babesiose oder Hepatozoonose diagnostiziert wurde, wurden zusätzlich mit Imidocarbdiproprionat (Carbesia®, 1ml/25kg, zweimal im Abstand von einer Woche) therapiert (TARELLO, 2003). Die in den Fallberichten beschriebene Therapie entspricht weitgehend der in den klinischen Studien aufgeführten Therapie. Die Mehrzahl der Hunde wurde mit Doxyzyklin behandelt (PUSTERLA et al., 1997; ARSENAULT und MESSICK, 2005; BEXFIELD et al., 2005; KIRTZ et al., 2005), selten wurde Tetrazyklin eingesetzt (MADEWELL und GRIBBLE, 1982; LESTER et al., 2005). Ein Hund, der zusätzlich zur CGA eine Pankreatitis hatte, bekam nicht nur Doxyzyklin sondern auch Amoxicillin (ARSENAULT und MESSICK, 2005). Des Weiteren wurde dieser Hund während des stationären Aufenthaltes mit physiologischer Kochsalzlösung infundiert und mit frisch gefrorenem Plasma transfundiert, um α-Makroglobuline zuzuführen und einer DIC vorzubeugen (ARSENAULT und MESSICK, 2005). Ein Hund mit immunbedingter Anämie und Thrombozytopenie wurde zusätzlich zu Doxyzyklin mit Infusionen, Ranitidin, und Glukokortikoiden (einmalig Dexamethason, anschließend Prednisolon) therapiert (BEXFIELD et al., 2005). Ein Hund mit CGA und Meningitis, bei dem Morulae in neutrophilen Granulozyten im Liquor cerebrospinalis nachgewiesen wurden, erhielt zunächst Tetrazyklin, doch wurde dies bereits nach einem Tag abgesetzt und die Therapie auf Chloramphenicol umgestellt. Die Chloramphenicoltherapie wurde über insgesamt 7 Tage fortgesetzt, anschließend erfolgte eine Umstellung des Antibiotikums auf Doxyzyklin, da der Hund wieder Halsbiegeschmerz aufwies. Doxyzyklin wurde über 4 Wochen gegeben, zusätzlich erhielt der Hund Prednisolon über 4 Wochen (MARETZKI et al., 1994).

Tabelle 15: Übersicht über die Therapie bei Hunden mit caniner granulozytärer Anaplasmose verschiedener klinischer Studien
(1: EGENVALL et al., 1997; 2: GOLDMAN et al., 1998; 3: GREIG et al., 1996; 4: POITOUT et al., 2005; 5: TARELLO, 2003; k.A. = keine Angabe; n.a. = nicht appliziert; NSAIDs = nonsteroidal anti-inflammatory drugs)

Therapie	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Doxyzyklin	14/14 (über 10 bis 28 Tage)	6/6*	16/17	6/8	35/35
Tetrazyklin	n.a.	6/6*	n.a.	2/8	---
Infusion	k.A.	k.A.	k.A.	2/8	k.A.
Vollbluttrans-fusion	k.A.	3/6	k.A.	k.A.	k.A.
Glukokor-tikoide	k.A.	3/6	k.A.	k.A.	k.A.
NSAIDs	k.A.	2/6	k.A.	k.A.	k.A.
Pyrantel-pamoat	k.A.	k.A.	n.A.	1/8	k.A.
Levothyroxin	k.A.	k.A.	k.A.	1/8	k.A.

* Die Hunde wurden entweder mit Doxyzyklin oder Tetrazyklin behandelt.

3.8. Prävention

Bisher ist keine Vakzine erhältlich, die vor Infektionen mit *A. phagozytophilum* schützt. Die Prävention beruht daher auf Vermeidung der Zeckenexposition von Frühling bis Herbst, einem prophylaktischen Einsatz von Akariziden und dem prophylaktischen Einsatz von Doxyzyklin oder Tetrazyklin bei Aufenthalt in für Zecken endemischen Gebieten (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Bisher gibt es kaum Informationen, inwiefern Akarizide Hunde vor Infektionen mit *A. phagozytophilum* schützen. In einer experimentellen Studie wurden 8 Beagles mit einem Kombinationspräparat aus Imidacloprid und Permethrin behandelt. Die Applikation des Präparats erfolgte 7 Tage vor einer Zeckenexposition (natürlich mit *A. phagozytophilum* infizierte *I. scapularis*). Eine Kontrollgruppe bestand aus 8 ungeschützten Beagles. Sieben von acht ungeschützten Hunden serokonvertierten. Im Gegensatz dazu serokonvertierte kein Hund der Imidacloprid-Permethrin-Gruppe (BLAGBURN et al., 2004). Andere Studien untersuchten die repellierenden und akariziden Eigenschaften Permethrin-haltiger Präparate bevor die Zecken sich fest anheften und mit ihrer Blutmahlzeit beginnen. In allen bisher durchgeführten Studien konnte nachgewiesen werden, dass die Präparate geeignet waren, Hunde effektiv zu schützen. Dies ist wichtig für die Prävention der Übertragung von *A. phagozytophilum* (ENDRIS et al., 2000; YOUNG et al., 2001; HELLMANN et al., 2003; YOUNG et al., 2003). In einer anderen Studie konnten Kombinationspräparate aus Imidacloprid und Permethrin (K9 Advantix®, Bayer) sowie Fipronil und (S)-Methopren (Frontline Plus®, Merial) Hunde bis zu 25 Tage nach der initialen Behandlung vor einer Infektion mit *A. phagozytophilum* über infizierte Zecken schützen (HOROWITZ et al., 1998).

4. Bedeutung für den Menschen

Die humane granulozytäre Anaplasmose (HGA) wurde erstmals 1990 beschrieben (CHEN et al., 1994). Seitdem nahm die Zahl der diagnostizierten Fälle in den USA stark zu, Infektionen wurden aber auch in Europa nachgewiesen. Im Jahr 2007 wurden 834 Fälle der HGA in den USA gemeldet (Centers for Diesease Control and Prevention, Atlanta, USA). Eine hohe Seroprävalenz, die mittlerweile weltweit festgestellt wurde, lässt vermuten, dass Infektionen mit *A. phagozytophilum* beim Menschen weit verbreitet sind (DUMLER et al., 2005). Die Bedeutung der HGA nimmt zu, sie wird zunehmend als die Ursache einer mit Fieber einhergehenden Erkrankung, die nach Zeckenbissen auftritt, angesehen. Berichte über die HGA stammen aus vielen Teilen Europas und den USA, speziell aus dem oberen mittleren Westen, Neuengland, Teilen der mittelatlantischen Staaten und Nordkalifornien. Letztlich tritt sie in allen Gebieten auf, in denen Menschen von Zecken der Gattung *Ixodes* gebissen werden (AGUERO-ROSENFELD et al., 1996; BAKKEN et al., 1996; WALKER und DUMLER, 1996).
Infektionen beim Menschen sind u.a. in Europa, z.B. in Deutschland (FINGERLE et al., 1997) und Slowenien (PETROVEC et al., 1997) sowie in den USA in Connecticut (CHAPUT et al., 2002), Kalifornien (FOLEY et al., 1999), Massachusetts (TELFORD et al., 1995), New York (AGUERO-ROSENFELD et al., 1996) und Rhode Island (YEH et al., 1997) beschrieben worden. Die klinische Erkrankung ist nicht von Infektionskrankheiten durch *E. chaffeensis* und *E. ewingii* und vielen anderen systemischen Krankheiten zu unterscheiden. Das Krankheitsbild ist sehr variabel, die meisten Patienten leiden an Fieber, das mit Kopfschmerzen, Myalgie und Unwohlsein einhergeht. Die häufigsten Befunde (n = 685 Patienten) waren Unwohlsein (94%), Fieber (92%), Myalgie (77%) und Kopfschmerzen (75%). Seltener traten gastrointestinale (Nausea [38%], Vomitus [26%], Diarrhoe [16%]) oder respiratorische (19%) (Husten, Lungeninfiltrationen/Acute respiratory distress syndrome [ARDS]) Symptome auf; die Leber oder das zentrale Nervensystem waren ebenfalls nur selten betroffen. Bei 6% der Patienten wurde ein Hautausschlag beobachtet. Häufige Befunde in der Laboruntersuchung (n = 329 Patienten) waren Thrombozytopenie (71%), Leukopenie (49%), Anämie (37%) und ein Anstieg der ALT und der AST (71%) (DUMLER et al., 2005).
Die Schwere der Symptome kann von leicht bis schwer variieren, das Fieber kann selbstlimitierend sein. Todesfälle wurden allerdings ebenfalls beschrieben. Die Hälfte der symptomatischen Patienten musste stationär behandelt werden, was mit einem höheren Alter der betroffenen Personen, einer höheren Zahl neutrophiler Granulozyten, einer geringeren Zahl an Lymphozyten, einer Anämie, dem Vorhandensein von Morulae in Leukozyten oder einer Immunsuppression assoziiert war (BAKKEN et al., 1996). Ungefähr 5 bis 7% der Patienten benötigten intensive Pflege (BAKKEN et al., 1994; HARDALO et al., 1995; BAKKEN et al., 1996; WALKER und DUMLER, 1996; LEPIDI et al., 2000). Zu schweren Komplikationen zählten „septic- oder toxic shock-like syndromes", Koagulopathien, atypische Pneumonitiden, ARDS, Myokarditis, akutes Nierenversagen, Hämorrhagien, Dysfunktion des Plexus brachialis, demyelinisierte Polyneuropathien, Paralysen der Gehirnnerven und opportunistische Infektionen. Mindestens 3 der beschriebenen Todesfälle resultierten aus opportunistischen Virus- oder Pilzinfektionen oder Hämorrhagien, die unmittelbar nach der HGA auftraten. Zwei dieser Patienten waren immunsupprimiert, was vermuten lässt, dass ein intaktes Immunsystem für die Genesung erforderlich ist und im Rahmen der HGA Störungen des Immunsystems auftreten können (BAKKEN et al., 1994; HARDALO et al., 1995; BAKKEN et al., 1996; WALKER und DUMLER, 1996).
Beim Menschen wurden bei der pathologischen Untersuchung folgende Befunde erhoben: perivaskuläre lymphohistiozytäre entzündliche Infiltrate in multiplen Organen, Hepatitis, normozelluläres Knochenmark, leichte lymphoide Depletion, mononukleäre Phagozyten-

hyperplasie in Milz und Lymphknoten und Milznekrosen. Im Knochenmark sowie in Leber und Milz konnte eine Hämophagozytose festgestellt werden (DUMLER et al., 2005).
Beim Menschen wurden bisher noch keine persistierenden Infektionen beschrieben (BRODIE et al., 1986; DUMLER et al., 2005). Im Gegensatz dazu wurden bei verschiedenen Tierarten persistierende Infektionen nachgewiesen bzw. vermutet: u.a. Hunde (EGENVALL et al., 2000; ALLEMAN et al., 2006), Schafe (STUEN et al., 2006) und Pferde (CHANG et al., 1998).
Doxyzyklin ist das Antibiotikum der Wahl bei der Behandlung der HGA. Es sollte über einen Zeitraum von zwei Wochen gegeben werden. Bei Erwachsenen wird eine Dosierung von 100mg 2 x tgl. p.o. empfohlen. Kinder, die über acht Jahre alt sind, sollten es in einer Dosierung von 4,4mg/kg 1 x tgl. oder auf mehrere Dosen verteilt, maximal 100mg p.o. pro Dosis erhalten. Nach 24 bis 48 Stunden wird eine Verbesserung des Zustandes erwartet. Bei Patienten, die innerhalb dieses Zeitraumes nicht auf die Therapie angesprochen haben, sollte nach weiteren Diagnosen und Therapiemöglichkeiten gesucht werden (BAKKEN und DUMLER, 2006).
Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut wurden bei 80% der Fälle nachgewiesen, wobei nur eine geringe Zahl der neutrophilen Granulozyten befallen war (BAKKEN et al., 1996). Ein geringer Anteil der Patienten litt noch 1 bis 3 Jahre nach der Therapie an persistierenden Symptomen wie Gelenkschmerz, Muskelschmerz, Kopfschmerzen, Nausea, Schwäche, rezidivierendem Fieber. Es war nicht klar, ob diese Symptome mit der früheren HGA oder anderen Ursachen in Verbindung standen (RAMSEY et al., 2002).
Derzeit ist nicht bekannt, ob von Hunden, Schafen, Pferden und anderen Haussäugetieren eine Übertragungsmöglichkeit auf den Menschen besteht. Diverse Wildtiere spielen als Reservoirwirte eine Rolle, was evtl. auch ein Übertragungsrisiko für bestimmte Risikogruppen birgt. Derzeit wird angenommen, dass eine Übertragung auf den Menschen durch die Untersuchung infizierter Tiere, insbes. infizierten Blutes oder infizierter Zecken, möglich ist (TELFORD, 1997; BAKKEN und DUMLER, 2006). Hierfür spricht die Infektion von Personen, die eine große Anzahl Rentierkadaver eröffnet hatten. Die Übertragung wird dabei zum einen auf den Kontakt dieser Personen über Schnittwunden mit infiziertem Blut und zum anderen auf die Einatmung von Blutpartikeln über Aerosole, die bei Einsatz einer elektrischen Säge entstanden, zurückgeführt (TELFORD, 1997).

III Material und Methoden

Die Dissertation umfasst drei Teile. In der epidemiologischen Studie sollte die Prävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum*-Infektionen bei Hunden im Einzugsgebiet der Kleintierklinik der FU Berlin ermittelt werden. In einem zweiten Teil wurden sog. Langzeitprobanden regelmäßig und nach Herstellerangaben alle 4 Wochen mit Ektoparasitika behandelt und über den Zeitraum von 10 Monaten im Abstand von drei bis vier Monaten auf Neuinfektionen mit *A. phagozytophilum* untersucht, um Aussagen über die Wirksamkeit der Zeckenprophylaxe treffen zu können. Des Weiteren sollten in einem dritten Teil (klinische Studie) Symptomatik, Labordiagnostik und Verlauf der Erkrankung bei infizierten Hunden dargestellt werden.

1. Epidemiologische Studie

Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von Juni 2005 bis Dezember 2006, insgesamt gingen 522 Hunde in die Studie ein. Die Gruppe 1 bestand aus 258 kranken, anaplasmoseverdächtigen Hunden. Hunde wurden auf eine granulozytäre Anaplasmose untersucht, wenn sie Symptome aufwiesen, die in der Literatur im Zusammenhang mit einer CGA beschrieben wurden (z.B. Lethargie, Fieber, Lahmheit, Gelenkschmerz, Bewegungsunlust, Splenomegalie, Meningitis) oder wenn abnorme Laborbefunde wie Thrombozytopenie, Anämie oder Leukopenie vorlagen (NEER et al., 2002; BJÖERSDORFF, 2005; GREIG und ARMSTRONG, 2006). Die Gruppe 2 bildeten 264 klinisch gesunde Hunde (Blutspender sowie Hunde von Mitarbeitern und Studenten der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere).
Von so vielen Hunden wie möglich wurden folgende Daten mittels eines Fragebogens erfasst: Signalement (Rasse, Alter, Geschlecht), Auslandsaufenthalt, der vom Besitzer beobachtete Zeckenbefall und die Art der Zeckenprophylaxe (regelmäßig nach Herstellerangaben mit gegen Zecken zugelassenen Präparaten oder nicht bzw. unregelmäßig). Nach Anamneseerhebung und klinischer Untersuchung wurden bei allen Hunden folgende labordiagnostischen Untersuchungen durchgeführt: hämatologische Untersuchung (Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC und Thrombozytenzahl) und Untersuchung auf *A. phagozytophilum* (direkter Nachweis mittels Blut- und Buffy-coat-Ausstrichen sowie Real-time-PCR, indirekter Nachweis über IFAT). Auf die einzelnen Untersuchungsverfahren wird in den Abschnitten 4.1 – 5.9 genauer eingegangen. Weitere Untersuchungen erfolgten je nach Indikation.

Anamnesebogen

Vorstellungsdatum:

Tierbesitzer	**Hund**
Name:	Name:
Vorname:	Rasse:
Straße:	Geburtsdatum:
Ort:	Geschlecht:

Was ist der Grund der Vorstellung Ihres Tieres in der Klinik?

Hat Ihr Hund Vorerkrankungen? Wenn ja, welche und seit wann? Bekommt Ihr Hund eine Therapie/Medikamente dagegen?

Waren Sie mit Ihrem Tier schon einmal im Ausland? Wenn ja, wo, wann und wie lange?

Wie lange haben Sie Ihr Tier schon in Besitz?

Woher stammt das Tier (Züchter, Tierheim oder Privat)?

Hat Ihr Hund Zecken? Wenn ja, wie viele sind es ungefähr im Jahr? Wie sahen die Zecken aus (Größe, Farbe)?

Behandeln Sie Ihren Hund mit Ektoparasitika (gegen Zecken, Flöhe…)? Wenn ja, womit? Wann im Jahr beginnen Sie mit der Therapie? Wie häufig im Jahr geben Sie das Mittel? Wie lange wirkt es?

2. Studie über die Wirksamkeit einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe mit Permethrin-Imidacloprid

Zwei Gruppen wurden in diesen Teil der Studie eingeschlossen: Gruppe 1 (Langzeitprobanden), Gruppe 2 (Vergleichsgruppe).
Langzeitprobanden waren initial sowohl serologisch (IFAT) als auch Blutausstrich- und PCR-negativ für *A. phagozytophilum*. Sie waren klinisch gesund, die Werte der hämatologischen Untersuchung (Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC und Thrombozytenzahl) lagen im Referenzbereich. Zwischen Mai 2006 und März 2007 wurden sie regelmäßig alle 4 Wochen von ihren Besitzern (Tierärzte, Studenten der Veterinärmedizin, Tierpfleger, Hundezüchter) nach Anweisung der Autorin mit Permethrin-Imidacloprid (Advantix®, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Germany) behandelt. Diese Hunde wurden regelmäßig (in Abständen von 3 bis 4 Monaten) auf Infektionen mit *A. phagozytophilum* getestet. Permethrin gehört zu den Pyrethroiden, ist neurotoxisch bei Arachniden und Insekten wirksam und führt zu einer lang andauernden Öffnung von Na^+-Kanälen an der Nervenmembran. Das charakteristische Symptomenbild bei Arthropoden ist gekennzeichnet durch initiale Erregungszustände, gefolgt von Koordinationsstörungen, Lähmung und Tod bei entsprechend langer Einwirkungsdauer. Imidacloprid ist ein Chloronicotinylnitroguanidin und besitzt eine adultizide Wirkung auf Flöhe (UNGEMACH, 2006).
Hunde der Gruppe 2 (Vergleichsgruppe) waren nicht bzw. unregelmäßig oder mit gegen Zecken unwirksamen Präparaten behandelte Hunde. In diese Gruppe wurden sowohl klinisch gesunde als auch kranke, anaplasmoseverdächtige Hunde aufgenommen. Da es unethisch wäre, in einer klinischen Studie Hunde über ein Jahr nicht mit Ektoparasitika zu behandeln, wurde von der Einführung einer „echten“ Kontrollgruppe abgesehen.
Während des Studienzeitraums untersuchten die Besitzer der Langzeitprobanden ihre Hunde täglich auf einen möglichen Zeckenbefall und dokumentierten diesen. Bei jedem Besuch wurden der vom Besitzer beobachtete Zeckenbefall und evtl. aufgetretene Nebenwirkungen von Advantix® mittels Fragebögen erfragt.
Da Hunde der Vergleichsgruppe nur einmal untersucht wurden, war von diesen Hunden nur ein Fragebogen vorhanden.

3. Klinische Studie

Der Untersuchungszeitraum für diesen Teil der Studie erstreckte sich von Juni 2005 bis Juli 2007. In diesen Teil der Studie gingen zunächst alle kranken Hunde ein, bei denen die *A. phagozytophilum*-PCR positiv war. Die Diagnose CGA wurde gestellt und eine weitere Auswertung der Patienten erfolgte, sofern

- klinische Symptome wie Lethargie, Fieber, blasse Schleimhäute, Blutungen, Gelenkschmerz, Bewegungsunlust oder Splenomegalie vorlagen,
- abnorme Werte bei der hämatologischen Untersuchung auffielen (Thrombozytopenie, Anämie, Leukopenie),
- Morulae in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen wurden (sofern eine Infektion mit dem in den USA endemisch vorkommenden Erreger *E. ewingii* ausgeschlossen werden konnte) (und die PCR zum Nachweis von *A. phagozytophilum* positiv war),
- andere Krankheiten (u.a. weitere bekannte Infektionskrankheiten, die in diesem Gebiet endemisch vorkommen bzw. mit denen im Rahmen eines Auslandsaufenthaltes eine Infektion möglich wäre) als Krankheitsursache ausgeschlossen wurden und
- die Hunde sich auf Gabe von Doxyzyklin (5mg/kg 2 x tgl. p.o.) besserten.

Von allen Hunden wurden die unter III.1. (Epidemiologie) aufgeführten Daten erhoben. Zusätzlich wurde ein Differenzialblutbild angefertigt und die klinisch-chemischen Parameter Natrium, Kalium, Glukose, Harnstoff, Kreatinin, Totalprotein, Albumin, ALT, AP, AST, GLDH und Bilirubin, bei einigen Hunden auch die Parameter Kalzium, Phosphat, Amylase, Lipase und Cholesterin bestimmt. Zusätzlich wurden bei einigen die Prothrombinzeit (PT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) bestimmt und ein Harnstatus angefertigt. Des Weiteren wurden für einige Hunde ein direkter Coombs-Test und/oder ein Test auf thrombozytengebundene Antikörper durchgeführt. Zu den weiterführenden Untersuchungen gehörten die radiologische Untersuchung des Abdomens im latero-lateralen Strahlengang, die sonografische Untersuchung des Abdomens sowie die Gelenkpunktion bei Verdacht auf Arthritis bzw. Polyarthritis. Bei so vielen Hunden wie möglich wurden Verlaufs- und Kontrolluntersuchungen durchgeführt. Die Untersuchung auf *A. phagozytophilum* erfolgte über direkte und indirekte Nachweisverfahren. Zu den direkten Nachweisverfahren gehörten Blut- und Buffy-coat-Ausstriche zum Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten sowie die Real-time PCR zum DNA-Nachweis, zu den indirekten die Antikörpertiterbestimmung via IFAT. Kranke Hunde, bei denen die PCR zum Nachweis von *A. phagozytophilum* positiv war, wurden zusätzlich auf Ko-Infektionen mit folgenden Erregern untersucht: *E. canis*, *B. burgdorferi*, *Babesia* (*B.*) *canis*, *Dirofilaria* (*D.*) *immitis*, *Mycoplasma* (*M.*) *haemocanis* und *Bartonella* spp., einige Hunde zusätzlich auf *Leishmania* (*L.*) *infantum*.

4. Untersuchungen auf *A. phagozytophilum*

Die Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* wurden im Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU München und in der Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin durchgeführt.

4.1. Indirekter Immunfluoreszenzantikörpertest (IFAT) und enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Der IFAT stellt eine quantitative Methode zur Serumuntersuchung auf Antikörper gegen *A. phagozytophilum* dar. Dabei werden durch serielle Verdünnungen (Titration) Antikörper gegen *A. phagozytophilum* nachgewiesen.
Die im Kühlschrank aufbewahrten mit Antigen beschichteten Objektträger (Focus Technologies, California, 90630, USA) wurden zunächst auf Zimmertemperatur erwärmt. Die Mikrotiterplatten wurden mit „Patientennummern“ oder „Kontrollseren“ beschriftet. In die Reihen H bis C wurde PBS-Puffer vorgelegt (Reihe H: 150µl, Reihen G bis C 50µl). Der PBS-Puffer pH 7,2 wurde sowohl zum Waschen als auch als Verdünnungspuffer eingesetzt und nach einem Rezept des Robert-Koch-Instituts selbst hergestellt (Übersicht 1).

Übersicht 1: Herstellung des PBS-Puffers pH 7,2 zum Waschen und als Verdünnungspuffer nach einem Rezept des Robert-Koch-Instituts

a) Herstellung der Lösungen a und b		
Lösung a	Na_2HPO_4 (Merck 6580)	11,88g
	ad Aqua dest.	1000ml
Lösung b	KH_2PO_4 (Merck 1.04873)	9,08g
	ad Aqua dest.	1000ml
b) Herstellung der Gebrauchslösung		
Lösung a		71,5ml
Lösung b		28,5ml
NaCl (Merck 1.06400)		8,5g
ad Aqua dest.		1000ml
pH messen und auf 7,2 einstellen		
c) Herstellung einer Evans-Blue 0,02%/PBS-Lösung		
0,02g Evans-Blue (Sigma, Nr. 46160) auf 100ml PBS-Puffer		

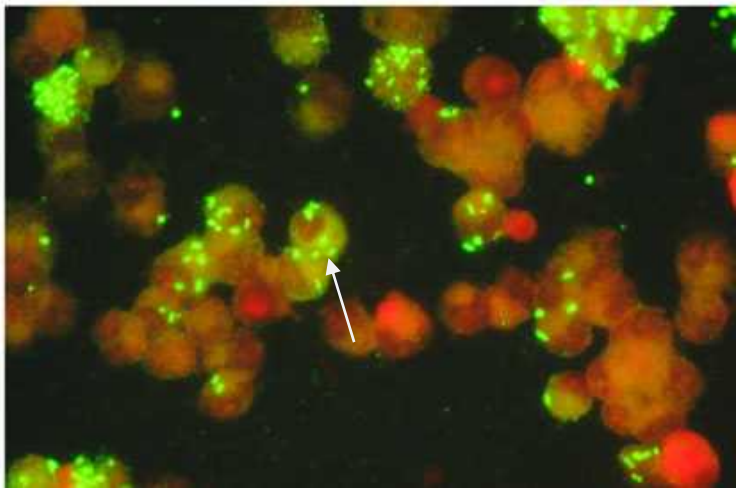
In einem ersten Arbeitsschritt werden auf dem Objektträger fixierte Zellen mit bekannter Antigenstruktur (*A. phagozytophilum*) mit Serum, in dem nach Antikörpern gegen *A. phagozytophilum* gesucht werden soll, überschichtet und inkubiert.
Hierfür wurden 10µl Patienten- bzw. Kontrollserum in jede Vertiefung der Reihe H gegeben und anschließend eine geometrische Verdünnungsreihe hergestellt: Jeweils 50µl wurden in die nächste Reihe überpipettiert, wobei bei der Reihe H begonnen wurde. Es ergaben sich damit für die Reihen H bis C die folgenden Verdünnungsstufen: Reihe H 1:16, Reihe G 1:32, Reihe F 1:64, Reihe E 1:128, Reihe D 1:256 und Reihe C 1:512. Jeweils 20µl des verdünnten Serums (Verdünnungsstufen 1:128, 1:64 und 1:32) wurden auf das entsprechende mit Antigen beschichtete Objektträgerfeld pipettiert. Es folgte eine Inkubation für 30min bei 37°C in einer feuchten Kammer im Wärmeschrank. In dieser Zeit wurde das Konjugat aufgetaut und mit 0,02% Evans-Blue/PBS im Verhältnis 1:20 verdünnt: Es wurden 50µl Anti-dog IgG-FITC (Sigma, F-7884) zu 950µl 0,02% Evans-Blue/PBS gegeben. Die Objektträger wurden nach 30min aus dem Wärmeschrank genommen und vorsichtig mit PBS pH 7,2 abgespült. Dem schloss sich ein zweimaliges Waschen über 5min in PBS pH 7,2 an. In jeder Waschphase wurde frische Pufferlösung verwendet. Anschließend wurden die Objektträger vorsichtig kurz in Aqua dest. geschwenkt und wieder auf den Objektträger gelegt, um sie lufttrocknen zu lassen. Nach sorgfältigem Waschen des Präparates wurde ein fluochromiertes Antigammaglobulin aufgebracht. Letzteres kann die Antigen-tragenden Zellen nur zum Aufleuchten bringen, wenn in dem untersuchten Serum spezifische Antikörper vorhanden waren, die sich im ersten Schritt der Methode an die homologen Antigene gebunden haben und nun als Antigen mit dem markierten Antigammaglobulin reagieren. Dafür wurden auf jedes Feld 10µl von dem verdünnten Konjugat aufgetragen, dem sich wieder eine Inkubationsphase über 30min bei 37°C in einer feuchten Kammer im Wärmeschrank anschloss. Nach deren Ablauf wurden die Objektträger erneut vorsichtig mit PBS pH 7,2 abgespült und zweimalig über 5min in PBS pH 7,2 gewaschen. Anschließend wurden die Objektträger auf Objektträgertableaus gelegt und an der Luft getrocknet. Danach wurden sie mit Eindeckmittel (Mega Screen Fluovet, Mega Cor Diagnostik GmbH) eingedeckt. Die Auswertung erfolgte unter dem Fluoreszenzmikroskop mit dem 40er Objektiv (Okular: 10x).
Da die Intensität der Fluoreszenz und des Endtiters durch die Art und optische Beschaffenheit des Mikroskops und des Typs der Lichtquelle bestimmt werden, wurden bei jeder Testreihe

die Kontrollfelder zuerst abgelesen, um eine korrekte Interpretation zu gewähren (Übersicht 2, Abb. 2).

Übersicht 2: Einordnung der Intensität der Fluoreszenz der Morulae nach dem Ablesen

+ + bis + + + +:	mittlere bis starke apfelgrüne Fluoreszenz der Morula
+:	eindeutige, aber schwache Fluoreszenz, ähnlich wie die der Positivkontrolle beim Endtiter
negativ:	keine Fluoreszenz oder Fluoreszenz ähnlich wie auf der Reaktionsstelle der Negativkontrolle (oder weniger als der Endtiter)

Der reziproke Wert der höchsten Serumverdünnung, die eine eindeutige (+) apfelgrüne Fluoreszenz der Morula aufwies, wurde als Endtiter bezeichnet. IgG-Endtiter von 1:64 und höher deuteten auf eine Infektion mit *A. phagozytophilum* zu einem unbestimmten Zeitpunkt hin. Diese konnte in der Vergangenheit erfolgt sein, oder es handelte sich um eine zum Untersuchungszeitraum vorliegende Infektion im Frühstadium. Bei negativem Ergebnis (≤ 1:16 und weiter bestehendem Verdacht auf eine Infektion) oder fraglichem Titer (1:32) konnte ein Kontakt mit dem Erreger nicht ausgeschlossen werden.



Copyright: Fuller Laboratories, 1997, all rights reserved

Abbildung 2: Fluoreszierende Morulae in neutrophilen Granulozyten

Zusätzlich wurde in der Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin bei 18 Hunden mit CGA der SNAP-4Dx (IDEXX, Maine, USA), ein ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagozytophilum*, durchgeführt. Die Ergebnisse beider Verfahren wurden miteinander verglichen.

4.2.Nachweis von Morulae in Blut- und Buffy-Coat-Ausstrichen

Bei der Giemsafärbung handelt es sich um eine differenzierte Färbung zellulärer Bestandteile des Blutes. Insbesondere der direkte Nachweis von Blutprotozoen, wie Babesien, *Hepatozoon canis*, Trypanosomen und Rickettsien (Ehrlichien, Anaplasmen) ist hiermit möglich.
Die Blutausstriche wurden mit einem Farbstoffgemisch nach Giemsa (Azur, Methylenblau und Eosin) gefärbt, das täglich frisch hergestellt wurde (Übersicht 3).

Übersicht 3: Herstellung einer Giemsa-Gebrauchslösung

a) Herstellung des Weise-Puffers pH 7,2
KH_2PO_4 2,45g
Na_2HPO_4 5,45g
Aqua dest. 5000ml
b) Herstellung der Giemsa-Gebrauchslösung
240ml Weise-Puffer pH 7,2 werden in einer Farbküvette vorgelegt und mit 10ml einer vorfiltrierten Giemsa-Lösung gemischt.

Zunächst wurde ein Blutausstrich angefertigt und an der Luft getrocknet. Anschließend folgte eine Fixation mit Methanol 99% (5min), der Ausstrich musste danach erneut lufttrocknen. Mit der frisch angesetzten Giemsa-Gebrauchslösung wurde dieser Ausstrich dann 45min gefärbt. Die Färbelösung wurde anschließend unter fließendem Wasser abgespült und der Ausstrich wiederum luftgetrocknet. Nachdem ein Tropfen Immersionsöl auf den Objektträger gegeben wurde, schloss sich die Untersuchung mit einer 400- bzw. 1000fachen Vergrößerung an. Der Ausstrich wurde als positiv bewertet, wenn in neutrophilen Granulozyten Morulae nachgewiesen wurden (Abb. 3). Es ist zu beachten, dass nur der Nachweis von Morulae, also ein positives Ergebnis, aussagekräftig ist.

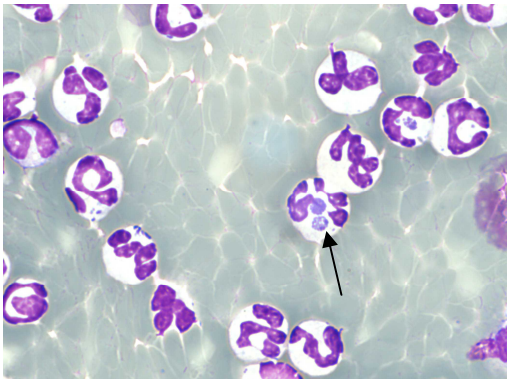


Abbildung 3: Morulae in neutrophilen Granulozyten

Beim Zentrifugieren eines mit EDTA- oder Kapillarblut befüllten Mikrohämatokritröhrchens bilden sich ausgehend vom Ende des Röhrchens (Versieglungswachs) verschiedene Schichten: eine Erythrozyten-, eine Granulozyten-, Lymphozyten-, Monozyten- und Thrombozyten- sowie eine Plasmaschicht. Die Schicht aus den Thrombozyten, Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten wird auch als „Buffy-Coat“ oder Leukozytensaum bezeichnet (Abb. 4). In Abhängigkeit von der gesuchten Erregerart wird das Mikrohämatokritkapillarröhrchen entweder ober- oder unterhalb des „Buffy-Coats“ angefeilt, geöffnet, das Material entnommen und ein Giemsa-gefärbter Ausstrich hergestellt. Aussagekräftig ist lediglich der Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten.

Abbildung 4: Buffy-Coat (Pfeil) in einem Mikrohämatokrit-kapillarröhrchen nach der Zentrifugation

4.3. Real-Time-PCR

Die Real-Time-PCR stellt die modernste Quantifizierung von Nukleinsäuren dar. Im Gegensatz zur konventionellen PCR werden die Produkte nicht erst am Ende eines PCR-Laufs, sondern während jedem Amplifikationszyklus durch die Messung der entstehenden Fluoreszenz nachgewiesen, was eine reale Quantifizierung der Zielsequenzen ermöglicht. Ein weiterer Vorteil ist die Ersparnis der Gelelektrophorese, die bei der konventionellen PCR zum Nachweis des PCR-Produkts erforderlich ist. Das Kontaminationsrisiko wird dadurch deutlich reduziert. Die Detektion der PCR-Produkte kann durch DNA-bindende Fluoreszenzfarbstoffe oder die Verwendung von spezifischen Fluoreszenzstoff-markierten Hybridisierungssonden erfolgen (LEONHARD, 2005).
Die DNA-Extraktion erfolgte mit dem QI® DNA Mini Kit (whole blood protocol) nach Herstellerangaben (QIAGEN, Hilden), die PCR mit der HotStarTaq® PCR nach Herstellerangaben (QIAGEN, Hilden).
Nachgewiesen wurde das msp2-Gen (COURTNEY et al., 2004). Folgende Primer wurden eingesetzt:

- ApMSP2f (5'ATGGAAGGTAGTGTTGGTTATGGTTATT-3')
- ApMSP2r (5'-TTGGTCTTGAAGCGCTCGTA-3').

Bei der eingesetzten TaqMan-Sonde handelte es sich um ApMSP2r, eine Sonde mit HEX-TAMRA (5'-TGGTGCCAGGTTGAGCTTGAGATTG-3').
Die Herstellung des Mastermix und der PCR-Ansatz sind den Übersichten 4 und 5 zu entnehmen.

Übersicht 4: Herstellung des Mastermix für die Real-Time-PCR zum Nachweis von *A. phagozytophilum*

		70x (Mastermix für 1 Eppendorfröhrchen)
Puffer 10x	2,5µl	175µl
$MgCl_2$ (25mM)	4,5µl	315µl
dNTPs (10mM)	0,5µl	35µl
Primer AmPSP2f (50µM)	0,225µl	15,75µl
Primer ApMSP2r (50µM)	0,225µl	15,75µl
Sonde (ApMSP2p-Hex (50µM)	0,0625µl	4,375µl
H_2O	11,7375µl	821,6µl
Proben-DNA	5,0µl	----------

Übersicht 5: PCR-Ansatz 25µl

Mastermix	19,75µl
HotStarTaq (QIAGEN)	0,25µl
H_2O	5,00µl

Als Positivkontrolle diente die aus EDTA-Blut extrahierte DNA eines Hundes, bei dem eine Infektion mit *A. phagozytophilum* nachgewiesen wurde. Ebenso wie beim Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten ist nur ein positives Ergebnis aussagekräftig. Falsch negative Ergebnisse können u.a. verursacht werden durch eine zu geringe Anzahl von Krankheitserregern in der Patientenprobe, Inhibitoren der DNA-Polymerase in der Patientenprobe, Erregervarianten, die aufgrund einer veränderten Nukleotidsequenz eine Amplifikation mit den verwendeten Primern nicht zulassen, Verdauung der Erreger-Nukleinsäure durch eingeschleppte DNAsen oder RNAsen. Falsch-positive Ergebnisse

dagegen können verursacht werden durch Kontamination bei der Gewinnung des Patientenmaterials oder Kontamination während der Durchführung der PCR, hauptsächlich durch bereits amplifizierte Produkte (LABORINFORMATION MEDIZINISCHES LABOR BREMEN).

5. Labordiagnostische Untersuchungen

Die Blutentnahme erfolgte aus der Vena (V.) cephalica antebrachii, der V. saphena (Ramus cranialis) oder der V. jugularis am nicht sedierten Tier. Für die hämatologischen Untersuchungen und für die direkten Nachweisverfahren von *A. phagozytophilum* im Blut wurde Blut in ein Kalium-EDTA-Blutröhrchen (Firma Sarstedt, Nümbrecht) und zur Gewinnung von Plasma für die klinisch-chemischen Untersuchungen in einem Lithium-Heparinat-Blutröhrchen (Firma Sarstedt, Nümbrecht) aufgefangen. Für die Bestimmung des Antikörpertiters mittels IFAT wurde ein Serumröhrchen (Firma Sarstedt, Nümbrecht) mit Blut befüllt und nach einer Sedimentationsphase von etwa 20 bis 30min bei 3000U/min für 5min zentrifugiert (Labofuge 400®, Kendro). Die plasmatische Gerinnung wurde in Natriumzitrat-Plasma (0,1 bzw. 0,2ml 3,13% Natriumzitrat® (Braun) und 0,9 bzw. 1,8ml Blut) bestimmt.

5.1. Hämatologie

Die Thrombozyten-, Leukozyten- und Erythrozytenzahl sowie die Parameter Hämoglobinkonzentration (Hb), Hämatokrit (Hkt) und die Erythrozytenindices MCV, MCH und MCHC wurden mit dem Blutanalysegerät CELL-DYN® 3500 (Abbott GmbH, Wiesbaden) bestimmt (Tab. 16).

Tabelle 16: Referenzwerte für die hämatologische Untersuchung (ROLEFF, 2004)

Parameter (Einheiten)	Referenzbereich
Leukozyten (x 10^9/l)	6 – 18
Erythrozyten (x 10^{12}/l)	5,6 – 8,6
Hämoglobin (mmol/l)	8,4 – 12,4
Hämatokrit (l/l)	0,38 – 0,56
MCV (fl)	62 – 70
MCH (fmol)	1,2 – 1,6
MCHC (mmol/l)	19,2 – 23,0
Thrombozyten (x 10^9/l)	200 – 600

Zur Beurteilung des Differenzialblutbildes wurde mindestens ein Blutausstrich angefertigt und mit dem Lichtmikroskop Axiophot® (Zeiss, Göttingen) beurteilt (Tab. 17).

Tabelle 17: Referenzwerte für das Differenzialblutbild (KRAFT und DÜRR, 2005)

Zellen (x 10^6/l)	Absolute Zahl
Neutrophile stabkernige Granulozyten	0 – 500
Neutrophile segmentkernige Granulozyten	3.000 – 9.000
Eosinophile Granulozyten	40 – 600
Basophile Granulozyten	40 – 500
Lymphozyten	1.000 – 3.600
Monozyten	40 – 500

5.2. Klinisch-chemische Laborparameter

Die Laborparameter Natrium, Kalium, Glucose, Harnstoff, Kalzium, Phosphat, ALT, AST, AP, GLDH, Bilirubin, Cholesterin, Amylase, Lipase, Totalprotein und Albumin wurden in Lithium-Heparin-Plasma mit dem Analysengerät Kone Lab 30i® (Thermo Electron GmbH, Dreieich) bestimmt (Tab. 18).

