

Aus der Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Klinische Relevanz der Lyme-Borreliose und der  
Equinen Granulozytären Anaplasrose  
bei Pferden in Deutschland**

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

vorgelegt von  
**Katharina Sophie Inerle, geb. Füßinger**  
Tierärztin aus Ludwigsburg

Berlin 2022  
Journal-Nr.: 4320







**Aus der Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Klinische Relevanz der Lyme-Borreliose und der Equinen Granulozytären  
Anaplasrose bei Pferden in Deutschland**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

**vorgelegt von**

Katharina Sophie Inerle, geb. Füßinger

**Tierärztin**

aus Ludwigsburg

**Berlin 2022**

**Journal-Nr.: 4320**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen  
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Reinhard Straubinger  
Dritter Gutachter: PD Dr. Marianne Skrodzki

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

horses, lyme disease, tick-borne diseases, spirochaetosis, borrelia burgdorferi, anaplasma phycocytophlium, anaplasmosis, pathogenesis, immune response, symptoms, diagnostic techniques, laboratory methods, statistical analysis, Germany

Tag der Promotion: 18.01.2022

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-96729-151-3

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2022**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D188**

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

© Mensch und Buch Verlag 2022 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

Meinem Mann,  
in Liebe und Dankbarkeit.



## INHALTSVERZEICHNIS

I.	Abkürzungsverzeichnis.....	VII
1	Einleitung und Zielsetzung .....	1
2	Literaturübersicht.....	3
2.1	Die Gattung <i>Ixodes</i> als Vektor.....	3
2.1.1	Morphologie der Schildzecken .....	4
2.1.2	Geographische Verbreitung der <i>Ixodes</i> spp. ....	4
2.1.3	Lebensraum und Saisonalität von <i>Ixodes ricinus</i> .....	5
2.1.4	Stech- und Saugakt der Zecken .....	5
2.1.5	Entwicklungszyklus von <i>Ixodes ricinus</i> .....	6
2.1.6	Wirtsspektrum von <i>Ixodes ricinus</i> .....	6
2.1.7	Bedeutung von Zecken als Vektoren.....	7
2.2	Der <i>Borrelia-burgdorferi</i> -sensu-lato-Komplex .....	9
2.2.1	Geschichtlicher Überblick über die Erforschung der Lyme-Borreliose .....	9
2.2.2	Taxonomie und Systematik von <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	10
2.2.3	Mikrobiologische und morphologische Eigenschaften der Borrelien .....	15
2.2.3.1	Antigenstruktur von <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	17
2.2.4	Der von <i>Borrelia burgdorferi</i> ausgelöste Infektionszyklus .....	20
2.2.5	Pathogenitätsmechanismen von <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	23
2.2.6	Die Rolle von Koinfektionen bei der Pathogenese.....	24
2.3	Lyme-Borreliose .....	25
2.3.1	Epidemiologie der Lyme-Borreliose.....	25
2.3.1.1	Exposition gegenüber und Übertragung von Borrelien .....	25
2.3.1.2	Geographische Verbreitung der Lyme-Borreliose und erfasste Meldedaten . .....	26
2.3.2	Pathogenese der Lyme-Borreliose .....	27
2.3.2.1	Immunantwort des Wirtes.....	29
2.3.3	Klinik der Lyme-Borreliose.....	31
2.3.3.1	Lyme-Borreliose in der Humanmedizin.....	31
2.3.3.2	Lyme-Borreliose in der Veterinärmedizin.....	34
2.3.3.2.1	Canine Lyme-Borreliose.....	35
2.3.3.2.2	Equine Lyme-Borreliose.....	36
2.3.3.2.2.1	Experimentelle Infektionen mit Vertretern des <i>Bbsl</i> -Komplexes bei Pferden .....	36
2.3.3.2.2.2	Beispiele für in der Literatur beschriebene klinische Befunde im Rahmen einer equinen Lyme-Borreliose.....	37
2.3.3.2.2.3	Fallberichte einer equinen Lyme-Borreliose mit Bestätigung durch direkte Nachweismethoden.....	39
2.3.3.2.2.4	Seroepidemiologische Studien zur equinen Lyme-Borreliose .....	41