Tabelle 18: Referenzwerte der klinisch-chemischen Laborwerte (Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin; * = KRAFT und DÜRR, 2005)

Parameter (Einheit)	Referenzbereich
Alaninaminotransferase (IU/l)	< 76
Albumin (g/l)	28 – 36
Alkalische Phosphatase (IU/l)	< 97
Amylase (IU/l)	< 1091
Aspartataminotransferase (IU/l)	< 41
Bilirubin (µmol/l)	< 5,1
Cholesterin (mmol/l)	3,1 – 10,1*
Gesamtkalzium (mmol/l)	2,5 – 2,9
Glukose (mmol/l)	4,5 – 6,2
Harnstoff (mmol/l)	3,5 – 9,9
Kalium (mmol/l)	3,6 – 4,8
Kreatinin (µmol/l)	53 – 106
Lipase (IU/l)	< 276
Natrium (mmol/l)	140 – 150
Phosphat (mmol/l)	0,96 – 1,6
Totalprotein (g/l)	54 – 66

5.3. Prothrombinzeit und aktivierte partielle Thromboplastinzeit

Die Prothrombinzeit (PT) und aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) wurden mit einem Koagulometer nach Schnitger und Gros (H. Amelung, Lemgo) bestimmt. Die PT wurde mit dem Test Hepato Quick® (Thrombin reagent, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) und die aPTT mit dem Testkit Pathromtin® (Pathromtin SL, Dade Behring Marburg GmbH, Marburg) mit jeweils 100µl Zitratplasma entsprechend den Herstelleranweisungen gemessen. Die Vergleichswerte der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU Berlin betrugen für die aPTT 14 – 20 Sekunden und für die PT 15 – 21 Sekunden.

5.4. Direkter Coombs-Test

Die Durchführung des differenzierten direkten Coombs-Tests mit Bestimmung von IgG- und IgM-Antikörpern sowie C3-Komplement erfolgte im Institut für Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Die Blutproben wurden in der Regel am Tag der Entnahme versandt und am nächsten Tag untersucht. Der Coombs-Test wurde bei 4°C (Kaltansatz) und 37°C (Warmansatz) durchgeführt. Als Antiseren kamen monospezifische Antiseren zum Einsatz: „rabbit-anti-dog“ IgG (H + L) (Dianova, Hamburg), goat-anti-dog“ IgM (ICN biomedicals, Eschwege) und „goat-anti-dog“ CD (ICN biomedicals, Eschwege) (ENGELBRECHT et al., 2002).

5.5. Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper

Der Nachweis thrombozytengebundener Antikörper wurde mittels Durchflusszytometrie (FACScan, Becton, Dickinson) am Institut für Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover durchgeführt. Die separierten, gewaschenen Thrombozyten wurden mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen Thrombozyten-Antigene (mAK 17-15, Code: 3W-098) und eines Phycoerythrin-konjugierten polyklonalen Antikörpers gegen Mausimmunglobuline markiert, wodurch Partikel in Thrombozytengröße, die aber keine Thrombozyten darstellen (z.B. Erythrozyten-Fragmente), von Thrombozyten unterschieden und von der Analyse ausgeschlossen werden konnten. Mit Hilfe eines Fluorescein-konjugierten polyklonalen Antikörpers („goat-anti-dog“ IgG [H + L]) gegen canines Immunglobulin wurden jene Thrombozyten ermittelt, die mit Antikörpern beladen waren. Mit jeder Patientenprobe wurde Kontrollblut eines gesunden Hundes mitversandt (über Nacht, ungekühlt) und gleichzeitig, d.h. innerhalb von 24 - 48 Stunden nach der Blutentnahme, untersucht (KOHN et al., 2000).

5.6. Urinanalyse

Das spezifische Gewicht wurde mit einem Refraktometer (Uricon-N, Atago, Japan) bestimmt. Der Nachweis von Nitrit, Protein, Glucose, Ketonkörpern, Bilirubin, Urobilinogen, Blut und Hämoglobin im Harn sowie die Bestimmung des pH-Wertes (Referenzbereich 5,0 – 8,0) erfolgte mit Harnsticks (Harn-Teststreifen Combur-Test, Boehringer, Mannheim). Zusätzlich wurde das Urin-Protein/Kreatinin-Verhältnis gemessen (Kone Lab 30i® [Thermo Electron GmbH, Dreieich]) (Referenzbereich < 0,5).
Für die Untersuchung des Urinsediments wurden 3 – 5ml Urin bei 1500 – 2000U/min zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand bis auf etwa 0,5ml dekantiert und das Sediment mit den verbliebenen Urintropfen resuspendiert. Ein Tropfen dieser Suspension wurde auf einen Objektträger aufgebracht und mit einem Deckgläschen bedeckt. Bei abgeblendetem Licht wurde zunächst eine Übersichtsbetrachtung vorgenommen (100fache Vergrößerung), wobei nach Zylindern, Kristallen und Zellen Ausschau zu halten war. Nachdem die Anzahl der Zylinder in der Übersichtsuntersuchung ermittelt wurde, erfolgte die Durchsuchung der Probe auf Zellen und Bakterien bei stärkerer Vergrößerung (400fache Vergrößerung) (BARSANTI et al., 2006)

5.7. Gelenkpunktion

Bei Hunden mit Gelenkschmerzen wurde in Kurznarkose (0,5 – 1mg/kg Midazolam und Propofol nach Wirkung i.v.) unter sterilen Kautelen Synovia von mehreren Gelenken entnommen. Dabei wurden die Punktionsstellen gemäß VOLLMERHAUS, 1999 gewählt. Die Synovia wurde hinsichtlich Menge, Aussehen und Viskosität zunächst makroskopisch beurteilt. Bildete die Synovia beim Abtropfen von der Kanüle einen > 2,5cm langen Faden, wurde die Viskosität als normal befundet (PARRY, 1999). Für Zelldifferenzierung und Schätzung kernhaltiger Zellen wurden unmittelbar nach der Entnahme mehrere Ausstriche angefertigt und nach Pappenheim oder mittels Diff-Quik (Dade, Unterschleißheim) gefärbt. Zur Erstellung eines Differenzialzellbildes mit der Unterscheidung von neutrophilen Granulozyten und mononukleären Zellen (Lymphozyten, große mononukleäre Zellen) wurden 100 kernhaltige Zellen bei 1000facher Vergrößerung ausgezählt. Zur Zellzahlschätzung wurden zehn Felder bei 400facher Vergrößerung ausgewertet, wobei in der normalen Synovia des Hundes etwa ein bis drei kernhaltige Zellen pro Gesichtsfeld vorhanden sind (PARRY, 1999). Konnte genügend Synovia entnommen werden, wurde sie in EDTA-Röhrchen gesammelt und die Zahl kernhaltiger Zellen in einer „Neubauer improved“-Zählkammer ermittelt (SAWYER, 1963). Zusätzlich wurde der Proteingehalt mit Hilfe eines Refraktometers (Uricon-N, Atago, Japan) bestimmt. Die Synovia wurde außerdem mikrobiologisch und auf *A. phagozytophilum* mittels einer Real-Time-PCR untersucht (KOHN et al., 2005).

5.8. Ausschluss von Ko-Infektionen

Die Untersuchungen auf Ko-Infektionen wurden im Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU München und in der Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin vorgenommen.
Die Untersuchung auf *E. canis*, *B. canis L. infantum* und *B. burgdorferi* erfolgte mittels indirekter Nachweisverfahren (IFAT), der Nachweis von *M. haemocanis* und *Bartonella* spp. über eine PCR.
Zusätzlich wurde in der Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin der SNAP-4Dx (IDEXX, Maine, USA), ein ELISA zum Nachweis von *E. canis*, *A. phagozytophilum*, *B. burgdorferi* und *D. immitis*, durchgeführt. Dabei werden Antikörper gegen *E. canis*, *A. phagozytophilum* und *B. burgdorferi* nachgewiesen, während *D. immitis* direkt bestimmt wird.

6. Statistische Auswertung

Da die Daten nicht als repräsentative Stichproben einer wohldefinierten Grundgesamtheit angesehen werden können, sind die statistischen Testverfahren im explorativen Sinn verwendet. Die Ergebnisse können nicht ohne weiteres verallgemeinert werden. Es wurde von einer nicht-symmetrischen Verteilung der Parameter ausgegangen. Die Auswertung erfolgte mittels Angaben von Minima und Maxima sowie Medianwerten. In einigen Fällen wurden zusätzlich das arithmetische Mittel und die Standardabweichung angegeben. Bei diesen Variablen erfolgte die Angabe der Werte folgendermaßen: „arithmetisches Mittel ± Standardabweichung; Median.“ Die grafische Darstellung von Unterschieden in der Häufigkeitsverteilung erfolgte mit Hilfe von Balkendiagrammen und Boxplots. Ein Boxplot zeigt grafisch die Lage und Verteilung der Werte einer Variablen auf. Die schwarze horizontale Linie innerhalb der hellgrauen Fläche eines Boxplots kennzeichnet das 50%-

Perzentil (Median), die untere Grenze das 25%-, die obere das 75%-Perzentil. Die dünnen Querstriche ober- und unterhalb der Box geben den größten bzw. kleinsten Wert aus der jeweiligen Stichprobe an, der noch keinen Ausreißer oder Extremwert darstellt. Als Ausreißer und Extremwerte werden im Zusammenhang mit Boxplots solche Werte gekennzeichnet, die um mehr als das 1,5-fache der Höhe der Box ober- und unterhalb der Box liegen. Die Entfernung von Ausreißern zur Box beträgt zwischen dem 1,5-fachen und dem Dreifachen der Boxhöhe (in der Grafik als Kreise gekennzeichnet), Extremwerte liegen dagegen mehr als das Dreifache über bzw. unter der Boxhöhe (als Sternchen gekennzeichnet). In einige Boxplots wurden manuell Referenzlinien eingefügt (BROSIUS, 2006).

Als Test zum Vergleich von Häufigkeiten wurde der χ^2-Test eingesetzt, der die Unabhängigkeit zweier Alternativmerkmale untersucht. Grundsätzlich gilt: Je größer die Abweichung in einem Feld der Tabelle ist, desto größer wird auch der χ^2-Wert ausfallen. Ein großer χ^2-Wert korrespondiert also mit großen Abweichungen der beobachteten von den erwarteten Häufigkeiten und deutet auf einen Zusammenhang zwischen den beiden Variablen hin. $P \leq 0{,}05$ wurde als signifikant definiert (BROSIUS, 2006).

Als weiteres Testverfahren wurde der U-Test von Mann und Whitney eingesetzt. Dieser verlangt weder Symmetrie noch Normalverteilung. Bei diesem Test werden die Werte der beiden Gruppen zunächst zu einer Gruppe zusammengefasst und in aufsteigender Folge geordnet. Jedem der Werte wird seiner Position in der Ordnung entsprechend ein Rang zugewiesen. Anschließend wird für die beiden Gruppen getrennt die Summe der Rangwerte berechnet. Anhand der beiden sich dabei ergebenden Summen wird die Hypothese getestet, die beiden Stichproben würden der gleichen Grundgesamtheit entstammen (BROSIUS, 2006).

Als statistische Software wurde SPSS 14.0 für Windows, SPPS Inc., USA verwendet.

IV Ergebnisse

1. Epidemiologische Studie

1.1. Gruppeneinteilung

Insgesamt gingen 522 Hunde in diesen Teil der Studie ein. Die Gruppeneinteilung erfolgte in kranke, anaplasmoseverdächtige und gesunde Hunde. Die Gruppe 1 bestand aus 258 kranken, anaplasmoseverdächtigen Hunden, die Gruppe 2 bildeten 264 klinisch gesunde Hunde.

1.2. Rasseverteilung

Von den 522 Hunden gehörten 336 Hunde 69 Rassen an, 186 waren Mischlinge (Tab. 19)

Tabelle 19: Rassenverteilung für 258 kranke und 264 gesunde Hunde

Rasse	Gruppe		Gesamt
	Krank n	Gesund n	n
Mischling	76	110	186
Golden Retriever	13	16	29
Deutscher Schäferhund	17	10	27
Labrador Retriever	7	15	22
Irish Setter	7	13	20
Cocker Spaniel	8	8	16
Deutsche Dogge	7	8	15
Boxer	4	10	14
Rottweiler	8	6	14
Dobermann	3	7	10
Berner Sennenhund	4	5	9
Teckel	6	3	9
American Staffordshire Terrier	2	6	8
Riesenschnauzer	7	1	8
West Highland White Terrier	7	0	7
Dalmatiner	3	3	6
Hovawart	2	3	5
Pudel	5	0	5
Beagle	4	0	4
Border Collie	0	4	4
Collie	2	2	4
Jack Russel Terrier	4	0	4
Papillon	0	4	4
Pittbull Terrier	2	2	4
Schnauzer	1	3	4
Briard	2	1	3
Husky	3	0	3
Jagdhund	1	2	3
Rhodesian Ridgeback	2	1	3
Shar Pei	3	0	3

Tabelle 19: Rassenverteilung für 258 kranke und 264 gesunde Hunde (Fortsetzung)

Rasse	Gruppe		Gesamt
	Krank	Gesund	
	n	n	n
Shih Tzu	3	0	3
Weimeraner	2	1	3
Airedale Terrier	2	0	2
American Bulldog	0	2	2
Barsoi	1	1	2
Bearded Collie	2	0	2
Cairnterrier	2	0	2
Deutsch Drahthaar	2	0	2
Eurasier	1	1	2
Foxterrier	1	1	2
Irischer Wolfshund	2	0	2
Malinois	1	1	2
Malteser	2	0	2
Münsterländer	2	0	2
Saluki	1	1	2
Tibet Terrier	2	0	2
Yorkshire Terrier	2	0	2
AC Schäferhund	1	0	1
Alaskan Malamute	1	0	1
Bologneser	1	0	1
Bordeaux-Dogge	0	1	1
Boston Terrier	1	0	1
Bulldogge	0	1	1
Bullterrier	0	1	1
Chesapeak Bay Retriever	0	1	1
Chihuahua	1	0	1
Dachshund	1	0	1
Deutsch Langhaar	0	1	1
Deutscher Wachtelhund	0	1	1
Englische Bulldogge	1	0	1
Gordonsetter	1	0	1
Greyhound	1	0	1
Havaneser	1	0	1
Irish Terrier	0	1	1
Kromfohrländer	1	0	1
Lapinkoira	0	1	1
Magyar Agar	0	1	1
Mastiff	0	1	1
Mittelschnauzer	0	1	1
Neufundländer	1	0	1
Norfolk Terrier	1	0	1
Parson Russel Terrier	0	1	1
Perro de Prasa	1	0	1
Podenco	1	0	1

Tabelle 19: Rassenverteilung für 258 kranke und 264 gesunde Hunde (Fortsetzung)

Rasse	Gruppe		Gesamt n
	Krank n	Gesund n	
Pon	0	1	1
Pyrenäenberghund	1	0	1
Schweizer Laufhund	1	0	1
Sheltie	1	0	1
Viszla	1	0	1
Zwergschnauzer	1	0	1
Gesamt	258	264	522

1.3. Altersverteilung

In der Gesamtheit schwankte das Alter der Hunde zwischen 3 Monaten und 15 Jahren (5,89 ± 3,30; Median 6,00). Die gesunden Hunde waren zwischen 1 und 14 Jahren (5,09 ± 2,86; Median 5,00), die kranken Hunde zwischen 3 Monaten und 15 Jahren alt (6,71 ± 3,54; Median 7,00). Kranke, anaplasmoseverdächtige Hunde waren im Median älter als gesunde Hunde ($p < 0,001$) (Abb. 5). Der Altersunterschied in den Gruppen kommt dadurch zustande, dass die Einteilung der Hunde in der Reihenfolge des Vorstellens in der Klinik erfolgte.

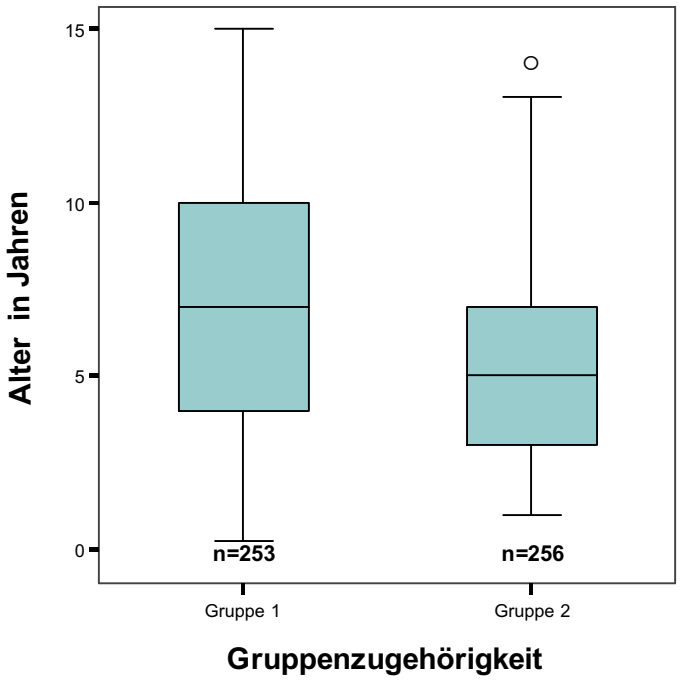


Abbildung 5: Gruppenzugehörigkeit und Alter für n = 509 Hunde mit bekanntem Alter ($p < 0,001$) (Gruppe 1 = kranke anaplasmoseverdächtige Hunde, Gruppe 2 = gesunde Hunde)

1.4. Geschlechtsverteilung (Tab. 20)

Tabelle 20: Geschlechtsverteilung für 258 kranke und 264 gesunde Hunde

Gruppe	Männlich n (%)	Männlich kastriert n (%)	Weiblich n (%)	Weiblich kastriert n (%)	Gesamt n (%)
Krank	106 (41,1)	37 (14,3)	62 (24,0)	53 (20,6)	258 (100,0)
Gesund	88 (33,3)	44 (16,7)	91 (34,5)	41 (15,5)	264 (100,0)
Gesamt	194 (37,2)	81 (15,5)	153 (29,3)	94 (18,0)	522 (100,0)

1.5. Untersuchungen auf *A. phagozytophilum*

Eine Übersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* gibt die Tabelle 21.

Tabelle 21: Übersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* für 258 kranke und 264 gesunde Hunde

Gruppe	IFAT		Morulae		PCR	
	+ n (%)	- n (%)	+ n (%)	- n (%)	+ n (%)	- n (%)
Krank	121 (46,9)	137 (53,1)	10 (3,9)	248 (96,1)	20 (7,8)	238 (92,2)
Gesund	105 (39,8)	159 (60,2)	2 (0,8)	262 (99,2)	10 (3,8)	254 (96,2)
Gesamt	226 (43,3)	296 (56,7)	12 (2,3)	510 (97,7)	30 (5,7)	492 (94,3)

1.5.1. Serologische Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* (IFAT)

Die Proben wurden mindestens bis zu einem Antikörpertiter von 1:128 austitriert. Höhere Antikörpertiter wurden mit > 1:128 bzw. > 1:256 angegeben. Als IFAT-negativ wurden Antikörpertiter ≤ 1:32, als IFAT-positiv Antikörpertiter ≥1:64 bezeichnet.
Insgesamt waren 226 (43,3%) der Hunde seropositiv, 121 (46,9%) kranke und 105 (39,8%) gesunde Hunde (Abb. 6 und 7).
Diese Werte entsprechen der Seroprävalenz, die folgendermaßen definiert ist:

Seroprävalenz = Anzahl der seropositiven Hunde / Gesamtzahl der untersuchten Hunde

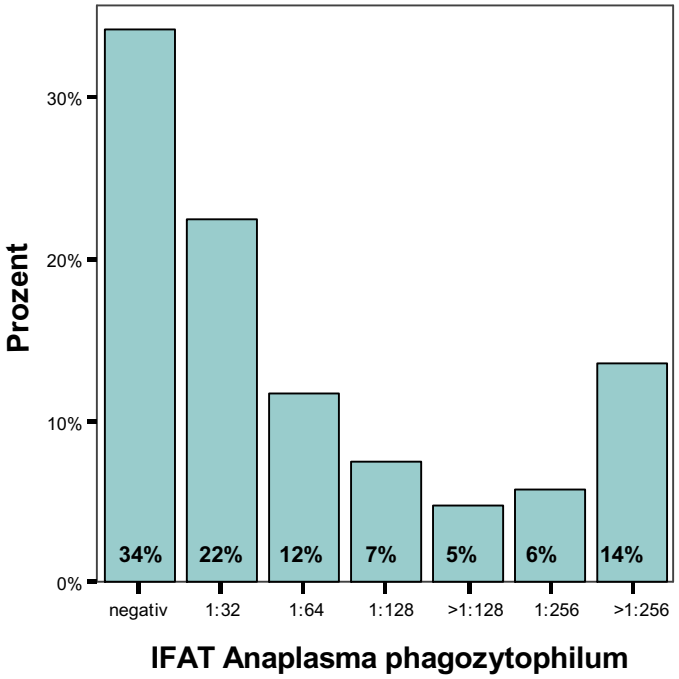


Abbildung 6: Ergebnisse des indirekten Immunfluoreszenzantikörpertests für n = 522 untersuchte Hunde

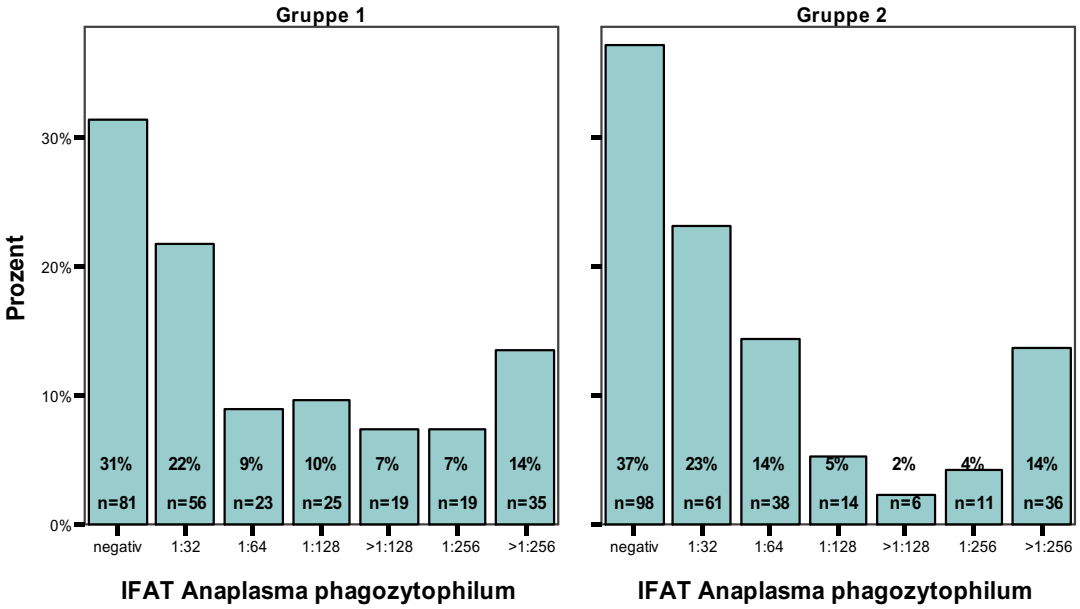


Abbildung 7: Ergebnisse des indirekten Immunfluoreszenzantikörpertests für n = 258 kranke, anaplasmoseverdächtige (Gruppe 1) und n = 264 gesunde (Gruppe 2) Hunde

Der Anteil seropositiver Hunde war in der Gruppe 2 zwar höher als in der Gruppe 1, doch war der Unterschied nicht signifikant (p = 0,100).

1.5.2. Direkte Nachweisverfahren

Insgesamt war die PCR bei 30 Hunden (5,7%) positiv, bei 492 (94,3%) negativ (Abb. 8). Morulae wurden ausschließlich bei 12 PCR-positiven Hunden nachgewiesen ($p < 0,001$): bei 10 kranken und 2 gesunden Hunden.
Hunde der Gruppe 1 waren nicht signifikant häufiger PCR- oder Blutausstrich-positiv als Hunde der Gruppe 2 ($p = 0,052$ bzw. 0,081).

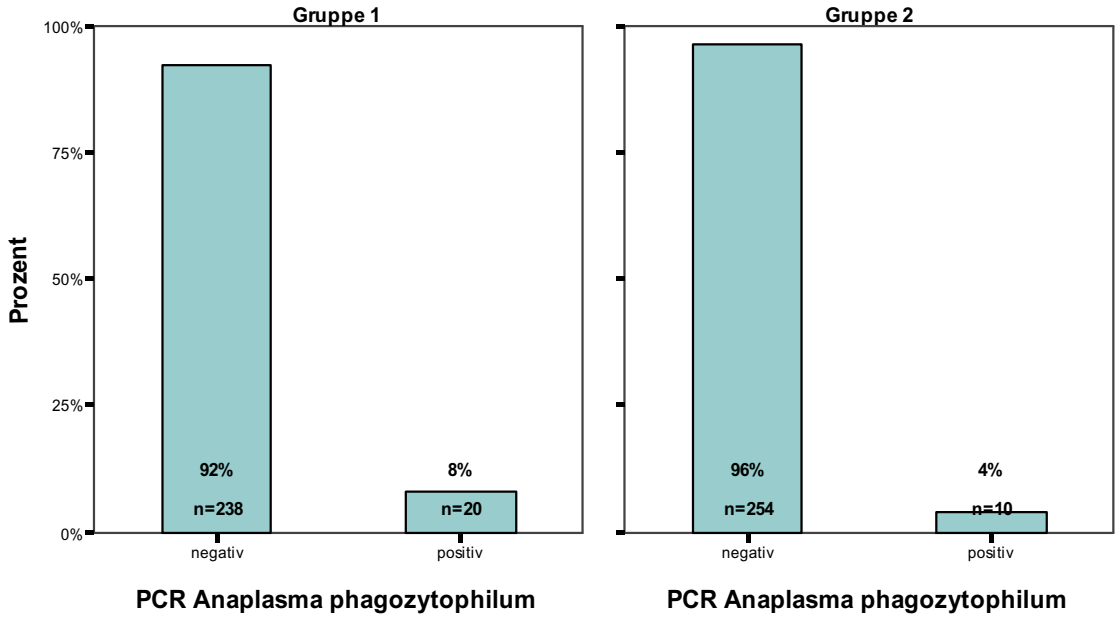


Abbildung 8: PCR (*A. phagozytophilum*) für 258 kranke, anaplasmoseverdächtige (Gruppe 1) und 268 klinisch gesunde (Gruppe 2) Hunde

1.5.3. Ergebnisse der direkten Nachweisverfahren in Bezug zur Serologie

30 Hunde waren PCR-positiv, 492 PCR-negativ. 22/30 (73,3%) PCR-positiven Hunden waren seropositiv, 8/30 (26,7%) seronegativ (Abb. 9a). PCR-positive Hunde waren signifikant häufiger seropositiv als PCR-negative Hunde ($p = 0,001$) (Abb. 9). Dies traf sowohl für die kranken, anaplasmoseverdächtigen Hunde als auch für die klinisch gesunden zu (0,031 bzw. 0,008) (Abb. 9b und c). Die Höhe der Antikörpertiter für die PCR-positiven Hunde ist der Tabelle 22 zu entnehmen. PCR-positive Hunde hatten häufiger hohe Antikörpertiter als PCR-negative Hunde ($p < 0,001$).
Das Vorhandensein von Morulae in neutrophilen Granulozyten hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die Antikörpertiterhöhe ($p = 0,227$) (Tab. 22). Dies traf sowohl für die gesunden als auch für die kranken anaplasmoseverdächtigen Hunde zu ($p = 0,197$ bzw. $p = 0,290$).

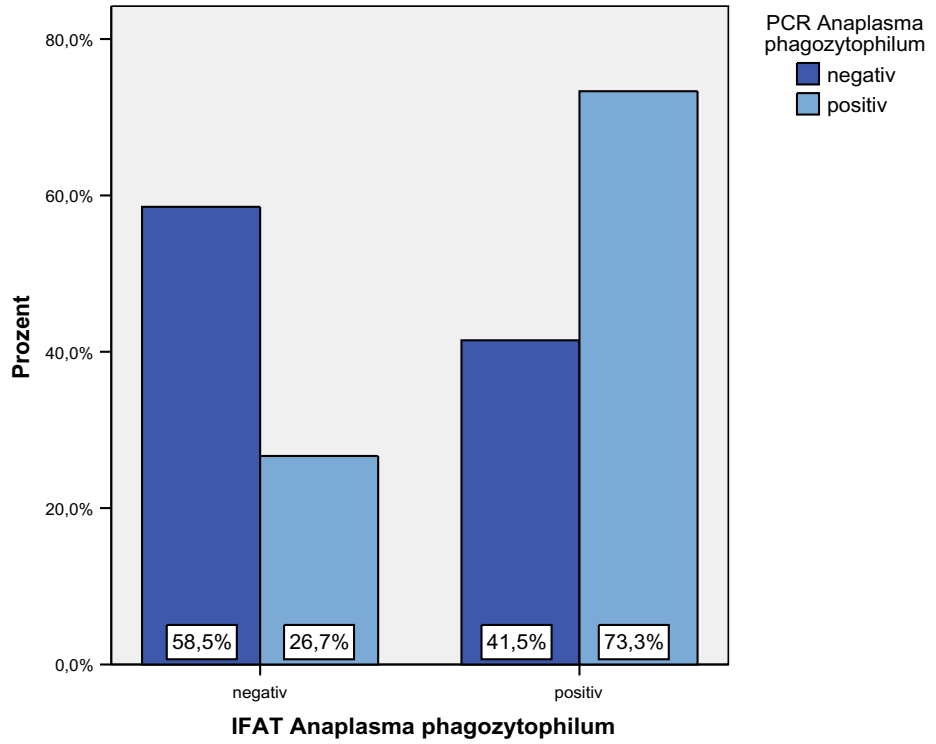


Abbildung 9a: Ergebnisse der PCR (*A. phagozytophilum*) in Bezug zum *A. phagozytophilum*-Antikörpertiternachweis für n = 522 Hunde

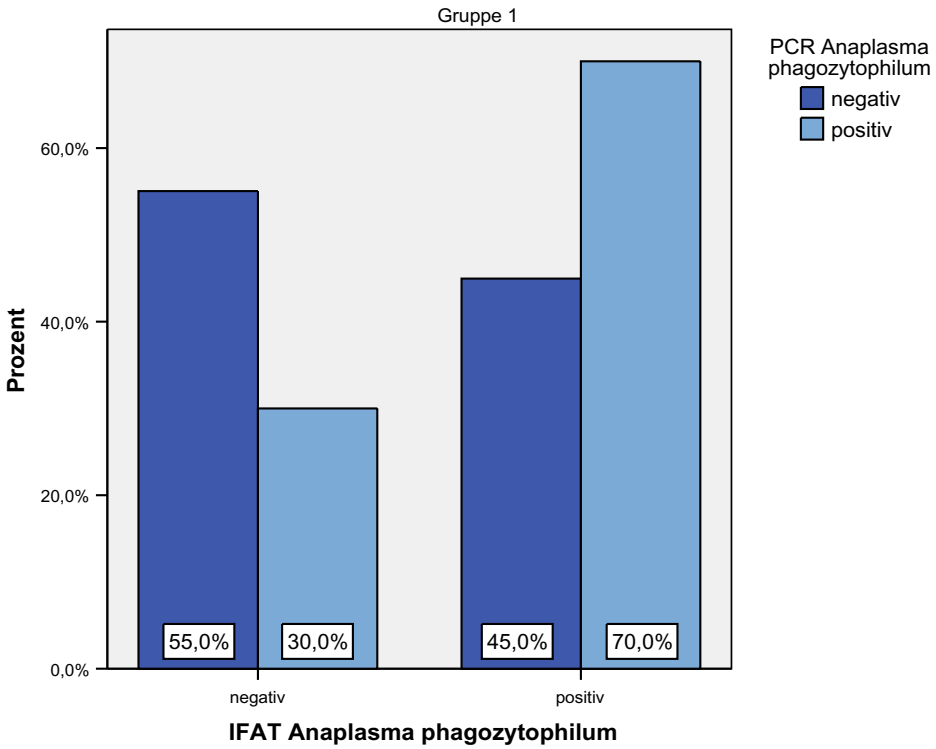


Fig. 9b: Ergebnisse der PCR (*A. phagozytophilum*) in Bezug zum *A. phagozytophilum*-Antikörpertiternachweis für n = 258 kranke, anaplasmoseverdächtige Hunde (Gruppe 1)

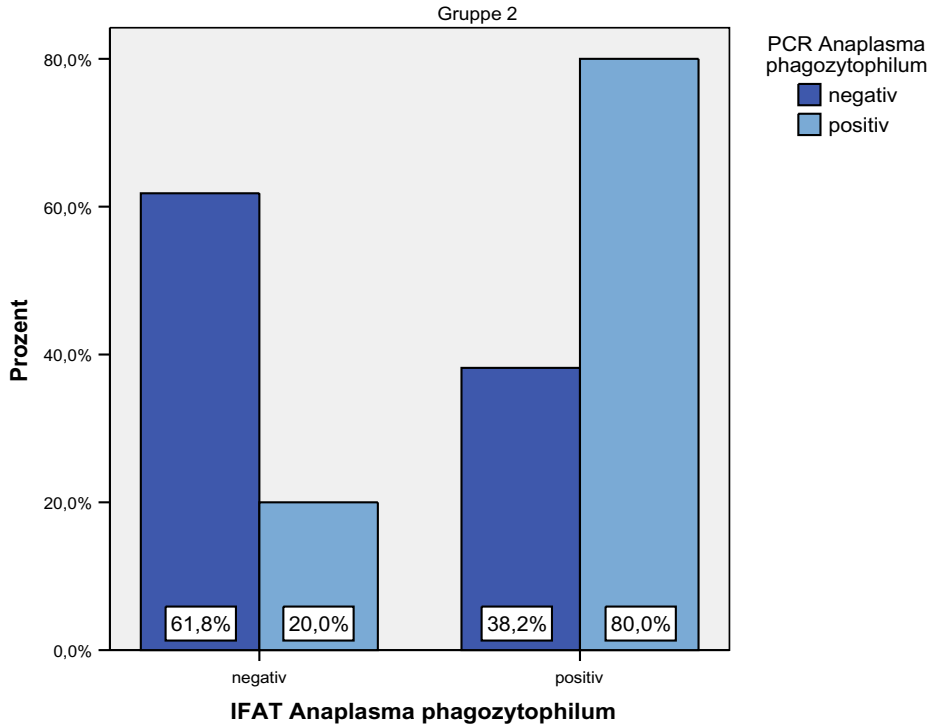


Fig. 9c: Ergebnisse der PCR (*A. phagozytophilum*) in Bezug zum *A. phagozytophilum*-Antikörpertiternachweis für n = 264 gesunde Hunde (Gruppe 2)

Tabelle 22: Antikörpertiter und Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten für 30 *Anaplasma*-PCR-positive Hunde. Bei 12 Hunden wurden zusätzlich Morulae in neutrophilen Granulozyten identifiziert. Als positiv wurden Antikörpertiter ≥ 1:64 definiert.

Antikörpertiter	Ergebnis IFAT Anzahl (n)	Morulae positiv
Negativ	4	3
1:32	4	0
1:64	4	2
1:128	1	0
1:256	1	0
> 1:128	4	2
> 1:256	12	5
Gesamt	30	12

1.6. Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* in Bezug zum Signalement

1.6.1. Rasse

Eine Übersicht über die Rassezugehörigkeit in Bezug zum Serostatus gibt die Tabelle 23. Da es sich um keine repräsentative Population handelte, kann keine Aussage über eine mögliche Rasseprädisposition getroffen werden.

Tabelle 23: Ergebnisse des indirekten Immunfluoreszenzantikörpertests und Rassezugehörigkeit (n = 522 Hunde)

Rasse	IFAT		Gesamt
	positiv	negativ	
	n	n	n
Mischling	68	118	186
Golden Retriever	16	13	29
Deutscher Schäferhund	11	16	27
Labrador Retriever	9	13	22
Irish Setter	11	9	20
Cocker Spaniel	12	4	16
Deutsche Dogge	7	8	15
Boxer	4	10	14
Rottweiler	9	5	14
Dobermann	3	7	10
Berner Sennenhund	3	6	9
Teckel	3	6	9
American Staffordshire Terrier	4	4	8
Riesenschnauzer	7	1	8
West Highland White Terrier	5	2	7
Dalmatiner	2	4	6
Hovawart	3	2	5
Pudel	3	2	5
Beagle	0	4	4
Border Collie	2	2	4
Collie	0	4	4
Jack Russel Terrier	1	3	4
Papillon	1	3	4
Pittbull Terrier	4	0	4
Schnauzer	0	4	4
Briard	1	2	3
Husky	1	2	3
Jagdhund	0	3	3
Rhodesian Ridgeback	0	3	3
Shar Pei	0	3	3
Shih Tzu	1	2	3
Weimeraner	2	1	3
Airedale Terrier	1	1	2
American Bulldog	2	0	2
Barsoi	2	0	2
Bearded Collie	1	1	2
Cairnterrier	0	2	2
Deutsch Drahthaar	2	0	2
Eurasier	2	0	2
Foxterrier	1	1	2
Irischer Wolfshund	2	0	2
Malinois	1	1	2
Malteser	1	1	2

Münsterländer	0	2	2
Saluki	0	2	2
Tibet Terrier	2	0	2
Yorkshire Terrier	0	2	2
AC Schäferhund	1	0	1
Alaskan Malamute	1	0	1
Bologneser	1	0	1
Bordeaux-Dogge	0	1	1
Boston Terrier	1	0	1
Bulldogge	1	0	1
Bullterrier	1	0	1
Chesapeak Bay Retriever	0	1	1
Chihuahua	0	1	1
Dachshund	0	1	1
Deutsch Langhaar	1	0	1
Deutscher Wachtelhund	1	0	1
Englische Bulldogge	0	1	1
Gordonsetter	1	0	1
Greyhound	0	1	1
Havaneser	0	1	1
Irish Terrier	1	0	1
Kromfohrländer	1	0	1
Lapinkoira	0	1	1
Magyar Agar	0	1	1
Mastiff	1	0	1
Mittelschnauzer	1	0	1
Neufundländer	1	0	1
Norfolk Terrier	0	1	1
Parson Russel Terrier	0	1	1
Perro de Prasa	0	1	1
Podenco	1	0	1
Pon	0	1	1
Pyrenäenberghund	0	1	1
Schweizer Laufhund	0	1	1
Sheltie	0	1	1
Viszla	1	0	1
Zwergschnauzer	0	1	1
Gesamt	226	296	522

Von 30 PCR-positiven Hunden waren 13 Mischlinge, 17 gehörten 13 verschiedenen Rassen an (Tab. 24). Da es sich um keine repräsentative Population handelte, kann keine Aussage über eine mögliche Rasseprädisposition getroffen werden.

Tabelle 24: Übersicht über die Rassezugehörigkeit von n = 30 PCR-positiven Hunden

Rasse	Anzahl
Mischling	13
Cocker Spaniel	3
Golden Retriever	3
American Pittbull	1
American Staffordshire	1
Deutsche Dogge	1
Deutscher Schäferhund	1
Irish Setter	1
Irischer Wolfshund	1
Labrador Retriever	1
Mastiff	1
Pudel	1
Riesenschnauzer	1
Shih Tzu	1
Gesamt	30

1.6.2. Alter

Für 509 der 522 Hunde standen Altersangaben zur Verfügung. Von diesen Hunden waren 289 (56,8%) seronegativ, 220 (43,2%) seropositiv. Die seropositiven Hunde waren zwischen 1 und 15 Jahren alt (6,87 ± 2,92; Median 7,00). Das Alter der seronegativen Hunde schwankte zwischen 0 und 13 Jahren (5,15 ± 3,40; Median 5,00). Ältere Hunde waren signifikant häufiger seropositiv als jüngere ($p < 0,001$) (Abb. 10), was für beide Gruppen auch einzeln bestätigt werden konnte (Gruppe 1: $p = 0,002$, Gruppe 2: $p < 0,001$).

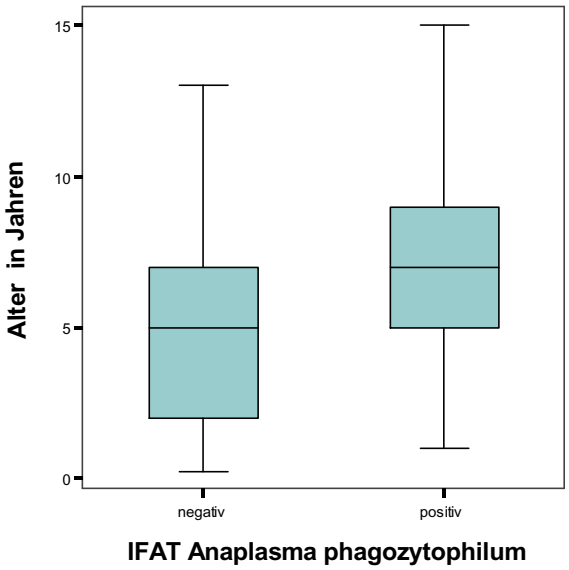


Abbildung 10: Alter der Hunde und IFAT-Antikörpernachweis für 289 seronegative und 220 seropositive Hunde mit bekanntem Alter

Die PCR-positiven Hunde waren zwischen 1 und 13 Jahren alt (6,97 ± 2,99; Median 7,0), die PCR-negativen Hunde zwischen 0,25 und 15 (5,83 ± 3,31; Median 6,0). Der Altersunterschied zwischen PCR-positiven und PCR-negativen Hunden war nicht signifikant (p = 0,060) (Abb. 11). Auch in den einzelnen Gruppen konnte kein siginifikanter Altersunterschied zwischen PCR-positiven und -negativen Hunden festgestellt werden (Gruppe 1: p = 0,498; Gruppe 2: p = 0,188).

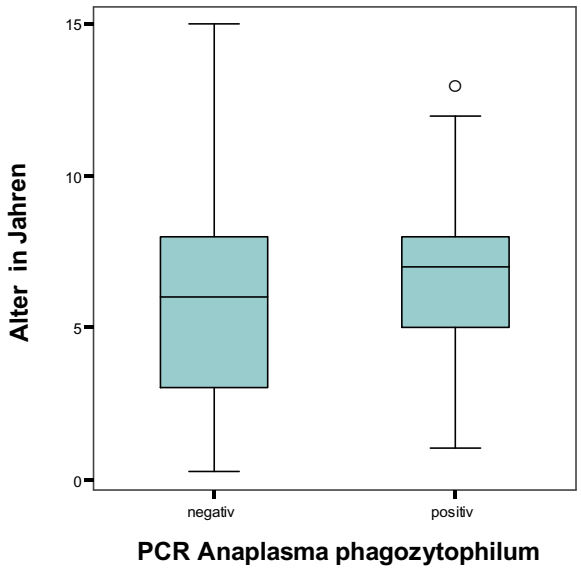


Abbildung 11: Altersangaben für n = 479 PCR-negative und 30 PCR-positive Hunde

1.6.3. Geschlecht

Eine Übersicht über die Untersuchungsergebnisse auf *A. phagozytophilum* und die Geschlechtsverteilung sind der Tabelle 25 zu entnehmen. Eine Geschlechtsprädisposition war nicht nachweisbar.

Tabelle 25: Untersuchungsergebnisse auf *A. phagozytophilum* und Geschlechtsverteilung für n = 522 Hunde

Geschlecht	**IFAT**		**Morulae**		**PCR**	
	+ **n (%)**	- **n (%)**	+ **n (%)**	- **n (%)**	+ **n (%)**	- **n (%)**
männlich	90 (46,4)	104 (53,6)	5 (2,6)	189 (97,4)	12 (6,2)	182 (93,8)
männlich kastriert	33 (40,7)	48 (59,3)	3 (3,7)	78 (96,3)	8 (9,9)	73 (90,1)
weiblich	66 (43,1)	87 (56,9)	3 (2,0)	150 (98,0)	9 (5,9)	144 (94,1)
weiblich kastriert	37 (39,4)	57 (60,6)	1 (1,1)	93 (98,9)	1 (1,1)	93 (98,9)
p (gesamt)	0,667		0,727		0,092	
gesamt	226 (43,3)	296 (56,7)	12 (2,3)	510 (97,7)	30 (5,7)	492 (94,3)

1.7. Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* in Bezug zum Untersuchungsmonat

26 der 30 Hunde mit einem positiven PCR-Ergebnis wurden in den Monaten Mai bis September vorgestellt (Abb. 12). 29 Hunde wurden natürlich infiziert, ein Hund über eine Bluttransfusion. Dieser wurde im Dezember PCR-positiv getestet. Da p = 0,021 betrug, wurde eine Saisonalität angenommen (Gruppe 1: p = 0,573; Gruppe 2: 0,022).

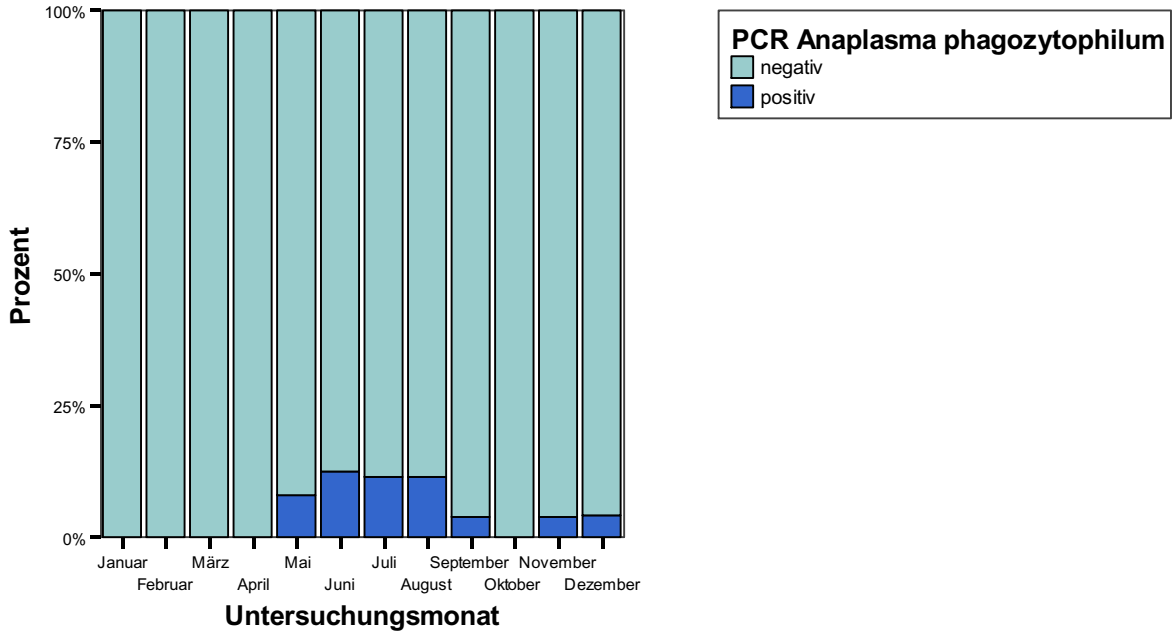


Abbildung 12: PCR *A. phagozytophilum* in Bezug zum Untersuchungsmonat (492 PCR-negative und 30 PCR-positive Hunde)

Im Gegensatz dazu konnte kein Hinweis für eine Saisonalität des Antikörpertiternachweises festgestellt werden (p = 0,474; Gruppe 1: 0,093; Gruppe 2: 0,948) (Abb. 13).

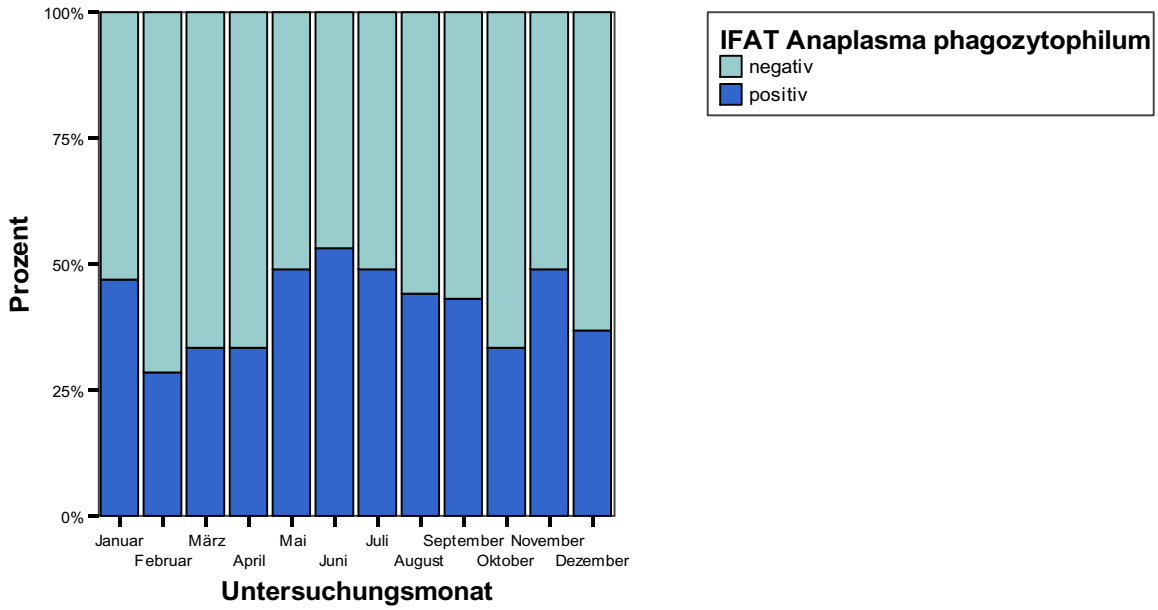


Abbildung 13: IFAT *A. phagozytophilum* in Bezug zum Untersuchungsmonat (296 seronegative und 226 seropositive Hunde)

1.8. Hämatologische Befunde und Antikörpertiter

Es sollte untersucht werden, ob seropositive Hunde Blutbildveränderungen aufwiesen, die auf eine Infektion mit *A. phagozytophilum* hindeuten könnten. Dafür wurden lediglich die Daten der gesunden PCR-negativen Hunde herangezogen. Gesunde PCR-positive bzw. alle kranken Hunde wurden von dieser Untersuchung ausgeschlossen, um den möglichen Einfluss der Bakteriämie auf die Laborwerte zu eliminieren bzw. da Laborwertveränderungen ein Einschlusskriterium für die kranken Hunde darstellten und die Mehrzahl nicht an einer CGA litt.
Insgesamt standen für 232 von 254 klinisch gesunden PCR-negativen Hunden die Ergebnisse einer Blutbilduntersuchung zur Verfügung (Tab. 26). 88 dieser Hunde (37,9%) waren seropositiv, 144 (62,1%) seronegativ.

Tabelle 26: Blutbildveränderungen bei 232 klinisch gesunden PCR-negativen Hunden und Ergebnisse des indirekten Immunfluoreszenzantikörpertests (Min. = Minimum, Max = Maximum, Med. = Median)

Parameter	Seropositive Hunde		Seronegative Hunde		p
	n (%)	Med. (Min. – Max.)	n (%)	Med. (Min. – Max.)	
Leukopenie (Leukozyten x 10^9/l)	5 (6)	5,2 (3,6 – 5,6)	6 (4)	5,6 (4,2 – 6,0)	0,164
Leukozytose (Leukozyten x 10^9/l)	2 (2)	21,2 (19,2 – 23,2)	0 (0)	---	
Anämie (Hkt l/l)	2 (2)	0,36 (0,35 – 0,36)	0 (0)	---	0,143
Polyzythämie (Hkt l/l)	7 (8)	0,57 (0,57 – 0,61)	8 (6)	0,57 (0,56 – 0,59)	
Thrombo-zytopenie (Thrombozyten x 10^9/l)	11 (13)	193,0 (63,3 – 199,0)	16 (11)	175,0 (129,0 – 198,0)	0,703
Thrombozytose (Thrombozyten x 10^9/l)	1 (1)	764,0	0 (0)	---	

1.8.1. Leukozytenzahl

Insgesamt lag die Leukozytenzahl für 232 klinisch gesunde PCR-negative Hunde zwischen 3,58 und 23,20 x 10^9/l (9,40 ± 2,48; Median 9,38). In der Gruppe der seronegativen Hunde lag sie zwischen 4,20 und 16,00 x 10^9/l (9,42 ± 2,21; Median 9,40), in der Gruppe der seropositiven Hunde zwischen 3,58 und 23,20 x 10^9/l (9,37 ± 2,89; Median 9,32) (Abb. 14).

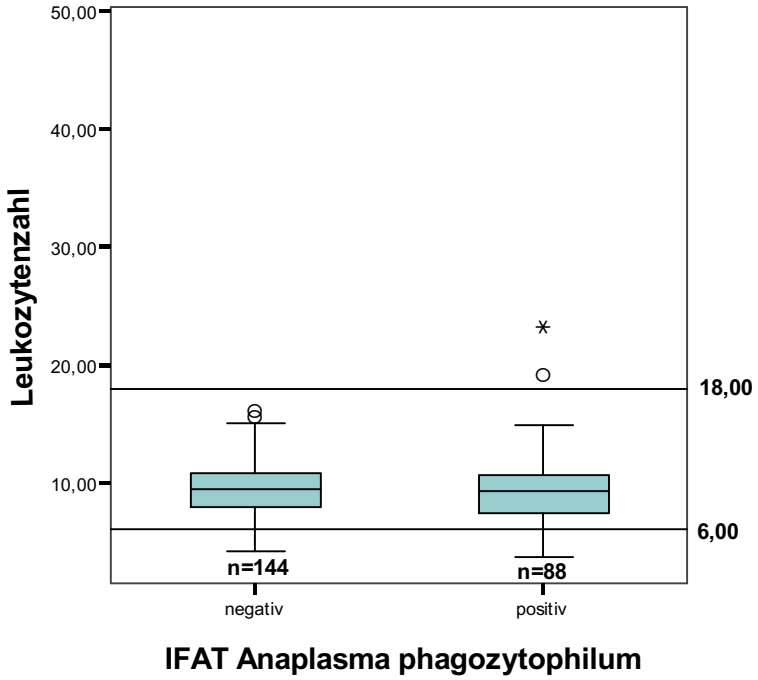


Abbildung 14: Leukozytenzahlen für 232 klinisch gesunde, PCR-negative Hunde und Antikörpertiternachweis (Referenzbereich: 6,00 bis 18,00 x 10^9/l)

Bei 81 (92,0%) seropositiven und 138 (95,8%) seronegativen Hunden lag die Leukozytenzahl im Referenzbereich. Fünf (5,7%) seropositive und 6 (4,2%) seronegative Hunde wiesen eine Leukopenie auf, 2 (2,3%) seropositive Hunde eine Leukozytose. Somit hatten 7 seropositive (8,0%) und 6 seronegative Hunde (4,2%) abnorme Leukozytenzahlen (p = 0,164).

1.8.2. Erythrozytenzahl

Die Erythrozytenzahl für die 232 gesunden, PCR-negativen Hunde lag zwischen 5,05 und 9,15 x 10^{12}/l (7,32 ± 0,73; Median 7,31). Bei den 144 seronegativen Hunden lag sie zwischen 5,46 und 9,15 x 10^{12}/l (7,34 ± 0,76; Median 7,33), bei den 88 seropositiven Hunden zwischen 5,05 und 8,82 x 10^{12}/l (7,28 ± 0,68; Median 7,24) (Abb. 15).

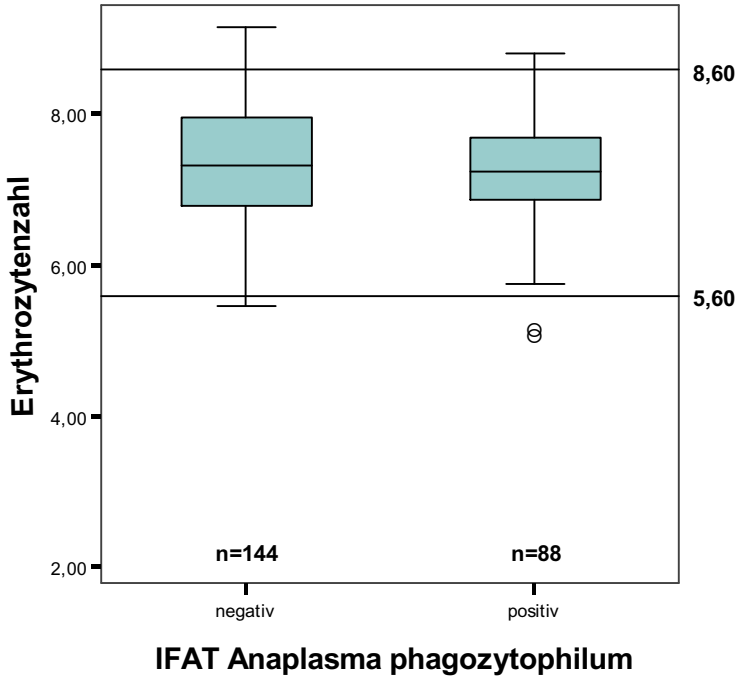


Abbildung 15: Erythrozytenzahl für 232 gesunde, PCR-negative Hunde in Abhängigkeit zum Antikörpertiternachweis. Referenzbereich: 5,60 – 8,60 x 10^{12}/l

Bei je 2 seronegativen (1,4%) und seropositiven (2,3%) Hunden lag die Erythrozytenzahl unter dem Referenzbereich, bei 3 seropositiven (3,4%) und 5 seronegativen (3,5%) über dem Referenzbereich. Seropositive Hunde wiesen nicht häufiger abnorme Erythrozytenzahlen auf als seronegative (p = 0,882).

1.8.3. Hämatokrit

Bei 232 gesunden, PCR-negativen Hunden lag der Hämatokrit zwischen 0,35 und 0,61l/l (0,49 ± 0,045; Median 0,49). Bei den 144 seronegativen Hunden schwankte er zwischen 0,38 und 0,59l/l (0,49 ± 0,044; Median 0,49), bei den 88 seropositiven zwischen 0,35 und 0,61l/l (0,49 ± 0,046; Median 0,49) (Abb. 16).

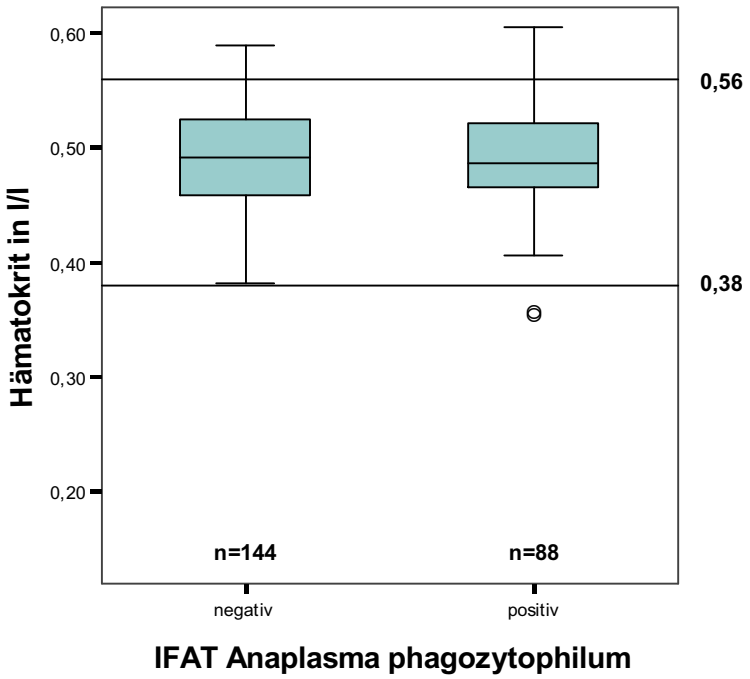


Abbildung 16: Hämatokrit für 232 gesunde, PCR-negative Hunde in Abhängigkeit zum Antikörpertiternachweis (Referenzbereich: 0,38 – 0,56l/l)

Bei 8 seronegativen Hunden (5,6%) lag der Hämatokrit über dem Referenzbereich, bei keinem seronegativen Hund lag er unterhalb des Referenzbereichs. Bei 2 seropositiven Hunden (2,3%) lag er unterhalb, bei 7 (8,0%) oberhalb des Referenzbereichs. Insgesamt wiesen 17 Hunde (7,3%) abnorme Hämatokritwerte auf (8 seronegative [5,6%], 9 seropositive [10,2%] Hunde) (p = 0,143).

1.8.4. Thrombozytenzahl

Die Thrombozytenzahl lag bei 232 gesunden, PCR-negativen Hunden zwischen 63,330 und 764,000 x 10^9/l (298,152 ± 91,806; Median 280,000). Bei den 144 seronegativen Hunden schwankte sie zwischen 129,000 und 764,000 x 10^9/l (293,354 ± 88,841; Median 277,000), bei den seropositiven Hunden zwischen 63,300 und 583,000 x 10^9/l (306,003 ± 96,462; Median 284,000) (Abb. 17).

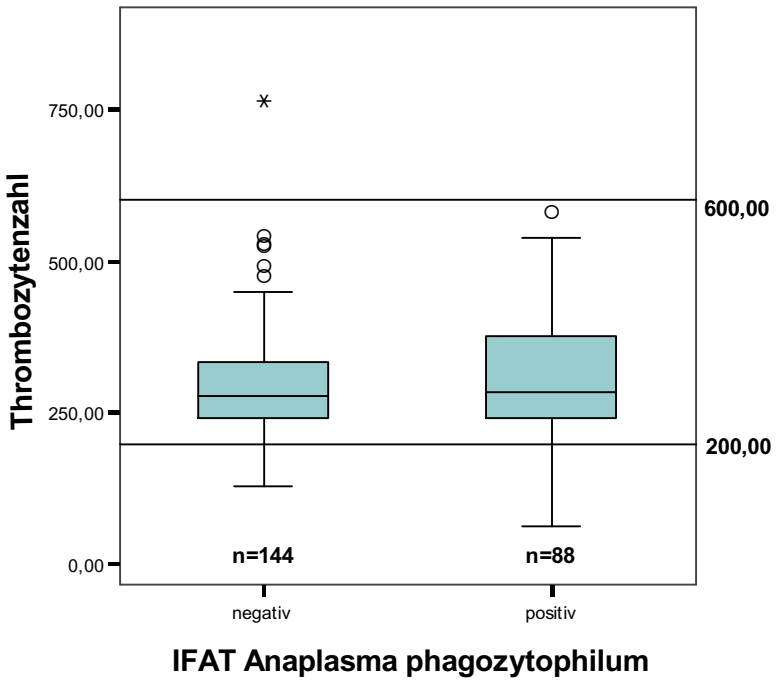


Abbildung 17: Thrombozytenzahl in Abhängigkeit zum Antikörpertiternachweis für n = 232 gesunde, PCR-negative Hunde (Referenzbereich: 200 – 600 x 10^9/l)

16 seronegative Hunde (11,1%) wiesen eine Thrombozytopenie auf, bei einem Hund (0,7%) lag die Thrombozytenzahl über dem Referenzbereich. Bei den seropositiven Hunden hatten 11 (12,5%) eine Thrombozytopenie. Insgesamt fielen also bei 28 Hunden (12,1%) abnorme Thrombozytenwerte auf (17 [19,3%] seropositive Hunde, 11 [7,6%] seronegative Hunde). Seropositive Hunde wiesen nicht häufiger abnorme Thrombozytenzahlen auf als seronegative Hunde (p = 0,703).

1.9. Befunde der Hämatologie bei gesunden PCR-positiven Hunden

Es sollte untersucht werden, ob klinisch gesunde, PCR-positive Hunde Blutbildveränderungen aufweisen, die auf eine Infektion mit *A. phagozytophilum* und speziell auf den Status der Bakteriämie hinweisen. Bei allen Hunden lagen die Parameter der Hämatologie im Referenzbereich (Abb. 18-20).

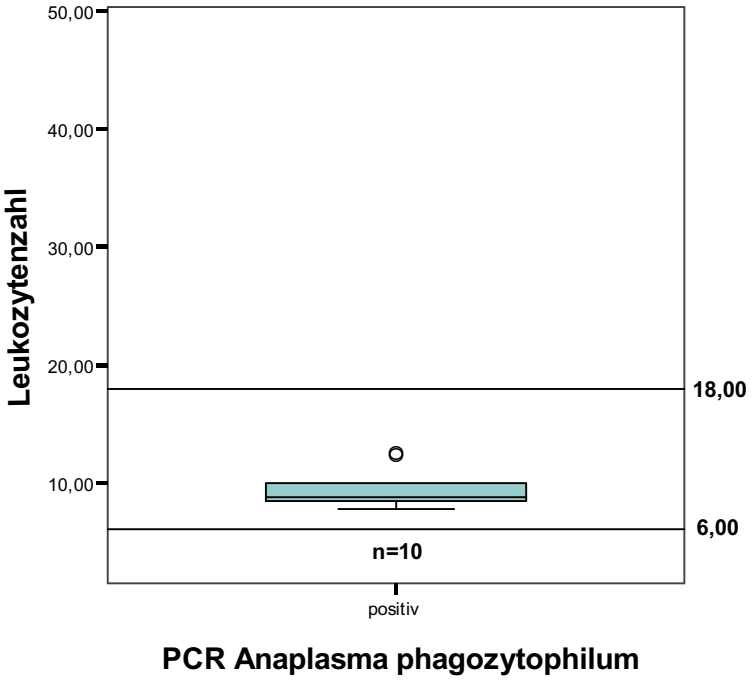


Abbildung 18: Leukozytenzahl für n = 10 klinisch gesunde Hunde mit einem positiven PCR-Ergebnis (Referenzbereich: 6,00 – 18,00 x 10^9/l)

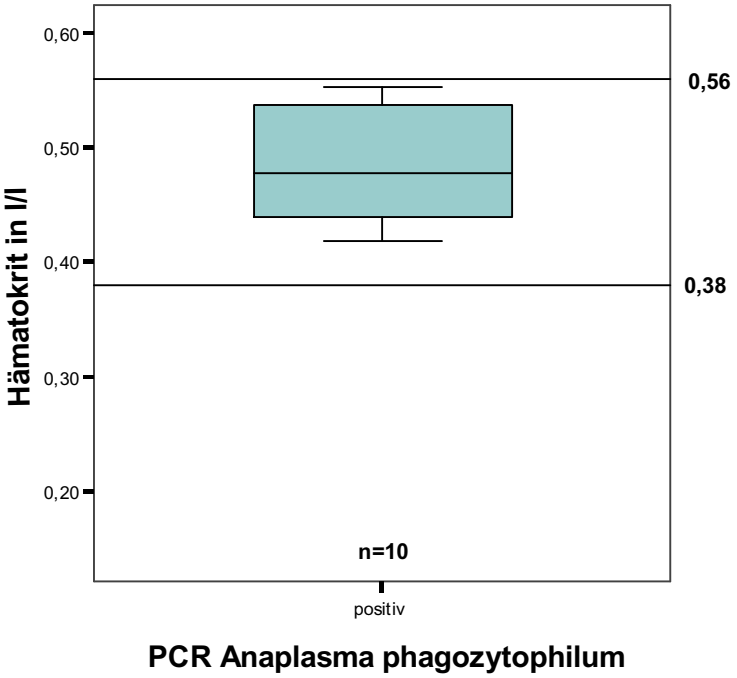


Abbildung 19: Hämatokrit für n = 10 klinisch gesunde Hunde mit einem positiven PCR-Ergebnis (Referenzbereich: 0,38 – 0,56l/l)

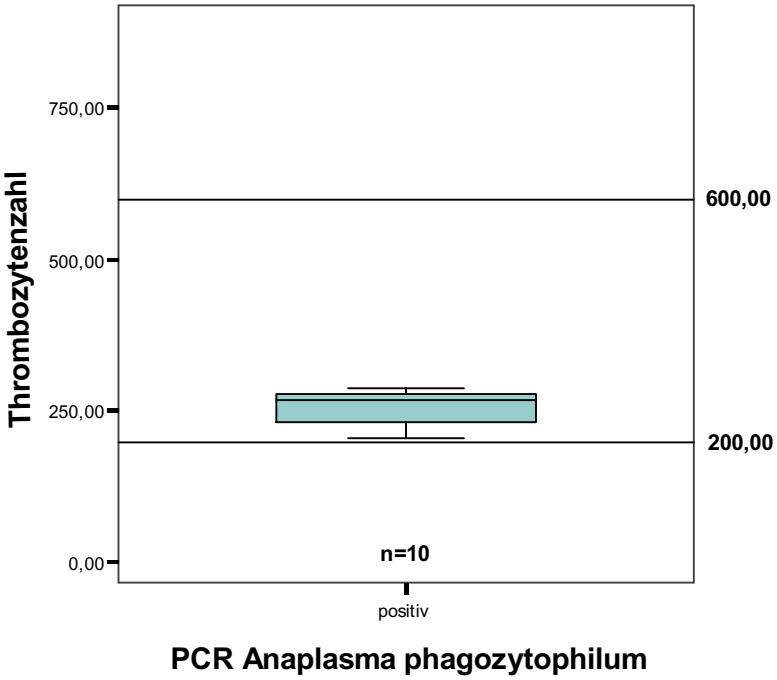


Abbildung 20: Thrombozytenzahl für n = 10 klinisch gesunde Hunde mit einem positiven PCR-Ergebnis (Referenzbereich: 200 – 600 x 10^9/l)

1.10. Auslandsaufenthalt in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf *A. phagozytophilum*

Insgesamt waren 158 Hunde (30%) im Ausland gewesen. Die meisten Hunde waren in Polen (23), Italien (22), Spanien (19), Österreich (17), Ungarn (13) und Griechenland (12). Die übrigen Länder waren weniger als zehnmal vertreten. 249 Hunde hatten nach Besitzerangaben Deutschland nie verlassen (Tab. 27).

Tabelle 27: Angaben zum Auslandsaufenthalt für 258 kranke, anaplasmoseverdächtige und 264 gesunde Hunde

Auslandsaufenthalt	**Krank n (%)**	**Gesund n (%)**	**Gesamt n (%)**
Kein Auslandsaufenthalt	85 (33)	164 (62)	249 (48)
Auslandsaufenthalt	94 (37)	64 (24)	158 (30)
Kein Auslandsaufenthalt seit im Besitz	6 (2)	8 (3)	14 (3)
Unbekannt	73 (28)	28 (11)	101 (19)
Gesamt	258 (100)	264 (100)	522 (100)

Für 249 Hunde ohne Auslandsaufenthalt wurde die Seroprävalenz noch einmal gesondert berechnet, um Aussagen über die Infektionshäufigkeit in Deutschland treffen zu können (Tab. 28).

Tabelle 28: Ergebnisse des IFAT *A. phagozytophilum* für 85 kranke, anaplasmoseverdächtige und 164 gesunde Hunde ohne Auslandsaufenthalt

Gruppe	Negativ n (%)	Positiv n (%)	Gesamt n (%)
Krank	44 (51,8)	41 (48,2)	85 (100,0)
Gesund	97 (59,1)	67 (40,9)	164 (100,0)
Gesamt	141 (56,6)	108 (43,4)	249 (100,0)

Die Seroprävalenz für Hunde, die nicht im Ausland waren, betrug 43,4% (gesunde Hunde 40,9%, kranke Hunde 48,2%).

1.11. Zeckenbefall und Ektoparasitikaeinsatz in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf *A. phagozytophilum*

Die Ergebnisse der Fragebögen sind der Tabelle 29 zu entnehmen. Vorberichtlich mit Zecken befallene Hunde waren nicht häufiger seropositiv als Hunde, die nach Besitzerangaben keine Zecken hatten (p = 0,302). PCR-positive Hunde waren signifikant häufiger von Zecken befallen als Hunde ohne vorberichtlichen Zeckenbefall (p = 0,035).
Laut Besitzerangaben wurden 168 Hunde mit Ektoparasitika behandelt. Folgende gegen Zecken zugelassene Präparate kamen zum Einsatz: Permethrin (81 [48,2%]), Fipronil (44 [26,2%]), Amitraz (2 [1,2%]), Deltamethrin (2 [1,2%]), Propoxur und Flumethrin (1 [0,6%]). 34 (20,2%) Besitzer konnten keine Angabe über den eingesetzten Wirkstoff machen. 4 Hunde (2,4%) wurden ausschließlich mit Wirkstoffen behandelt, die gegen Zecken wirkungslos sind (Lufenuron, Imidacloprid, Selamectin, Imidacloprid-Moxidectin). Somit wurden 130 Hunde regelmäßig mit Ektoparasitika behandelt, die gegen Zecken wirksam sind. Es konnte kein Unterschied im Zeckenbefall zwischen behandelten und unbehandelten Hunden festgestellt werden (p = 0,208). Regelmäßig mit Ektoparasitika behandelte Hunde waren nicht weniger oft seropositiv als unregelmäßig oder gar nicht behandelte Hunde (p = 0,829).

Tabelle 29: Auswertung der Fragebögen in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf *A. phagozytophilum* (n = 315 Hunde mit bekannten Angaben über Zeckenbefall und -prophylaxe)

IFAT	PCR	Zeckenbefall	Regelmäßiger Ektoparasitikaeinsatz		Gesamt
			ja	Nein/unregelmäßig/mit gegen Zecken unwirksamen Präparaten	
negativ	**negativ**	**Nein**	11	21	32
		Ja	61	73	134
		Keine Angabe	0	7	7
		Gesamt	72	101	173
	positiv	**Nein**	0	0	0
		Ja	4	3	7
		Keine Angabe	0	0	0
		Gesamt	4	3	7
positiv	**negativ**	**Nein**	5	10	15
		Ja	43	57	100
		Keine Angabe	1	3	4
		Gesamt	49	70	119
	positiv	**Nein**	0	0	0
		Ja	4	10	14
		Keine Angabe	1	1	2
		Gesamt	5	11	16
Gesamt			130	185	315

2. Studie über die Wirksamkeit einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe mit Permethrin-Imidacloprid

27 initial negativ für *A. phagozytophilum* getestete Hunde (IFAT/Morulae/PCR) gingen zusätzlich als Langzeitprobanden in diesen Teil der Studie ein. Sie wurden alle 4 Wochen mit Permethrin-Imidacloprid (Advantix®) behandelt. Alle Hunde wurden im Abstand von 3 bis 4 Monaten erneut auf *A. phagozytophilum* untersucht. Als Vergleichsgruppe dienten 185 nicht/unregelmäßig/mit gegen Zecken unwirksamen Präparaten behandelte Hunde. Diese wurden lediglich einmal untersucht, Verlaufskontrollen wurden nicht durchgeführt. 127 Hunde der Vergleichsgruppe waren klinisch gesund, 58 Hunde waren krank und anaplasmoseverdächtig.

2.1. Signalement

Neunzehn der 27 Hunde gehörten 12 verschiedenen Rassen an, 8 waren Mischlinge (Tab. 30).

Tabelle 30: Rasseverteilung für n = 27 Langzeitprobanden

Rasse	Anzahl (n)
Mischling	8
Labrador Retriever	4
Papillon	3
Boxer	2
Cocker Spaniel	2
Border Collie	1
Deutscher Schäferhund	1
Dobermann	1
Irish Setter	1
Magyar Agar	1
Parson Russel Terrier	1
Saluki	1
Teckel	1
Gesamt	27

Für 26 Hunde standen Altersangaben zur Verfügung: Sie waren zwischen 1 und 13 Jahren alt (3,5 ± 3,15; Median 2,00). 14 Hunde waren männlich (4 kastriert), 13 Hunde weiblich (5 kastriert).
Von 185 Hunden der Vergleichsgruppe waren 71 Hunde Mischlinge, 114 gehörten 39 verschiedenen Rassen an. Bei 182 dieser 185 Hunde war das Alter bekannt, es lag zwischen 0,25 und 15 Jahren (5,9 ± 3,17; Median 6,00). 90 Hunde waren männlich (29 kastriert), 95 weiblich (35 kastriert).

2.2. Zeckenbefall

Informationen über den vom Besitzer beobachteten Zeckenbefall sind der Tabelle 31 zu entnehmen. 22 der 27 Langzeitprobanden hatten nach Besitzerangaben vor der regelmäßigen Anwendung von Advantix® Zecken gehabt, bei 4 Hunden hatten die Besitzer keinen

Zeckenbefall beobachtet, ein Besitzer hatte nicht auf den Zeckenbefall geachtet. 174 der 185 Besitzer von Hunden der Vergleichsgruppe konnten Aussagen über den Zeckenbefall machen. Danach hatten 143 Hunde vorberichtlich Zecken, 31 Hunde hatten nach Besitzerangaben keine Zecken. Während des Untersuchungszeitraums achteten alle Langzeitprobandenbesitzer auf den Zeckenbefall ihrer Hunde. Bei 7 Hunden kam es wenige Tage vor der nächsten Advantix®-Behandlung zu einem Zeckenbefall. Die Zecken waren nach Besitzeraussage nicht fest angeheftet. Auch bei 5 Hunden, die gern ins Wasser gingen, war die Wirkung gut: Sie hatten keine Zecken (3) bzw. lediglich wenige Tage vor dem nächsten Auftragen (2). Bei 6 Hunden wurde von einem mehrere Tage andauernden Juckreiz an der Applikationsstelle berichtet. Ein Hund, der vorberichtlich regelmäßig in Bayern war und dort immer viele Zecken hatte, wurde bei Aufenthalten in Bayern während des Untersuchungszeitraums alle 2 Wochen mit Advantix® behandelt, was nach Besitzerangaben einen Zeckenbefall vollständig verhinderte.

Tabelle 31: Zeckenbefall bei 27 Langzeitprobanden (Gruppe 1) und 185 Hunden der Vergleichsgruppe (Gruppe 2)

Gruppe	**Zeckenbefall**			**Gesamt**
	ja	**nein**	**Keine Angabe**	
1 (vor dem Studienzeitraum)	22 (81,5%)	4 (14,8%)	1 (3,7%)	27 (100%)
1 (während des Studienzeitraums)	7 (25,9%)	20 (74,1%)	0 (0,0%)	27 (100%)
2	143 (77,2%)	31 (16,8%)	11 (6,0%)	185 (100%)

2.3. Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* (Abbildungen 21 und 22)

Entsprechend der Einschlusskriterien für diesen Teil unserer Studie waren alle Langzeitprobanden zu Beginn des Untersuchungszeitraums sero- sowie Blutausstrich- und PCR-negativ. 26/27 Hunden blieben während des Untersuchungszeitraums seronegativ, ein Hund serokonvertierte (Antikörpertiter: 1:128). Die Ergebnisse der hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchungen des serokonvertierten Hundes lagen alle im Referenzbereich. Die PCR war innerhalb des Untersuchungszeitraums bei keinem Langzeitprobanden positiv.
43,8% (n = 81) der Hunde der Vergleichsgruppe waren seropositiv, 7,5% (n = 14) waren PCR-positiv. Drei der PCR-positiven Hunde waren klinisch gesund, 11 waren krank und anaplasmoseverdächtig. In den Blutausstrichen von 9 der 14 PCR-positiven Hunde konnten Morulae in neutrophilen Granulozyten identifiziert werden.
Statistisch konnte gezeigt werden, dass mit Advantix® behandelte Hunde signifikant häufiger seronegativ waren als Hunde der Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Alle Langzeitprobanden waren zwar PCR- und Morulae-negativ, doch war der Unterschied zu Hunden der Vergleichsgruppe aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikant ($p = 0,131$ bzw. $p = 0,685$).

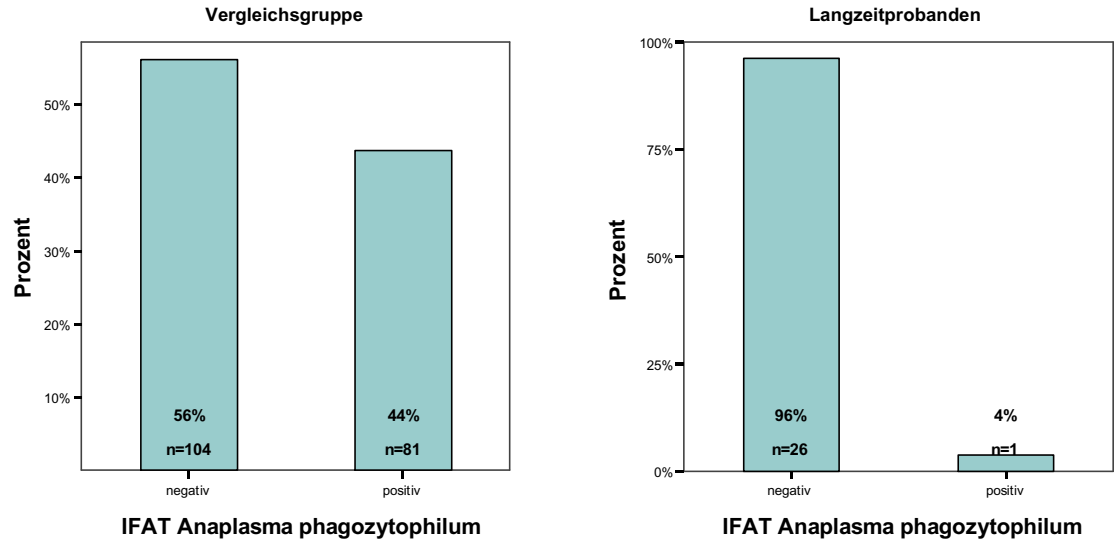


Abbildung 21: Antikörpertiternachweis (*A. phagozytophilum*) für 185 nicht/unregelmäßig/mit gegen Zecken unwirksamen Präparaten behandelte Hunde (Vergleichsgruppe) und 27 Langzeitprobanden

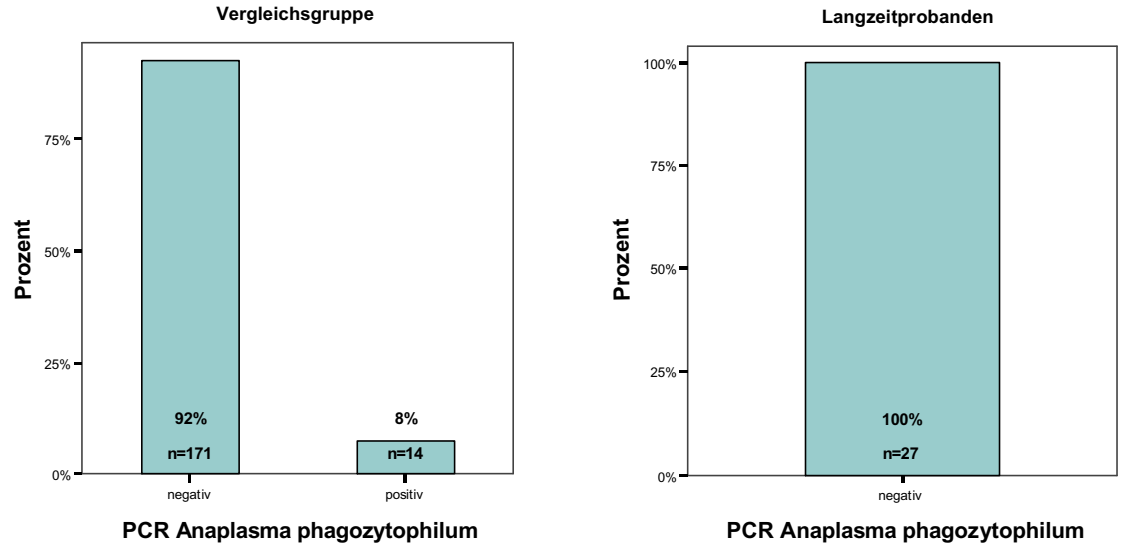


Abbildung 22: PCR *A. phagozytophilum* für 185 nicht/unregelmäßig/mit gegen Zecken unwirksamen Präparaten behandelte Hunde (Vergleichsgruppe) und 27 Langzeitprobanden

3. Klinische Studie

Von Juni 2005 bis Juli 2007 war die PCR für *A. phagozytophilum* bei 23 kranken, anaplasmoseverdächtigen Hunden positiv. Vier Hunde wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen, da bei ihnen Ko-Infektionen nachgewiesen wurden: *E. canis* (2), *L. infantum* (1), septische Arthritis mit MRSA (1).
Entsprechend der Einschlusskriterien (s. Material und Methoden 3.) wurde die Diagnose CGA bei 19 Hunden gestellt.