2.3.4	Diagnostik der equinen Lyme-Borreliose .....	44
2.3.4.1	Anamnese & klinische Veränderungen in der Borreliosediagnostik .....	44
2.3.4.2	Direkter Erregernachweis bei Lyme-Borreliose.....	45
2.3.4.2.1	Kultivierung und Mikroskopie .....	45
2.3.4.2.2	Polymerase-Kettenreaktion .....	47
2.3.4.3	Indirekter Erregernachweis bei Lyme-Borreliose .....	48
2.3.4.3.1	Zweistufentest.....	51
2.3.4.3.2	Immunfluoreszenztest (IFAT) .....	51
2.3.4.3.3	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	52
2.3.4.3.3.1	Kinetischer ELISA (KELA) .....	53
2.3.4.3.3.2	C6-Peptid-Schnelltest .....	54
2.3.4.3.4	Western-Blot .....	55
2.3.4.3.4.1	Line-Immunoassay .....	57
2.3.4.3.5	Lyme Multiplex Assay .....	57
2.3.4.4	Zelluläre Diagnostik bei Lyme-Borreliose .....	59
2.3.4.4.1	Enzyme-Linked Immunospot Assay (ELISPOT).....	60
2.3.5	Therapie der Lyme-Borreliose .....	60
2.3.6	Prophylaxe der Lyme-Borreliose .....	66
2.3.6.1	Lyme-Borreliose Impfung .....	67
2.4	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	69
2.4.1	Geschichtlicher Überblick über die Erforschung der Anaplasmose.....	69
2.4.2	Taxonomie und Systematik von <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	69
2.4.3	Mikrobiologische und morphologische Eigenschaften von <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	71
2.5	<i>Anaplasma-phagocytophilum</i> -Infektionen.....	72
2.5.1	Epidemiologie von <i>Anaplasma-phagocytophilum</i> -Infektionen .....	72
2.5.2	Pathogenese & Immunantwort des Wirtes bei Anaplasmose.....	74
2.5.3	Klinik einer Infektion mit <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	76
2.5.3.1	Humane Granulozytäre Anaplasmose.....	76
2.5.3.2	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> in der Veterinärmedizin .....	77
2.5.3.2.1	Zeckenbissfieber der Wiederkäuer.....	77
2.5.3.2.2	Canine Granulozytäre Anaplasmose.....	77
2.5.3.2.3	Equine Granulozytäre Anaplasmose.....	78
2.5.4	Therapie der Equinen Granulozytären Anaplasmose .....	79
2.5.5	Prophylaxe der Equinen Granulozytären Anaplasmose.....	80
2.5.6	Diagnostik bei Equiner Granulozytärer Anaplasmose.....	80
2.5.6.1	Anamnese und Vorbericht bei Verdacht auf Equine Granulozytäre Anaplasmose.....	80

2.5.6.2	Labordiagnostische Veränderungen im Rahmen der Equinen Granulozytären Anaplasrose.....	81
2.5.6.3	Direkter Erregernachweis von <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	81
2.5.6.3.1	Kultivierung von <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	81
2.5.6.3.2	Mikroskopische Untersuchung von Blutausstrichen zum Nachweis von <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	81
2.5.6.3.3	Polymerase-Kettenreaktion.....	81
2.5.6.4	Indirekter Erregernachweis bei <i>Anaplasma-phagocytophilum</i> -Infektionen	82
2.5.6.4.1	Immunfluoreszenztest (IFAT).....	82
2.5.6.4.2	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	82
3	Material und Methoden.....	84
3.1	Studiendesign und Zielsetzung.....	84
3.2	Tiere.....	84
3.3	Materialien.....	85
3.4	Methoden.....	85
3.4.1	Frage- und Befundbogen.....	85
3.4.1.1	Entwicklung und Gestaltung der Fragebögen.....	85
3.4.1.2	Aufbau des Besitzerfragebogens.....	86
3.4.1.2.1	Erster Abschnitt: Besitzerdaten.....	86
3.4.1.2.2	Zweiter Abschnitt: Allgemeine Angaben zum Pferd.....	86
3.4.1.2.3	Dritter Abschnitt: Angaben zur Haltung.....	86
3.4.1.2.4	Vierter Abschnitt: Angaben zur Nutzung des Pferdes.....	86
3.4.1.2.5	Fünfter Abschnitt: Zeckenexposition.....	87
3.4.1.2.6	Sechster Abschnitt: Gesundheitsvorsorge.....	87
3.4.1.2.7	Siebter Abschnitt: Aktuelles Krankheitsbild / Gesundheitszustand.....	87
3.4.1.2.8	Achter Abschnitt: Weitere Mitteilungen.....	87
3.4.1.3	Aufbau des Tierärztefrage- und -befundbogens.....	87
3.4.1.3.1	Erster Abschnitt: Persönliche Daten.....	87
3.4.1.3.2	Zweiter Abschnitt: Allgemeine Angaben zum Patienten.....	87
3.4.1.3.3	Dritter Abschnitt: Angaben zur Probennahme für die Studie.....	88
3.4.1.3.4	Vierter Abschnitt: Allgemeinbefinden des Patienten.....	88
3.4.1.3.5	Fünfter Abschnitt: Krankheitsbild.....	88
3.4.1.3.6	Sechster Abschnitt: Weiterführende Diagnostik.....	88
3.4.1.3.7	Siebter Abschnitt: Bisherige Therapie.....	88
3.4.1.3.8	Achter Abschnitt: Meinungsbild equine Lyme-Borreliose.....	88
3.4.1.3.9	Neunter Abschnitt: Weitere Mitteilungen.....	89
3.4.1.4	Überprüfung der Verständlichkeit und Vollständigkeit des Fragebogens..	89
3.4.2	Probandengewinnung und Bekanntmachung der Studie.....	89