3.1. Untersuchungen auf *A. phagozytophilum*

Die Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* sind der Tabelle 32 zu entnehmen.

Tabelle 32: Übersicht über die Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* (n = 19 Hunde mit CGA). n.d. = nicht durchgeführt

Fall	IFAT *A. phago-zytophilum*	ELISA (SNAP®4Dx®) *A. phagozytophilum*	Morulae	PCR *A. phagozytophilum*
1	> 1:256	Negativ	Vereinzelt	Positiv
2	> 1:256	Negativ	Zahlreich	Positiv
3	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv
4	> 1:256	Positiv	Negativ	Positiv
5	1:64	Negativ	Vereinzelt	Positiv
6	1:32	Negativ	Negativ	Positiv
7	> 1:128	Positiv	Negativ	Positiv
8	Negativ	Negativ	Massenhaft	Positiv
9	Negativ	Positiv	Vereinzelt	Positiv
10	> 1:256	Positiv	Negativ	Positiv
11	1:64	Negativ	Vereinzelt	Positiv
12	> 1:128	Positiv	Zahlreich	Positiv
13	1:32	Negativ	Negativ	Positiv
14	> 1:128	Negativ	Positiv	Positiv
15	> 1:256	Positiv	Negativ	Positiv
16	> 1:128	Positiv	Negativ	Positiv
17	> 1:128	Positiv	Vereinzelt	Positiv
18	Negativ	Negativ	Negativ	Positiv
19	Negativ	n.d.	Vereinzelt	Positiv

3.1.1. PCR *A. phagozytophilum*

Die PCR für den direkten Nachweis von *A. phagozytophilum* war bei allen Hunden positiv (Einschlusskriterium).

3.1.2. Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten

Bei 10 Hunden wurden Morulae in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen, bei 9 Hunden konnten keine Morulae identifiziert werden.

3.1.3. IFAT und ELISA *A. phagozytophilum*

Sieben Hunde waren mittels IFAT seronegativ, 12 Hunde seropositiv für *A. phagozytophilum* (Abb. 23)

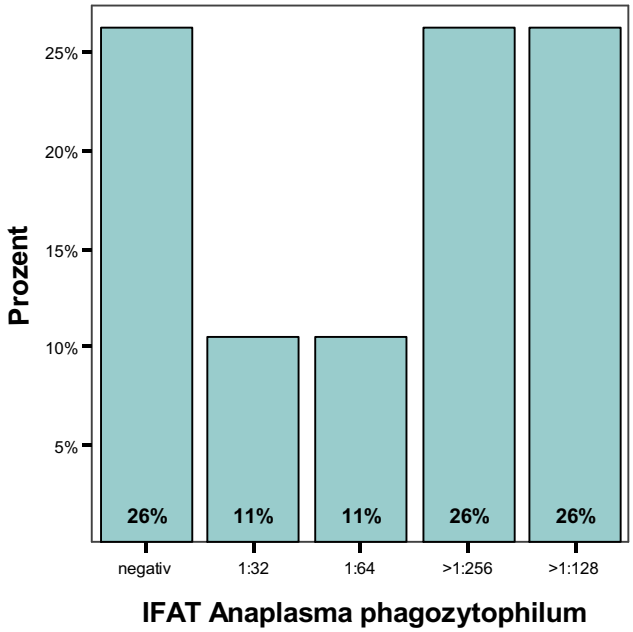


Abbildung 23: IFAT *A. phagozytophilum* für n = 19 Hunde mit CGA

Mittels des ELISA-Verfahrens wurden 18 der 19 Hunde u.a. auf Antikörper gegen *A. phagozytophilum* getestet. Die Untersuchung ergab bei 50% ein positives Ergebnis. Bei 11/18 (61%) stimmten die Aussagen der beiden eingesetzten Testverfahren (IFAT und ELISA) überein (Tab. 33).

Tabelle 33: Vergleich der Ergebnisse zweier Verfahren zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagozytophilum*: IFAT und ELISA (SNAP®4Dx®) (n = 18 Hunde mit CGA, bei denen beide Verfahren eingesetzt wurden)

Ergebnis	IFAT *A. phago-zytophilum*	Vergleich ELISA – IFAT identische Ergebnisse	Vergleich ELISA – IFAT abweichende Ergebnisse
Positiv	12	7	5
Negativ	6	4	2
Gesamt	18	11	7

3.2. Signalement (Tab. 34)

Tabelle 34: Signalement (Rasse, Alter und Geschlecht) für n = 19 Hunde mit CGA

Fall	Rasse	Alter in Jahren	Geschlecht
1	Golden Retriever	8	weiblich
2	American Staffordshire	5	weiblich kastriert
3	Mischling	6	männlich kastriert
4	American Pitbull	12	männlich
5	Mischling	6	männlich kastriert
6	Pudel	12	männlich
7	Mischling	8	männlich kastriert
8	Shih Tzu	10	männlich
9	Golden Retriever	8	männlich
10	Mischling	13	männlich kastriert
11	Riesenschnauzer	10	weiblich
12	Cocker Spaniel	2	männlich kastriert
13	Labrador Retriever	4	männlich
14	Mischling	6	männlich
15	Cocker Spaniel	2	weiblich
16	Golden Retriever	8	weiblich
17	Irish Terrier	12	männlich
18	Mischling	6	männlich kastriert
19	Mischling	10	männlich kastriert

Das Rassespektrum der Hunde mit CGA ist in Tabelle 34 wiedergegeben. 7 Hunde waren Mischlinge, 12 Hunde gehörten 9 verschiedenen Rassen an.

Das Alter der an CGA erkrankten Hunde schwankte zwischen 2 und 13 Jahren (7,79 ± 3,31; Median 8,00) (Tab. 34)

Die Verteilung der Geschlechter ist der Tabelle 34 zu entnehmen. Vierzehn Hunde waren männlich (7 kastriert), 5 Hunde weiblich (1 kastriert). Das Geschlechterverhältnis war zugunsten der männlichen Tiere verschoben.

3.3. Anamnese

Alle Hunde waren akut erkrankt. Die Diagnose CGA wurde bei 17 Hunden zwischen April und September, bei 2 Hunden im November bzw. Dezember gestellt (Abb. 24).

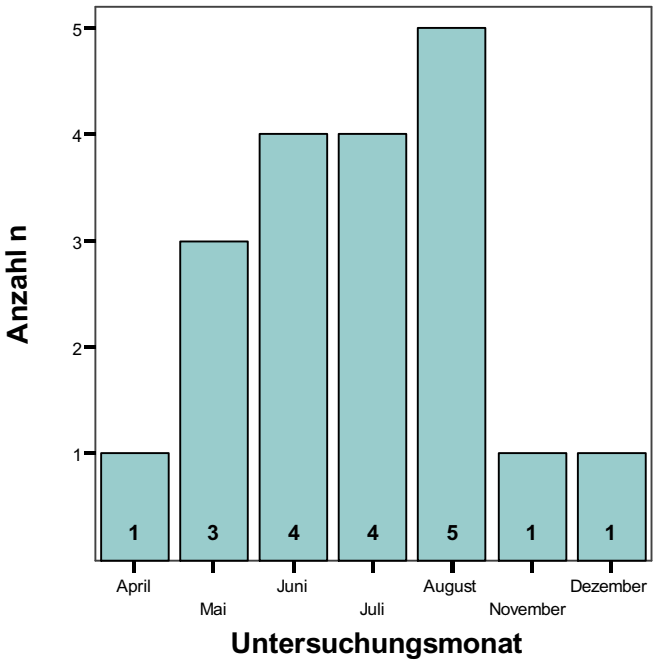


Abbildung 24: Untersuchungsmonat, in dem die Diagnose CGA gestellt wurde (n = 19 Hunde mit CGA)

18 Hunde wurden natürlich, ein Hund über eine Bluttransfusion im Dezember mit *A. phagozytophilum* infiziert, wobei der Spender sowohl klinisch als auch hämatologisch und klinisch-chemisch unauffällig war (s. 3.4. Laboruntersuchungen für einen Spender, mit dessen Blut ein Hund über eine Bluttransfusion infiziert wurde).
Das DEA 1.1.-positive Erythrozytenkonzentrat musste dem Empfänger vor Erhalten der PCR-Ergebnisse auf *A. phagozytophilum* transfundiert werden, da zu diesem Zeitpunkt keine Konserve mit bekannten PCR-Ergebnissen zur Verfügung stand. Das Spendertier war PCR-positiv, zusätzlich konnten Morulae in neutrophilen Granulozyten identifiziert werden.
Die meisten Hunde wurden wegen Lethargie (18), Inappetenz (15) und verminderter Leistungsfähigkeit (12) vorgestellt. Weitere Vorstellungsgründe waren Polydipsie/Polyurie (PD/PU) (3), Diarrhoe (3), Vomitus (2), Aufstehschwierigkeiten (1) und Kollaps (1).
Ein Zeckenbefall wurde von 14 Besitzern beobachtet. Bei einem Hund hatten die Besitzer keine Zecken bemerkt, 3 Besitzer konnten diesbezüglich keine Aussage machen, da sie auf den Zeckenbefall nicht geachtet hatten, für einen Hund standen keine Angaben über den Zeckenbefall zur Verfügung.
5 Hunde wurden regelmäßig, d.h. nach Angabe der Besitzer im Abstand von 4 Wochen mit Ektoparasitika behandelt: Advantix® (2), Exspot® (2) und Frontline® (1). 11 Hunde wurden nicht (7) bzw. unregelmäßig (4) durch Ektoparasitika geschützt. Für 3 Hunde standen diesbezüglich keine Informationen zur Verfügung.
11 Hunde hatten Deutschland nie verlassen, 6 Hunde waren in verschiedenen europäischen Ländern (Dänemark, Kroatien, Polen, Slowenien) gewesen. Für 2 Hunde standen keine Informationen über den Auslandsaufenthalt zur Verfügung (Tab. 35).

Tabelle 35: Auslandsaufenthalt für n = 19 Hunde mit CGA

Fall	Auslandsaufenthalt
1	Kein Auslandsaufenthalt
2	Slowenien
3	Keine Angabe
4	Dänemark
5	Kein Auslandsaufenthalt
6	Kein Auslandsaufenthalt
7	Kein Auslandsaufenthalt
8	Kein Auslandsaufenthalt
9	Polen
10	Kein Auslandsaufenthalt
11	Kein Auslandsaufenthalt
12	Polen
13	Kein Auslandsaufenthalt
14	Auslandsaufenthalt ja, Land nicht bekannt
15	Kein Auslandsaufenthalt
16	Kroatien
17	Kein Auslandsaufenthalt
18	Kein Auslandsaufenthalt
19	Keine Angabe

3.4. Ergebnisse der Hämatologie und klinischen Chemie eines Spenders mit dessen Blut ein Hund über eine Bluttransfusion infiziert wurde (Tab. 36 und 37)

Tabelle 36: Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung für den Blutspender, mit dessen Blut ein Hund mit *A. phagozytophilum* infiziert wurde

Parameter	Ergebnis
Leukozyten (10^9/l)	12,4
Erythrozyten (10^{12}/l)	7,51
Hämoglobin (mmol/l)	11,92
Hämatokrit (l/l)	0,53
MCV (fl)	71,5
MCH (fmol)	1,59
MCHC (mmol/l)	22,2
Thrombozyten (10^9/l)	289

Tabelle 37: Ergebnisse der klinisch-chemischen Untersuchung für den Blutspender, mit dessen Blut ein Hund mit *A. phagozytophilum* infiziert wurde

Parameter (Einheit)	**Ergebnis**
Natrium (mmol/l)	145
Kalium (mmol/l)	4,3
Glukose (mmol/l)	4,9
Totalprotein (g/l)	60
Albumin (g/l)	31
Kreatinin (µmol/l)	81
Phosphat (mmol/l)	1,3
Alaninaminotransferase (IU/l)	72
Alkalische Phosphatase (IU/l)	58
Aspartataminotransferase (IU/l)	25
Bilirubin (µmol/l)	2,4
Cholesterin (mmol/l)	3,8

3.5. Klinische Untersuchung

Die meisten Hunde hatten unspezifische Symptome: Mattigkeit (18), Inappetenz (16) und Fieber (11). Seltenere Befunde waren blasse Schleimhäute (6), ein angespanntes Abdomen (6), Diarrhoe (3), Vomitus (2), PD/PU (3), Oberflächenblutungen (3) und Lahmheiten (2) (Tab. 38).
Ein Hund wurde in Seitenlage mit einer ventrikulären Tachykardie und Tachypnoe vorgestellt, ein anderer Hund kollabierte während der klinischen Untersuchung.
Die Temperatur der an CGA erkrankten Hunde lag zwischen 38,3 und 41,0°C (39,51 ± 0,80; Median 39,5). 11 Hunde hatten Fieber. Die Temperatur lag bei diesen Hunden zwischen 39,2 und 41,0°C (39,96 ± 0,61; Median 40,0°C).

Tabelle 38: Klinische Befunde (n = 19 Hunde mit CGA)

Klinisches Symptom	**Anzahl**
Mattigkeit	18
Inappetenz	16
Fieber	11
Blasse Schleimhäute	6
Angespanntes Abdomen	6
PD/PU	3
Diarrhoe	3
Vomitus	2
Lahmheit	2
Petechien	2
Meläna	1
Epistaxis	1
Kollaps	1

3.6. Hämatologische Untersuchung

Die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung sind den Tabellen 39 bis 41 zu entnehmen.

Tabelle 39: Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung für n = 19 Hunde mit CGA (Ref. = Referenzbereich)

Fall	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
1	21,1	3,0	3,8	0,19	64,3	1,3	19,6	90,1
2	4,1	4,7	7,2	0,33	69,9	1,5	21,9	16,4
3	11,6	6,3	9,6	0,43	67,5	1,5	22,7	164,0
4	4,7	5,3	7,9	0,37	69,2	1,5	21,4	13,8
5	10,7	8,5	12,0	0,57	66,9	1,4	21,2	76,7
6	3,3	7,3	10,1	0,49	67,1	1,4	20,8	32,8
7	5,6	4,6	6,2	0,30	65,2	1,4	20,9	43,0
8	13,3	5,8	7,8	0,37	63,9	1,4	21,4	156,0
9	14,1	5,5	8,6	0,40	71,8	1,6	21,7	296,0
10	8,8	4,8	6,9	0,32	66,1	1,4	21,5	192,0
11	6,6	5,8	8,4	0,39	66,9	1,5	21,7	12,5
12	4,8	7,3	10,1	0,46	63,5	1,4	21,8	9,55
13	23,1	4,8	7,1	0,32	66,1	1,5	22,4	32,0
14	7,5	6,5	9,6	0,43	66,5	1,5	22,2	18,5
15	11,4	6,7	9,4	0,44	65,4	1,4	21,5	95,8
16	23,9	4,1	5,5	0,27	65,5	1,3	20,2	109,0
17	12,9	5,1	4,4	0,35	68,4	1,5	22,2	5,17
18	22,2	3,0	4,4	0,19	62,8	1,5	23,1	12,0
19	19,0	5,0	7,5	0,34	67,1	1,5	22,2	58,3
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 40: Ergebnisse des Differenzialblutbildes für 19 Hunde mit CGA, n.d. = nicht durchgeführt (Ref. = Referenzbereich)

Fall	Juvenile stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Stabkernige Granulo-zyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulo-zyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
1	0	422	15825	0	0	4642	211
2	0	122	3477	0	0	245	245
3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	0	94	3995	0	0	470	141
5	0	428	9737	107	0	214	214
6	0	33	2329	0	0	820	98
7	0	56	4846	0	0	390	279
8	0	242	10406	0	0	968	484
9	0	423	8883	564	0	2961	1269
10	0	175	6944	0	0	1143	527
11	0	0	5601	0	0	593	395
12	0	48	3600	0	0	240	912
13	0	231	16170	0	0	4158	2541
14	0	75	4930	0	0	1345	1121
15	0	0	10032	114	0	1026	228
16	478	4302	13862	0	0	2629	2629
17	0	645	11739	0	0	129	387
18	0	2442	15096	666	0	1998	1998
19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ref.	0	0 - 500	3000 - 9000	40 - 600	40 - 500	1000 - 3600	40 - 500

Tabelle 41: Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung für n = 19 Hunde mit CGA

Parameter	Min	Max	Median	MW	StdAbw	Abnorme Befunde	
						↓	↑
Thrombozyten (x 10^9/l))	5,17	296	43	75,45	78,59	18	0
Erythrozyten (x 10^9/l)	2,99	8,45	5,3	5,48	1,4044	11	0
Hämoglobin (mmol/l)	3,8	12,0	7,8	7,7	2,1989	11	0
Hämatokrit (l/l)	0,19	0,57	0,37	0,36	0,0944	11	1
MCV (fl)	63	72	67	36,49	2,2494	0	1
MCH (fmol)	1,3	1,7	1,45	1,44	0,0771	0	0
MCHC (mmol/l)	19,6	23,1	21,66	21,59	0,0771	0	1
Leukozyten (x 10^9/l))	3,28	23,90	11,4	12,03	6,8918	5	5
Stabkernige Neutrophile (x 10^6/l))	0	4300	175	573	1119	---	3
Segmentkernige Neutrophile (x 10^6/l)	2330	16170	8880	8,675	4,656	1	8
Eosinophile (x 10^6/l)	0	670	0	85	203	13	1
Lymphozyten (x 10^6/l)	130	4640	970	1410	1400	9	2
Monozyten (x 10^6/l)	100	2630	395	805	836	0	7

3.6.1. Thrombozyten

18 Hunde hatten eine Thrombozytopenie mit Thrombozytenzahlen zwischen 5,17 und 192,00 x 10^9/l (Median 37,2). Bei 7 dieser Hunde wurde die Thrombozytopenie als hochgradig klassifiziert mit Thrombozytenzahlen < 30.000 x 10^9/l (5,17 - 18,50 x 10^9/l; Median 12,5), bei 7 Hunden als mittelgradig mit Thrombozytenzahlen von 30.000 bis < 100.000 (32,00 - 95,80 x 10^9/l; Median 58,3) und bei 4 Hunden als geringgradig mit Thrombozytenzahlen von 100.000 bis < 200.000 (109,00 - 192,00 x 10^9/l; Median 160,00). Bei drei Hunden wurden Blutungen beobachtet: Ein Hund (Fall 18) hatte Petechien (Tc 12,00 x 10^9/l), ein Hund (Fall 13) Meläna und Petechien (Tc 32,00 x 10^9/l) und ein Hund (Fall 7) Epistaxis (Tc 43,00 x 10^9/l).

3.6.2. Leukozyten und Differenzialblutbild

5 Hunde hatten eine Leukopenie (3,28 - 5,57 x 10^9/l; Median 4,7), 5 Hunde eine Leukozytose (19,00 - 23,90 x 10^9/l; Median 22,2) und 9 Hunde Leukozytenzahlen im Referenzbereich (6,59 - 14,10 x 10^9/l; Median 11,4).
3 Hunde wiesen eine Linksverschiebung auf (645; 2442; 4302 x 10^6/l), bei einem Hund wurden Metamyelozyten im Blutausstrich identifiziert (478 x 10^6/l), bei 14 Hunden lag die Zahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten im Referenzbereich (0 - 428 x 10^6/l; Median 108). Ein Hund hatte eine Neutropenie (2329 x 10^6/l), 8 Hunde eine Neutrophilie (9737 - 16170 x 10^6/l; Median 12800,5), bei 8 Hunden lag die Zahl der segmentkernigen Neutrophilen im Referenzbereich (3477 - 8883 x 10^6/l; Median 4888).

Bei 13 Hunden wurden keine eosinophilen Granulozyten im Blut nachgewiesen, bei 3 Hunden lag die Zahl der Eosinophilen im Referenzbereich (107; 114; 564 x 10^6/l), ein Hund hatte eine Eosinophilie (666 x 10^6/l).
Bei 9 Hunden wurde eine Lymphopenie festgestellt (129 - 968 x 10^6/l, Median 290,37), bei 2 Hunden eine Lymphozytose (4158; 4642 x 10^6/l). 6 Hunde hatten normale Lymphozytenwerte (1026 - 2961 x 10^6/l; Median 1672,5).
Bei 7 Hunden lag eine Monozytose (527 - 2629 x 10^6/l; Median 1269) vor. Die Monozytenzahl von 10 Hunden lag innerhalb des Referenzbereichs (98 - 484 x 10^6/l; Median 236,5).

3.6.3. Erythrozyten, Hämatokrit, Hämoglobin

Eine Anämie, also eine Erniedrigung sowohl der Erythrozytenzahl als auch der Parameter Hkt und Hb, lag bei 10 Hunden vor. Die Erythrozytenzahl betrug für diese Hunde 2,99 bis 5,30 x 10^{12}/l (Median 4,75), der Hkt 0,19 bis 0,37l/l (Median 0,32) und das Hb 3,8 bis 7,9g/dl. (Median 7,0). Zwei Hunde hatten eine schwere Anämie mit einem Hkt < 0,20l/l (0,19l/l); 1 Hund eine moderate Anämie mit einem Hkt von 0,20 bis 0,29l/l (0,27l/l); 7 Hunde eine leichte Anämie mit einem Hkt von 0,30 bis 0,37l/l (0,30 - 0,37l/l; Median 0,33).
Bei allen anämischen Hunden lag eine normozytäre, normochrome Anämie vor.

3.6.4. Retikulozyten

Bei 8 anämischen Hunden wurden die Retikulozytenzahlen bestimmt (Tab. 42). Eine Anämie wurde als regenerativ definiert, wenn die Retikulozytenzahl > 60000/µl war. Bei 5 Hunden war die Anämie nicht-regenerativ (14340 bis 48620/µl; Median 36080), bei 3 Hunden regenerativ (71760; 106560; 120400/µl).

Tabelle 42: Initiale Erythrozyten- und Retikulozytenzahlen für n = 8/10 anämischen Hunden mit CGA. Für die Fälle 4 und 7 lagen keine Retikulozytenzahlen vor.

Fall	Erythrozyten (x 10^6/l)	Retikulozyten (%)	Retikulozyten (/µl)
1	2,99	2,4	71760
2	5,80	0,5	29000
7	6,02	2,0	120400
10	4,51	0,8	36080
13	4,78	0,3	14340
16	3,74	1,3	48620
17	3,70	1,2	44400
18	3,33	3,2	106560

3.7. Klinische Chemie

Die Ergebnisse der klinischen Chemie sind den Tabellen 43 und 44 zu entnehmen.

Tabelle 43a: Ergebnisse der klinischen Chemie für n = 19 Hunde mit CGA, n.d. = nicht durchgeführt, Ref. = Referenzbereich

Fall	Na (mmol/l)	K (mmol/l)	Glc (mmol/l)	Urea (mmol/l)	Krea (µmol/l)	Prot (g/l)	Alb (g/l)	Glob (g/l)
1	151	3,4	5,7	4,63	40,5	60,1	25,0	35,1
2	144	3,1	4,2	3,26	65,4	68,3	25,3	43,0
3	141	4,0	5,9	n.d.	81,3	57,4	26,2	31,2
4	145	2,9	5,7	6,6	77,8	59,2	26,0	33,2
5	146	3,9	4,4	2,9	101,7	71,3	31,2	40,1
6	146	4,4	4,9	5,2	80,5	63,2	28,9	34,3
7	143	4,2	5,0	3,8	77,8	69,5	29,4	40,1
8	139	3,2	4,5	7,0	58,4	62,3	24,3	38,0
9	148	6,2	5,7	3,3	53,9	62,5	24,9	37,6
10	148	3,6	5,6	50,5	501,2	78,0	32,8	45,2
11	147	4,2	5,4	3,9	76,0	71,6	27,6	44,0
12	150	3,6	5,2	3,2	58,4	63,3	24,1	39,2
13	150	4,2	7,7	4,4	53,0	57,9	29,4	28,5
14	148	4,2	5,2	4,8	86,6	62,1	26,6	35,5
15	146	3,8	4,9	3,3	49,5	57,6	26,9	30,7
16	146	4,1	5,6	5,4	60,1	76,8	25,8	51,0
17	139	4,3	6,1	6,3	76,0	66,2	26,5	39,7
18	145	3,8	5,4	6,8	51,3	60,0	26,9	33,1
19	140	4,2	5,2.	11,5	107,0	50,8	29,2	22
Ref.	140 - 150	3,6 - 4,8	4,5 - 6,2	3,5 - 9,9	53 - 106	54 - 66	28 - 36	20 - 40

Tabelle 43b: Ergebnisse der klinischen Chemie für n = 19 Hunde mit CGA (Fortsetzung), n.d. = nicht durchgeführt, Ref. = Referenzbereich

Fall	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	ALT (IU/l)	AP (IU/l)	AST (IU/l)	Bili (µmol/l)	Chol (mmol/l)
1	2,1	1,2	14	69	24	7,0	n.d.
2	n.d.	n.d.	68	114	102	5,5	6,2
3	n.d.	n.d.	30	21	15	2,7	n.d.
4	n.d.	n.d.	59	107	61	4,6	7,4
5	n.d.	n.d.	46	85	24	4,6	n.d.
6	2,5	0,9	39	29	63	4,1	5,1
7	2,6	1,6	44	78	12	3,1	n.d.
8	2,5	1,1	38	119	13	1,7	9,2
9	1,9	1,5	46	116	14	2,4	6,5
10	3,1	3,9	80	381	12	4,8	8,8
11	3,0	1,3	43	103	14	3,9	9,2
12	n.d.	n.d.	35	131	28	3,8	5,6
13	n.d.	1,5	463	352	56	9,1	5,2
14	n.d.	1,5	30	86	25	2,9	6,3
15	n.d.	n.d.	23	38	21	4,3	5,6
16	2,4	1,4	17	104	15	11,5	5,3
17	2,4	1,1	40	481	79	5,5	5,7
18	2,5	1,5	35	142	19	3,8	4,0
19	n.d.	n.d.	39	25	29	5,0	3,1
Ref.	2,5 - 2,9	0,96 - 1,6	< 76	< 97	< 41	< 5,1	3,1 - 10,1

Tabelle 44: Ergebnisse der klinisch-chemischen Untersuchung für n = 19 Hunde mit CGA

Parameter	Min	Max	Median	MW	StdAbw	Abnorme Befunde	
						↓	↑
Natrium (mmol/l)	139	151	146	145	3,624	2	1
Kalium (mmol/l)	2,85	6,20	4	3,96	0,6954	5	1
Glukose (mmol/l))	4,22	7,66	5,4	5,39	0,7810	2	1
Harnstoff (mmol/l)	2,93	50,45	4,72	7,60	10,9066	5	2
Kreatinin (µmol/l)	40,51	501,24	76	92,44	100,5601	3	2
Protein (g/l)	51	78	62,5	64,12	6,9882	1	7
Albumin (g/l)	24,1	32,8	26,6	27,2	2,3720	12	0
ALT (IU/l)	14	463	39	62,58	98,2725	---	2
AP (IU/l)	21	481	104	135,8	126,8083	---	11
AST (IU/l)	12	102	24	33,5	26,2093	---	5
Bilirubin (mmol/l)	1,71	11,46	4,3	4,75	2,3465	---	5

2 Hunde hatten eine geringgradige Hyponatriämie (139mmol/l), ein Hund eine geringgradige Hypernatriämie (151mmol/l). Bei 16 Hunden lag das Natrium im Referenzbereich (140 - 150mmol/l; Median 146).
Bei 5 Hunden lag eine Hypokaliämie (2,85 - 3,55mmol/l; Median 3,21), bei einem Hund (Fall 9) eine Hyperkaliämie (6,20) vor. Bei 13 Hunden lag das Kalium im Referenzbereich (3,63 - 4,43mmol/l; Median 4,15).
2 Hunde hatten eine geringgradige Hypoglykämie (4,2; 4,4mmol/l), ein Hund eine Hyperglykämie (7,2mmol/l). Bei 16 Hunden lag die Glukose im Referenzbereich (4,5 - 6,1mmol/l; Median 5,4).
Bei 10 Hunden wurde das Kalzium bestimmt. Zwei Hunde hatten eine Hypokalzämie (1,92; 2,1mmol/l), 2 Hunde eine Hyperkalzämie (3,0mmol/l; 3,10mmol/l). Bei 6 Hunden lag das Kalzium innerhalb des Referenzbereichs (2,4 - 2,6mmol/l; Median 2,5).
Das Phosphat wurde bei 12 Hunden bestimmt. Ein Hund wies eine Hypophosphatämie auf (0,85mmol/l), 2 Hunde (Fälle 7 und 10) eine Hyperphosphatämie (1,64mmol/l; 3,88mmol/l). Bei 9 Hunden lagen die Werte innerhalb des Referenzbereichs (1,10 - 1,54mmol/l; Median 1,4).
Die Harnstoffkonzentration wurde bei 17 Hunden bestimmt. Sie lag bei 5 Hunden unter dem Referenzbereich (2,93 - 3,28mmol/l; Median 3,28) und bei 11 Hunden im Referenzbereich (3,81 - 6,96mmol/l; Median 5,21).
Ein Hund (Fall 10) hatte eine Azotämie (Harnstoff: 50,45mmol/l; Kreatinin: 501,24mmol/l). Bei einem weiteren Hund (Fall 19) lagen sowohl der Harnstoff (11,5mmol/l) als auch das Kreatinin (107,0µmol/l) nur leicht über dem Referenzbereich.
7 Hunde hatten eine Hyperproteinämie (66,2 - 77,8g/l; Median 70,9), ein Hund (Fall 19) eine Hypoproteinämie (51g/l). Bei 11 Hunden lag das Protein innerhalb des Referenzbereichs (57,4 - 63,3g/l; Median 60,1).
13 Hunde wiesen eine Hypoalbuminämie auf (24,1 - 27,6g/l; Median 26,0), bei 6 Hunden lagen die Werte innerhalb des Referenzbereichs (28,9 - 32,8g/l; Median 29,4).
6 Hunde hatten eine Hyperglobulinämie mit Werten > 40,0g/l (40,1 - 51,0; Median 43,5).

Die ALT war bei 2 Hunden (80; 463IU/l) erhöht, die AP bei 11 Hunden (103 - 481IU/l; Median 119) und die AST bei 5 Hunden (56 - 102IU/l; Median 63). Die ALT lag bei 17 Hunden im Referenzbereich (14 - 68IU/l; Median 39), die AP bei 8 Hunden (21 - 86IU/l; Median 53,5) und die AST bei 14 Hunden (12 - 28IU/l; Median 17).
5 Hunde hatten eine Hyperbilirubinämie (5,47 - 11,46µmol/l; Median 7,01), bei 14 Hunden lagen die Werte innerhalb des Referenzbereichs (1,71 - 5,0µmol/l; Median 3,85).
Alle Hunde mit einer Hyperbilirubinämie wiesen gleichzeitig eine Anämie auf (Tab. 45).

Tabelle 45: Plasma-Bilirubin und Hämatokrit für n = 5 Hunde mit CGA, die eine Hyperbilirubinämie aufwiesen

Fall	Bilirubin (µmol/l)	Hämatokrit (l/l)
1	7,01	0,19
2	5,47	0,33
13	9,07	0,32
16	11,46	0,27
17	5,47	0,35

Bei einem Hund (Fall 17), der wegen Pankreatitisverdachts in die Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin überwiesen wurde, wurden die Enzyme Amylase und Lipase bestimmt. Beide Parameter waren deutlich erhöht (Amylase 2509IU/l; Lipase 3565IU/l).

3.8. Prothrombinzeit und aktivierte partielle Thromboplastinzeit

Ein Gerinnungsprofil wurde bei 9 Hunden durchgeführt. Die aPTT lag zwischen 14,4 und 23,9 Sekunden (Median: 20,70). Sie war bei 6 Hunden (Fälle 5, 7, 8, 16, 17, 18) verlängert (20,7 - 23,9 Sekunden; Median 22,25). Die PT betrug zwischen 17,0 und 29,0 Sekunden. Sie war bei 3 Hunden (Fälle 5, 12, 17) verlängert (21,5; 24,8; 29,0 Sekunden). Alle Hunde wiesen gleichzeitig eine Thrombozytopenie auf, sodass der Verdacht auf eine DIC gestellt wurde.

3.9. Direkter Coombs-Test

Bei 9 Hunden wurde ein direkter Coombs-Test durchgeführt. Er war bei allen Hunden negativ.

3.10. Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper

10 Hunde wurden auf das Vorhandensein thrombozytengebundener Antikörper untersucht (Tab. 46). Bei 6 Hunden war der Test positiv, bei 4 Hunden negativ.

Tabelle 46: Ergebnisse der Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper (n = 10 Hunde mit CGA)

Fall	Thrombozyten (10^9/l)	Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper
1	90,10	Negativ
2	16,40	Positiv
7	43,00	Negativ
8	156,00	Negativ
9	296,00	Negativ
11	12,50	Positiv
13	32,00	Positiv
14	18,50	Positiv
15	95,80	Positiv
18	12,00	Positiv

3.11. Urinanalyse

Bei 8 Hunden wurde ein Harnstatus angefertigt (Tab. 47). Das spezifische Gewicht betrug zwischen 1,008 und 1,049 (Median 1,023). Das Urin-Protein/Kreatinin-Verhältnis (U-P/C) wurde bei 3 Hunden bestimmt (0,15; 0,33; 0,81). Bei der Untersuchung mittels eines Harnsticks wurde bei 7 Hunden eine leichte bis moderate Proteinurie, bei 1 Hund eine Glukosurie, bei 4 Hunden eine Bilirubinurie, bei 7 Hunden Blut und bei 5 Hunden Erythrozyten nachgewiesen. Im Sediment fielen bei 5 Hunden Zylinder und bei 6 Hunden Epithelzellen auf.

Tabelle 47: Ergebnisse der Harnuntersuchung (n = 7 Hunde mit CGA), n.d. = nicht durchgeführt

Fall	Spezifisches Gewicht	pH	Protein	U-P/C	Blut	Erythrozyten	Bilirubin	Glukose	Zylinder	Epithelzellen
2	1049	5,5	-	n.d.	(+)	(+)	++	-	+	+
3	1018	6	+	n.d.	+++	-	++	-	(+)	+
4	1016	7	+	n.d.	++	++	-	-	-	-
6	1046	7,5	+	n.d.	+	+	++	-	+	+
7	1024	6	+	0,33	-	-	-	-	-	-
8	1045	5	++	n.d.	+	(+)	++	-	+	(+)
9	1008	8	+	0,15	+++	-	-	-	-	(+)
10	1015	6,5	+	0,81	+++	+++	-	+	+	+

3.12. Gelenkpunktion

Bei einem Hund wurden in Kurznarkose mehrere Gelenke (rechtes Carpal- und Kniegelenk, linkes Ellbogengelenk) punktiert und die Synovia untersucht. Die Synovia war trüb und wies eine verminderte Viskosität auf. Die Zahl kernhaltiger Zellen lag zwischen 15.800 und 21.000/µl, bei über 90% der Zellen handelte es sich um neutrophile Granulozyten. Der

Proteingehalt lag zwischen 4,4/dl und 6g/dl. Bei der mikrobiologischen Untersuchung konnten keine Keime angezüchtet werden.

3.13. Bildgebende Verfahren

Bei 17 Hunden wurde eine Splenomegalie (Abb. 25), bei einem Hund eine Hepatosplenomegalie festgestellt. Bei einem Hund wurde die Milz bereits vor der Diagnose CGA aufgrund eines Hämangiosarkoms entfernt (Fall 19). Die Milz war bei 15 sonografisch untersuchten Hunden homogen.

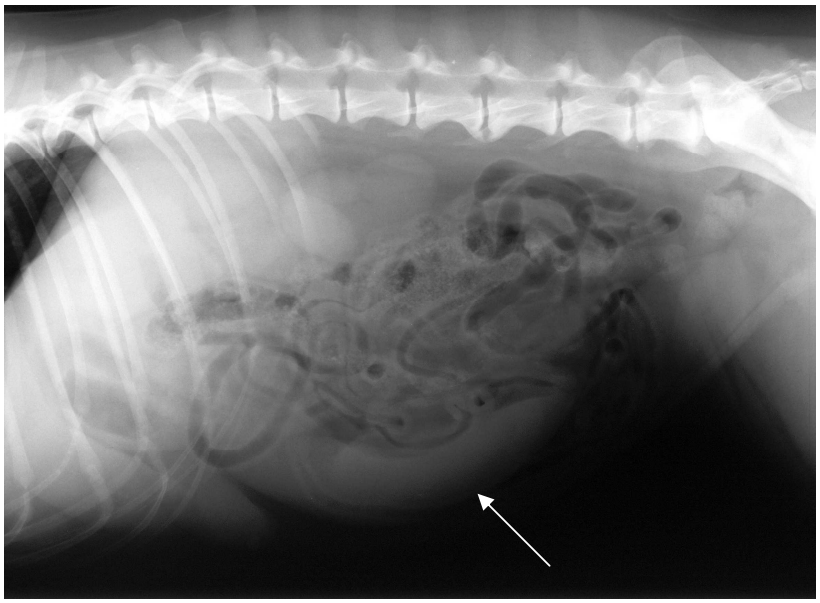


Abbildung 25: Splenomegalie (Pfeil) bei einem Hund mit CGA

3.14. Untersuchung auf Ko-Infektionen

Bei allen Hunden wurden Ko-Infektionen mit *E. canis*, *B. canis*, *M. haemocanis*, *Bartonella* spp. und *D. immitis* ausgeschlossen. 7 Hunde wurden zusätzlich auf *L. infantum* untersucht, das Ergebnis war bei allen Hunden negativ. Einer der 18 Hunde wurde mittels des SNAP® 4Dx® Tests positiv auf *B. burgdorferi* sensu lato getestet, war jedoch im IFAT seronegativ. Dieser Hund wurde aufgrund folgender Überlegungen nicht aus diesem Teil der Studie ausgeschlossen: Hunde mit einer Borreliose leiden meist an einer Arthritis, dieser Hund jedoch zeigte keine Lahmheit oder vermehrte Gelenkfüllung. Er wies unspezifische Symptome (Lethargie, Inappetenz, Polyurie, Fieber [40,3°C]) und blasse Schleimhäute auf. Abnorme Laborbefunde waren ein ggr. erniedrigter Hämatokrit, eine schwere Thrombozytopenie, eine Lymphopenie, eine erhöhte AP, eine Hyperproteinämie und eine Hyperglobulinämie. Der Test auf thrombozytengebundene Antikörper war bei diesem Hund positiv. Weiterhin wurde bedacht, dass die Borreliose in unserer Klinikpopulation zum Zeitpunkt der Untersuchung als extrem selten eingeschätzt wurde.

3.15. Therapie

15 Hunde wurden über einen Zeitraum von 1 bis 7 Tagen (Median 3) stationär, 4 ambulant therapiert. Alle Hunde wurden mit Doxyzyklin (5mg/kg 2 x tgl. p.o.) über 2 (n = 3), 2,5 (n = 1), 3 (n = 9) und 4 Wochen (n = 5) behandelt. Sechs Tage nach Beginn der Doxyzyklingabe kam es bei einem Hund zu einem Anstieg der Leberenzyme. Daher wurde bei diesem Hund (Fall 8) das Doxyzyklin abgesetzt und einmalig Imidocarb (Carbesia®, 6mg/kg s.c.) appliziert. Da er auf die Injektion mit Salivation, Mattigkeit und Durchfall reagierte, wurde er infundiert und bekam einmalig 0,25mg Atropin i.v., was ca. 0,04mg/kg entsprach. Sechs Hunde (Fälle 4, 8, 10, 11, 17, 18) erhielten initial zusätzlich weitere Antibiotika (Amoxicillin/Clavulansäure, 12,5mg 2 x tgl. i.v./p.o.; Marbofloxacin 2mg/kg 1 x tgl. i.v./p.o.). Des Weiteren wurden alle Hunde symptomatisch behandelt. Sechzehn Hunde wurden mit Vollelektrolytlösungen infundiert (je nach Plasmakaliumkonzentration z.T. angereichert mit Kalium), 12 Hunde erhielten Ranitidin (1mg/kg 2 x tgl. i.v./p.o.), 9 Hunde mit Fieber Metamizol (20mg/kg 3 x tgl. i.v./p.o.), 2 Hunde mit Vomitus (Fälle 2, 10) Metoclopramid (0,3mg/kg 3 x tgl. s.c./p.o.). Ein Hund mit Polyarthritis (Fall 9) wurde mit Carprofen (4mg/kg 1 x tgl. p.o.) behandelt. Bei wenigen Hunden wurden Glukokortikoide appliziert. Ein Hund mit Petechien und Meläna (Fall 13), bei dem eine immunbedingte Thrombozytopenie vermutet wurde, bekam über 7 Tage Prednisolon (1mg/kg 2 x tgl. p.o.). Diese Dosis wurde stufenweise reduziert, nach 2 Monaten wurde das Prednisolon abgesetzt. Ein Hund (14kg, Mischling, Fall 18), der mit Petechien vorgestellt wurde (Hkt 19%), kollabierte während der klinischen Untersuchung und wurde daher mit 100ml Erythrozytenkonzentrat und 150ml Frischblut transfundiert. Da bei diesem Hund eine immunbedingte Thrombozytopenie vermutet wurde, wurde Prednisolon gegeben (15mg 1 x tgl. p.o. über 2 Wochen, danach wurde das Prednisolon schrittweise reduziert). Ein Hund mit Polyarthritis (Fall 9), der sich auf eine sechstägige Therapie mit Carprofen und Doxyzyklin nicht besserte, wurde mit Prednisolon (1mg/kg 2 x tgl. p.o.) behandelt. Die Lahmheit besserte sich rasch und die Prednisolondosis wurde nach 2 und 4 Wochen reduziert und wenige Tage nach der zweiten Reduktion schließlich abgesetzt, als der Hund eine Bursitis entwickelte.
Ein Hund mit blutenden Hämangiosarkom-Metastasen, der über eine Bluttransfusion infiziert wurde, erhielt mehrfach Erythrozytenkonzentrattransfusionen.

3.16. Verlauf

18 Hunde überlebten und erholten sich vollständig, ein Hund mit Hämangiosarkom wurde euthanasiert. Dieser erholte sich nach Beginn der Doxyzyklintherapie rasch von der CGA musste aber aufgrund blutender Metastasen 18 Tage nach Beginn der Doxyzyklintherapie eingeschläfert werden.
Bei 14 von 18 Hunden, die überlebten, wurden die Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* nach 14 bis 56 Tagen (Median 27) wiederholt (Tab. 48). Zu diesem Zeitpunkt waren alle Hunde symptomlos. Die PCR war bei allen Hunden negativ, des Weiteren konnten auch keine Morulae in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden. Drei der 6 Hunde mit einem initial negativen Antikörpertiter waren nach 34, 38 und 42 Tagen seropositiv, 3 Hunde waren weiterhin seronegativ. Bei einem der 8 seropositiven Hunde wurde ein vierfacher Titeranstieg nach 40 Tagen beobachtet, ein Hund mit einem initialen Antikörpertiter von > 1:128 hatte bei der Verlaufsuntersuchung am Tag 56 einen Antikörpertiter von > 1:256. Bei vier Hunden mit einem initial hohen Antikörpertiter wurde dieser bei der Verlaufsuntersuchung erneut festgestellt. Bei einem bei Erstuntersuchung seropositiven Hund wurde nach 24 Tagen eine Abnahme des Antikörpertiters beobachtet, ein Hund war nach 18 Tagen sogar seronegativ.

Tabelle 48: Antikörpertiterverlauf für 14 Hunde mit CGA

Fall	Antikörpertiter bei der Erst-untersuchung	Antikörpertiter bei der Kontroll-untersuchung	Abstand in Tagen zwischen Erst- und Kontroll-untersuchung
1	> 1:256	> 1:256	25
2	> 1:256	1: 256	28
3	negativ	1:32	14
4	> 1:256	> 1:256	35
6	1:32	1:32	24
7	> 1:128	> 1:256	56
8	negativ	> 1:256	34
9	negativ	> 1:256	42
11	1:64	> 1:256	40
13	1:32	> 1:128	38
15	> 1:256	1:256	24
16	> 1:128	1:128	18
17	> 1:128	negativ	18
18	negativ	negativ	19

Je nach klinischer Symptomatik und Entscheidung des behandelnden Tierarztes wurden die Laborparameter kontrolliert.
Bei 16 von 17 Hunden mit einer initialen Thrombozytopenie waren die Thrombozyten nach 1 bis 24 Tagen (Median 5) wieder im Referenzbereich. Bei einem Hund (Fall 12) mit einer schweren Thrombozytopenie (9,550 x 10^9/l) war die Thrombozytenzahl nach 7 Tagen noch geringgradig erniedrigt (174,000 x 10^9/l). Eine erneute Kontrolluntersuchung war bei diesem Hund nicht möglich.
Bei 5 von 7 Hunden mit einer geringgradigen Anämie (Fälle 2, 4, 7, 10, 13) lag der Hkt nach 1 bis 16 Tagen (Median 7) wieder im Referenzbereich. Ein Hund (Fall 17) mit einer Pankreatitis und nicht-regenerativen Anämie wies noch am Tag 16 eine Anämie auf (Hkt 0,29l/l). Weitere Kontrolluntersuchungen konnten bei diesem Hund nicht durchgeführt werden. Bei einem Hund mit blutenden Metastasen (Fall 19) lag der Hkt am Tag 16 bei 0,20l/l. Weitere Kontrolluntersuchungen erfolgten nicht, da der Hund euthanasiert wurde. Bei einem Hund mit einem moderat erniedrigten Hkt (Fall 16) war der Hkt am Tag 18 noch geringgradig erniedrigt (0,37l/l). Bei einem Hund (Fall 1) mit einer schweren Anämie (0,19l/l) lag der Hkt am Tag 25 bei 0,35l/l. Weitere Kontrolluntersuchungen fanden bei diesem Hund nicht statt. Ein Hund mit Hämorrhagie und einer Blutungsanämie (Fall 18, Hkt 0,19l/l), der mehrfach Transfusionen mit Erythrozytenkonzentrat benötigte, hatte am Tag 2 einen Hkt von 0,31l/l. Bis zum Tag 5 war der Hkt erneut auf 0,16l/l abgefallen (Thrombozytenzahl 2,520 x 10^9/l), am Tag 19 betrug er 0,32l/l (Thrombozytenzahl 31,000 x 10^9/l). Nach vier Wochen lag der Hkt bei 0,32l/l (Thrombozytenzahl 610,000 x 10^9/l) und nach 8 Wochen lag er mit 41% wieder im Referenzbereich (Thrombozytenzahl 396,000 x 10^9/l).
Die Leukozytenzahl lag bei 16 von 18 Hunden am Ende der Therapie im Referenzbereich. Ein Hund (Fall 6) war nach 14 Tagen noch immer leukopenisch (5,190 x 10^9/l, initial 3,280 x 10^9/l), ein anderer Hund (Fall 18) hatte am Tag 26 noch immer eine Leukozytose (26,600 x 10^9/l, initial 22,200 x 10^9/l), 10 Wochen später war die Leukozytenzahl jedoch im Referenzbereich (10,800 x 10^9/l).
Bei 4 von 12 Hunden mit einer Hypoalbuminämie (Fälle 1, 3, 9, 17), lag das Albumin nach 8 bis 21 Tagen (Median 17) im Referenzbereich. 6 Hunde (Fälle 2, 8, 14, 15, 16, 18) wiesen

nach 4 bis 121 Tagen (Median 19,5) noch immer eine leichte Hypoalbuminämie auf. Bei 2 Hunden (Fälle 4 und 12) erfolgte keine Kontrolluntersuchung.
Bei einem Hund (Fall 17) mit Pankreatitis wurden initial erhöhte Amylase- und Lipasewerte festgestellt (Amylase 1396IU/l; Lipase 952IU/l). Am Tag 10 lagen die Werte für beide Parameter im Referenzbereich (Amylase 1066IU/l; Lipase 250IU/l).
Der Verlauf der einzelnen Werte der hämatologischen Untersuchung und des Differenzialblutbildes ist für die Fälle 1 bis 19 im Anhang aufgeführt. Der Verlauf einzelner ausgewählter Hunde wird in den nächsten Abschnitten beschrieben.

3.16.1 Fall 3

Dieser Hund wurde im Mai wegen Mattigkeit und Gelenkbiegeschmerz der Tarsal- und Carpalgelenke vorgestellt. Die Temperatur betrug 39,5°C. Die Gelenke waren vermehrt gefüllt. Initial fiel bei diesem Hund eine ggr. Thrombozytopenie auf. Der Hund wurde zunächst mit Doxyzyklin und Carprofen behandelt und besserte sich darauf. Daher erfolgte zunächst keine Gelenkpunktion. Die Thrombozytenzahl war nach 14 Tagen wieder im Referenzbereich (276 x 10^9/l). Zwischen dem Tag 0 (Tag der Erstuntersuchung) und dem Tag 14 fand keine hämatologische Untersuchung statt. Nach 1,5 Monaten hatte der Hund wieder einen deutlichen Gelenkbiegeschmerz. An diesem Tag wurden die Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* wiederholt: Die PCR war negativ, der Antikörpertiter betrug 1:64. Es wurden 4 Gelenke punktiert (beide Carpalgelenke, linkes Knie- und Ellbogengelenk). Die Viskosität der Synovia war generalisiert vermindert. In drei Gelenken fielen viele Erythrozyten auf. In der Synovia des linken Kniegelenks wurden einige Neutrophile identifiziert, die vermutlich aus dem Blut stammten (die Synovia war iatrogen blutig). In der Synovia des linken Kniegelenks waren wenige neutrophile Granulozyten vorhanden. Die *A. phagozytophilum*-PCR der Synovia war negativ. Der Hund verbesserte sich unter einer erneuten mehrwöchigen Doxyzyklintherapie.

3.16.2. Fall 4

Dieser Hund war beim Spaziergang zusammengebrochen und wurde in Seitenlage vorgestellt. Weitere Befunde der klinischen Untersuchung waren Fieber (40,2°C), unregelmäßiger tachykarder Puls (ventrikuläre Extrasystolen). Alle Parameter der echokardiografischen Untersuchung lagen im Normalbereich. Es lag kein Hinweis auf eine Endokarditis vor. Initial fielen folgende abnorme Laborbefunde auf: Leukopenie, Anämie, Thrombozytopenie, Lymphopenie, Hypoalbuminämie, erhöhte AP und erhöhte AST. Die Leukozytenzahl, die Erythrozytenzahl, die Hb-Konzentration und der Hkt waren bereits einen Tag nach Vorstellung wieder im Referenzbereich (Leukozytenzahl 7,54 x 10^9/l; Erythrozytenzahl 6,01 x 10^{12}/l; Hb-Konzentration 8,67mmol/l; Hkt 0,42l/l). Die Lymphozytenzahl sowie das Albumin und die Leberenzyme wurden nicht kontrolliert. Der Hund besserte sich schnell und wurde 3 Tage nach stationärer Aufnahme wieder entlassen.

3.16.3. Fall 9

Dieser Hund wurde mit den Symptomen einer Polyarthritis vorgestellt (Befunde der Gelenkpunktion s. 3.11.). Die hämatologische Untersuchung war initial mit Ausnahme einer ggr. Monozytose unauffällig. Er wurde mit Doxyzyklin und Prednisolon (1mg/kg 2 x tgl. p.o.)

behandelt, da eine alleinige Therapie mit Carprofen keine klinische Besserung erbrachte. Unter der Kortisontherapie entwickelte er eine Leukozytose (Leukozytenzahl: 32,7 x 10^9/l) mit Neutrophilie (Neutrophile: 31065 x 10^6/l). Ursprünglich war nur die AP leicht erhöht. Bei den Kontrolluntersuchungen an den Tagen 16, 40, 42 und 44 waren zunächst 2, danach 3 Leberwerte erhöht.

3.16.4. Fall 10

Ein Hund (Fall 10) wurde wegen Vomitus vorgestellt. Initial lag eine renale Azotämie vor. Zunächst erfolgte eine Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure (12,5mg/kg 2 x tgl.), danach wurde auf Doxyzyklin (5mg/kg 2 x tgl.) umgestellt. Aufgrund der Hyperphosphatämie wurde der Hund mit Aluminiumhydroxid (20mg/kg 3 x tgl.) behandelt. Zusätzlich wurde die Fütterung auf eine kommerzielle Nierendiät umgestellt. Der Verlauf der Parameter Harnstoff, Kreatinin, Calcium, Phosphor, und Kalium ist der Tabelle 49 zu entnehmen. Der Hund erholte sich vollständig. Am Tag 43 lagen die Parameter Kreatinin, Kalium, Phosphat und Kalzium wieder im Referenzbereich.

Tabelle 49: Verlauf der Parameter Harnstoff, Kreatinin, Kalzium, Phosphor und Kalium für den Fall 10 (Ref. = Referenzbereich)

Tag	Harnstoff (mmol/l)	Kreatinin (µmol/l)	Kalium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Kalzium (mmol/l)
0	50	501	3,6	3,9	3,1
1	33	298	3,4	2,5	2,8
2	14	181	3,4	1,7	---
3	14	159	4,1	1,7	2,9
4	16	177	4,2	---	---
5	15	177	4,8	---	---
7	11	123	4,6	1,7	3,2
10	8	108	4,1	1,7	---
14	14	111	4,9	---	---
22	13	109	3,8	1,5	2,9
43	13	99	3,9	1,6	2,9
Ref.	3,5 - 9,9	53 - 106	3,6 - 4,8	0,96 - 1,6	2,5 - 2,9

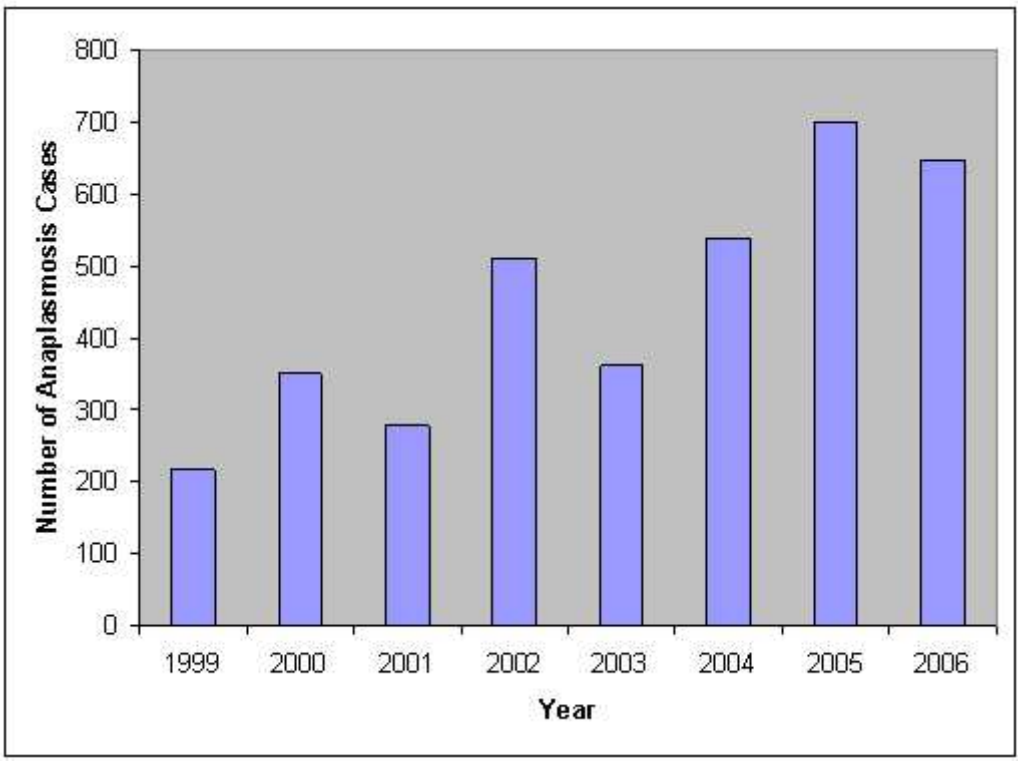
3.16.5. Fall 19

Im September 2005 wurde dieser Hund aufgrund eines rupturierten Milztumors (Hämangiosarkom) in die Klinik überwiesen und splenektomiert. Zwei Wochen nach der Splenektomie wurde mit einer Doxorubicin-Chemotherapie im Abstand von 3 Wochen begonnen. Eine Woche nach der dritten Chemotherapie wurde der Hund mit einem Hämoabdomen vorgestellt. Der Hkt lag an diesem Tag bei 0,22l/l. Die Behandlung bestand aus Infusion und Transfusion mit 150ml DEA 1.1.-positivem Erythrozytenkonzentrat aufgrund eines Hkt-Abfalls auf 0,18l/l. Computertomografisch konnten Lungen- und Lebermetastasen festgestellt werden. Da der Hkt bei 0,21l/l lag, wurde der Hund einen Tag später erneut transfundiert (140ml DEA 1.1.-positives Erythrozytenkonzentrat). Diese Konserve stammte von einem *A. phagozytophilum*-PCR-positiven, klinisch gesunden Hund, was zum Zeitpunkt der Transfusion nicht bekannt war. Fünf Tage später war der Hund

apathisch und inappetent, erbrach, die Rektaltemperatur betrug 40,2°C. Er wurde infundiert und aufgrund eines Hkt von 0,20l/l mit Vollblut transfundiert. An diesem Tag stellte sich heraus, dass dieser Hund Erythrozytenkonzentrat eines PCR-positiven Hundes erhalten hatte. Daher wurden bei diesem Patienten die Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* eingeleitet (PCR positiv, vereinzelt Morulae in neutrophilen Granulozyten, IFAT negativ) und mit einer Doxyzyklintherapie begonnen. Zusätzlich erhielt er Metamizol 20mg/kg 3 x tgl. p.o., Amoxicillin/Clavulansäure 12,5mg/kg 2 x tgl. p.o., MCP 0,3mg/kg 3 x tgl. p.o., Ranitidin 1mg/kg 2 x tgl. p.o. und wurde erneut infundiert. Zwei Tage später war der Allgemeinzustand des Hundes bereits besser. Eine Woche danach wurde der Hund aufgrund blutender Lebermetastasen euthanasiert.

V Diskussion

Infektionen mit *A. phagozytophilum* nehmen sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin an Bedeutung zu. Dafür spricht zum einen eine Zunahme der Veröffentlichungen auf diesem Gebiet und zum anderen auch gesicherte Daten aus der Humanmedizin von den Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA (Abb. 26).



(Source: CDC National Electronic Telecommunications System for Surveillance (NETSS) data)

Abbildung 26: Zahl der an die Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA gemeldeten Fälle humaner granulozytärer Anaplasmose in den Jahren 1999 bis 2006

Da trotz diverser Literaturstellen noch immer wenig über Prävalenz, Klinik, effektive Bekämpfungsmaßnahmen und Prophylaxe sowie Reservoire für Hunde und Menschen bekannt ist, sollten in dieser Arbeit zum einen epidemiologische Daten über *A. phagozytophilum*-Infektionen und zum anderen klinische Daten über die granulozytäre Anaplasmose des Hundes erhoben werden. Ein weiteres Ziel war die Untersuchung, ob eine regelmäßig im Abstand von 4 Wochen vorgenommene Behandlung mit Permethrin-Imidacloprid einen wirksamen Schutz vor Neuinfektionen mit diesem Bakterium darstellt.

1. Epidemiologische Studie

1.1. Serologische Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* (IFAT)

Die in dieser Studie ermittelte Seroprävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei Hunden war hoch in Nord-Ost-Deutschland (43,3%). Die Infektion, also der Erregerkontakt, musste jedoch nicht zwangsläufig in dieser Region erfolgt sein, da viele Hunde sich zum einen im Ausland und zum anderen in unterschiedlichen Regionen Deutschlands aufhielten. Letzteres traf v.a. auf die Hunde von Berliner Studenten/Studentinnen der Veterinärmedizin zu, die aus verschiedenen Regionen Deutschlands stammten. Die Hunde lebten aber überwiegend in und um Berlin.
Die hier nachgewiesene Seroprävalenz stimmt mit den Angaben früherer Arbeiten aus Deutschland, die Werte zwischen 19% und 50,1% ermittelten, weitgehend überein (s. Tab. 3). Sie betrug 50,1% bei 1124 anaplasmoseverdächtigen Hunden aus 11 Bundesländern (BARUTZKI, 2006) und 43,2% bei 111 Hunden (49 kranke, anaplasmoseverdächtige und 62 klinisch gesunde Hunde) aus verschiedenen Regionen Deutschlands (JENSEN et al., 2007). In zwei weiteren Studien aus Deutschland war sie dagegen niedriger: 19% bei 245 Hunden aus der westlichen Bodenseeregion (SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007) und 21,5% bei 5881 Hunden aus ganz Deutschland (KRUPKA et al., 2008). Mit Ausnahme einer Arbeit, in der als Diagnostikum der SNAP® 4Dx® Test (ELISA) eingesetzt wurde (KRUPKA et al., 2008), erfolgte der serologische Nachweis wie in dieser Studie mittels IFAT (BARUTZKI, 2006; JENSEN et al., 2007; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007).
Im Vergleich zu anderen europäischen Ländern war die Seroprävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei Hunden in Deutschland hoch (PUSTERLA et al., 1998; EGENVALL et al., 2000; SKOTARCZAK et al., 2004; SOLANO-GALLEGO et al., 2006; TORINA und CARACAPPA, 2006; JÄDERLUND et al., 2007) (s. Tab. 3). Lediglich in Österreich und Portugal wurden mit 56,5% und 55% etwas höhere Seroprävalenzen festgestellt (KIRTZ et al., 2007).
Weitere Daten aus Prävalenzuntersuchungen stammen aus den USA: Die Seroprävalenz wurde für verschiedene Bundesstaaten ermittelt und unterschied sich zwischen ihnen stark (s. Tab. 4): 1,1% in North Carolina und Virginia sowie Missouri (SUKSAWAT et al., 2000; LIDDELL et al., 2003) bis 55% in Minnesota (BEALL et al., 2008).
In dieser Studie war der Anteil seropositiver Hunde in der Gruppe 2 (kranke, anaplasmoseverdächtige Hunde) zwar höher als in der Gruppe 1 (klinisch gesunde Hunde), doch war dieser Unterschied nicht signifikant. Dies stimmt mit den Ergebnissen einer früheren Untersuchung überein, wo der Anteil seropositiver kranker Hunde bei 44,9% und der Anteil seropositiver klinisch gesunder Hunde bei 41,9% lag. Der Unterschied war ebenfalls nicht signifikant (JENSEN et al., 2007).

1.2. Direkte Nachweisverfahren

Der Anteil PCR-positiver Hunde war mit 5,7% erwartungsgemäß wesentlich geringer als der Anteil seropositiver (43,3%). Dies ist vergleichbar mit einer früheren Untersuchung, in der 6,3% der untersuchten 111 Hunde PCR-positiv waren (JENSEN et al., 2007). Sowohl in der vorliegenden Studie als auch in der Untersuchung von JENSEN et al. (2007) waren kranke Hunde häufiger PCR-positiv als gesunde Hunde. In unserer Arbeit waren 4% der gesunden und 8% der kranken Hunde PCR-positiv. Deutlicher war der Gruppenunterschied in der Studie von JENSEN et al. (2007), in der 1,6% der gesunden und 12,2% der kranken Hunde

PCR-positiv getestet wurden. In zwei amerikanischen Studien wurden ebenfalls sowohl ein indirektes als auch ein direktes Verfahren zum Nachweis von *A. phagozytophilum* bei allen Hunden eingesetzt. In beiden Studien war der Anteil serologisch positiver Hunde deutlich höher als der Anteil PCR-positiver (DRAZENOVICH et al., 2006; BEALL et al., 2008).
Noch geringer war der Anteil von Hunden, bei denen Morulae in neutrophilen Granulozyten identifiziert werden konnten. So lag der Anteil Blutausstrich-positiver Hunde bei lediglich 2,3%, was vergleichbar ist mit dem Resultat einer weiteren Studie, in der bei nur 1,8% der Hunde Morulae in Neutrophilen gefunden wurden (JENSEN et al., 2007). In unserer Untersuchung waren v.a. kranke, anaplasmoseverdächtige Hunde Blutausstrich-positiv, bei JENSEN et al. (2007) wurden ausschließlich bei kranken Hunden Morulae in Neutrophilen nachgewiesen.

1.3. Ergebnisse der direkten Nachweisverfahren in Bezug zur Serologie

Nur wenige Studien haben bisher die Prävalenz sowohl mittels eines indirekten als auch mittels eines direkten Nachweisverfahrens bestimmt. Es konnte in unserer Arbeit gezeigt werden, dass PCR-positive Hunde signifikant häufiger seropositiv waren als PCR-negative Hunde und dass Blutausstrich-positive Hunde zwar immer PCR-positiv, jedoch nicht in allen Fällen seropositiv waren. Zusätzlich fiel auf, dass sich das Ergebnis der beiden zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagozytophilum* eingesetzten Verfahren (IFAT und ELISA) deutlich unterschied. Das Ergebnis stimmte in nur 61% der Fälle überein. Es wurden jedoch nur 18 Hunde mit beiden Verfahren untersucht. In einer anderen Studie aus Deutschland wiesen alle Hunde mit einem positiven PCR-Ergebnis auch hohe Antikörpertiter auf (JENSEN et al., 2007). In einer weiteren Arbeit aus Deutschland wurden Hunde einbezogen, die innerhalb eines Zeitraums von 14 Monaten im Labor ALOMED (Radolfzell) serologisch positiv waren oder bei denen *A. phagozytophilum* direkt mittels einer PCR im EDTA-Blut nachgewiesen wurde. Insgesamt gingen 60 Hunde in diese Studie ein. Von diesen waren 39 PCR- und serologisch positiv, 12 PCR-positiv, aber seronegativ und 9 PCR-negativ, aber seropositiv (SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007). In einer amerikanischen Studie waren ebenfalls nicht alle PCR-positiven Hunde serologisch positiv: 4 der 7 PCR-positiven Hunde waren serologisch positiv, 3 dagegen serologisch negativ (BEALL et al., 2008).

1.4. Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* in Bezug zum Signalement

Kürzlich veröffentlichte Informationen über die Rassenverteilung liegen nur in wenigen Untersuchungen vor. Da es sich bei der Hundepopulation der vorliegenden Arbeit um keine repräsentative Population handelte, können keine Aussagen über eine mögliche Rasseprädisposition getroffen werden. Lediglich in einer Arbeit aus Österreich fiel auf, dass beim Berner Sennenhund ein sehr hoher Anteil (77,8%) der untersuchten Hunde Antikörpertiter gegen *A. phagozytophilum* aufwiesen (KIRTZ et al., 2007). Diese Rasse scheint allgemein anfälliger für bestimmte Infektionskrankheiten zu sein. So konnten in einer Studie über die Borreliose (GERBER et al., 2007) und in einer Studie über die Frühsommermeningoencephalitis (KIRTZ, 2000) ebenfalls hohe Seroprävalenzen für beide Erkrankungen beim Berner Sennenhund festgestellt werden.
Bei größeren Hunden (Berner Sennenhund, Deutscher Schäferhund, Golden Retriever, Labrador Retriever) konnten häufiger Antikörpertiter gegen *A. phagozytophilum* nachgewiesen werden als bei kleineren (Yorkshire Terrier, Pekinese, Malteser) (KIRTZ et al.,

2007). Dies könnte mit der Körpergröße der Hunde und der Lebensweise der Zecken zusammenhängen. Zecken finden sich meistens auf Sträuchern und Gebüschen in einer Höhe von 50 bis 150cm (DOBLER, 1997), so dass größere Hunde diese beim Durchstreifen durchs Gebüsch häufiger abstreifen als kleinere Hunde.
KIRTZ et al. (2007) beobachteten, dass in den ersten vier Lebensjahren der prozentuale Anteil an seropositiven Tieren mit 51,3 bis 55,6% niedriger lag als in den meisten anderen Altersgruppen mit 59,1 und 69,2%. Allerdings war es nicht möglich, eine Altersdisposition statistisch zu beweisen. In unserer Studie waren ältere Tiere signifikant häufiger seropositiv als jüngere ($p < 0,001$). Auch in einer schwedischen Studie stieg der Anteil seropositiver Hunde mit zunehmendem Alter der Hunde an (EGENVALL et al., 2000). Möglicherweise kann als Ursache ein Persistieren der Antikörper über eine längere Zeit angesehen werden. In einer experimentellen Studie, in der 3 Hunde intravenös mit *A. phagozytophilum* infiziert wurden, konnte gezeigt werden, dass Antikörpertiter über den gesamten Untersuchungszeitraum (119 bzw. 181 Tage) hinweg hoch blieben (EGENVALL et al., 2000). Wie lange diese Antikörper persistieren und inwiefern diese Antikörper vor einer erneuten Infektion mit *A. phagozytophilum* bzw. einer Erkrankung schützen, muss Gegenstand weiterer Studien sein. Bisher konnte mit experimentellen Studien nur gezeigt werden, dass *A. phagozytophilum* zu persistierenden Infektionen führen kann. Dies wurde über erneut positive PCR-Ergebnisse nach Glukokortikoidgabe festgestellt (EGENVALL et al., 2000; ALLEMAN et al., 2006).
In einer österreichischen Studie war der Anteil seropositiver Rüden statistisch signifikant höher als der Anteil seropositiver Hündinnen. Als mögliche Erklärung hierfür wurde das Verhalten der Rüden angeführt, sich beim Harnabsatz bzw. beim Markieren an Sträucher bzw. ans Gebüsch „anzulehnen“. Dadurch könnte die Chance für einen Zeckenbefall steigen (KIRTZ et al., 2007). In unserer Studie konnte keine Geschlechtsprädisposition nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

1.5. Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum* in Bezug zum Untersuchungsmonat

In unserer Studie konnte kein Hinweis für eine Saisonalität des Antikörpertiternachweises festgestellt werden ($p > 0,05$). Eine mögliche Erklärung hierfür wäre wiederum eine Persistenz der Antikörper. Im Gegensatz hierzu weisen unsere Ergebnisse auf eine Saisonalität des PCR-Resultates hin ($p = 0,021$). In einer österreichischen Erhebung war der Höhepunkt der seropositiven Tiere im Hochsommer zu finden. Im Frühjahr und Herbst war der Anteil der seropositiven Hunde dagegen niedriger (KIRTZ et al., 2007). Andere Prävalenzstudien aus Deutschland gaben hierüber keine Auskunft. Bereits in früheren Arbeiten wurde eine Saisonalität des PCR-Ergebnisses festgestellt und auf die Zeckenaktivität zu bestimmten Jahreszeiten zurückgeführt (EGENVALL et al., 1997; POITOUT et al., 2005).

1.6. Hämatologische Befunde und Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagozytophilum*

Bluttransfusionen nehmen in der Veterinärmedizin immer mehr an Bedeutung zu. *A. phagozytophilum* gehört zu den Infektionserregern, die über Bluttransfusionen übertragen werden können. Dies ist zum einen auf 2 Fälle aus der Humanmedizin, zum anderen auf veterinärmedizinische experimentelle (u.a. bei Schafen, Rindern, Pferden und Hunden) und klinische Daten zurückzuführen (PUSTERLA et al., 1997; EGENVALL et al., 1998;

LILLIEHÖÖK et al., 1998; EASTLUND et al., 1999; LILLIEHÖÖK et al., 1999; PUSTERLA et al., 1999; EGENVALL et al., 2000; REINE, 2004; FRANZEN et al., 2005; ALLEMAN et al., 2006; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, ATLANTA, 2008; STUEN et al., 2008). In unserer Untersuchung konnte gezeigt werden, dass kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Laborwertveränderungen und dem Antikörpertiternachweis bzw. dem PCR-Ergebnis bestand. Es wurden bei keinem klinisch gesunden PCR-positiven Hund Laborwertveränderungen festgestellt, d.h. ein normales Blutbild schließt eine Bakteriämie und Anaplasmose nicht aus, was eine Untersuchung aller Blutspender auf *A. phagozytophilum* erfordert. Da die Übertragungsgefahr in der bakteriämischen Phase vorliegt, ist ein direktes Nachweisverfahren als diagnostisches Verfahren nötig. Eine serologische Untersuchung zum Ausschluss einer möglichen Übertragung ist nicht geeignet, da klinisch gesunde Hunde seropositiv und kranke, an einer caninen granulozytären Anaplasmose (CGA) erkrankte Hunde seronegativ sein können. Ein Restrisiko der Übertragung bleibt jedoch, da bei den direkten Nachweisverfahren nur positive Untersuchungsergebnisse aussagekräftig sind (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Den Besitzern von Spenderhunden ist somit nahezulegen, ihre Hunde täglich auf einen möglichen Zeckenbefall zu untersuchen und ihre Hunde prophylaktisch mit gegen Zecken wirksamen Ektoparasitika zu behandeln.

1.7. Auslandsaufenthalt in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf *A. phagozytophilum*

Die in dieser Studie ermittelte Gesamtprävalenz von 43% stimmt mit der Prävalenz für Hunde ohne Auslandsaufenthalt überein. Es handelt sich bei der CGA also somit um keine sog. „Reisekrankheit“, wie in der Vergangenheit häufig behauptet (BEELITZ und PFISTER, 2004). Andere Prävalenzstudien aus Deutschland konnten dies ebenfalls bestätigen, die in diesen Studien aufgenommenen Hunde hatten Deutschland vorberichtlich nie verlassen (BARUTZKI, 2006; JENSEN et al., 2007).

1.8. Zeckenbefall und Ektoparasitikaeinsatz in Bezug zu den Untersuchungsergebnissen auf *A. phagozytophilum*

Bei der Auswertung der Fragebögen musste berücksichtigt werden, dass keine zuverlässig gesicherten Daten über den Zeckenbefall bzw. die korrekte und regelmäßige Applikation des Ektoparasitikums vorlagen, da sie von Laien ausgeführt wurde. Daher stellten die Fragebögen für uns eher einen Marker dar, um die Aufmerksamkeit des Besitzers in Bezug auf den Zeckenbefall und einen regelmäßigen Ektoparasitikaeinsatz beurteilen zu können. Erstaunlich ist, dass nach diesen Tatsachen regelmäßig mit Ektoparasitika behandelte Hunde nicht seltener seropositiv waren als andere. Mögliche Erklärungen hierfür sind wie oben bereits erwähnt ein Unbemerktbleiben des Zeckenbefalls, falsches Auftragen des Medikaments durch die Besitzer oder eine entgegen den Angaben auf den Fragebögen unregelmäßige oder unsachgemäße Behandlung mit Ektoparasitika. Eine andere Studie zur Borreliose beim Berner Sennenhund kam in der Kontrollgruppe (Hunde, die einer anderen Rasse angehörten) zu ähnlichen Ergebnissen: Hunde mit starkem Zeckenbefall waren nicht häufiger seropositiv für *B. burgdorferi* als Hunde, die selten mit Zecken befallen waren (GERBER et al., 2007). Im Gegensatz dazu blieben von 27 Langzeitprobanden, die regelmäßig alle 4 Wochen mit Advantix® behandelt wurden, 26 seronegativ. Lediglich ein Hund serokonvertierte. In einer früheren Prävalenzstudie aus Deutschland wurde gezeigt, dass Hunde mit einem starken

Zeckenbefall signifikant häufiger seropositiv waren als Hunde mit einem geringen oder gar keinem Zeckenbefall. 80% der Hunde mit einem starken Zeckenbefall waren seropositiv und nur 20% seronegativ (JENSEN et al., 2007).

2. Studie über die Wirksamkeit einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe mit Permethrin-Imidacloprid

Advantix® verhinderte bei 26 der 27 Langzeitprobanden, die regelmäßig und nach Herstellerangaben behandelt wurden, eine Infektion mit *A. phagozytophilum*. Da die Besitzer von der Autorin genau instruiert wurden, war eine Behandlung in regelmäßigen Abständen und nach Herstellerangaben weitgehend sichergestellt. Lediglich ein Hund serokonvertierte, erkrankte jedoch nicht. Zusätzlich fiel auf, dass Hunde, die vor Studienbeginn Zecken hatten, während der Studie weniger oder gar nicht von Zecken befallen waren. Es ist wichtig zu beachten, dass nur die korrekte und regelmäßige, d.h. in einem Abstand von vier Wochen durchgeführte Applikation des Ektoparasitikums Hunde vor einem Zeckenbefall schützen kann. In unserer Studie hatten vorberichtlich regelmäßig mit Ektoparasitika behandelte Hunde Zecken und waren seropositiv für *A. phagozytophilum*. Eine mögliche Ursache stellt die nicht korrekt durchgeführte bzw. entgegen den Besitzerangaben auf den Fragebögen unregelmäßige Applikation des Ektoparasitikums dar. Es ist daher wichtig festzuhalten, dass nur die korrekte und regelmäßige (d.h. im Abstand von 4 Wochen durchgeführte) Anwendung vor einem Zeckenbefall schützt.
Hunde der Vergleichsgruppe wurden im Gegensatz zu den Langzeitprobanden lediglich einmal untersucht, was eine Schwäche dieser Studie darstellt. Daher ist ein direkter Vergleich zwischen den Ergebnissen dieser Hunde und der Langzeitprobanden nicht möglich. Außerdem waren Hunde der Vergleichsgruppe im Median älter als die Langzeitprobanden, was die Wahrscheinlichkeit für einen positiven Antikörpertiter erhöht (EGENVALL et al., 2000; KIRTZ et al., 2007). Von der Einführung einer Kontrollgruppe, die nicht mit Ektoparasitika behandelt, aber mehrfach auf *A. phagozytophilum* untersucht werden sollte, wurde abgesehen, da es sich um eine klinische Studie handelte und es ethisch nicht vertretbar war, Hunde bewusst dem Risiko einer Infektion mit *A. phagozytophilum* und einer daraus resultierenden CGA auszusetzen.
Bisher gibt es kaum Informationen, inwiefern Imidacloprid-Permethrin-Präparate Hunde vor Infektionen mit *A. phagozytophilum* schützen können. In einer experimentellen Studie wurden 8 Beagles 7 Tage vor einer Exposition mit natürlich mit *A. phagozytophilum* infizierten *I. scapularis*-Zecken mit einem Imidacloprid-Permethrin-Kombinationspräparat behandelt. Kein Hund serokonvertierte (BLAGBURN et al., 2004). Andere Studien untersuchten, inwiefern Permethrin über eine repellierende und abtötende Wirkung auf Zecken verfügt, bevor diese einen Wirt befallen und saugen. In allen Studien konnte eine Effektivität nachgewiesen werden. Dies ist von großer Wichtigkeit für die Prävention der Übertragung sog. „tick-borne-pathogens", zu denen auch *A. phagozytophilum* gezählt wird (ENDRIS et al., 2000; YOUNG et al., 2001; ENDRIS et al., 2002; HELLMANN et al., 2003; YOUNG et al., 2003). In einer anderen Studie konnten Kombinationspräparate aus Imidacloprid und Permethrin sowie Fipronil und (S)-Methopren Hunde bis zu 25 Tage nach der initialen Behandlung mit diesen Präparaten vor einer Infektion mit *A. phagozytophilum* über infizierte Zecken schützen (HOROWITZ et al., 1998).
Im Gegensatz zu den meisten früheren Studien handelte es sich bei unserer Untersuchung um keine experimentelle Studie. Die Aussagen sind daher auf die „normale" Hundepopulation zu übertragen. Studien dieser Art sind aufgrund der hohen Prävalenz von *A. phagozytophilum* serologisch positiven Hunden in Deutschland von Bedeutung.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass der beste Schutz vor Infektionen mit *A. phagozytophilum* und einer CGA aus einer Kombination von täglichem Absuchen der Hunde, was sich bei langhaarigen Rassen als schwierig gestalten kann, und einer regelmäßigen im Abstand von 4 Wochen durchgeführten Behandlung mit einem gegen Zecken zuverlässig wirksamen Präparat besteht. Es konnte gezeigt werden, dass eine regelmäßige Behandlung mit Permethrin-Imidacloprid (Advantix®) einen wirksamen Schutz vor Neuinfektionen mit *A. phagozytophilum* darstellte.

3. Klinische Studie zur caninen granulozytären Anaplasmose

Insgesamt wurde die Diagnose CGA in einem Zeitraum von Juni 2005 bis Juli 2007 bei 23 Hunden gestellt. Da bei 4 Hunden Ko-Infektionen nachgewiesen wurden, wurden sie aus der Auswertung ausgeschlossen, da bei diesen Hunden nicht sicher war, welche Symptome von der CGA stammten und welche auf die Ko-Infektionen zurückzuführen waren. Außerdem können Ko-Infektionen z.B. mit *Borrelia burgdorferi* das Krankheitsbild der CGA verstärken (NYARKO et al., 2006; NIETO und FOLEY, 2008). Ko-Infektionen mit *B. burgdorferi* und *A. phagozytophilum* kommen in der Region Berlin/Brandenburg vor (unveröffentlichte Daten). Es wurden 671 Hunde mittels des SNAP®-4Dx®-Tests untersucht. Vier Hunde waren ko-infiziert mit *B. burgdorferi* und *A. phagozytophilum*. In früheren Studien wurden Hunde mit Ko-Infektionen häufig in die Studien eingeschlossen. Es stellte sich daher als schwierig dar, die hier erhobenen Daten mit den Ergebnissen verschiedener früherer Arbeiten zu vergleichen. Eine weitere Schwierigkeit bestand darin, dass der Umfang durchgeführter Untersuchungen zwischen den bisher durchgeführten Erhebungen stark variierte.

3.1. Untersuchungen auf *A. phagozytophilum*

Für die Diagnosestellung wurden bisher verschiedene Kriterien angegeben. Nach den Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA, wird die Diagnose granulozytäre Anaplasmose gestellt, wenn eine Zeckenexposition und/oder Bluttransfusion nicht ausgeschlossen werden können, die Hunde klinische Symptome oder hämatologische Befunde aufweisen, die *A. phagozytophilum*-PCR positiv ist, Morulae in neutrophilen Granulozyten nachweisbar sind oder der *A. phagozytophilum*-Antikörpertiter innerhalb von vier Wochen um das Vierfache ansteigt oder abfällt (BJÖERSDORFF, 2005). Als positiver Nachweis von *A. phagozytophilum* kann auch eine positive Zellkultur angesehen werden (FOLEY et al., 2008). Nach GREIG und ARMSTRONG (2006) können die Jahreszeit, die Anamnese, hämatologische (v.a. die Identifikation von Morulae in Neutrophilen) und biochemische Daten sowie das Ergebnis serologischer Untersuchungen bei der Diagnosestellung hilfreich sein, doch basiert die endgültige Diagnose letztlich auf einem positiven PCR-Ergebnis (GREIG und ARMSTRONG, 2006) oder einer positiven Zellkultur (FOLEY et al., 2008).
In früheren Arbeiten erfolgte die Diagnose der CGA über ein positives PCR-Ergebnis, (BEXFIELD et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007) durch den Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten (MADEWELL und GRIBBLE, 1982; COWELL et al., 1988; MARETZKI et al., 1994; JOHANSSON et al., 1995; EGENVALL et al., 1997; TARELLO, 2003) oder durch den Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten und einem positiven PCR-Ergebnis (GREIG et al., 1996; PUSTERLA et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; MANNA et al., 2004; ARSENAULT und MESSICK, 2005; KIRTZ et al., 2005; LESTER et al., 2005; POITOUT et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007).