3.4.2.1	Beantwortung von Anfragen .....	90
3.4.2.2	Angestrebte Datenmenge .....	90
3.4.2.3	Zeitlicher Rahmen .....	90
3.4.3	Labordiagnostische Untersuchungen der Blutproben .....	90
3.4.3.1	Blutstatus .....	90
3.4.3.2	Blutausstrich .....	91
3.4.3.3	SNAP® 4Dx Plus® ELISA .....	91
3.4.3.4	Kinetischer ELISA (KELA) .....	92
3.4.3.5	Line-Immunoblot-Testsystem (LIA) .....	93
3.4.4	Datenerfassung .....	95
3.4.5	Statistische Analysen .....	95
4	Ergebnisse .....	98
4.1	Deskriptive Statistik .....	98
4.1.1	Patientengut .....	98
4.1.2	Ergebnisse der Fragebogenstudie .....	100
4.1.2.1	Allgemeine Angaben zu den Probanden .....	100
4.1.2.1.1	Alter .....	100
4.1.2.1.2	Rassezugehörigkeit .....	100
4.1.2.1.3	Geschlechterverteilung .....	101
4.1.2.1.4	Fellfarbe .....	102
4.1.2.1.5	Weitere Daten zum Signalement .....	102
4.1.2.2	Besitzdauer .....	102
4.1.2.2.1	Angaben zum Standort des Stalles .....	103
4.1.2.2.2	Haltungsform des Pferdes .....	104
4.1.2.2.3	Nutzung des Pferdes .....	105
4.1.2.2.4	Gesundheitsprophylaxe .....	107
4.1.2.2.4.1	Impfungen .....	107
4.1.2.2.4.2	Entwurmung .....	107
4.1.2.2.5	Zeckenbefall und -prophylaxe .....	108
4.1.2.2.6	Klinik .....	111
4.1.2.2.6.1	Weitere Angaben zum Krankheitsbild .....	119
4.1.2.2.7	Therapie .....	121
4.1.2.2.8	Diagnostik .....	123
4.1.3	Blutbefunde im Rahmen der Studie von Verdachts- und Kontrolltieren .....	130
4.1.3.1	Hämatologische Befunde der Verdachts- und Kontrolltiere .....	130
4.1.3.2	Serologische Befunde der Verdachts- und Kontrolltiere .....	132
4.1.3.2.1	SNAP® 4Dx Test .....	132
4.1.3.2.2	Kinetischer ELISA (KELA) .....	132