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist sensitiver als der Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten und erlaubt die Amplifikation definierter DNA-Abschnitte (KOOLMAN und RÖHM, 1998). Die PCR ermöglicht eine spezifische Diagnose, während bei der serologischen Untersuchung Kreuzreaktionen mit eng verwandten Rickettsien auftreten können. Kreuzreaktionen zwischen *A. phagozytophilum* und *A. platys* traten bei der PCR nicht auf, sofern das msp2-Gen amplifiziert wurde, wohl aber bei Amplifikation der Gene rrs und groESL (SANTOS et al., 2009). Serologisch besteht eine starke Kreuzreaktivität zwischen den verschiedenen Stämmen von *A. phagozytophilum*. Zwischen *A. phagozytophilum* und weiteren Bakterien der Familie der *Ehrlichiae* (*E. canis*, *E. ewingii*, *E. chaffeensis*) ist eine serologische Kreuzreaktivität ungewöhnlich. Keine Kreuzreaktivität wurde zwischen *A. phagozytophilum* und *B. burgdorferi*, *Bartonella* spp. und *Rickettsia* (*R.*) *rickettsii* nachgewiesen (DUMLER et al., 1995; MAGNARELLI et al., 1995; EGENVALL et al., 1997; MAGNARELLI et al., 1997; SUKSAWAT et al., 2000; DUMLER et al., 2001). Zwischen *A. phagozytophilum* und *A. platys* wurden ebenfalls Kreuzreaktionen festgestellt (INOKUMA et al., 2001). Es ist daher allein über die Serologie kein eindeutiger Schluss auf den einer Infektion oder Erkrankung zugrunde liegenden Erreger möglich (SANTOS et al., 2009). Berichte über mögliche Infektionen mit *A. platys* aus Deutschland liegen unseres Wissens nicht vor.

Mit Hilfe experimenteller Studien bei Pferden und Hunden konnte ermittelt werden, dass eine Serokonversion 2 bis 5 Tage nach dem ersten Auftreten von Morulae in neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut erfolgt (EGENVALL et al., 1998; PUSTERLA et al., 1999). Derzeit gibt es nur wenige Angaben über den Antikörpertiterverlauf über einen längeren Zeitraum. In einer Studie wurden Hunde über einen Zeitraum von maximal 200 Tagen verfolgt. Alle Hunde serokonvertierten wenige Tage nach der Inokulation und hatten im gesamten Studienzeitraum hohe Antikörpertiter (EGENVALL et al., 2000). In einer anderen Studie hatten 8 von 14 Hunden nach mehr als 270 Tagen noch immer Antikörpertiter ≥ 1:80 (EGENVALL et al., 1997).

Bei der Diagnose der CGA ist zu beachten, dass auch Hunde PCR-positiv sein können, die klinisch und hämatologisch unauffällig sind. Des Weiteren ist zu beachten, dass nur positive PCR-Ergebnisse relevant sind. Ein negatives PCR-Ergebnis schließt eine Infektion und CGA nicht aus. Falsch negative Ergebnisse können u.a. verursacht werden durch eine zu geringe Anzahl von Krankheitserregern in der Patientenprobe, Inhibitoren der DNA-Polymerase in der Patientenprobe, Erregervarianten, die aufgrund einer veränderten Nukleotidsequenz eine Amplifikation mit den verwendeten Primern nicht zulassen, Verdauung der Erreger-Nukleinsäure durch eingeschleppte DNAsen oder RNAsen. Falsch-positive Ergebnisse dagegen können verursacht werden durch Kontamination bei der Gewinnung des Patientenmaterials oder Kontamination während der Durchführung der PCR, hauptsächlich durch bereits amplifizierte Produkte (LABORINFORMATION MEDIZINISCHES LABOR BREMEN). Falsch positive Ergebnisse können auch entstehen, wenn Hunde mit anderen *Anaplasma* spp. infiziert sind und die eingesetzten Assays die DNA dieser Erreger ebenfalls amplifizieren. Assays, die auf dem msp2-Gen basieren, sind gewöhnlich spezifisch für den Nachweis von *A. phagozytophilum*. Im Gegensatz dazu werden mit Assays zum Nachweis der 16S rRNA auch die Gene anderer *Anaplasma* spp. und sogar anderer Bakterien, wie z.B. *Bartonella henselae* erfasst (EGENVALL et al., 2000).

Ebenso wie bei der PCR ist nur der Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten aussagekräftig. Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit *A. phagozytophilum* und damit eine CGA nicht aus. Es ist jedoch zu beachten, dass auch *E. ewingii*, der Erreger der caninen granulozytären Ehrlichiose, Morulae in neutrophilen Granulozyten ausbildet. In für *E. ewingii* endemischen Gebieten muss sich an den Nachweis von Morulae in Neutrophilen

daher immer eine PCR zur genauen Diagnosestellung anschließen (GREIG und ARMSTRONG, 2006).
In den meisten Studien wurde zusätzlich zu dem direkten Nachweisverfahren ein indirektes Verfahren für die Bestimmung der Höhe des Antikörpertiters eingesetzt; 66 von 90 Morulae- und/oder PCR-positiven Hunden waren seropositiv (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; POITOUT et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007).
In unserer Studie waren 12 Hunde (63%) mit CGA seropositiv. Die Diagnose CGA kann somit nicht auf der Basis einer positiven Serologie gestellt werden, da Hunde seronegativ, aber dennoch an einer CGA erkrankt sein können und umgekehrt. Ein zusätzliches Problem der serologischen Untersuchung besteht darin, dass bisher noch keine Standardisierung dieser Verfahren erfolgte. Serologische Untersuchungen sollten daher immer im gleichen Labor und mit dem gleichen Verfahren durchgeführt werden, was insbesondere für Wiederholungsuntersuchungen gilt (GREIG und ARMSTRONG, 2006). Dies wird z.B. dadurch verdeutlicht, dass in unserer Studie bei 39% von 18 getesteten Hunden Unterschiede zwischen den Ergebnissen der serologischen Untersuchung mittels IFAT und des SNAP®4Dx® bestanden.
Die Diagnose CGA wurde in dieser Arbeit daher nur dann gestellt, wenn Hunde klinische Symptome oder abnorme Befunde in der hämatologischen bzw. klinisch-chemischen Untersuchung aufwiesen, die PCR-positiv war und/oder Morulae in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden konnten, bekannte Ko-Infektionen ausgeschlossen wurden und die Tiere auf eine Doxyzyklintherapie ansprachen. Da in der Region Berlin/Brandenburg *E. ewingii* nicht endemisch vorkommt, galt der Nachweis von Morulae in Neutrophilen als positiv für *A. phagozytophilum* und ein positives PCR-Ergebnis war nicht zwingend erforderlich. Jedoch waren in unserer Studie alle Hunde PCR-positiv.

3.2. Signalement

Neun verschiedene Rassen und 7 Mischlinge unterschiedlicher Rassen waren vertreten. Das Alter der Hunde schwankte stark (2 bis 13 Jahre), doch waren die meisten Hunde ≥ 6 Jahre alt (n = 15). Dieses Ergebnis ist mit den Resultaten früherer Arbeiten vergleichbar, in denen die anaplasmosekranken Hunde im Median zwischen 4 und 8 Jahre alt waren (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; POITOUT et al., 2005). In einer Untersuchung konnten bei der Auswertung der Altersverteilung zwei Peaks festgestellt werden: jeweils 9 Hunde waren zwischen 1 und 2 bzw. 8 und 9 Jahre alt (TARELLO, 2003). Auch bei Menschen konnte eine Alterspräsdisposition festgestellt werden. Es erkranken v.a. über 50 Jahre alte Menschen, Kinder sind selten betroffen (BAKKEN et al., 1994; BAKKEN et al., 1996; BELONGIA et al., 2001).
In dieser Studie war das Geschlechtsverhältnis zugunsten der männlichen Tiere verschoben. Da jedoch bei nur wenigen Hunden (im Verhältnis zu den insgesamt untersuchten Hunden) die Diagnose CGA gestellt wurde, sind weitere Untersuchungen mit einer größeren Fallzahl erforderlich, um eine Aussage über eine mögliche Geschlechtsprädisposition treffen zu können. Frühere Arbeiten haben bisher keine Geschlechtsprädisposition zeigen können (EGENVALL et al., 1997; POITOUT et al., 2005). In zwei früheren Arbeiten war das Geschlechtsverhältnis zugunsten der weiblichen Tiere verschoben (GREIG et al., 1996; TARELLO, 2003), in einer Arbeit zugunsten der männlichen Tiere (GOLDMAN et al., 1998).

3.3. Anamnese

Vergleichbar mit den Ergebnissen früherer Studien waren die meisten Hunde akut erkrankt (EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005). Ein Hund zeigte bereits seit 30 Tagen vor Vorstellung die unspezifischen Symptome Mattigkeit und Bewegungsunlust (EGENVALL et al., 1997).
Bei den meisten Hunden dieser Arbeit, die über einen Zeckenbiss infiziert wurden, wurde die Diagnose CGA in den Monaten April bis September gestellt. Lediglich ein Hund erkrankte im November. Dies ist hinweisend für die Saisonalität der Erkrankung, die abhängig ist von der Aktivität der übertragenden Vektoren. Auch frühere Arbeiten konnten eine Saisonalität feststellen, die abhängig war von den in der entsprechenden Region vorkommenden *A. phagozytophilum*-übertragenden Vektoren (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005). Ein Hund wurde über eine Bluttransfusion infiziert. Diese Möglichkeit einer Übertragung wurde auch bereits bei 2 Fällen aus der Humanmedizin, einem Fall aus der Veterinärmedizin (Infektion einer Katze über eine Bluttransfusion) und in veterinärmedizinischen experimentellen Arbeiten beschrieben (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008; EGENVALL et al., 1998; EASTLUND et al., 1999; REINE, 2004).
Die von den Besitzern beobachteten Symptome waren unspezifisch – sowohl in dieser Studie als auch in früheren Arbeiten. Die häufigsten von den Besitzern genannten Symptome waren Lethargie, Inappetenz und verminderte Leistungsfähigkeit (GREIG et al., 1996; EGENVALL et al., 1997; GOLDMAN et al., 1998; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005).
Einige Studien gaben Informationen über den Zeckenbefall an CGA erkrankter Hunde. Z.B. hatten die Besitzer von 13 von 14 schwedischen Hunden einen Zeckenbefall beobachtet (EGENVALL et al., 1997), in der vorliegenden Studie hatten vorberichtlich 14 von 18 über Zecken infizierte Hunde Zecken gehabt, bei 4 Hunden wurde ein Zeckenbefall wahrscheinlich von den Besitzern nicht bemerkt.

3.4. Klinische Untersuchung

In früheren Studien wurden 89 Hunde mit CGA ohne bekannte Ko-Infektionen beschrieben (EGENVALL et al., 1997; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007). Die häufigsten klinischen Symptome waren Lethargie/Mattigkeit, Fieber, Bewegungsunlust, Lahmheit oder Gelenkbiegeschmerz, Anorexie und Lymphadenopathie. Seltene Befunde waren Husten, Vomitus/Diarrhoe, Blutungen und blasse Schleimhäute. Die klinischen Befunde sind mit den Ergebnissen unserer Studie vergleichbar: Mattigkeit, Inappetenz, Fieber waren die häufigsten Befunde, seltener wurden blasse Schleimhäute, ein angespanntes Abdomen, Diarrhoe, Vomitus, PD/PU, Blutungen und Lahmheiten beobachtet. Auffallend war, dass in einer früheren Studie aus Deutschland (n = 51 Hunde) die häufigsten Symptome neurologische Symptome (49%), Lethargie (47%), Fieber (43%) und arthritische Beschwerden (41%) (wechselnde Lahmheiten, Steifheit, Gelenkschwellungen und Gelenkschmerz sowie Mono- und Polyarthritis) waren. Diese Daten wurden anhand von Fragebögen ermittelt (SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007).
Bei 17 Hunden wurde eine Splenomegalie festgestellt, 1 Hund hatte eine Hepatosplenomegalie, 1 Hund wurde augrund eines Hämangiosarkoms splenektomiert. Auch in experimentellen Studien wurde eine Splenomegalie festgestellt. Sieben experimentell infizierte Hunde wurden pathologisch untersucht. Die Milz aller untersuchten Hunde war gering- bis mittelgradig vergrößert. Mikroskopisch zeigte die Milz eine reaktive Hyperplasie

(EGENVALL et al., 1998). Eine reaktive Splenomegalie wurde u.a. auch bei der monozytären Ehrlichiose, der immunhämolytischen Anämie und der immunmediierten Thrombozytopenie beschrieben (GREIG und ARMSTRONG, 2006; PUTSCHE und KOHN, 2008).

3.5. Hämatologische Untersuchung

Für 51 Hunde früherer Studien ohne bekannte Ko-Infektionen standen die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung zur Verfügung. Die häufigsten abnormen hämatologischen Befunde waren Thrombozytopenie, Lymphopenie und Leukopenie. Seltenere Befunde waren Anämie, Neutropenie und Leukozytose. Die Daten unserer Studie waren mit den Ergebnissen der früheren Arbeiten vergleichbar: 61% der Hunde wiesen eine leichte bis moderate Anämie auf, eine Neutrophilie wurde bei 44% und eine Monozytose bei 39% unserer Fälle beobachtet; 89% der Hunde wiesen eine leichte bis moderate Thrombozytopenie auf. Eine Thrombozytopenie wurde bei vielen Menschen und Tieren mit Infektionen mit *Ehrlichia* spp. beschrieben (WOODY und HOSKINS, 1991; GREIG et al., 1996; NEER et al., 2002). Die Ursachen für die Blutbildveränderungen sind derzeit noch nicht geklärt. Als mögliche Ursachen werden ein erhöhter Thrombozytenverbrauch aufgrund einer DIC, eine Sequestrierung von Thrombozyten in einer vergrößerten Milz, eine immunmediierte Thrombozytenzerstörung oder die Produktion inhibitorischer Faktoren diskutiert (SMITH et al., 1975; WANER et al., 1995; WONG und THOMAS, 1998). Mit *A. phagozytophilum*-infizierte neutrophile Granulozyten steigern die Produktion von IL-8 und anderen Zytokinen (MIP-1α, MIP-1β, MCP-1 und RANTES). MIP-1α, MIP-1β und IL-8 hemmen die Hämatopoese in vitro (ECKERSALL, 1995). Bei bis zu 80% der mit *A. phagozytophilum* infizierten Menschen wurden Thrombozytenantikörper nachgewiesen (WONG und THOMAS, 1998). Bisher wurden Thrombozytenantikörper bei nur einem Hund festgestellt (BEXFIELD et al., 2005). Da die Untersuchung auf thrombozytengebundene Antikörper bei 6 von 10 Hunden dieser Studie positiv war, wird vermutet, dass eine sekundäre immunmediierte Thrombozytopenie einen wichtigen Pathomechanismus für die Entstehung von Thrombozytopenien bei Hunden mit CGA darstellt. Es wurde jedoch beobachtet, dass eine Thrombozytopenie auch bei Mäusen entstand, denen B- und T-Zellen fehlten und die somit keine Antikörper ausbilden konnten. Es wird daher vermutet, dass weitere Mechanismen bei der Entstehung von Thrombozytopenien wichtig sind (BORJESSON et al., 2001). Eine Thrombozytopenie könnte zwar auch abnahmebedingt entstehen, dies wurde jedoch bestmöglich ausgeschlossen; zudem wurden die Blutabnahmen wiederholt, um den Verlauf der Thrombozytenzahlen zu kontrollieren.
In einer experimentellen Studie wurden 9 Hunde mit *A. phagozytophilum* infiziert, sie entwickelten infolge dessen eine leichte, normozytäre, normochrome Anämie (LILLIEHÖÖK et al., 1998). Antierythrozytäre Antikörper und Erythrozytenagglutination wurden bei 3 Hunden beschrieben, die mit einem *A. phagozytophilum*-Stamm aus den USA infiziert waren (GOLDMAN et al., 1998). In unserer Studie stellte die Hämolyse einen möglichen Pathomechanismus bei der Entstehung von Anämien dar, da 5 Hunde mit einer leichten Hyperbilirubinämie auch anämisch waren. Der direkte Coombs-Test war bei 3 dieser Hunde sowie 5 weiteren anämischen Hunden und einem Hund mit einem normalen Hämatokrit negativ. Für die Untersuchung der Bedeutung einer immunmediierten Zerstörung von Erythrozyten im Rahmen einer CGA sind daher weitere Studien erforderlich. Bei drei Hunden mit Hämorrhagien lag eine Blutungsanämie vor.

3.6. Klinische Chemie

Es gestaltete sich als schwierig, die Ergebnisse der klinischen Chemie dieser Arbeit mit den in früheren Studien erhobenen Daten zu vergleichen, da die untersuchten Parameter stark variierten (EGENVALL et al., 1997; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005; SCHAARSCHMIDT-KIENER und MÜLLER, 2007). Die häufigsten Befunde waren Hyperproteinämie, Eisenmangel, erhöhte alkalische Phosphatase, Hypoproteinämie, Hypoalbuminämie und eine erhöhte Alanin-Amino-Transferase. Seltenere Befunde waren erhöhte Lipase- oder Kreatinkinasewerte und Hypophosphatämie. In dieser Studie waren die häufigsten abnormen Befunde der klinischen Chemie erhöhte Leberenzymaktivitäten, Hyperbilirubinämie, Hypokaliämie sowie Hyperproteinämie, Hyperglobulinämie und Hypoalbuminämie. Während der akuten Phase-Reaktion ist die hepatische Produktion von Albumin erniedrigt, die Produktion von α- und β-Globulinen dagegen erhöht, was die Entstehung einer Hyperalbuminämie und Hyperglobulinämie erklären könnte. Hämolytische und hepatobiliäre Erkrankungen stellen die beiden Hauptursachen einer Hyperbilirubinämie dar. In unserer Studie hatten alle Hunde mit einer Hyperbilirubinämie (n = 5) eine Anämie. Eine hämolytische Komponente bei der Anämieentwicklung ist daher möglich. Bestimmte Bakterientoxine und Akute-Phase-Entzündungsmediatoren verändern den physiologischen Bilirubinmetabolismus und können dadurch zu einer Hyperbilirubinämie führen.

3.7. Therapie und Verlauf

In früheren Studien wurden 32 Hunde mit CGA beschrieben, die mit Doxyzyklin behandelt wurden. Drei dieser Hunde starben (die Todesursachen wurden nicht angegeben), die anderen Hunde erholten sich vollständig (EGENVALL et al., 1997; TARELLO, 2003; POITOUT et al., 2005). Eine mögliche Erklärung für das Versterben von Hunden wäre die bei der CGA beobachtete Leukopenie, die die Patienten empfänglicher für Sekundärinfektionen macht. Diese wurden am besten bei am Zeckenfieber der Wiederkäuer erkrankten Schafen und Rindern beschrieben. *A. phagozytophilum* prädisponierte Schafe für Infektionen mit *Staphylococcus aureus* (FOGGI, 1956), *Pasteurella* spp. (GILMOUR et al., 1982) und *Listeria monozytogenes* (GRONSTOL und OVERAS, 1980). Opportunistische Infektionen wurden auch bei Menschen dokumentiert und als eine mögliche Ursache für Todesfälle in Betracht gezogen (DUMLER et al., 2005).
In dieser Arbeit erholten sich 18 von 19 Hunden vollständig, ein Hund mit einem Hämangiosarkom der Milz wurde aufgrund von Metastasen in der Leber eingeschläfert. Alle Hunde wurden mit Doxyzyklin behandelt. Bei einem Hund wurde die Therapie abgebrochen, da es zu einem Anstieg der Leberenzyme kam und stattdessen einmalig Imidocarb appliziert. Bisher wurde noch nicht bewiesen, dass Imidocarb bei der CGA effektiv eingesetzt werden kann. Daten stehen bisher nur für den Einsatz bei der monozytären Ehrlichiose zur Verfügung (MATTHEWMAN et al., 1994); in einer neueren Studie führte Imidocarb nicht zur Erregerfreiheit (EDDLESTONE et al., 2006). Drei Hunde mit einer vermuteten immunbedingten Erkrankung (reaktive Polyarthritis, sekundäre immunmediierte Thrombozytopenie) wurden zusätzlich zu Doxyzyklin mit Prednisolon behandelt. Der Einsatz von Glukokortikoiden wird sowohl bei der caninen monozytären Ehrlichiose wie auch bei der caninen granulozytären Anaplasmose beschrieben, u.a. bei schweren, lebensbedrohlichen Thrombozytopenien. Ein immunmediierter Mechanismus wird sowohl für die Entstehung der Thrombozytopenie als auch für die Entwicklung einer Polyarthritis im Rahmen einer CGA vermutet, was den Einsatz von Glukokortikoiden in ausgewählten Fällen rechtfertigt (GREIG, 2006).

In einer experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass Infektionen mit *A. phagozytophilum* persistieren können. Zwei Hunde wurden mit einem humanen *A. phagozytophilum*-Isolat infiziert und wurden daraufhin PCR-positiv. Wie bereits bei Infektionen mit *E. canis* und *A. marginale* beobachtet, konnte eine Behandlung mit Doxyzyklin den Erreger nicht eliminieren, da eine Applikation von Glukokortikoiden dazu führte, dass die Hunde erneut PCR-positiv wurden (ALLEMAN et al., 2006). In unserer Arbeit waren alle Hunde, die nach 2 bis 8 Wochen erneut auf Infektionen mit *A. phagozytophilum* getestet wurden, PCR-negativ. Hunde wurden jedoch nach dieser Untersuchung nicht erneut auf Infektionen mit *A. phagozytophilum* getestet, sodass eine Persistenz des Erregers nicht vollständig ausgeschlossen werden kann. Mögliche Ursachen für ein negatives PCR-Ergebnis trotz der Persistenz des Erregers sind zum einen eine für den Nachweis zu geringe Erregermenge und zum anderen eine Persistenz des Erregers in Organen wie Knochenmark, Milz und Leber (EGENVALL et al., 2000).

3.8. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die CGA sollte differenzialdiagnostisch in Betracht gezogen werden bei Hunden mit unspezifischen Symptomen wie Fieber, Lethargie, Inappetenz, Splenomegalie, Lahmheit oder im Fall von abnormen Laborbefunden wie Thrombozytopenie, Anämie, Lymphopenie und Hypoalbuminämie. Die Diagnose der CGA basiert auf dem Ausschluss anderer bekannter Infektionskrankheiten, die in der entsprechenden Region vorkommen, einem positiven PCR-Ergebnis und/oder dem Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten, einem vierfachen Titeranstieg innerhalb von 4 Wochen und einer klinischen Besserung nach Beginn einer Therapie mit Doxyzyklin.
Derzeit ist noch nicht geklärt, warum viele Hunde Kontakt mit *A. phagozytophilum* haben, aber nicht erkranken. Es gilt herauszufinden, ob die Ursache im Wirtstier, also dem Hund, zu suchen ist, oder ob evtl. nur bestimmte *A. phagozytophilum*-Stämme zu dem Krankheitsbild der CGA führen. Hierfür sind molekularbiologische Untersuchungen erforderlich, die die Stämme der erkrankten Hunde identifizieren. Zusätzlich sollte die Erregerlast bei PCR-positiven kranken und klinisch gesunden Hunden bestimmt werden, um herauszufinden, ob eine Mindesthöhe der Erregerlast zum Ausbruch der CGA führt. Zusätzlich sind immunologische Studien von Interesse, die individuelle Differenzen im Immunsystem aufdecken und mögliche Erklärungen liefern können, warum ein Individuum erkrankt, ein anderes dagegen subklinisch infiziert bleibt.

VI Zusammenfassung

Infektion mit *Anaplasma phagozytophilum* beim Hund - eine Studie über Prävalenz, Prävention, Klinik

A. phagozytophilum ist ein von Zecken der Gattung *Ixodes* übertragenes gramnegatives obligat intrazelluläres Bakterium, das v.a. neutrophile Granulozyten befällt. Infektionen mit diesem Erreger wurden bei den meisten Haussäugetieren und auch beim Menschen festgestellt. *A. phagozytophilum* ist der Erreger der caninen granulozytären Anaplasmose (CGA).
Ziele dieser Studie waren 1) die Ermittlung der Prävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei klinisch gesunden und kranken, anaplasmoseverdächtigen Hunden, 2) die Untersuchung, ob eine regelmäßige Behandlung mit Imidacloprid-Permethrin einen wirksamen Schutz vor Neuinfektionen mit *A. phagozytophilum* darstellt und 3) die Beschreibung der CGA (Symptomatik, Labordiagnostik und Verlauf der Erkrankung).
1) Zwischen Juni 2005 bis Dezember 2006 gingen 522 Hunde in die Studie ein (Gruppe 1: 258 kranke, anaplasmoseverdächtige Hunde, Gruppe 2: 264 klinisch gesunde Hunde). Ein Anaplasmoseverdacht war gegeben, wenn Hunde Symptome wie Lethargie, Fieber, Inappetenz, blasse Schleimhäute, Oberflächenblutungen, Gelenkschmerz, Bewegungsunlust oder Splenomegalie sowie Laborwertveränderungen wie Thrombozytopenie, Anämie und Leukopenie aufwiesen. Nach Anamneseerhebung und klinischer Untersuchung wurden bei allen Hunden eine hämatologische Untersuchung und Untersuchung auf *A. phagozytophilum* (direkter Nachweis mittels Blut- und Buffy-coat-Ausstrichen sowie Real-time-PCR, indirekter Nachweis über IFAT) durchgeführt.
Insgesamt waren 226 (43,3%) der Hunde seropositiv, 121 (46,9%) kranke und 105 (39,8%) gesunde. Insgesamt war die PCR bei 30 Hunden (5,7%) positiv (20 kranke, 10 gesunde), bei 492 (94,3%) negativ (238 kranke, 254 gesunde). Morulae wurden ausschließlich bei PCR-positiven Hunden nachgewiesen (bei 10 kranken, 2 gesunden Hunden). Hunde der Gruppe 1 waren nicht signifikant häufiger PCR- oder Morulae-positiv als Hunde der Gruppe 2 ($p > 0,05$). Nur 22 von 30 (73,3%) PCR-positiven Hunden waren seropositiv. PCR-positive Hunde waren signifikant häufiger seropositiv als PCR-negative Hunde ($p < 0,05$). 26 der 30 Hunde mit einem positiven PCR-Ergebnis wurden in den Monaten Mai bis September vorgestellt ($p = 0,021$). Im Gegensatz dazu konnte kein Hinweis für eine Saisonalität des Antikörpertiternachweises festgestellt werden ($p = 0,474$).
2) 27 initial negativ für *A. phagozytophilum* getestete Hunde wurden über ein Jahr alle 4 Wochen mit Permethrin-Imidacloprid (Advantix®) behandelt und im Abstand von 3 – 4 Monaten erneut auf *A. phagozytophilum* untersucht. Ein Hund serokonvertierte, 26 Hunde blieben seronegativ. Die PCR war bei allen Hunden bei jeder Untersuchung negativ, Morulae konnten ebenfalls bei keinem Hund nachgewiesen werden. Zusätzlich fiel auf, dass Hunde, die vor Studienbeginn Zecken hatten, während der Studie weniger oder gar nicht von Zecken befallen waren.
3) Von Juni 2005 bis Juli 2007 wurde die Diagnose CGA bei 19 kranken, anaplasmoseverdächtigen Hunden auf der Basis eines positiven PCR-Tests, dem Ausschluss bekannter Ko-Infektionen und der Besserung auf eine Doxyzyklintherapie gestellt. Bei 18 Hunden erfolgte die Infektion über Zecken, ein Hund wurde über eine Bluttransfusion infiziert.
Die meisten Hunde zeigten unspezifische Symptome: Mattigkeit (18), Inappetenz (16) und Fieber (11). Seltener waren blasse Schleimhäute (6), angespanntes Abdomen (6), Diarrhoe (3), Polydipsie/Polyurie (3), Oberflächenblutungen (3), Vomitus (2) und Lahmheit (2). Zu den Laborwertabweichungen gehörten Thrombozytopenie (18), Anämie (10), Leukopenie (5),

Leukozytose (5), Neutrophilie (8), Lymphopenie (9), Monozytose (7) sowie Hyperglobulinämie (6), Hypoalbuminämie (12), eine erhöhte alkalische Phosphatase (11) und eine Hyperbilirubinämie (5). Der Test auf thrombozytengebundene Antikörper war bei 6 von 10 untersuchten Hunden positiv, der Coombs-Test bei allen 9 getesteten Hunden negativ. Eine sekundäre immunbedingte Thrombozytopenie (ITP) könnte einen wichtigen Pathomechanismus bei der Entstehung einer Thrombozytopenie im Rahmen der CGA darstellen. Bei 17 Hunden wurde röntgenologisch eine Splenomegalie diagnostiziert, ein Hund hatte eine Hepatosplenomegalie.
Alle Hunde wurden mit Doxyzyklin therapiert, ein Hund zusätzlich mit Imidocarb. Drei Hunde mit sekundärer ITP oder Polyarthritis erhielten zusätzlich Prednisolon. Achtzehn Hunde erholten sich vollständig, ein Hund wurde aufgrund eines Hämangiosarkoms euthanasiert.
Zusammenfassend ist festzuhalten, dass Infektionen mit *A. phagozytophilum* beim Hund in der Region Berlin/Brandenburg häufig sind, aber nur ein kleiner Teil der infizierten Hunde erkrankt. Es bestand kein Unterschied zwischen seropositiven und -negativen Hunden bezüglich des Auftretens von Laborwertveränderungen. PCR-positive Hunde können sowohl klinisch als auch hämatologisch unauffällig sein, weshalb eine routinemäßige Untersuchung von Blutspendern mittels eines direkten Nachweisverfahrens empfohlen wird. Eine serologische Untersuchung zum Ausschluss einer möglichen Übertragung ist nicht geeignet, da klinisch gesunde Hunde seropositiv und kranke, an einer CGA erkrankte Hunde seronegativ sein können.
Imidacloprid-Permethrin war bei einer korrekten und regelmäßigen Anwendung geeignet, Hunde vor Infektionen mit *A. phagozytophilum* zu schützen.
Die CGA sollte differentialdiagnostisch in Betracht gezogen werden bei Hunden mit unspezifischen Symptomen wie Fieber, Lethargie, Inappetenz, Splenomegalie, Lahmheit oder im Fall von abnormen Laborbefunden wie Thrombozytopenie, Anämie, Lymphopenie und Hypoalbuminämie. Die Diagnose der CGA basiert auf dem Ausschluss anderer bekannter Infektionskrankheiten, die in der entsprechenden Region vorkommen, einem positiven PCR-Ergebnis und/oder dem Nachweis von Morulae in neutrophilen Granulozyten und einer klinischen Besserung nach Beginn einer Therapie mit Doxyzyklin. Bei korrekter Diagnose und Therapie scheint die Prognose der CGA gut zu sein.

VII Summary

Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs - a study about prevalence, prevention and clinical signs

A. phagocytophilum is an obligate intracellular Gram-negative bacterium transmitted by ticks of the genus *Ixodes*. It mostly afflicts neutrophils. Infections with this pathogen have been described in most domestic mammals and men. *A. phagocytophilum* is the causative agent of canine granulocytic anaplasmosis (CGA).
Objectives of this study were 1) the determination of the prevalence of *A. phagocytophilum* infections in clinically healthy and sick dogs suspicious for CGA, 2) the evaluation whether an appropriate prophylactic application of permethrin-imidacloprid prevents from *A. phagocytophilum* infection and 3) the description of the CGA (clinical signs, laboratory findings and outcome).
1) Between June 2005 and December 2006 522 dogs were included in this study (group 1: 258 sick dogs suspicious for CGA, group 2: 264 clinically healthy dogs). Suspicious for CGA were dogs with clinical signs such as lethargy, fever, inappetence, pale mucous membranes, hemorrhage, joint pain, reluctance to move or splenomegaly or with laboratory abnormalities such as thrombocytopenia, anemia and leukopenia. After collecting data from the history and clinical examination a complete blood count and testing for infection with *A. phagocytophilum* (direct determination via blood and buffy coat smears as well as real-time-PCR, indirect determination via IFAT) were performed in all dogs.
226 dogs (43.3%) were seropositive, 121 (46.9%) were sick, 105 (39.8%) were clinically healthy. PCR was positive in 30 dogs (5.7%) (20 sick, 10 clinically healthy) and negative in 492 (94.3%) dogs (238 sick, 254 clinically healthy). Morulae were identified only in PCR-positive dogs (10 sick, 2 clinically healthy). Dogs of group 2 were not significantly more often PCR- or morulae-positive than dogs of group 1 ($p > 0.05$). Only 22 of 30 (73.3%) PCR-positive dogs were seropositive. PCR-positive dogs were more often seropositive than PCR-negative dogs ($p < 0.05$). In respect to seasonality 26 dogs were *A. phagocytophilum* PCR-positive between May and September. Results of antibody titers did not show seasonality.
2) 27 dogs which were tested negative for *A. phagocytophilum* at the beginning of the trial were regularly (every 4 weeks) treated with permethrin-imidacloprid (Advantix®) and retested every 3 to 4 months. One dog seroconverted, 26 dogs remained seronegative. PCR tests were negative in all dogs throughout the study period. Morulae in neutrophilic granulocytes were not detected at any time. Dogs that were affected by ticks prior to the study were infested less frequently or not at all during the study period.
3) Between June 2005 and July 2007 CGA was diagnosed in 19 sick dogs suspicious for anaplasmosis. Diagnosis was based on a positive PCR-result, exclusion of known co-infections and response to doxycycline therapy. 18 dogs were infected by ticks, 1 dog via a blood transfusion. Most of the dogs had unspecific clinical signs: lethargy (18), inappetence (16) and fever (11); less common were pale mucous membranes (6), tense abdomen (6), diarrhea (3), polydipsia/polyuria (3), surface bleeding (3), vomitus (2), and lameness (2). Abnormal laboratory findings were thrombocytopenia (18), anemia (10), leukopenia (5), leukocytosis (5), neutrophilia (8), lymphopenia (9), monocytosis (7), and hyperglobulinemia (6), hypoalbuminemia (12), elevated alkaline phosphatase (11) and hyperbilirubinemia (5). Six of 10 dogs had positive test results for platelet-bound antibodies, the Coombs' test was negative in all 9 dogs tested. A secondary immune-mediated thrombocytopenia (IMT) might be an important pathomechanism for development of thrombocytopenia in dogs with CGA. In 17 dogs diagnostic imaging revealed a splenomegaly, one dog had hepatosplenomegaly. All dogs were treated with doxycycline, one dog with imidocarb in addition. Three dogs with

secondary IMT and polyarthritis were treated with prednisolone in addition to doxycycline. Eighteen dogs recovered, one dog was euthanized due to hemangiosarcoma.
In summary infections with *A. phagocytophilum* in dogs are common in Berlin/Brandenburg, but only few dogs suffer from CGA. There were no differences between seropositive and –negative dogs in regard to laboratory abnormalities. PCR-positive dogs can be clinically healthy and hematologically normal. Therefore, the routine examination of blood donors via a direct method is recommended. A serological examination for exclusion of a possible transmission is inappropriate since clinically healthy dogs might be seropositive and dogs with CGA seronegative.
Imidacloprid-permethrin is able to protect dogs from infections with *A. phagocytophilum* when applicated correctly and regularly.
CGA should be on the list of differential diagnoses in dogs with unspecific signs like fever, lethargy, inappetence, splenomegaly, lameness or with laboratory abnormalities such as thrombocytopenia, anemia, lymphopenia and hypoalbuminemia. A diagnosis of CGA is based on the exclusion of other infectious diseases depending on the geographical region, a positive PCR-test result and/or the identification of morulae in neutrophils and clinical response to doxycycline therapy. With correct diagnosis and treatment, prognosis of CGA seems to be good.

VIII Zitierte Literatur

Final 2007 Reports of Nationally Notifiable Infectious Diseases. From the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA (2008)

ADELSON, M. E., R.-V. S. RAO, R. C. TILTON, K. CABETS, E. ESKOW, L. FEIN, J. L. OCCI und E. MORDECHAI (2004)
Prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella* spp., *Babesia microti*, and *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes scapularis* ticks collected in Northern New Jersey.
J Clin Microbiol 42, 2799-2801

AGUERO-ROSENFELD, M. E., H. W. HOROWITZ, G. P. WORMSER, D. F. MCKENNA, J. NOWAKOWSKI, J. MUÑOZ und J. S. DUMLER (1996)
Human granulocytic ehrlichiosis: a case series from a medical center in New York State.
Ann Intern Med 125, 904-908

AKKOYUNLU, M., S. E. MALAWISTA, J. ANGUITA und E. FIKRIG (2001)
Exploitation of interleukin-8-induced neutrophil chemotaxis by the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
Infect Immun 69, 5577-5588

ALBERDI, M. P., A. R. WALKER, E. A. PAXTON und K. J. SUMPTION (1998)
Natural prevalence of infection with *Ehrlichia* (*Cytoecetes*) *phagocytophila* of *Ixodes ricinus* ticks in Scotland.
Vet Parasitol 78, 203-213

ALLEMAN, A. R., R. CHANDRASHAKER und M. BEALL (2006)
Experimental inoculation of dogs with a human isolate (Ny18) of *Anaplasma phagocytophilum* and demonstration of persistent infection following doxycycline therapy (abstract).
J Vet Intern Med 20, 763

AMUSATEGUI, I., M. Á. TESOURO, I. KAKOMA und Á. SAINZ (2008)
Serological reactivity to *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Neorickettsia risticii*, *Borrelia burgdorferi* and *Rickettsia conorii* in dogs from Northwestern Spain.
Vector Borne Zoonotic Dis 8, 797-803

ARSENAULT, W. G., und J. B. MESSICK (2005)
Acute granulocytic ehrlichiosis in a rottweiler.
J Am Anim Hosp Assoc 41, 323-326

ASANOVICH, K. M., J. S. BAKKEN, J. E. MADIGAN, M. AGUERO-ROSENFELD, G. P. WORMSER und J. S. DUMLER (1997)
Antigenic diversity of granulocytic *Ehrlichia* isolates from humans in Wisconsin and New York and a horse in California.
J Infect Dis 176, 1029-1034

BAKKEN, J. S., und J. S. DUMLER (2006)
Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis.
Ann N Y Acad Sci 1078, 236-247

BAKKEN, J. S., J. S. DUMLER, S. M. CHEN, M. R. ECKMAN, L. L. VAN ETTA und D. H. WALKER (1994)
Human granulocytic ehrlichiosis in the upper Midwest United States. A new species emerging?
JAMA 272, 212-218

BAKKEN, J. S., J. KRUETH, C. WILSON-NORDSKOG, R. L. TILDEN, K. ASANOVICH und J. S. DUMLER (1996)
Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis.
JAMA 275, 199-205

BAKKEN, J. S., J. K. KRUETH, T. LUND, D. MALKOVITCH, K. ASANOVICH und J. S. DUMLER (1996)
Exposure to deer blood may be a cause of human granulocytic ehrlichiosis.
Clin Infect Dis 23, 198

BARLOUGH, J. E., J. E. MADIGAN, E. DEROCK und L. BIGORNIA (1996)
Nested polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia equi* genomic DNA in horses and ticks (*Ixodes pacificus*).
Vet Parasitol 63, 319-329

BARLOUGH, J. E., J. E. MADIGAN, V. L. KRAMER, J. R. CLOVER, L. T. HUI, J. P. WEBB und L. K. VREDEVOE (1997)
Ehrlichia phagocytophila genogroup *rickettsiae* in ixodid ticks from California collected in 1995 and 1996.
J Clin Microbiol 35, 2018-2021

BARLOUGH, J. E., J. E. MADIGAN, D. R. TUROFF, J. R. CLOVER, S. M. SHELLY und J. S. DUMLER (1997)
An *Ehrlichia* strain from a llama (*Lama glama*) and Llama-associated ticks (*Ixodes pacificus*).
J Clin Microbiol 35, 1005-1007

BARSANTI, J. A., G. E. LEES, M. D. WILLARD und R. A. GREEN (2006)
Urologische Störungen.
In: Labordiagnostik in der Kleintierpraxis. WILLARD, M. D. und H. TWEDTEN (Hrsg.).
Elsevier Urban & Fischer, München Jena, 161-200

BARUTZKI, D. (2006)
Seroprävalenz der *Anaplasma-phagozytophilum*-Infektion bei Hunden in Deutschland.
Berl Münch Tierärztl Wochenschr 119, 342-347

BAUER, C., F. BEUGNET, P. DEPLAZES, A. DUJARDIN, G. DUSCHER, B. FÜRST, C. HEILE, M. KNAUS, S. MAUTONE, K. PFISTER, E. SCHEIN, T. SCHNIEDER, M. STICKEL, R. STRAUBINGER und S. WOLKEN (2007)
Round-Table-Gespräch Ektoparasiten - Drohen neue Gefahren durch Ektoparasiten und vektorübertragene Krankheiten?
Tierärztl Prax 46, Verlagsbeilage

BAUMGARTEN, B. U., M. RÖLLINGHOFF und C. BOGDAN (1999)
Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and granulocytic and monocytic *ehrlichiae* in *Ixodes ricinus* ticks from Southern Germany.
J Clin Microbiol 37, 3448-3451

BEALL, M. J., R. CHANDRASHEKAR, M. D. EBERTS, K. E. CYR, P. P. V.P. DINIZ, C. MAINVILLE, B. C. HEGARTY, J. M. CRAWFORD und E. B. BREITSCHWERDT (2008)
Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota.
Vector Borne Zoonotic Dis 8, 455-464

BEELITZ, P., und K. PFISTER (2004)
Diagnostik und Therapie von Reisekrankheiten beim Hund.
Tierärztl Prax 32, 158-165

BELLSTRÖM, L. (1989)
Fästingburna rickettsioser (in swedisch).
Svensk Veterinär Tidning 41, 549-553

BELONGIA, E. A., C. M. GALE, K. D. REED, P. D. MITCHELL, M. VANDERMAUSE, M. F. FINKEL, J. J. KAZMIERCZAK und J. P. DAVIS (2001)
Population-based incidence of human granulocytic ehrlichiosis in northwestern Wisconsin, 1997-1999.
J Infect Dis 184, 1470-1474

BELONGIA, E. A., K. D. REED, P. D. MITCHELL, C. P. KOLBERT, D. H. PERSING, J. S. GILL und J. J. KAZMIERCZAK (1997)
Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* infection among white-tailed deer in Wisconsin.
J Clin Microbiol 35, 1465-1468

BERMANN, F., B. DAVOUST, P. E. FOURNIER, A. V. BRISOU-LAPOINTE und P. BROUQUI (2002)
Ehrlichia equi (*Anaplasma phagocytophila*) infection in an adult horse in France.
Vet Rec 150, 787-788

BERRINGTON, A., R. MOATS und S. LESTER (1996)
A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia.
Can Vet J 37, 174-175

BEXFIELD, N. H., E. J. VILLIERS und M. E. HERRTAGE (2005)
Immune-mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog.
J Small Anim Pract 46, 543-548

BEYTOUT, J., J. C. GEORGE, J. MALAVAL, M. GARNIER, M. BEYTOUT, G. BARANTON, E. FERQUEL und D. POSTIC (2007)
Lyme borreliosis incidence in two French departments: correlation with infection of *Ixodes ricinus* ticks by *Borrelia burgdorferi* sensu lato.
Vector Borne Zoonotic Dis 7, 507-517

BJÖERSDORFF, A. (2005)
Ehrlichiosis and Anaplasmosis, Part 2: *Anaplasma phagocytophilum* comb. nov. Infection.
In: Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat. SHAW, S. und M. DAY (Hrsg.). Manson Publishing, London, 120-133

BJÖERSDORFF, A., L. SVENDENIUS, J. H. OWENS und R. F. MASSUNG (1999)
Feline granulocytic ehrlichiosis - a report of a new clinical entity and characterisation of the infectious agent.
J Small Anim Pract 40, 20-24

BJÖRSDORFF, A., S. BERGSTRÖM, R. F. MASSUNG, P. D. HAEMIG und B. OLSEN (2001)
Ehrlichia-infected ticks on migrating birds.
Emerg Infect Dis 7(5), 877-879

BLAGBURN, B. L., J. A. SPENCER, S. A. BILLETER, N. L. DRAZENOVICH, J. M. BUTLER, T. M. LAND, C. C. DYKSTRA, K. C. STAFFORD, M. B. POUGH, S. A. LEVY und D. L. BLEDSOE (2004)
Use of imidacloprid-permethrin to prevent transmission of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected *Ixodes scapularis* ticks to dogs.
Vet Ther 5(3), 212-217

BORJESSON, D. L., S. I. SIMON und F. TABLIN (2001)
Thrombocytopenia in a mouse model of human granulocytic ehrlichiosis.
J Infect Dis 184, 1475-1479

BOWMAN, D., S. E. LITTLE, L. LORENTZEN, J. SHIELDS, M. P. SULLIVAN und E. P. CARLIN (2009)
Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey.
Vet Parasitol 160, 138-148

BOWN, K. J., X. LAMBIN, G. R. TELFORD, N. H. OGDEN, S. TELFER, Z. WOLDEHIWET und R. J. BIRTLES (2008)
Relative importance of *Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps* as vectors for *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in field vole (*Microtus agrestis*) populations.
Appl Environ Microbiol 74, 7118-7125

BRODIE, T. A., P. H. HOLMES und G. M. URQUHART (1986)
Some aspects of tick-borne diseases of British sheep.
Vet Rec 118, 415-418

BROSIUS, F. (2006)
SPSS 14. REDLINE GmbH, Heidelberg.