4.1.3.2.3	Line Immunoassay (LIA) .....	133
4.1.3.2.4	Koinfektionen .....	135
4.1.3.2.5	Topografische Einordnung der Befunde der <i>Bb</i> -Serologie.....	135
4.2	Explorative Statistik.....	136
4.2.1	Validität der eingesetzten serologischen Untersuchungsmethoden.....	136
4.2.2	Vergleich der serologischen Befunde der Verdachts- und Kontrolltiere .....	138
4.2.3	Signalement und Herkunft der Verdachts- und Kontrolltiere .....	139
4.2.4	Prophylaxemaßnahmen .....	140
4.2.5	Zeckenexposition .....	141
4.2.6	Einschätzung der Risikofaktoren (Verdachtstiere) hinsichtlich einer Infektion mit <i>Bbsl</i> , <i>Ap</i> und Koinfektion mit beiden Erregern .....	143
4.2.7	Eingeleitete diagnostische Maßnahmen vor Studienteilnahme .....	143
4.2.8	Explorative Analyse der hämatologischen Befunde .....	144
4.2.9	Therapieerfolg der vorangegangenen Behandlung.....	146
4.2.10	Untersuchungsbefunde und Krankheitsbild .....	147
4.2.11	Klinische Veränderungen (Verdachtstiere) im Hinblick auf serologische Befunde .....	148
4.2.12	Dauer, Schweregrad und Dynamik der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde ( <i>Bbsl</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion) .....	149
4.3	Befundbogen-Anhang: Meinungsbild der Tierärzte zur Lyme-Borreliose .....	151
5	Diskussion.....	159
5.1	Methodendiskussion.....	159
5.1.1	Diskussion des Studiendesigns .....	159
5.1.2	Resonanz auf die Fragebogenaktion, Akzeptanz und Verständlichkeit der Fragebögen.....	161
5.1.3	Inhaltliche Gestaltung der Frage- und Befundbögen.....	162
5.1.4	Diskussion der angewendeten labordiagnostischen Verfahren.....	164
5.2	Ergebnisdiskussion .....	165
5.2.1	Betrachtung der serologischen Ergebnisse .....	165
5.2.2	Topografische Einordnung der Probanden und Seroprävalenzen.....	168
5.2.3	Analyse der Umwelt- und Risikofaktoren .....	169
5.2.4	Analyse der klinischen Befunde .....	170
5.2.4.1	Klinische Befunde und <i>Bbsl</i> -AK-Nachweise .....	176
5.2.4.2	Klinische Befunde und <i>Ap</i> -AK-Nachweise .....	177
5.2.4.3	Klinische Befunde und Nachweis von Antikörpern hinweisend auf eine Koinfektion.....	178
5.2.5	Diskussion der von den Tierärzten durchgeführten Diagnostik und Therapie .....	178
5.2.6	Diskussion der durchgeführten Prophylaxemaßnahmen .....	180
5.2.7	Diskussion des Meinungsbildes der Tierärzte.....	181

5.3	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	183
6	Zusammenfassung.....	185
7	Summary.....	188
8	Literaturverzeichnis .....	191
9	Anhang.....	XI
9.1	Tabellenband .....	XI
9.2	Fragebögen & Probenbegleitblatt, inkl. Begleitschreiben.....	XXXVIII
9.3	Beispiel eines Befundes .....	LII
9.4	Abbildungsverzeichnis.....	LIII
9.5	Tabellenverzeichnis.....	LV
9.6	Publikationsverzeichnis .....	LIX
9.7	Danksagung .....	LX
9.8	Selbstständigkeitserklärung.....	LX

## I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACA.....	Acrodermatitis chronica atrophicans
AG.....	Antigen
AK.....	Antikörper
AnkA.....	Ankyrin-repeat protein
Ap.....	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
<i>B. burgdorferi</i> .....	<i>Borrelia burgdorferi</i>
BAT.....	Flow-cytometry-based borreliacidal antibody test
<i>Bb</i> .....	<i>Borrelia burgdorferi</i>
<i>Bbss</i> .....	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto
BCIP/NBT.....	5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate + nitro blue tetrazolium
BmpA.....	Borrelia membrane protein A
BSK.....	Barbour-Stoenner-Kelly
CA.....	Common Antigen
CDC.....	Centers for Disease Control und Prevention
CRASP.....	Complement Regulator-Acquiring Surface Protein
CSI.....	Conserved signature indel
CSP.....	Conserved signature protein
CTL.....	zytotoxische T-Lymphozyten
Dbp.....	Decorin binding protein
DNA.....	Desoxyribo-nucleic-acid
E(C)M.....	<i>Erythema (chronicum) migrans</i>
ECM.....	Erythema chronicum migrans
EGA.....	Equine Granulozytäre Anaplasmose
ELISA.....	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ELISPOT.....	Enzyme-Linked Immunospot Assay, Enzyme-Linked Immunospot Assay
ELPAGA.....	Enzyme-linked protein A/G assay
EM.....	Erythema migrans
EppA.....	Exported Plasmid Protein A
Erp.....	Exported repetitive protein
ERU.....	Equine Rezidivierende Uveitis
ESCAAP.....	European Scientific Counsel Companion Animal Parasites
FAO.....	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA.....	Food and Drug Administration
FSME.....	Frühsommer-Meningoenzephalitis
HGE.....	Humane granulozytäre Ehrlichiose
i.m.....	intramuskulär

## Abkürzungsverzeichnis

---

i.v.	intravenös
IFAT	Immunfluorescence Antibody Test, Immunfluoreszenztest
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IR6	Invariable Region 6
kb	Kilobasen
kDa	Kilodalton
KELA	Kinetischer ELISA
KFZ	Kraftfahrzeug
kg	Kilogramm
KT	Kontrolltier
LB	Lyme-Borreliose
LIA	Line Immunoassay
LMA	Lyme Multiplex Assay
LTT	Lymphozyten-Transformationstest
MCP	Methylakzeptierende chemotaktische Proteine
MFI	Median Fluorescent Intensity
mg	Milligramm
MHK	Minimale Hemm-Konzentration
min	Minute
MKP-Medium	Modifiziertes Kelly-Medium nach Preac-Mursic
ml	Milliliter
Msp2	Major Surface Protein-2
MW	Molecular Weight
NAG	N-Acetylglucosamin
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OD	Optische Dichte
OIE	World Organisation for Animal Health
Osp	Outer surface protein
p.o.	<i>per os</i>
PB	Patienten-/Pferdebesitzer
PBST	Phosphate-Buffered Saline + Tween
PBSTM	Phosphate-Buffered Saline + Tween + dried Milk
PCR	Polymerase Chain Reaction
pg	Picogramm

## Abkürzungsverzeichnis

---

PHF	Potomac Horse Fever
RF	Rückfallfieber
s	Sekunde
Salp15	Salivary protein 15
SPF	Spezifisch Pathogen-Frei
STARI	Southern Tick-associated Rash Illness
Stlko Vet.	Ständige Impfkommission Veterinärmedizin
TA	Tierarzt
TaqMan	<i>Thermus aquaticus</i>
TBD	Tick-borne Disease
TBE	Tick-borne Enzephalitis
TBZ	Tick-borne Zoonose
TLR	Toll-like Rezeptor
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF- $\alpha$	Tumornekrose-Faktor $\alpha$
TROSPA	Tick-Receptor For OspA
u.a.	und andere
vls	variable major protein like sequence
VisE	Variable Major Protein like sequence Expressed
VMP	Variable Major Protein
VT	Verdachtstier
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem
$\mu$ g	Mikrogramm



## 1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Zecken und zeckenübertragene Erkrankungen, die sogenannten Tick-borne Diseases (TBDs), rücken zunehmend ins Blickfeld der Wissenschaft. 1982 wurden Spirochäten der Gattung *Borrelia* von Willy Burgdorfer als ursächliche Infektionserreger für die Lyme-Borreliose (LB) des Menschen identifiziert. Dass diese von Zecken der Gattung *Ixodes* auch auf andere Säugetiere, darunter auch Pferde, übertragen werden können, wurde später belegt. Neben Borrelien werden auch andere Krankheitserreger, wie *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia caballi*, *Theileria equi* und das FSME-Virus von Zecken auf Pferde übertragen. In Europa konnten teils hohe *Borrelia burgdorferi*- (bis 52 %) und *Anaplasma phagocytophilum*-Seroprävalenzen (bis 73 %) bei Pferden nachgewiesen werden.

Die Lyme-Borreliose ist eine durch Erreger des *Borrelia burgdorferi*-sensu-lato-Komplexes ausgelöste, beim Menschen eingehend erforschte, Multisystemerkrankung. Über den Zusammenhang zwischen positiver Serologie und klinischen Veränderungen bei Pferden wird kontrovers diskutiert, denn hier fehlt bislang die Beschreibung eines klar definierten Krankheitsbildes. Es besteht noch nicht einmal Konsens darüber, inwiefern eine klinische LB beim Pferd überhaupt existiert. Deshalb wird oft kritisiert, dass die unspezifische serologische Testung von Pferden in Endemiegebieten zu einer Überdiagnose der equinen LB führen könnte.

Auch wenn die Ätiologie der equinen LB im Sinne der Henle-Koch-Postulate bislang nicht durch erfolgreiche Infektionsversuche bewiesen werden konnte, wird ein sehr breites Spektrum klinischer Veränderungen im Rahmen der equinen LB postuliert. Am häufigsten werden Lahmheiten, Muskelverspannungen, Hyperästhesien, niedriges Fieber, Lethargie und Verhaltensauffälligkeiten im Zusammenhang mit der equinen LB beschrieben.

Die durch Infektionen mit *Anaplasma phagocytophilum* ausgelöste Equine Granulozytäre Anaplasmose (EGA) ist eine Erkrankung, die mit hohem Fieber einhergeht, das oftmals von Lethargie, Anorexie, Bewegungsunlust und Gliedmaßenödemen begleitet wird. Auch Ikterus, Petechien und Ekchymosen und sogar Ataxie und Tachykardie sind mögliche klinische Veränderungen.