BULLOCK, P. M., T. R. AMES, R. A. ROBINSON, B. GREIG, M. A. MELLENCAMP und J. S. DUMLER (2000)
Ehrlichia equi infection of horses from Minnesota and Wisconsin: detection of seroconversion and acute disease investigation.
J Vet Intern Med 14, 252-257

CAO, W. C., Q. M. ZHAO, P. H. ZHANG, J. S. DUMLER, X. T. ZHANG, L. Q. FANG und H. YANG (2000)
Granulocytic *Ehrlichiae* in *Ixodes persulcatus* ticks from an area in China where Lyme disease is endemic.
J Clin Microbiol 38, 4208-4210

CARLYON, J. A., D. ABDEL-LATIF, M. PYPAERT, P. LACY und E. FIKRIG (2004)
Anaplasma phagocytophilum utilizes multiple host evasion mechanisms to thwart NADPH oxidase-mediated killing during neutrophil infection.
Infect Immun 72, 4772-4783

CARLYON, J. A., W. T. CHAN, J. GALAN, D. ROOS und E. FIKRIG (2002)
Repression of rac2 mRNA expression by *Anaplasma phagocytophila* is essential to the inhibition of superoxide production and bacterial proliferation.
J Immunol 169, 7009-7018

CARLYON, J. A., und E. FIKRIG (2006)
Mechanisms of evasion of neutrophil killing by *Anaplasma phagocytophilum*.
Curr Opin Hematol 13, 28-33

CATUREGLI, P., K. M. ASANOVICH, J. J. WALLS, J. S. BAKKEN, J. E. MADIGAN, V. L. POPOV und J. S. DUMLER (2000)
ankA: an *Ehrlichia phagocytophila* group gene encoding a cytoplasmic protein antigen with ankyrin repeats.
Infect Immun 68, 5277-5283

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, A., USA (2008)
Anaplasma phagocytophilum transmitted through blood transfusion — Minnesota, 2007.
Morb Mortal Wkly Rep 57, 1145-1148

CHANG, Y. F., V. NOVOSEL, E. DUBOVI, S. J. WONG, F. K. CHU, C. F. CHANG, F. DEL PIERO, S. SHIN und D. H. LEIN (1998)
Experimental infection of the human granulocytic ehrlichiosis agent in horses.
Vet Parasitol 78, 137-145

CHAPUT, E. K., J. I. MEEK und R. HEIMER (2002)
Spatial analysis of human granulocytic ehrlichiosis near Lyme, Connecticut.
Emerg Infect Dis 8, 943-948

CHEN, S. M., J. S. DUMLER, J. S. BAKKEN und D. H. WALKER (1994)
Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease.
J Clin Microbiol 32, 589-595

CHMIELEWSKA-BADORA, J., J. ZWOLIŃSKI, E. CISAK, A. WÓJCIK-FATLA, A. BUCZEK und J. DUTKIEWICZ (2007)
Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks determined by polymerase chain reaction with two pairs of primers detecting 16S rRNA and ankA genes.
Ann Agric Environ Med 14, 281-285

CHOI, K. S., und J. S. DUMLER (2003)
Early induction and late abrogation of respiratory burst in *A. phagocytophilum*-infected neutrophils.
Ann N Y Acad Sci 990, 488-493

CHOI, K. S., J. GARYU, J. PARK und J. S. DUMLER (2003)
Diminished adhesion of *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils to endothelial cells is associated with reduced expression of leukocyte surface selectin.
Infect Immun 71, 4586-4594

CHOI, K. S., D. J. GRAB und J. S. DUMLER (2004)
Anaplasma phagocytophilum infection induces protracted neutrophil degranulation.
Infect Immun 72, 3680-3683

CHRISTOVA, I., L. SCHOULS, I. VAN DE POL, J. PARK, S. PANAYOTOV, V. LEFTEROVA, T. KANTARDJIEV und J. S. DUMLER (2001)
High prevalence of granulocytic *Ehrlichiae* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from Bulgaria.
J Clin Microbiol 39, 4172-4174

COURTNEY, J. W., L. M. KOSTELNIK, N. S. ZEIDNER und R. F. MASSUNG (2004)
Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*.
J Clin Microbiol 42, 3164-3168

COWELL, R. L., R. D. TYLER, K. D. CLINKENBEARD und J. H. MEINKOTH (1988)
Ehrlichiosis and polyarthritis in three dogs.
J Am Vet Med Assoc 192, 1093-1095

DANIELS, T. J., G. R. BATTALY, D. LIVERIS, R. C. FALCO und I. SCHWARTZ (2002)
Avian reservoirs of the agent of human granulocytic ehrlichiosis?
Emerg Infect Dis 8, 1524-1525

DANIELS, T. J., T. M. BOCCIA, S. VARDE, J. MARCUS, J. LE, D. J. BUCHER, R. C. FALCO und I. SCHWARTZ (1998)
Geographic risk for lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in southern New York state.
Appl Environ Microbiol 64, 4663-4669

DE LA FUENTE, J., R. F. MASSUNG, S. J. WONG, F. K. CHU, H. LUTZ, M. MELI, F. D. VON LOEWENICH, A. GRZESZCZUK, A. TORINA, S. CARACAPPA, A. J. MANGOLD, V. NARANJO, S. STUEN und K. M. KOCAN (2005)
Sequence analysis of the msp4 gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains.
J Clin Microbiol 43, 1309-1317

DE LA FUENTE, J., F. RUIZ-FONS, V. NARANJO, A. TORINA, O. RODRIGUEZ und C. GORTAZAR (2008)
Evidence of *Anaplasma* infections in European roe deer (*Capreolus capreolus*) from southern Spain.
Res Vet Sci 84, 382-386

DE LA FUENTE, J., A. TORINA, S. CARACAPPA, G. TUMINO, R. FURLA, C. ALMAZAN und K. M. KOCAN (2005)
Serologic and molecular characterization of *Anaplasma* species infection in farm animals and ticks from Sicily.
Vet Parasitol 133, 357-362

DE LA FUENTE, J., A. TORINA, V. NARANJO, S. NICOSIA, A. ALONGI, F. LA MANTIA und K. M. KOCAN (2006)
Molecular characterization of *Anaplasma platys* strains from dogs in Sicily, Italy.
BMC Vet Res 2, 24

DES VIGNES, F., J. PIESMAN, R. HEFFERNAN, T. L. SCHULZE, K. C. STAFFORD, 3RD und D. FISH (2001)
Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs.
J Infect Dis 183, 773-778

DOBLER, G. (1997)
Krankheiten durch Zecken: Wie gefährlich sind Zecken wirklich?
Medpharm Scientific Publ., Stuttgart, 11-47.

DRAZENOVICH, N., J. FOLEY und R. N. BROWN (2006)
Use of real-time quantitative PCR targeting the msp2 protein gene to identify cryptic *Anaplasma phagocytophilum* infections in wildlife and domestic animals.
Vector Borne Zoonotic Dis 6, 83-90

DUMLER, J. S., K. M. ASANOVICH, J. S. BAKKEN, P. RICHTER, R. KIMSEY und J. E. MADIGAN (1995)
Serologic cross-reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and human granulocytic *Ehrlichia*.
J Clin Microbiol 33, 1098-1103

DUMLER, J. S., A. F. BARBET, C. P. BEKKER, G. A. DASCH, G. H. PALMER, S. C. RAY, Y. RIKIHISA und F. R. RURANGIRWA (2001)
Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*.
Int J Syst Evol Microbiol 51, 2145-2165

DUMLER, J. S., K. S. CHOI, J. C. GARCIA-GARCIA, N. S. BARAT, D. G. SCORPIO, J. W. GARYU, D. J. GRAB und J. S. BAKKEN (2005)
Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*.
Emerg Infect Dis 11, 1828-1834

DUMLER, J. S., E. R. TRIGIANI, J. S. BAKKEN, M. E. AGUERO-ROSENFELD und G. P. WORMSER (2000)
Serum cytokine responses during acute human granulocytic ehrlichiosis.
Clin Diagn Lab Immunol 7, 6-8

EBANI, V., D. CERRI, F. FRATINI, M. AMPOLA und E. ANDREANI (2008)
Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in domestic and wild animals from central Italy.
New Microbiol 31, 371-375

ECKERSALL, P. (1995)
Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions.
Comp Hematol Int 5, 93-97

EDDLESTONE, S. M., T. M. NEER, S. D. GAUNT, R. CORSTVET, A. GILL, G. HOSGOOD, B. HEGARTY und E. B. BREITSCHWERDT (2006)
Failure of imidocarb dipropionate to clear experimentally induced *Ehrlichia canis* infection in dogs.
J Vet Intern Med 20, 840-844

EGENVALL, A., A. BJÖERSDORFF, I. LILLIEHÖÖK, E. OLSSON ENGVALL, E. KARLSTAM, K. ARTURSSON, . HEDHAMMAR und A. GUNNARSSON (1998)
Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish *Ehrlichia* species isolate.
Vet Rec 143, 412-417

EGENVALL, A., B. N. BONNETT, A. GUNNARSSON, . HEDHAMMAR, M. SHOUKRI, S. BORNSTEIN und K. ARTURSSON (2000)
Seroprevalence of granulocytic *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Swedish dogs 1991-94.
Scand J Infect Dis 32, 19-25

EGENVALL, A., I. LILLIEHÖÖK, A. BJÖERSDORFF, E. O. ENGVALL, E. KARLSTAM, K. ARTURSSON, M. HELDTANDER und A. GUNNARSSON (2000)
Detection of granulocytic *Ehrlichia* species DNA by PCR in persistently infected dogs.
Vet Rec 146, 186-190

EGENVALL, A. E., . A. HEDHAMMAR und A. I. BJÖERSDORFF (1997)
Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden.
Vet Rec 140, 222-226

ENDRIS, R. G., D. COOKE, D. AMODIE, D. L. SWEENEY und T. L. KATZ (2002)
Repellency and efficacy of 65% permethrin and selamectin spot-on formulations against *Ixodes ricinus* on dogs.
Vet Ther 3, 64-71

ENDRIS, R. G., M. D. MATTHEWSON, D. COOKE und D. AMODIE (2000)
Repellency and efficacy of 65% permethrin and 9.7% fipronil against *Ixodes ricinus*.
Vet Ther 1, 159-168

ENGELBRECHT, R., B. KOHN, W. LEIBOLD und U. GIGER (2002)
Klinische Befunde, Diagnostik und Behandlungserfolge bei der primären und sekundären immunhämolytischen Anämie beim Hund.
Kleintierpraxis 47, 265-278

ENGVALL, E. O., B. PETTERSSON, M. PERSSON, K. ARTURSSON und K. E. JOHANSSON (1996)
A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle.
J Clin Microbiol 34, 2170-2174

FANG, Q. Q., T. R. MIXSON, M. HUGHES, B. DUNHAM und J. SAPP (2002)
Prevalence of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in *Ixodes scapularis* (Acari: *Ixodidae*) in the coastal southeastern United States.
J Med Entomol 39, 251-255

FERQUEL, E., M. GARNIER, J. MARIE, C. BERNEDE-BAUDUIN, G. BARANTON, C. PEREZ-EID und D. POSTIC (2006)
Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasmataceae* members in *Ixodes ricinus* ticks in Alsace, a focus of Lyme Borreliosis endemicity in France.
Appl Environ Microbiol 72, 3074-3078

FINGERLE, V., J. L. GOODMAN, R. C. JOHNSON, T. J. KURTTI, U. G. MUNDERLOH und B. WILSKE (1997)
Human granulocytic ehrlichiosis in Southern Germany: increased seroprevalence in high-risk groups.
J Clin Microbiol 35, 3244-3247

FINGERLE, V., U. G. MUNDERLOH, G. LIEGL und B. WILSKE (1999)
Coexistence of *Ehrlichiae* of the *phagocytophila* group with *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* from Southern Germany.
Med Microbiol Immunol (Berl) 188, 145-149

FOGGI, A. (1956)
The effect of tick-borne fever on the resistance of lambs to staphylococci.
J Comp Pathol 66, 278-285

FOLEY, J., N. C. NIETO, J. MADIGAN und J. SYKES (2008)
Possible differential host tropism in *Anaplasma phagocytophilum* strains in the Western United States.
Ann N Y Acad Sci 1149, 94-97

FOLEY, J. E., R. N. BROWN, M. W. GABRIEL, J. HENN, N. DRAZENOVICH, R. KASTEN, S. L. GREEN und B. B. CHOMEL (2007)
Spatial analysis of the exposure of dogs in rural north-coastal California to vectorborne pathogens.
Vet Rec 161, 653-657

FOLEY, J. E., L. CRAWFORD-MIKSZA, J. S. DUMLER, C. GLASER, J. S. CHAE, E. YEH, D. SCHNURR, R. HOOD, W. HUNTER und J. E. MADIGAN (1999)
Human granulocytic ehrlichiosis in Northern California: two case descriptions with genetic analysis of the *Ehrlichiae*.
Clin Infect Dis 29, 388-392

FOLEY, J. E., P. FOLEY und J. E. MADIGAN (2001)
Spatial distribution of seropositivity to the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in dogs in California.
Am J Vet Res 62, 1599-1605

FOLEY, J. E., N. W. LERCHE, J. S. DUMLER und J. E. MADIGAN (1999)
A simian model of human granulocytic ehrlichiosis.
Am J Trop Med Hyg 60, 987-993

FRANZEN, P., A. ASPAN, A. EGENVALL, A. GUNNARSSON, L. ABERG und J. PRINGLE (2005)
Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*.
J Vet Intern Med 19, 232-239

FRANZEN, P., A. L. BERG, A. ASPAN, A. GUNNARSSON und J. PRINGLE (2007)
Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*.
Vet Rec 160, 122-125

GARYU, J. W., K. S. CHOI, D. J. GRAB und J. S. DUMLER (2005)
Defective phagocytosis in *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils.
Infect Immun 73, 1187-1190

GE, Y., K. YOSHIIE, F. KURIBAYASHI, M. LIN und Y. RIKIHISA (2005)
Anaplasma phagocytophilum inhibits human neutrophil apoptosis via upregulation of bfl-1, maintenance of mitochondrial membrane potential and prevention of caspase 3 activation.
Cell Microbiol 7, 29-38

GERBER, B., S. EICHENBERGER, M. M. WITTENBRINK und C. E. REUSCH (2007)
Increased prevalence of *Borrelia burgdorferi* infections in Bernese Mountain Dogs: a possible breed predisposition.
BMC Vet Res 3, 15-22

GILMOUR, J. L., T. A. BRODIE und P. H. HOLMES (1982)
Tick-borne fever and pasteurellosis in sheep.
Vet Rec 111, 512

GOLDMAN, E. E., E. B. BREITSCHWERDT, C. B. GRINDEM, B. C. HEGARTY, J. J. WALLS und J. S. DUMLER (1998)
Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia.
J Vet Intern Med 12, 61-70

GOODMAN, J. L., C. NELSON, B. VITALE, J. E. MADIGAN, J. S. DUMLER, T. J. KURTTI und U. G. MUNDERLOH (1996)
Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis.
N Engl J Med 334, 209-215

GOODMAN, J. L., C. M. NELSON, M. B. KLEIN, S. F. HAYES und B. W. WESTON (1999)
Leukocyte infection by the granulocytic ehrlichiosis agent is linked to expression of a selectin ligand.
J Clin Invest 103, 407-412

GORDON, W. S., A. BROWNLEE und D. R. WILSON (1932)
Tick-borne fever (a hitherto undescribed disease in sheep).
J Comp Pathol Therap 65, 301-307

GRAVINO, A. E., D. DE CAPRARIIS, L. MANNA, R. CERUNDOLO, P. SAGAZIO und C. BUONAVOGLIA (1997)
Preliminary report of infection in dogs related to *Ehrlichia equi*: description of three cases.
New Microbiol 20, 361-363

GREIG, B., und P. J. ARMSTRONG (2006)
Canine Granulocytotropic Anaplasmosis (*A. phagocytophilum* Infection).
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat 3rd edition. GREENE, C. E. (Hrsg.).
Elsevier Saunders, St. Louis, 219-224

GREIG, B., K. M. ASANOVICH, P. J. ARMSTRONG und J. S. DUMLER (1996)
Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs.
J Clin Microbiol 34, 44-48

GRIBBLE, D. H. (1969)
Equine ehrlichiosis.
J Am Vet Med Assoc 155, 462-469

GRONSTOL, H., und J. OVERAS (1980)
Tick-borne fever used as a model to study predisposing factors.
Acta Vet Scand 21, 533-545

GRZESZCZUK, A. (2006)
Anaplasma phagocytophilum in *Ixodes ricinus* ticks and human granulocytic anaplasmosis seroprevalence among forestry rangers in Bialystok region.
Adv Med Sci 51, 283-286

GRZESZCZUK, A. und J. STAŃCZAK (2006)
Highly variable year-to-year prevalence of A*naplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks in Northeastern Poland: a 4-year follow-up.
Ann N Y Acad Sci 1078, 309-311

GRZESZCZUK, A., J. STAŃCZAK, B. KUBICA-BIERNAT, M. RACEWICZ, W. KRUMINIS-ŁOZOWSKA und D. PROKOPOWICZ (2004)
Human anaplasmosis in Northeastern Poland: seroprevalence in humans and prevalence in *Ixodes ricinus* ticks.
Ann Agric Environ Med 11, 99-103

HARDALO, C. J., V. QUAGLIARELLO und J. S. DUMLER (1995)
Human granulocytic ehrlichiosis in Connecticut: report of a fatal case.
Clin Infect Dis 21, 910-914

HARTELT, K., R. OEHME, H. FRANK, S. O. BROCKMANN, D. HASSLER und P. KIMMIG (2004)
Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany.
Int J Med Microbiol 293 Suppl 37, 86-92

HELLMANN, K., T. KNOPPE, K. KRIEGER und D. STANNECK (2003)
European multicenter field trial on the efficacy and safety of a topical formulation of Imidacloprid and Permethrin (Advantix™) in dogs naturally infested with ticks and/or fleas.
Parasitol Res 90, 125–126

HENN, J. B., M. W. GABRIEL, R. W. KASTEN, R. N. BROWN, J. H. THEIS, J. E. FOLEY und B. B. CHOMEL (2007)
Gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) as a potential reservoir of a *Bartonella clarridgeiae*-like bacterium and domestic dogs as part of a sentinel system for surveillance of zoonotic arthropod-borne pathogens in northern California.
J Clin Microbiol 45, 2411-2418

HERRON, M. J., C. M. NELSON, J. LARSON, K. R. SNAPP, G. S. KANSAS und J. L. GOODMAN (2000)
Intracellular parasitism by the human granulocytic ehrlichiosis bacterium through the P-selectin ligand, PSGL-1.
Science 288, 1653-1656

HILDEBRANDT, A., K. H. SCHMIDT, B. WILSKE, W. DORN, E. STRAUBE und V. FINGERLE (2003)
Prevalence of four species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and coinfection with *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes ricinus* ticks in central Germany.
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 22, 364-367

HINRICHSEN, V. L., U. G. WHITWORTH, E. B. BREITSCHWERDT, B. C. HEGARTY und T. N. MATHER (2001)
Assessing the association between the geographic distribution of deer ticks and seropositivity rates to various tick-transmitted disease organisms in dogs.
J Am Vet Med Assoc 218, 1092-1097

HODZIC, E., S. FENG, D. FISH, C. M. LEUTENEGGER, K. J. FREET und S. W. BARTHOLD (2001)
Infection of mice with the agent of human granulocytic ehrlichiosis after different routes of inoculation.
J Infect Dis 183, 1781-1786

HODZIC, E., J. W. IJDO, S. FENG, P. KATAVOLOS, W. SUN, C. H. MARETZKI, D. FISH, E. FIKRIG, S. R. TELFORD, 3RD und S. W. BARTHOLD (1998)
Granulocytic ehrlichiosis in the laboratory mouse.
J Infect Dis 177, 737-745

HOLDEN, K., J. T. BOOTHBY, S. ANAND und R. F. MASSUNG (2003)
Detection of *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in ticks (*Acari*: *Ixodidae*) from a coastal region of California.
J Med Entomol 40, 534-539

HOROWITZ, H. W., M. AGUERO-ROSENFELD, J. S. DUMLER, D. F. MCKENNA, T. C. HSIEH, J. WU, I. SCHWARTZ und G. P. WORMSER (1998)
Reinfection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
Ann Intern Med 129, 461-463

HOROWITZ, H. W., E. KILCHEVSKY, S. HABER, M. AGUERO-ROSENFELD, R. KRANWINKEL, E. K. JAMES, S. J. WONG, F. CHU, D. LIVERIS und I. SCHWARTZ (1998)
Perinatal transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
N Engl J Med 339, 375-378

HUDSON, J. R. (1950)
The recognition of tick-borne fever as a disease of cattle.
Br Vet J 106, 3-17

IJDO, J. W., J. I. MEEK, M. L. CARTTER, L. A. MAGNARELLI, C. WU, S. W. TENUTA, E. FIKRIG und R. W. RYDER (2000)
The emergence of another tickborne infection in the 12-town area around Lyme, Connecticut: human granulocytic ehrlichiosis.
J Infect Dis 181, 1388-1393

IJDO, J. W., C. WU, S. R. TELFORD, 3RD und E. FIKRIG (2002)
Differential expression of the p44 gene family in the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
Infect Immun 70, 5295-5298

IJDO, J. W., Y. ZHANG, E. HODZIC, L. A. MAGNARELLI, M. L. WILSON, S. R. TELFORD, 3RD, S. W. BARTHOLD und E. FIKRIG (1997)
The early humoral response in human granulocytic ehrlichiosis.
J Infect Dis 176, 687-692

INOKUMA, H., G. NANE, T. UECHI, Y. YONAHARA, P. BROUQUI, M. OKUDA und T. ONISHI (2001)
Survey of tick infestation and tick-borne ehrlichial infection of dogs in Ishigaki Island, Japan.
J Vet Med Sci 63, 1225-1227

JÄDERLUND, K. H., A. EGENVALL, K. BERGSTRÖM und . HEDHAMMAR (2007)
Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs with neurological signs.
Vet Rec 160, 825-831

JENKINS, A., B. E. KRISTIANSEN, A. G. ALLUM, R. K. AAKRE, L. STRAND, E. J. KLEVELAND, I. VAN DE POL und L. SCHOULS (2001)
Borrelia burgdorferi sensu lato and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from Southern Norway.
J Clin Microbiol 39, 3666-3671

JENSEN, J., D. SIMON, H. MURUA ESCOBAR, J. T. SOLLER, J. BULLERDIEK, P. BEELITZ, K. PFISTER und I. NOLTE (2007)
Anaplasma phagocytophilum in dogs in Germany.
Zoonoses Public Health 54, 94-101

JOHANSSON, K.-E., B. PETTERSSON, M. UHLÉN, A. GUNNARSSON, M. MALMQVIST und E. OLSSON (1995)
Identification of the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses by direct solid phase sequencing of PCR products from the 16S rRNA gene.
Res Vet Sci 58, 109-112

JONES, G. L., und I. H. DAVIES (1995)
An ovine abortion storm caused by infection with *Cytoecetes phagocytophila*.
Vet Rec 136, 127

KATAVOLOS, P., P. M. ARMSTRONG, J. E. DAWSON und S. R. TELFORD, 3RD (1998)
Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis.
J Infect Dis 177, 1422-1425

KIRTZ, B., B. CZETTEL, D. THUM und E. LEIDINGER (2007)
Anaplasma phagozytophilum in einer österreichischen Hundepopulation: eine Prävalenz-Studie (2001-2006).
Kleintierpraxis 52, 562-568

KIRTZ, G. (2000)
Frühsommer-Meningo-Encephalitis (FSME) in einer österreichischen Hundepopulation.
Diss. Vet. med., Univ. Wien

KIRTZ, G., M. MELI, E. LEIDINGER, P. LUDWIG, D. THUM, B. CZETTEL, S. KÖLBL und H. LUTZ (2005)
Anaplasma phagocytophilum infection in a dog: identifying the causative agent using PCR.
J Small Anim Pract 46, 300-303

KIRTZ, G., M. MELI, H. LUTZ, V. BÜCHELE, P. NIEDERL, P. LUDWIG, B. CZETTEL, D. THUM, E. LEIDINGER (2005)
Anaplasma phagozytophilum Infektion bei zwei Katzen in Österreich.
Kleintierpraxis 50, 472-540

KLEIN, M. B., S. HU, C. C. CHAO und J. L. GOODMAN (2000)
The agent of human granulocytic ehrlichiosis induces the production of myelosuppressing chemokines without induction of proinflammatory cytokines.
J Infect Dis 182, 200-205

KOHN, B., R. ENGELBRECHT, W. LEIBOLD und U. GIGER (2000)
Klinische Befunde, Diagnostik und Behandlungserfolge bei der primären und sekundären immunbedingten Thrombozytopenie beim Hund.
Kleintierpraxis 45, 893-907

KOHN, B., S. LÜBKE, M. F. G. SCHMIDT und L. BRUNNBERG (2005)
Idiopathische immunbedingte Polyarthritis Typ I beim Hund: Inzidenz, Klinik, Laborbefunde, Therapie und Verlauf von 16 Fällen (1996 - 2000)
Kleintierpraxis 50, 415-426

KOOLMAN, J., und K.-H. RÖHM (1998)
Taschenatlas der Biochemie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, USA.

KORDICK, S. K., E. B. BREITSCHWERDT, B. C. HEGARTY, K. L. SOUTHWICK, C. M. COLITZ, S. I. HANCOCK, J. M. BRADLEY, R. RUMBOUGH, J. T. MCPHERSON und J. N. MACCORMACK (1999)
Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina.
J Clin Microbiol 37, 2631-2638

KRAFT, W., und U. M. DÜRR (2005)
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. überarbeitete Auflage.
Schattauer, Stuttgart, New York.

KRAMER, V. L., M. P. RANDOLPH, L. T. HUI, W. E. IRWIN, A. G. GUTIERREZ und D. J. VUGIA (1999)
Detection of the agents of human ehrlichioses in ixodid ticks from California.
Am J Trop Med Hyg 60, 62-65

KRAUSE, P. J., und G. P. WORMSER (2008)
Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis?
Jama 300, 2308-2309

KRUPKA, I., N. PANTCHEV, L. LORENTZEN, M. WEISE und R. K. STRAUBINGER (2008)
Prävalenz von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagozytophilum* und *Ehrlichia canis* bei Hunden in Deutschland. .
16. Jahrestagung der FG "Innere Medizin und klinische Labordiagnostik" der DVG, Gießen, Deutschland (Abstract)

KUHN, T. (2006)
Software-technische Entwicklung und Implementierung von Algorithmen und Komponenten für den Vergleich und die Darstellung biologischer Sequenzen.
Diplomarbeit, Fachhochschule Gelsenkirchen

LANE, R. S., D. B. STEINLEIN und J. MUN (2004)
Human behaviors elevating exposure to *Ixodes pacificus* (*Acari*: *Ixodidae*) nymphs and their associated bacterial zoonotic agents in a hardwood forest.
J Med Entomol 41, 239-248

LAPPIN, M. R., E. B. BREITSCHWERDT, W. A. JENSEN, B. DUNNIGAN, J. Y. RHA, C. R. WILLIAMS, M. BREWER und M. FALL (2004)
Molecular and serologic evidence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in cats in North America.
J Am Vet Med Assoc 225, 893-896, 879

LAYFIELD, D., und P. GUILFOILE (2002)
The prevalence of *Borrelia burgdorfieri* (*Spirochaetales*: *Spirochaetaceae*) and the agent of human granulocytic ehrlichiosis (*Rickettsiaceae*: *Ehrlichieae*) in *Ixodes scapularis* (*Acari*:*Ixodidae*) collected during 1998 and 1999 from Minnesota.
J Med Entomol 39, 218-220

LEONHARD, S. (2005)
Untersuchungen zur Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagozytophilum* und *Babesia spp.* in *Ixodes ricinus* aus Bayern und Baden-Württemberg.
Vet Med Dissertation, LMU München

LEPIDI, H., J. E. BUNNELL, M. E. MARTIN, J. E. MADIGAN, S. STUEN und J. S. DUMLER (2000)
Comparative pathology, and immunohistology associated with clinical illness after *Ehrlichia phagocytophila*-group infections.
Am J Trop Med Hyg 62, 29-37

LESTER, S. J., E. B. BREITSCHWERDT, C. D. COLLIS und B. C. HEGARTY (2005)
Anaplasma phagocytophilum infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island.
Can Vet J 46, 825-827

LEUTENEGGER, C. M., N. PUSTERLA, C. N. MISLIN, R. WEBER und H. LUTZ (1999)
Molecular evidence of coinfection of ticks with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and the human granulocytic ehrlichiosis agent in Switzerland.
J Clin Microbiol 37, 3390-3391

LEWIS, G. E., JR., D. L. HUXSOLL, M. RISTIC und A. J. JOHNSON (1975)
Experimentally induced infection of dogs, cats, and nonhuman primates with *Ehrlichia equi*, etiologic agent of equine ehrlichiosis.
Am J Vet Res 36, 85-88

LIDDELL, A. M., S. L. STOCKHAM, M. A. SCOTT, J. W. SUMNER, C. D. PADDOCK, M. GAUDREAULT-KEENER, M. Q. ARENS und G. A. STORCH (2003)
Predominance of *Ehrlichia ewingii* in Missouri dogs.
J Clin Microbiol 41, 4617-4622

LILLIEHÖÖK, I., A. EGENVALL und H. W. TVEDTEN (1998)
Hematopathology in dogs experimentally infected with a Swedish granulocytic *Ehrlichia* species.
Vet Clin Pathol 27, 116-122

LILLIEHÖÖK, I., A. JOHANNISSON, U. MAGNUSSON, A. EGENVALL, G. TROWALD-WIGH und L. HAKANSSON (1999)
Granulocyte function in dogs experimentally infected with a Swedish granulocytic *Ehrlichia* species.
Vet Immunol Immunopathol 67, 141-152

LIZ, J. S., L. ANDERES, J. W. SUMNER, R. F. MASSUNG, L. GERN, B. RUTTI und M. BROSSARD (2000)
PCR detection of granulocytic *ehrlichiae* in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland.
J Clin Microbiol 38, 1002-1007

MADEWELL, B. R., und D. H. GRIBBLE (1982)
Infection in two dogs with an agent resembling *Ehrlichia equi*.
J Am Vet Med Assoc 180, 512-514

MADIGAN, J. E., J. E. BARLOUGH, J. S. DUMLER, N. S. SCHANKMAN und E. DEROCK (1996)
Equine granulocytic ehrlichiosis in Connecticut caused by an agent resembling the human granulocytotropic *ehrlichia*.
J Clin Microbiol 34, 434-435

MADIGAN, J. E., und D. GRIBBLE (1987)
Equine ehrlichiosis in Northern California: 49 cases (1968-1981).
J Am Vet Med Assoc 190, 445-448

MAGNARELLI, L. A., und J. F. ANDERSON (1993)
Serologic evidence of canine and equine ehrlichiosis in Northeastern United States.
J Clin Microbiol 31, 2857-2860

MAGNARELLI, L. A., J. W. IJDO, J. F. ANDERSON, J. E. MADIGAN, J. S. DUMLER und E. FIKRIG (1997)
Antibodies to *Ehrlichia equi* in dogs from the northeastern United States.
J Am Vet Med Assoc 211, 1134-1137

MAGNARELLI, L. A., J. W. IJDO, J. S. DUMLER, R. HEIMER und E. FIKRIG (1998)
Reactivity of human sera to different strains of granulocytic *ehrlichiae* in immunodiagnostic assays.
J Infect Dis 178, 1835-1838

MAGNARELLI, L. A., J. W. IJDO, A. E. VAN ANDEL, C. WU, J. H. OLIVER, JR. und E. FIKRIG (2001)
Reactivity of serum samples of dogs and horses tested by use of class-specific recombinant-based enzyme-linked immunosorbent assays for detection of granulocytic ehrlichiosis.
Am J Vet Res 62, 1365-1369

MAGNARELLI, L. A., K. C. STAFFORD, 3RD, T. N. MATHER, M. T. YEH, K. D. HORN und J. S. DUMLER (1995)
Hemocytic rickettsia-like organisms in ticks: serologic reactivity with antisera to *Ehrlichiae* and detection of DNA of agent of human granulocytic ehrlichiosis by PCR.
J Clin Microbiol 33, 2710-2714

MAGNARELLI, L. A., A. E. VAN ANDEL, J. W. IJDO, R. HEIMER und E. FIKRIG (1999)
Serologic testing of horses for granulocytic ehrlichiosis, using indirect fluorescent antibody staining and immunoblot analysis.
Am J Vet Res 60, 631-635

MÄKINEN, J., I. VUORINEN, J. OKSI, M. PELTOMAA, Q. HE, M. MARJAMÄKI und M. K. VILJANEN (2003)
Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from Southwestern Finland and from Vormsi Island in Estonia.
Apmis 111, 355-362

MANNA, L., A. ALBERTI, L. M. PAVONE, A. SCIBELLI, N. STAIANO und A. E. GRAVINO (2004)
First molecular characterization of a granulocytic *Ehrlichia* strain isolated from a dog in South Italy.
Vet J 167, 224-227

MARETZKI, C. H., D. J. FISHER und C. E. GREENE (1994)
Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog.
J Am Vet Med Assoc 205, 1554-1556

MARTIN, M. E., J. E. BUNNELL und J. S. DUMLER (2000)
Pathology, immunohistology, and cytokine responses in early phases of human granulocytic ehrlichiosis in a murine model.
J Infect Dis 181, 374-378

MARTIN, M. E., K. CASPERSEN und J. S. DUMLER (2001)
Immunopathology and ehrlichial propagation are regulated by interferon-gamma and interleukin-10 in a murine model of human granulocytic ehrlichiosis.
Am J Pathol 158, 1881-1888

MASSUNG, R. F., J. W. COURTNEY, S. L. HIRATZKA, V. E. PITZER, G. SMITH und R. L. DRYDEN (2005)
Anaplasma phagocytophilum in white-tailed deer.
Emerg Infect Dis 11, 1604-1606

MASSUNG, R. F., J. H. OWENS, D. ROSS, K. D. REED, M. PETROVEC, A. BJÖERSDORFF, R. T. COUGHLIN, G. A. BELTZ und C. I. MURPHY (2000)
Sequence analysis of the ank gene of granulocytic *ehrlichiae*.
J Clin Microbiol 38, 2917-2922

MASSUNG, R. F., und K. G. SLATER (2003)
Comparison of PCR assays for detection of the agent of human granulocytic ehrlichiosis, *Anaplasma phagocytophilum*.
J Clin Microbiol 41, 717-722

MATTHEWMAN, L. A., P. J. KELLY, P. BROUQUI und D. RAOULT (1994)
Further evidence for the efficacy of imidocarb dipropionate in the treatment of *Ehrlichia canis* infection.
J S Afr Vet Assoc 65, 104-107

MAURIN, M., J. S. BAKKEN und J. S. DUMLER (2003)
Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States.
Antimicrob Agents Chemother 47, 413-415

NEER, T. M., E. B. BREITSCHWERDT, R. T. GREENE und M. R. LAPPIN (2002)
Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM (American College of Veterinary Internal Medicine).
J Vet Intern Med 16, 309-315

NIETO, N. C., und J. E. FOLEY (2008)
Meta-Analysis of coinfection and coexposure with *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in humans, domestic animals, wildlife, and *Ixodes ricinus*-complex ticks.
Vector Borne Zoonotic Dis [Epub ahead of print]

NIJHOF, A. M., C. BODAAN, M. POSTIGO, H. NIEUWENHUIJS, M. OPSTEEGH, L. FRANSSEN, F. JEBBINK und F. JONGEJAN (2007)
Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands.
Vector Borne Zoonotic Dis 2007, 585-595

NYARKO, E., D. J. GRAB und J. S. DUMLER (2006)
Anaplasma phagocytophilum-infected neutrophils enhance transmigration of *Borrelia burgdorferi* across the human blood brain barrier in vitro.
Int J Parasitol 36, 601-605

OHASHI, N., N. ZHI, Q. LIN und Y. RIKIHISA (2002)
Characterization and transcriptional analysis of gene clusters for a type IV secretion machinery in human granulocytic and monocytic ehrlichiosis agents.
Infect Immun 70, 2128-2138

OTEO, J. A., H. GIL, M. BARRAL, A. PÉREZ, S. JIMENEZ, J. R. BLANCO, V. MARTINEZ DE ARTOLA, A. GARCÍA-PÉREZ und R. A. JUSTE (2001)
Presence of granulocytic *ehrlichia* in ticks and serological evidence of human infection in La Rioja, Spain.
Epidemiol Infect 127, 353-358

PANCHOLI, P., C. P. KOLBERT, P. D. MITCHELL, K. D. REED, JR., J. S. DUMLER, J. S. BAKKEN, S. R. TELFORD, 3RD und D. H. PERSING (1995)
Ixodes dammini as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis.
J Infect Dis 172, 1007-1012

PARK, J., K. S. CHOI und J. S. DUMLER (2003)
Major surface protein 2 of *Anaplasma phagocytophilum* facilitates adherence to granulocytes.
Infect Immun 71, 4018-4025

PARK, J., K. J. KIM, K. S. CHOI, D. J. GRAB und J. S. DUMLER (2004)
Anaplasma phagocytophilum AnkA binds to granulocyte DNA and nuclear proteins.
Cell Microbiol 6, 743-751

PAROLA, P. (2004)
Tick-borne rickettsial diseases: emerging risks in Europe.
Comp Immunol Microbiol Infect Dis 27, 297-304

PARRY, B. W. (1999)
Synovial fluid.
In: Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. COWELL, R. L. und R. D. TYLER (Hrsg.).
Mosby Inc., St. Louis, USA, S. 104-115