Diagnostisch stehen sowohl indirekte als auch direkte Erregernachweis-Methoden zur Verfügung, wobei sich der direkte Erregernachweis bei Borrelien oft schwierig darstellt und bei Anaplasmen ebenfalls nicht in jedem Erkrankungsstadium eingesetzt werden kann. Die Interpretation positiver serologischer Befunde sollte stets in Abhängigkeit des klinischen Befundes sowie eines Vorberichtes erfolgen, um andere Ursachen und Differentialdiagnosen sicher auszuschließen. Für die serologische Diagnostik wird bei der Lyme-Borreliose ein Zweistufentest empfohlen. Im ersten Schritt wird hierzu ein Enzyme-linked Immunosorbent-

Assay (ELISA) und im zweiten Schritt ein Immunoblot eingesetzt, bei dem die im ELISA als positiv klassifizierten Seren näher charakterisiert werden. Im Rahmen der Anaplasrose-Diagnostik kommen ELISAs und Immunfluoreszenztests zum Einsatz.

Sowohl die equine LB als auch die EGA können antibiotisch behandelt werden. Tetracykline sind in beiden Fällen Antibiotika der Wahl. Zur Prophylaxe stehen, neben Maßnahmen und Mitteln zur Verhinderung oder Minderung einer Zeckenexposition, eine Vakzine gegen die equine LB zur Verfügung.

Im Rahmen dieser Studie wurden Blutproben von Pferden aus ganz Deutschland mittels ELISA und Immunoblot auf *Borrelia burgdorferi*- und mittels eines validierten SNAP-Tests auf *Anaplasma-phagocytophilum*-Antikörper hin untersucht. Dabei wurden jeweils Pferde mit klinischem Borrelioseverdacht und gesunde Kontrolltiere aus demselben Stall beprobt. Darüber hinaus wurden ein kleines Blutbild und ein Blutausstrich angefertigt. Fragebögen für Pferdebesitzer betroffener Patienten und behandelnde Tierärzte dienten der Erhebung begleitender Daten, um das Krankheitsbild, Risikofaktoren und Prophylaxemaßnahmen besser einschätzen zu können.

Ziel dieser Arbeit ist es, die folgenden Fragestellungen zu beantworten:

- Wie hoch sind die Seroprävalenzen von *Borrelia burgdorferi* sensu lato und *Anaplasma-phagocytophilum*-Infektionen bei Pferden in Deutschland? Gibt es regionale Unterschiede und inwiefern unterscheiden sich die Seroprävalenzen bei Pferden mit klinischem Borrelioseverdacht sowie gesunden, gleichaltrigen Kontrolltieren?
- Welche Relevanz haben Koinfektionen mit Anaplasmen bei der klinischen Manifestation equiner Lyme-Borreliose-Erkrankungen? Tragen diese zur Variabilität des beschriebenen klinischen Bildes der equinen Lyme-Borreliose bei?
- Gibt es Umweltfaktoren, die die Chance auf einen positiven Antikörpernachweis gegen Borrelien oder Anaplasmen erhöhen und können daraus Empfehlungen für eine sinnvolle Prophylaxe abgeleitet werden?
- Wie schätzen deutsche Tierärzte die klinische Relevanz zeckenübertragener Infektionen in ihrer täglichen Arbeit ein? Wie gut sind sie generell über zeckenübertragene Erkrankungen beim Pferd informiert?

Über den Vergleich der serologischen Befunde der Verdachts- und Kontrolltiergruppe sollte ferner herausgearbeitet werden, welche klinische Relevanz positive Antikörpernachweise gegen Borrelien oder Anaplasmen haben. Die Befragung von Tierärzten und Pferdebesitzern sollte außerdem helfen, das Krankheitsbild der equinen Lyme-Borreliose besser definieren zu können, um Empfehlungen aussprechen zu können, in welchen Fällen eine weiterführende Infektionsdiagnostik auf zeckenübertragene Erkrankungen sinnvoll ist.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Die Gattung *Ixodes* als Vektor

Zecken sind taxonomisch dem Stamm der Gliederfüßer (*Arthropoda*) und hierunter der Klasse der Spinnentiere (*Arachnida*) zuzuordnen (Liebisch und Liebisch 1991; Gray 2002; Medlock et al. 2013).

Insbesondere die Familie der Schildzecken (*Ixodidae*) hat veterinärmedizinische Relevanz bei der Übertragung von Viren (FSME-Virus), Bakterien (Rickettsien, Spirochäten u.a.), Protozoen (Babesien), Pilzen und Nematoden auf Haussäugetiere und zum Teil auch auf den Menschen (Deplazes et al. 2012).

Zu den Zecken-übertragenen Erkrankungen beim Pferd in Deutschland zählen die Equine Lyme-Borreliose (*Borrelia-burgdorferi-sensu-lato-Komplex*), die Equine Granulozytäre Anaplasmose (*Anaplasma phagocytophilum*), die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME-Virus) und die Equine Piroplasmose (*Babesia caballi*, *Theileria equi*) (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Durch Zecken übertragbare und für das Pferd relevante Infektionserreger

Quelle: nach Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin; Deplazes et al. 2012

Infektionserreger V: Vorkommen	Bezeichnung der Infektion bei Menschen (M) und Tieren (T)	Wichtige Vektoren (VE) und Vertebratenwirte (W)
<b>Flaviviridae</b>		
<b>Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)- oder Tick-borne Encephalitis (TBE)-Virus</b> V: M-, N-, O-Europa	M: FSME T: TBE bei Hund und Pferd	VE: <i>I. ricinus</i> , östl. Europa: <i>I. persulcatus</i> W: Mäuse, Hund, Fuchs, Rind, Ziege, Schaf, Cerviden, Mensch
<b>Rickettsiales: Anaplasmataceae</b>		
<b><i>Anaplasma phagocytophilum</i></b> V: N-Amerika bis Asien (nördliche Hemisphäre)	M: Humane granulozytäre Anaplasmose T: Bovine, Ovine, Equine, Canine, Feline granulozytäre Anaplasmose	VE: Europa: <i>I. ricinus</i> , <i>I. trianguliceps</i> , USA: <i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> W: Schaf, Rind, Pferd, Hund, Katze, Nager, Wildwiederkäuer, Fuchs u.a., Mensch
<b>Spirochaetales</b>		
<b><i>Borrelia burgdorferi</i> s.s., <i>B. garinii</i>, <i>B. afzelii</i>, <i>B. spielmanii</i></b> V: Europa, Asien, USA	M: Lyme-Borreliose T: Lyme-Borreliose bei Hunden, Katzen und Pferden	VE: Europa: <i>I. ricinus</i> , <i>I. hexagonus</i> , <i>I. canisuga</i> , <i>I. trianguliceps</i> , O-Europa und Asien: <i>I. persulcatus</i> , USA: <i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> W: Schaf, Rind, Pferd, Hund, Katze, Nager u.a., Mensch
<b>Piroplasmida: Babesiidae</b>		
<b><i>Babesia caballi</i></b> V: S-Europa, Tropen, Subtropen, außer Australien	T: Equine Babesiose	VE: Europa: <i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> , Z- Asien: <i>D. nuttalli</i> , <i>D. silvarum</i> ,

		Neue Welt: <i>D. nitens</i> , S-Afrika: <i>Hyalomma truncatum</i> W: Equiden
<b>Piroplasmida: Theileriidae</b>		
<b><i>Theileria equi</i></b> (Syn. <i>Babesia equi</i> ) V: S-Europa, Tropen, Subtropen, außer Australien	T: Theileriose der Equiden	VE: <i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> , <i>Rhipicephalus</i> spp., <i>Hyalomma</i> spp. W: Equiden

### 2.1.1 Morphologie der Schildzecken

Schildzecken zeichnen sich durch ein in allen Stadien vorhandenes Rückenschild (Scutum) aus. Adulte und Nymphen haben vier Beinpaare, Larven drei. Die Atemöffnung (Stigma), die nur bei Adulten und Nymphen vorhanden ist, ist groß und liegt hinter dem letzten Beinpaar ventral. Ein deutlicher Geschlechtsdimorphismus erlaubt die Unterscheidung von männlichen und weiblichen Adulten: bei den Weibchen bedeckt das Schild nur das vordere Drittel der Dorsalseite, bei den Männchen dagegen die komplette Rückenfläche (Deplazes et al. 2012).

### 2.1.2 Geographische Verbreitung der *Ixodes* spp.

Schildzecken kommen in Gebieten von den Tropen bis nördlich des Polarkreises vor. Sie bevorzugen humide bis semiaride Habitate. *I. ricinus* findet sich von Portugal bis zum Kaspischen Meer und von Südsandinavien bis Nordafrika (Deplazes et al. 2012).

Die Zeckenzahlen in Deutschland sind abhängig von der jährlichen Durchschnittstemperatur, der Temperatur des vorangegangenen Winters und der Zahl der Bucheckern zwei Jahre zuvor als Energiequelle für kleine Nager, wichtige Zecken-Wirte (Brugger et al. 2018).