PETROVEC, M., S. LOTRIC FURLAN, T. A. ZUPANC, F. STRLE, P. BROUQUI, V. ROUX und J. S. DUMLER (1997)
Human disease in Europe caused by a granulocytic *Ehrlichia* species.
J Clin Microbiol 35, 1556-1559

PETROVEC, M., J. W. SUMNER, W. L. NICHOLSON, J. E. CHILDS, F. STRLE, J. BARLIČ, S. LOTRIČ-FURLAN und T. AVŠIČ-ŽUPANC (1999)
Identity of ehrlichial DNA sequences derived from *Ixodes ricinus* ticks with those obtained from patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia.
J Clin Microbiol 37, 209-210

PICCOLIN, G., G. BENEDETTI, C. DOGLIONI, C. LORENZATO, S. MANCUSO, N. PAPA, L. PITTON, M. C. RAMON, C. ZASIO und G. BERTIATO (2006)
A Study of the presence of *B. burgdorferi*, *Anaplasma* (Previously *Ehrlichia*) *phagocytophilum*, *Rickettsia*, and *Babesia* in *Ixodes ricinus* collected within the territory of Belluno, Italy.
Vector Borne Zoonotic Dis 6, 24-31

PICHON, B., O. KAHL, B. HAMMER und J. S. GRAY (2006)
Pathogens and Host DNA in *Ixodes ricinus* Nymphal Ticks from a German Forest.
Vector Borne Zoonotic Dis 6, 382-387

POITOUT, F. M., J. K. SHINOZAKI, P. J. STOCKWELL, C. J. HOLLAND und S. K. SHUKLA (2005)
Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* infecting dogs in Western Washington State.
J Clin Microbiol 43, 796-801

POLIN, H., P. HUFNAGL, R. HAUNSCHMID, F. GRUBER und G. LADURNER (2004)
Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks and wild animals in Austria.
J Clin Microbiol 42, 2285-2286

PUSTERLA, N., R. J. ANDERSON, J. K. HOUSE, J. B. PUSTERLA, E. DEROCK und J. E. MADIGAN (2001)
Susceptibility of cattle to infection with *Ehrlichia equi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
J Am Vet Med Assoc 218, 1160-1162

PUSTERLA, N., und U. BRAUN (1997)
Clinical findings in cows after experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila*.
Zentralbl Veterinarmed A 44, 385-390

PUSTERLA, N., U. BRAUN, C. WOLFENSBERGER und H. LUTZ (1997)
Intrauterine infection with *Ehrlichia phagocytophila* in a cow.
Vet Rec 141, 101-102

PUSTERLA, N., J. S. CHAE, E. DEROCK und J. E. MADIGAN (2000)
One-tube PCR for the detection of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup.
Vet Rec 147, 22-23

PUSTERLA, N., J. HUDER, C. WOLFENSBERGER, U. BRAUN und H. LUTZ (1997)
Laboratory findings in cows after experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila*.
Clin Diagn Lab Immunol 4, 643-647

PUSTERLA, N., J. HUDER, C. WOLFENSBERGER, B. LITSCHI, A. PARVIS und H. LUTZ (1997)
Granulocytic ehrlichiosis in two dogs in Switzerland.
J Clin Microbiol 35, 2307-2309

PUSTERLA, N., J. B. HUDER, C. M. LEUTENEGGER, U. BRAUN, J. E. MADIGAN und H. LUTZ (1999)
Quantitative real-time PCR for detection of members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup in host animals and *Ixodes ricinus* ticks.
J Clin Microbiol 37, 1329-1331

PUSTERLA, N., J. B. HUDER, H. LUTZ und U. BRAUN (1998)
Detection of *Ehrlichia phagocytophila* DNA in *Ixodes ricinus* ticks from areas in Switzerland where tick-borne fever is endemic.
J Clin Microbiol 36, 2735-2736

PUSTERLA, N., C. M. LEUTENEGGER, J. S. CHAE, H. LUTZ, R. B. KIMSEY, J. S. DUMLER und J. E. MADIGAN (1999)
Quantitative evaluation of ehrlichial burden in horses after experimental transmission of human granulocytic *Ehrlichia* agent by intravenous inoculation with infected leukocytes and by infected ticks.
J Clin Microbiol 37, 4042-4044

PUSTERLA, N., C. M. LEUTENEGGER, J. B. HUDER, R. WEBER, U. BRAUN und H. LUTZ (1999)
Evidence of the human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes ricinus* ticks in Switzerland.
J Clin Microbiol 37, 1332-1334

PUSTERLA, N., J. B. PUSTERLA, U. BRAUN und H. LUTZ (1999)
Experimental cross-infections with *Ehrlichia phagocytophila* and human granulocytic ehrlichia-like agent in cows and horses.
Vet Rec 145, 311-314

PUSTERLA, N., J. B. PUSTERLA, P. DEPLAZES, C. WOLFENSBERGER, W. MÜLLER, A. HÖRAUF, C. REUSCH und H. LUTZ (1998)
Seroprevalence of *Ehrlichia canis* and of canine granulocytic *Ehrlichia* infection in dogs in Switzerland.
J Clin Microbiol 36, 3460-3462

RAMSEY, A. H., E. A. BELONGIA, C. M. GALE und J. P. DAVIS (2002)
Outcomes of treated human granulocytic ehrlichiosis cases.
Emerg Infect Dis 8, 398-401

REINE, N. J. (2004)
Infection and blood transfusion: a guide to donor screening.
Clin Tech Small Anim Pract 19, 68-74

RICHTER, P. J., JR., R. B. KIMSEY, J. E. MADIGAN, J. E. BARLOUGH, J. S. DUMLER und D. L. BROOKS (1996)
Ixodes pacificus (*Acari*: *Ixodidae*) as a vector of *Ehrlichia equi* (*Rickettsiales*: *Ehrlichieae*).
J Med Entomol 33, 1-5

RIZZOLI, A., R. ROSA, B. MANTELLI, E. PECCHIOLI, H. HAUFFE, V. TAGLIAPIETRA, T. BENINATI, M. NETELER und C. GENCHI (2004)
[*Ixodes ricinus*, transmitted diseases and reservoirs].
Parassitologia 46, 119-122

RODGERS, S. J., R. J. MORTON und C. A. BALDWIN (1989)
A serological survey of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, *Rickettsia rickettsii*, and *Borrelia burgdorferi* in dogs in Oklahoma.
J Vet Diagn Invest 1, 154-159

ROLEFF, S. (2004)
Klinische Evaluierung des automatischen Blutzellzählgerätes CA530-VET durch Vergleich mit dem CELL-DYN 3500 und Standardmethoden für die Tierarten Hund, Katze und Pferd.
Vet Med Dissertation, FU Berlin

SANTINO, I., A. IORI, M. NICOLETTI, S. VALLETTA, C. CIMMINO, G. L. SCOARUGHI, D. SANTAPAOLA, R. SESSA und M. DEL PIANO (2003)
Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomospecies and of the human granulocytic ehrlichiosis (HGE) agent in *Ixodes ricinus* ticks collected in the area of Monti Lepini, Italy.
Int J Immunopathol Pharmacol 16, 105-108

SANTOS, A. S., N. ALEXANDRE, R. SOUSA, M. S. NUNCIO, F. BACELLAR und J. S. DUMLER (2009)
Serological and molecular survey of *Anaplasma* species infection in dogs with suspected tickborne disease in Portugal.
Vet Rec 164, 168-171

SANTOS, A. S., M. M. SANTOS-SILVA, V. C. ALMEIDA, F. BACELLAR und J. S. DUMLER (2004)
Detection of *Anaplasma phagocytophilum* DNA in *Ixodes ticks* (*Acari*: *Ixodidae*) from Madeira Island and Setubal District, mainland Portugal.
Emerg Infect Dis 10, 1643-1648

SANTOS, A. S., M. M. SANTOS-SILVA, R. D. SOUSA, F. BACELLAR und J. S. DUMLER (2008)
PCR-Based Survey of *Anaplasma phagocytophilum* in Portuguese Ticks (*Acari*: *Ixodidae*).
Vector Borne Zoonotic Dis 2008; Sep 10: Epub ahead of print

SARIH, M., Y. M'GHIRBI, A. BOUATTOUR, L. GERN, G. BARANTON und D. POSTIC (2005)
Detection and identification of *Ehrlichia* spp. in ticks collected in Tunisia and Morocco.
J Clin Microbiol 43, 1127-1132

SAWYER, D. C. (1963)
Synovial fluid analysis of canine joints.
J Am Vet Med Assoc 143, 609-612

SCHAARSCHMIDT-KIENER, D., M. HELM und W. MÜLLER (2008)
Neurologische Symptomatik in Verbindung mit einer *Anaplasma phagozytophilum*-Infektion bei drei Hunden in der westlichen Bodenseeregion.
Tierärztl Prax 36, 299-301

SCHAARSCHMIDT-KIENER, D., und W. MÜLLER (2007)
Labordiagnostische und klinische Aspekte der caninen Anaplasmose und Ehrlichiose.
Tierärztl Prax 35, 129-136

SCHULZE, T. L., R. A. JORDAN, C. J. SCHULZE, T. MIXSON und M. PAPERO (2005)
Relative encounter frequencies and prevalence of selected *Borrelia*, *Ehrlichia*, and *Anaplasma* infections in *Amblyomma americanum* and *Ixodes scapularis* (*Acari*: *Ixodidae*) ticks from central New Jersey.
J Med Entomol 42, 450-456

SCORPIO, D. G., K. CASPERSEN, H. OGATA, J. PARK und J. S. DUMLER (2004)
Restricted changes in major surface protein-2 (msp2) transcription after prolonged in vitro passage of *Anaplasma phagocytophilum*.
BMC Microbiol 4, 1

SCORPIO, D. G., J. S. DUMLER, N. C. BARAT, J. A. ANASTASIO, D. DANILUK, K. CATERINA, M. BEALL und R. CHANDRASHAKER (2008)
Comparative strain analysis of *Anaplasma phagocytophilum* infection and clinical outcomes in a canine model of granulocytic anaplasmosis.
26th ACVIM Forum, San Antonio, Texas, USA (Abstract)

SHAW, S. E., S. H. BINNS, R. J. BIRTLES, M. J. DAY, R. SMITHSON und M. J. KENNY (2005)
Molecular evidence of tick-transmitted infections in dogs and cats in the United Kingdom.
Vet Rec 157, 645-648

SILAGHI, C., J. GILLES, M. HOHLE, V. FINGERLE, F. T. JUST und K. PFISTER (2008)
Anaplasma phagocytophilum infection in *Ixodes ricinus*, Bavaria, Germany.
Emerg Infect Dis 14, 972-974

SKARPHEDINSSON, S., B. F. LYHOLM, M. LJUNGBERG, P. SOGAARD, H. J. KOLMOS und L. P. NIELSEN (2007)
Detection and identification of *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, and *Rickettsia helvetica* in Danish *Ixodes ricinus* ticks.
Apmis 115, 225-230

SKOTARCZAK, B., M. ADAMSKA, A. RYMASZEWSKA, M. SUPRON, M. SAWCZUK und A. MACIEJEWSKA (2004)
[*Anaplasma phagocytophila* and protozoans of *Babesia* genus in dogs from endemic areas of Lyme disease in north-western Poland].
Wiad Parazytol 50, 555-561

SKOTARCZAK, B., A. RYMASZEWSKA, B. WODECKA und M. SAWCZUK (2003)
Molecular evidence of coinfection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland.
J Parasitol 89, 194-196

SKOTARCZAK, B., A. RYMASZEWSKA, B. WODECKA, M. SAWCZUK, M. ADAMSKA und A. MACIEJEWSKA (2006)
PCR detection of granulocytic *Anaplasma* and *Babesia* in *Ixodes ricinus* ticks and birds in West-central Poland.
Ann Agric Environ Med 13, 21-23

SMITH, R. D., M. RISTIC, D. L. HUXSOLL und R. A. BAYLOR (1975)
Platelet kinetics in canine ehrlichiosis: evidence for increased platelet destruction as the cause of thrombocytopenia.
Infect Immun 11, 1216-1221

SOLANO-GALLEGO, L., B. HEGARTY, Y. ESPADA, J. LLULL und E. BREITSCHWERDT (2006)
Serological and molecular evidence of exposure to arthropod-borne organisms in cats from Northeastern Spain.
Vet Microbiol 118, 274-277

SOLANO-GALLEGO, L., J. LLULL, M. OSSO, B. HEGARTY und E. BREITSCHWERDT (2006)
A serological study of exposure to arthropod-borne pathogens in dogs from Northeastern Spain.
Vet Res 37, 231-244

SOLANO-GALLEGO, L., M. TROTTA, L. RAZIA, T. FURLANELLO und M. CALDIN (2006)
Molecular survey of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* from blood of dogs in Italy.
Ann N Y Acad Sci 1078, 515-518

SRÉTER, T., Z. SRÉTER-LANCZ, Z. SZÉLL und D. KÁLMÁN
Anaplasma phagocytophilum: an emerging tick-borne pathogen in Hungary Central Eastern Europe.
Ann Trop Med Parasitol 98, 401-405

STAFFORD, K. C., 3RD, R. F. MASSUNG, L. A. MAGNARELLI, J. W. IJDO und J. F. ANDERSON (1999)
Infection with agents of human granulocytic ehrlichiosis, lyme disease, and babesiosis in wild white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) in Connecticut.
J Clin Microbiol 37, 2887-2892

STANCZAK, J., R. M. GABRE, W. KRUMINIS-LOZOWSKA, M. RACEWICZ und B. KUBICA-BIERNAT (2004)
Ixodes ricinus as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests.
Ann Agric Environ Med 11, 109-114

STANCZAK, J., M. RACEWICZ, W. KRUMINIS-LOZOWSKA und B. KUBICA-BIERNAT (2002)
Coinfection of *Ixodes ricinus* (*Acari*: *Ixodidae*) in Northern Poland with the agents of Lyme borreliosis (LB) and human granulocytic ehrlichiosis (HGE).
Int J Med Microbiol 291 Suppl 33, 198-201

STANEK, G. (2005)
Durch Zecken übertragbare Krankheitserreger in Mitteleuropa.
Wien Klin Wochenschr 117, 373-380

STOCKHAM, S. L., D. A. SCHMIDT, K. S. CURTIS, B. G. SCHAUF, J. W. TYLER und S. T. SIMPSON (1992)
Evaluation of granulocytic ehrlichiosis in dogs of Missouri, including serologic status to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi*.
Am J Vet Res 53, 63-68

STUEN, S., K. BERGSTRÖM, M. PETROVEC, I. VAN DE POL und L. M. SCHOULS (2003)
Differences in clinical manifestations and hematological and serological responses after experimental infection with genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* in sheep.
Clin Diagn Lab Immunol 10, 692-695

STUEN, S., M. BRATEN, K. BERGSTRÖM und K. BARDSEN (2008)
Cyclic variation in lambs infected with *Anaplasma phagocytophilum*.
Vet Rec 163, 338-340

STUEN, S., A. N. CASEY, Z. WOLDEHIWET, N. P. FRENCH und N. H. OGDEN (2006)
Detection by the polymerase chain reaction of *Anaplasma phagocytophilum* in tissues of persistently infected sheep.
J Comp Pathol 134, 101-104

STUEN, S., I. VAN DE POL, K. BERGSTRÖM und L. M. SCHOULS (2002)
Identification of *Anaplasma phagocytophila* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) variants in blood from sheep in Norway.
J Clin Microbiol 40, 3192-3197

SUKSAWAT, J., B. C. HEGARTY und E. B. BREITSCHWERDT (2000)
Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, and *Ehrlichia risticii* in sick dogs from North Carolina and Virginia.
J Vet Intern Med 14, 50-55

SUKSAWAT, J., C. PITULLE, C. ARRAGA-ALVARADO, K. MADRIGAL, S. I. HANCOCK und E. B. BREITSCHWERDT (2001)
Coinfection with three *Ehrlichia* species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure.
J Clin Microbiol 39, 90-93

TARELLO, W. (2003)
Canine granulocytic ehrlichiosis (CGE) in Italy.
Acta Vet Hung 51, 73-90

TARELLO, W. (2005)
Microscopic and clinical evidence for *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *phagocytophilum* infection in Italian cats.
Vet Rec 156, 772-774

TELFORD, S. R., 3RD (1997)
Risk for acquiring human granulocytic ehrlichiosis: exposure to deer blood or deer ticks?
Clin Infect Dis 24, 531-533

TELFORD, S. R., 3RD, J. E. DAWSON, P. KATAVOLOS, C. K. WARNER, C. P. KOLBERT und D. H. PERSING (1996)
Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle.
Proc Natl Acad Sci U S A 93, 6209-6214

TELFORD, S. R., 3RD, T. J. LEPORE, P. SNOW, C. K. WARNER und J. E. DAWSON (1995)
Human granulocytic ehrlichiosis in Massachusetts.
Ann Intern Med 123, 277-279

TOMASIEWICZ, K., R. MODRZEWSKA, A. BUCZEK, J. STAŃCZAK und J. MACIUKAJĆ (2004)
The risk of exposure to *Anaplasma phagocytophilum* infection in Mid-Eastern Poland.
Ann Agric Environ Med 11, 261-264

TORINA, A., und S. CARACAPPA (2006)
Dog tick borne diseases in Sicily.
Parassitologia 48, 145-147

VARDE, S., J. BECKLEY und I. SCHWARTZ (1998)
Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes scapularis* in a rural New Jersey County.
Emerg Infect Dis 4, 97-99

VOLLMERHAUS, B. (1999)
Gelenkpunktion (Arthrozentese).
In: Operationen an Hund und Katze. SCHEBITZ, H., und W. BRASS (Hrsg.).
Parey Verlag, Berlin, 19-23

VON LOEWENICH, F. D., B. U. BAUMGARTEN, K. SCHROPPEL, W. GEISSDORFER, M. ROLLINGHOFF und C. BOGDAN (2003)
High diversity of ankA sequences of *Anaplasma phagocytophilum* among *Ixodes ricinus* ticks in Germany.
J Clin Microbiol 41, 5033-5040

VON STEDINGK, L. V., M. GÜRTELSCHMID, H. S. HANSON, R. GUSTAFSON, L. DOTEVALL, E. O. ENGVALL und M. GRANSTRÖM (1997)
The human granulocytic ehrlichiosis (HGE) agent in Swedish ticks.
Clin Microbiol Infect 3, 573-574

WALKER, D. H., und J. S. DUMLER (1996)
Emergence of the ehrlichioses as human health problems.
Emerg Infect Dis 2, 18-29

WALLS, J. J., B. GREIG, D. F. NEITZEL und J. S. DUMLER (1997)
Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
J Clin Microbiol 35, 853-855

WALTER, T., M. OLIVARES, F. PIZARRO und C. MUNOZ (1997)
Iron, anemia and infection.
Nutr Rev 55, 111-124

WANER, T., S. HARRUS, D. J. WEISS, H. BARK und A. KEYSARY (1995)
Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis.
Vet Immunol Immunopathol 48, 177-182

WANER, T., C. STRENGER, A. KEYSARY und S. HARRUS (1998)
Kinetics of serologic cross-reactions between *Ehrlichia canis* and the *Ehrlichia phagocytophila* genogroups in experimental *E. canis* infection in dogs.
Vet Immunol Immunopathol 66, 237-243

WARDROP, K. J., N. J. REINE, A. BIRKENHEUER, A. HALE, A. HOHENHAUS, C. CRAWFORD und M. R. LAPPIN (2005)
Canine and Feline Blood Donor Screening for Infectious Disease.
J Vet Intern Med 19, 135-142

WEBSTER, P., J. W. IJDO, L. M. CHICOINE und E. FIKRIG (1998)
The agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis resides in an endosomal compartment.
J Clin Invest 101, 1932-1941

WEISS, D. J., und J. D. KREHBIEL (1981)
Studies of the pathogenesis of anemia and inflammation: Erythrocyte survival.
Am J Vet Res 44, 1830-1831

WINJUM, N., und L. K. RILEY (1993)
In vitro proliferation of a canine granulocytic *Ehrlichia*.
Vet Microbiol 34, 355-362

WINKLER, G. C., P. ARNOLD, P. DEPLAZES, O. GLARDON und H. LUTZ (1988)
Klinische und serologische Diagnose von Ehrlichiosen bei Hunden in der Schweiz.
Schweiz Arch Tierheilkd 130, 357-367

WOLDEHIWET, Z. (1991)
Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of sheep experimentally infected with tick-borne fever.
Res Vet Sci 51, 40-43

WOLDEHIWET, Z. (2006)
Anaplasma phagocytophilum in ruminants in Europe.
Ann N Y Acad Sci 1078, 446-460

WONG, S. J., und J. A. THOMAS (1998)
Cytoplasmic, nuclear, and platelet autoantibodies in human granulocytic ehrlichiosis patients.
J Clin Microbiol 36, 1959-1963

WOODY, B. J., und J. D. HOSKINS (1991)
Ehrlichial diseases of dogs.
Vet Clin North Am Small Anim Pract 21, 75-98

YEH, M. T., T. N. MATHER, R. T. COUGHLIN, C. GINGRICH-BAKER, J. W. SUMNER und R. F. MASSUNG (1997)
Serologic and molecular detection of granulocytic ehrlichiosis in Rhode Island.
J Clin Microbiol 35, 944-947

YOUNG, D. R., R. G. ARTHER und W. L. DAVIS (2003)
Evaluation of K9 Advantix vs. Frontline Plus topical treatments to repel brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) on dogs.
Parasitol Res 90 Suppl 3, S116-118

YOUNG, D. R., R. G. ARTHER und T. SETTJE (2001)
Evaluation of imidacloprid plus permethrin vs. fipronil topical treatments to repel and kill american dog ticks (*Dermacentor variabilis*) on dogs.
Suppl Compend Contin Educ Pract Vet 23, 17-20

IX. Anhang

1. Hämatologische Untersuchung für 19 Hunde mit CGA

Tabelle 50: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 1

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	21,1	2,99	3,77	0,19	64	1,3	19,6	90,1
1	20,6	2,86	3,65	0,20	68	1,3	18,7	39,7
2	14,0	2,96	3,71	0,20	68	1,3	18,5	63,5
3	18,8	3,86	4,88	0,26	68	1,3	18,7	138,0
4	15,7	3,32	4,21	0,23	69	1,3	18,4	77,5
6	9,75	4,13	5,31	0,28	69	1,3	18,7	448
25	9,16	4,91	6,64	0,35	71	1,4	19,1	259
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 – 600

Tabelle 51: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 1

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	422	15825	0	0	4642	211
2	140	10640	0	0	2240	980
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 52: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 2

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	4,09	4,71	7,20	0,33	70	1,5	21,9	16,4
1	4,08	5,72	8,57	0,40	71	1,5	21,2	50,8
2	5,58	5,78	8,63	0,42	72	1,5	20,8	51,5
3	5,73	5,72	8,69	0,41	71	1,5	21,2	217,0
6	9,91	5,07	7,76	0,36	71	1,5	21,5	341,0
16	6,74	6,09	9,62	0,44	72	1,6	21,9	395,0
28	7,38	7,22	11,23	0,52	73	1,6	21,5	310,0
111	17,3	7,52	11,36	0,51	68	1,5	22,2	279,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 53: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 2

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	122	3477	0	0	245	245
2	56	2678	0	0	1730	949
3	57,3	2750,4	286,5	0	2234,7	401,1
6	495,5	7432,5	495,5	0	1090,1	396,4
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 54: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 3

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	11,6	6,31	9,62	0,43	67,5	1,5	22,7	164,0
14	12,8	6,60	9,50	0,45	67,6	1,4	21,2	276,0
17	30,6	6,17	9,06	0,40	64,2	1,5	22,8	259,0
19	13,6	6,33	9,06	0,43	67,2	1,4	21,3	284,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 55: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 4

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	4,70	5,30	7,88	0,37	69	1,5	21,4	13,8
1	7,54	6,01	8,67	0,42	70	1,5	20,9	8,04
3	9,64	5,84	8,67	0,41	70	1,5	21,1	156,0
10	11,90	5,70	8,50	0,40	70	1,5	21,4	328,0
35	8,56	6,76	10,24	0,48	71	1,5	21,4	368,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 56: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 5

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	10,7	8,45	11,98	0,57	67	1,4	21,2	76,7
1	10,4	8,33	11,92	0,56	67	1,4	21,2	105,0
3	9,54	7,96	11,42	0,54	67	1,4	21,3	187,0
9	14,50	8,25	11,67	0,56	68	1,4	21,0	352,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 57: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 6

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	3,28	7,28	10,12	0,49	67	1,4	20,8	32,8
9	4,57	7,11	10,18	0,48	67	1,4	21,2	181,0
24	5,19	7,31	10,43	0,50	69	1,4	20,8	231,0
164	5,20	6,54	9,37	0,41	63	1,4	22,5	---
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 58: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 7

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	5,57	4,55	6,2	0,30	65	1,4	20,9	43,0
1	3,66	8,19	10,92	0,53	64	1,3	20,8	13,2
3	11,7	6,02	8,13	0,39	65	1,4	20,9	314,0
5	10,3	5,26	7,20	0,34	65	1,4	21,2	103,0
11	16,3	6,23	8,63	0,41	66	1,4	21,0	480,0
25	9,58	6,89	9,56	0,45	66	1,4	21,2	326,0
56	7,44	7,39	10,68	0,48	66	1,4	22,0	325,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 59: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 7

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	56	4446	0	0	390	279
1	36,6	2415,6	73,2	0	878,4	256,2
3	117	6903	468	0	3393	819
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 60: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 8

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	13,3	5,76	7,82	0,37	64	1,4	21,4	156,0
1	19,0	5,69	7,94	0,37	65	1,4	21,5	169,0
2	23,8	5,67	8,07	0,37	65	1,4	21,8	209,0
4	24,0	6,30	8,69	0,40	64	1,4	21,5	308,0
6	19,2	6,30	8,88	0,42	66	1,4	21,3	514,0
16	12,0	6,73	9,74	0,45	67	1,5	21,6	882,0
34	11,5	6,99	9,99	0,46	66	1,4	21,5	701,0
106	12,0	7,39	10,49	0,47	64	1,4	22,1	724,0
190	9,63	7,26	10,61	0,47	65	1,5	22,4	636,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 61: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 8

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	242	10406	0	0	968	484
4	240	16080	480	0	6240	960
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 62: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 9

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	14,1	5,53	8,63	0,40	72	1,6	21,7	296,0
16	32,7	5,74	8,50	0,41	71	1,5	20,8	372,0
40	22,4	4,77	7,51	0,35	73	1,6	21,7	146,0
42	18,2	5,59	8,69	0,40	72	1,6	21,7	19,3
44	14,4	4,24	6,64	0,30	71	1,6	22,1	50,5
45	18,2	4,26	6,58	0,31	73	1,6	21,4	90,1
47	25,1	4,02	6,27	0,29	73	1,6	21,6	281,0
51	32,4	3,34	5,33	0,25	75	1,6	21,4	504,0
121	9,4	6,12	8,76	0,40	65	1,4	22,0	375,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 63: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 9

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	423	8883	564	0	2961	1269
16	327	31065	0	0	1308	0
40	1347	18592	224	0	1344	896
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 64: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 10

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	8,79	4,83	6,89	0,32	66	1,4	21,5	192
2	7,93	4,51	6,46	0,31	68	1,4	21,1	274
4	9,86	5,28	7,7	0,35	67	1,5	21,7	340
7	12,3	7,0	10,55	0,46	66	1,5	22,8	602
14	9,53	6,4	9,37	0,44	68	1,5	21,4	675
22	9,51	6,52	9,43	0,44	67	1,5	21,5	526
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 65: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 11

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	6,59	5,81	8,38	0,39	67	1,5	21,7	12,5
1	5,83	5,73	8,26	0,39	68	1,5	21,1	13,0
2	7,37	4,47	6,39	0,31	68	1,4	21,0	17,3
3	5,95	5,13	7,32	0,35	68	1,4	20,9	100,0
8	8,43	5,41	7,88	0,37	68	1,5	21,4	395,0
40	11,6	6,33	9,25	0,43	68	1,5	21,4	532,0
42	7,64	6,32	8,88	0,41	64	1,4	22,0	428,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 66: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 11

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	0	5601	0	0	593	395
3	119	3272,5	59,5	0	1963,5	535,5
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 67: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 12

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	4,80	7,30	10,06	0,46	64	1,4	21,8	9,55
1	9,10	6,86	9,50	0,43	63	1,4	22,0	41,0
2	3,64	6,77	9,37	0,43	64	1,4	21,6	56,1
3	5,18	6,45	9,06	0,41	64	1,4	21,9	87,0
7	11,90	6,67	9,37	0,43	64	1,4	22,0	174,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 68: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 12

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	48	3600	0	0	240	912
2	0	1965,6	36,4	0	1310,4	327,6
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 69: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 13

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	23,1	4,79	7,08	0,32	66	1,5	22,4	32,0
2	20,0	4,64	6,83	0,31	66	1,5	22,3	342,0
4	32,4	5,05	7,39	0,34	67	1,5	21,8	498,0
11	21,2	5,64	8,63	0,38	68	1,5	22,5	317,0
24	16,5	5,88	8,94	0,41	69	1,5	22,0	244,0
38	15,3	5,89	9,00	0,40	67	1,5	22,8	280,0
62	7,33	6,37	9,50	0,43	67	1,5	22,3	270,0
95	7,59	6,36	9,31	0,42	66	1,5	22,0	259,0
185	9,26	7,1	9,99	0,47	66	1,4	21,5	208,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 70: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 14

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	7,47	6,48	9,56	0,43	67	1,5	22,2	18,5
1	7,53	6,55	9,50	0,43	66	1,5	21,9	170,0
4	11,6	6,01	9,00	0,40	67	1,5	22,5	293,0
21	9,09	6,46	9,62	0,43	67	1,5	22,3	277,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 71: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 14

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	75	4930	0	0	1345	1121
1	0	4593,3	0	0	2108,4	828,3
23	90,1	5045,6	1621,8	0	2162,4	90,1
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 72: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 15

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	11,4	6,70	9,43	0,44	65	1,4	21,5	95,8
3	7,32	7,67	10,55	0,49	64	1,4	21,5	309,0
8	9,80	7,82	10,99	0,51	65	1,4	21,6	538,0
24	11,90	7,93	11,23	0,51	65	1,4	21,9	357,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 73: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 16

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	23,9	4,12	5,46	0,27	66	1,3	20,2	109,0
1	38,3	4,41	5,78	0,29	66	1,3	19,9	164,0
3	14,1	4,74	6,33	0,32	67	1,3	19,7	352,0
4	17,5	5,72	6,03	0,30	67	1,3	19,9	415,0
18	15,3	5,45	7,51	0,37	69	1,4	20,1	468,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 74: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 16

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	4302	13862	0	0	2629	2629
3	0	9729	564	2256	0	1551
18	0	11628	306	0	2754	612
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 75: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 17

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	12,9	5,11	4,40	0,35	68	1,5	22,2	5,17
2	32,1	4,51	6,58	0,31	69	1,5	21,2	25,2
4	31,9	3,70	5,62	0,26	70	1,5	21,8	127,0
5	40,4	4,05	6,03	0,28	69	1,5	21,5	176,0
6	32,0	3,78	5,72	0,26	70	1,5	21,7	241,0
10	41,9	3,28	4,98	0,23	71	1,5	21,2	264,0
12	63,2	3,03	4,70	0,24	73	1,6	21,2	228,0
16	12,3	3,82	6,21	0,29	77	1,6	21,1	295,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 76: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 17

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	645	11739	0	0	129	387
2	1605	28248	0	0	1605	642
4	2233	27753	638	0	1276	0
10	9637	20112	2095	0	5028	3352
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 77: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 18

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
0	22,2	3,04	4,41	0,19	63	1,5	23,1	12,0
1	27,1	3,33	4,84	0,22	66	1,5	22,2	0,71
2	38,0	4,00	5,55	0,26	65	1,4	21,5	3,33
5	40,4	2,24	3,52	0,16	71	1,6	22,3	2,52
6	40,1	3,15	4,89	0,22	70	1,6	22,1	3,04
7	40,0	3,50	5,56	0,26	73	1,6	21,7	6,80
12	56,9	4,22	6,64	0,31	74	1,6	21,4	329,0
19	49,4	4,24	8,19	0,32	76	1,9	25,5	31,3
22	33,3	3,81	7,76	0,29	76	2,0	26,9	366,0
26	26,6	4,16	7,70	0,32	76	1,9	24,5	610,0
89	10,8	6,01	10,55	0,41	67	1,8	26,1	396,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

Tabelle 78: Verlauf der Parameter des Differenzialblutbildes für Fall 18

Fall	Stabkernige Granulozyten (x 10^6/l)	Segment-kernige Granulozyten (x 10^6/l)	Eosino-phile (x 10^6/l)	Baso-phile (x 10^6/l)	Lympho-zyten (x 10^6/l)	Mono-zyten (x 10^6/l)
0	2442	15096	666	0	1998	1998
1	4878	19241	0	0	1084	1897
5	10100	24644	404	0	1212	4040
12	2845	48365	0	0	5690	0
19	1482	41496	1482	0	3458	1482
22	1332	28971	666	0	1998	333
Ref.	0 - 500	3.000 - 9.000	40 - 600	40 - 500	1.000 - 3.600	40 - 500

Tabelle 79: Verlauf der Parameter der hämatologischen Untersuchung für Fall 19

Tag	Leuko-zyten (x 10^9/l)	Erythro-zyten (x 10^{12}/l)	Hämo-globin (mmol/l)	Hkt (l/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	MCHC (mmol/l)	Throm-bozyten (x 10^9/l)
-7	13,5	3,81	5,55	0,25	65	1,5	22,5	46,4
-3	6,46	5,66	8,75	0,38	67	1,6	23,2	130,0
-2	10,3	3,75	5,45	0,25	67	1,5	21,7	126,0
0	19,0	5,00	7,45	0,34	67	1,5	22,2	58,3
1	14,5	5,73	8,38	0,39	67	1,5	21,9	65,6
7	9,61	7,33	10,86	0,49	67	1,5	22,2	404,0
15	19,1	5,21	7,63	0,35	67	1,5	21,8	254,0
15	20,6	4,01	5,82	0,27	67	1,5	21,7	43,4
16	16,2	2,95	4,58	0,20	67	1,6	23,2	128,0
Ref.	6 - 18	5,6 - 8,6	8,4 - 12,4	0,38 - 0,56	62 - 70	1,2 - 1,6	19,2 - 23,0	200 - 600

X. Teile dieser Dissertation wurden bzw. werden veröffentlicht

Publikationen

Galke D, Pfister K, Arndt G, Kohn B:
An epidemiological study of *A. phagocytophilum* infections in dogs. (submitted)

Galke D, Pfister K, Arndt G, Kohn B:
The effect of a regular monthly treatment against *I. ricinus* on the seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs. (submitted)

Kohn B, Galke D, Beelitz P, Pfister K (2008):
Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs.
J Vet Intern Med 22, 1289-1295

Pfister K, Galke D, Kohn B (2007):
Anaplasma phagocytophilum - Vorkommen bei klinisch gesunden und kranken Hunden in Deutschland. Vet Med Report, 31, 4

Abstracts/Proceedings/Vorträge

Galke D, Beelitz P, Pfister K, Kohn B:
Clinical features of 15 dogs naturally infected with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs.
J Vet Intern Med, 21 (3), 2007, 626

Galke D, Beelitz P, Pfister K, Kohn B:
Canine granulocytäre Anaplasmose bei 16 natürlich infizierten Hunden.
53. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin der DVG, Berlin, 15.11.-18.11.2007, Referateband: S. 394-395, ISBN 978-3-939902-49-2

Galke D, Beelitz P, Pfister K, Kohn B:
Untersuchungen zur caninen granulozytären Anaplasmose.
16. Jahrestagung der DVG-Fachgruppe „Innere Medizin und klinische Labordiagnostik“, Gießen, 2.-3.2.2008, Tierärztl Prax (K), 36 (1), A15

Galke D, Beelitz P, Pfister K, Kohn B:
Prävalenz von Infektionen mit *Anaplasma* (*A.*) *phagozytophilum* bei klinisch gesunden und kranken Hunden in Deutschland.
3. Doktorandensymposium, Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, 2008

Galke D, Pfister K, Kohn B:
Prävalenz von Infektionen mit *A. phagozytophilum* bei Hunden in Deutschland.
54. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin der DVG
Düsseldorf, 25.-28.9.2008, Referateband S. 314-315, ISBN 978-3-939902-78-2

Galke D, Pfister K, Kohn, B:
Epidemiologische Studie über Infektionen mit *Anaplasma phagozytophilum* beim Hund
17. Jahrestagung der FG „Innere Medizin und klinische Labordiagnostik“ der DVG
31.1./1.2.2009, Berlin, Tierärztliche Praxis Kleintiere 2009, 37, A7

Galke D, Arndt G, Hamel D, Pfister K, Kohn B:
An epidemiological study about infections with *Anaplasma phagcytophilum* in dogs.
Abstract ECVIM-Kongress 2009, Porto (submitted)

Kohn B, Galke D, Pfister K:
Anaplasma phagocytophilum in dogs: prevalence, clincial aspects and prevention.
3rd Canine-vector-borne disease world forum
Wiesbaden, 16.-19.4.2008, Proceedings 38-44

Pfister K, Galke D, Kohn B:
Anaplasmose durch *A.phagocytophilum*- eine sich ausbreitende Infektionskrankheit.
52. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin der DVG, Düsseldorf, 21.9.-24.9.2006, Referateband

Pfister K, Galke D, Beelitz P, Kohn B:
Der Effekt einer regelmäßigen monatlichen Zeckenprophylaxe auf die Prävalenz von *Anaplasma phagozytophilum* von Hunden.
Tagung der DVG-Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“,
Celle, 4.6.-6.6.2007, Berlin: Blackwell, 2007, S. 47, ISBN:ISSN: 1862-4073

Pfister K, Galke D, Fumi C, Beelitz P, Kohn B:
Vorkommen von *Anaplasma phagozytophilum* bei klinisch gesunden und kranken Hunden in Deutschland.
Tagung der DVG-Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“,
Celle, 4.6.-6.6.2007, Berlin: Blackwell, 2007, S. 48, ISBN:ISSN: 1862-4073

Pfister K, Galke D, Fumi C, Beelitz P, Kohn B:
Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs in Germany.
21st International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Ghent 2007, Proceedings

Pfister K, Galke D, Beelitz P, Kohn B:
The effect of a regular monthly treatment against *I. ricinus* on the seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs.
21st International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Ghent 2007, Proceedings

Silaghi C, Kohn B, Kunow F, Galke D, Friche Passos LM, Thiel C, Nolte I, Pfister K:
Kanine *Anaplasma phagocytophilum*-Infektion: Molekulare Differenzierung beteiligter Stämme.
17. Jahrestagung der FG „Innere Medizin und klinische Labordiagnostik“ der DVG
31.1./1.2.2009, Berlin, Tierärztliche Praxis Kleintiere, 2009, 37, A5

Poster

Galke D, Beelitz P, Pfister K, Kohn B:
Canine granulozytäre Anaplasmose bei 16 natürlich infizierten Hunden.
2. Doktorandensymposium, Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, 2007

XI Danksagung

Ich möchte an dieser Stelle allen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.
Frau Prof. Kohn danke ich für die Vergabe des Dissertationsthemas , die sorgfältige Korrektur dieser Arbeit sowie ihre wertvollen Ratschläge und kritischen Anmerkungen, die bei der Erstellung dieser Arbeit stets hilfreich waren.
Herrn Prof. Brunnberg danke ich für seine jederzeit gewährte Unterstützung bei der Arbeit an dem Promotionsthema und die klinische Erfahrung, die ich in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere gewinnen durfte.
Ich danke aufrichtig Herrn Prof. Pfister aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU München. Seine stets konstruktive Kritik und Hilfestellung hat wesentlich zur Fertigstellung der Dissertation beigetragen. Des Weiteren bin ich seinen Mitarbeitern zu Dank verpflichtet, sie führten die parasitologischen Untersuchungen durch.
Außerdem möchte ich allen Kolleginnen und Kollegen sowie den Assistenzärzten und Mitarbeiterinnen im Labor der Klinik für kleine Haustiere danken. Sie trugen zu wichtigen Patientendaten bei und standen mir mit diversen Ratschlägen bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite.
Frau Dr. Arndt vom Institut für Biometrie des Fachbereichs Veterinärmedizin der FU Berlin sowie Herrn Prof. Küchenhoff und Frau Kunz vom statistischen Department der LMU München danke ich für die kompetente und sachkundige Beratung in allen Fragen der Datenanalyse und statistischen Auswertung.
Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Ulrike Behrendt für die freundschaftliche Unterstützung und Motivation, wann immer dies notwendig war und das unermüdliche Korrekturlesen des Manuskripts.
Auch möchte ich meinen Eltern danken, die mich bei meinem Vorhaben Tierärztin zu werden und schließlich auch bei meiner Dissertation stets unterstützt haben.
Mein aufrichtiger Dank gilt auch Herrn Pfarrer i.R. W. Augustat und seiner Frau G. Augustat, die, wann immer es nötig war, motivierend auf mich einwirkten.
Nicht zuletzt möchte ich an Manfred Zenker erinnern, der mir in der Oberstufen- und Studienzeit beratend und unterstützend zur Seite stand. Durch seinen Tod hat er die Zeit der Dissertation leider nicht mehr erleben können, doch vieles, was er mich gelehrt hat, führte letztlich zum Ziel. Dafür werde ich ihm immer dankbar sein.
Für die finanzielle Unterstützung dieser Studie danke ich der Firma Bayer Vital GmbH und der H. Wilhelm Schaumann Stiftung.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Daniela Galke, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den ……..