Während in den 90er Jahren in Süddeutschland noch ausschließlich Zecken der *Ixodes* spp. gefunden wurden, wobei *I. ricinus* mit 89 % vorherrschend war (Beichel et al. 1996), wurde 2010 bei von Hunden eingesammelten Zecken im Raum Berlin/Brandenburg eine Zusammensetzung der Zeckenpopulation mit 46,0 % *I. ricinus*, 45,1 % *Dermacentor reticulatus* (Schafzecke), 8,8 % *I. hexagonus* (Igelzecke), and 0,1 % *Rhipicephalus sanguineus* s.s. (Braune Hundezecke) ermittelt (Beck et al. 2014).

In Zukunft könnten aufgrund der klimatischen Veränderungen auch vermehrt exotische Zeckenarten wie *Hyalomma marginatum* und *Hyalomma rufipes* in Deutschland Einzug halten (Chitimia-Dobler et al. 2019). 2014 wurde erstmals eine Karte von Gesamtdeutschland veröffentlicht basierend aus den Daten zweier großer Studien und einer ausführlichen Literaturstudie, bei der eine Verbreitung von *I. ricinus* über das gesamte Bundesgebiet, eine auf das klimatisch begünstigte Rheintal beschränkte Verbreitung von *Dermacentor marginatus* und eine geclusterte Verbreitung von *Dermacentor reticulatus* im Rheintal und Umkreis von Berlin deutlich wird (Rubel et al. 2014).

### **2.1.3 Lebensraum und Saisonalität von *Ixodes ricinus***

Der „Gemeine Holzbock“ (*I. ricinus*) ist vorwiegend in Laub- und Mischwaldbeständen mit einer Kraut- und Strauchzone, sowie in feuchten Gebieten mit Buschbestand und hohem Gras oder Kräutern mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 70-80 % beheimatet (Deplazes et al. 2012).

Temperatur und Luftfeuchte im Habitat der Zecken beeinflussen die Aktivität von *I. ricinus* (Gray 2002). In Zentraleuropa ist *I. ricinus* für gewöhnlich von März bis November, ab Tagestemperaturen von 10 °C, aktiv, mit einer zwei Aktivitätsgipfeln, dem ersten von Mai bis Juni und einem kleineren zweiten im September (Gray 1991; Brugger et al. 2017). Im Tagesverlauf sind insbesondere bei Tagesanbruch und in den frühen Abendstunden gesteigerte Aktivitäten hinsichtlich Eiablage und Wirtssuche zu verzeichnen (Sonenshine 1991; Randolph et al. 2002).

### **2.1.4 Stech- und Saugakt der Zecken**

Um ihren Wirte aufzulauern, erklimmen Zecken unterschiedliche Ebenen der Vegetation und verharren so auf Grashalmen oder Blättern in Höhen bis zu eineinhalb Metern (Sonenshine 1993; Hillyard 1996). Zur Ortung des Wirtes verfügen die Zecken über ein spezielles Organ am letzten Beinsegment (Tarsus) des ersten Beinpaares, das sogenannte Haller'sche Organ, das chemische (Ammoniak und Kohlendioxid vom potenziellen Wirt), mechanische (Bodenerschütterungen) und thermische (Temperaturerhöhungen) Reize detektiert (Liebisch und Liebisch 1991; Sonenshine 1991). Streift der Wirt im Vorbeigehen am Grashalm oder Zweig mit der Zecke, so heftet sich der „Wegelagerer“ an ihn. Der Stechakt erfolgt dann meist an weniger behaarten und eher dünnhäutigen Regionen des Körpers innerhalb von 12 Stunden (Hillyard 1996; Nitschke 2014).

Um ein mögliches Abwehrverhalten des Wirtes zu verhindern, gibt die Zecke während des Stichvorganges mit dem Speichel lokalanästhetisch und antiinflammatorisch wirkende Substanzen ab (Rufli und Mumcuoglu 1981). Rund um die Stichstelle bildet sich eine Lakune aus, da im Zeckenspeichel darüber hinaus auch vasodilatatorische und gerinnungshemmende Komponenten enthalten sind. Aus eben dieser Lakune nimmt die Zecke dann während des Saugaktes Blut und Gewebeflüssigkeit auf und nimmt dabei bis zu zehnfach an Gewicht zu (Hillyard 1996). Die zeitliche Länge des Saugaktes ist abhängig vom Entwicklungsstadium und beträgt bis zu drei Tage im Larvenstadium, bis zu fünf Tage bei Nymphen und bis zu drei Wochen bei den adulten Weibchen; die Männchen saugen kein Blut (Deplazes et al. 2012).

### **2.1.5 Entwicklungszyklus von *Ixodes ricinus***

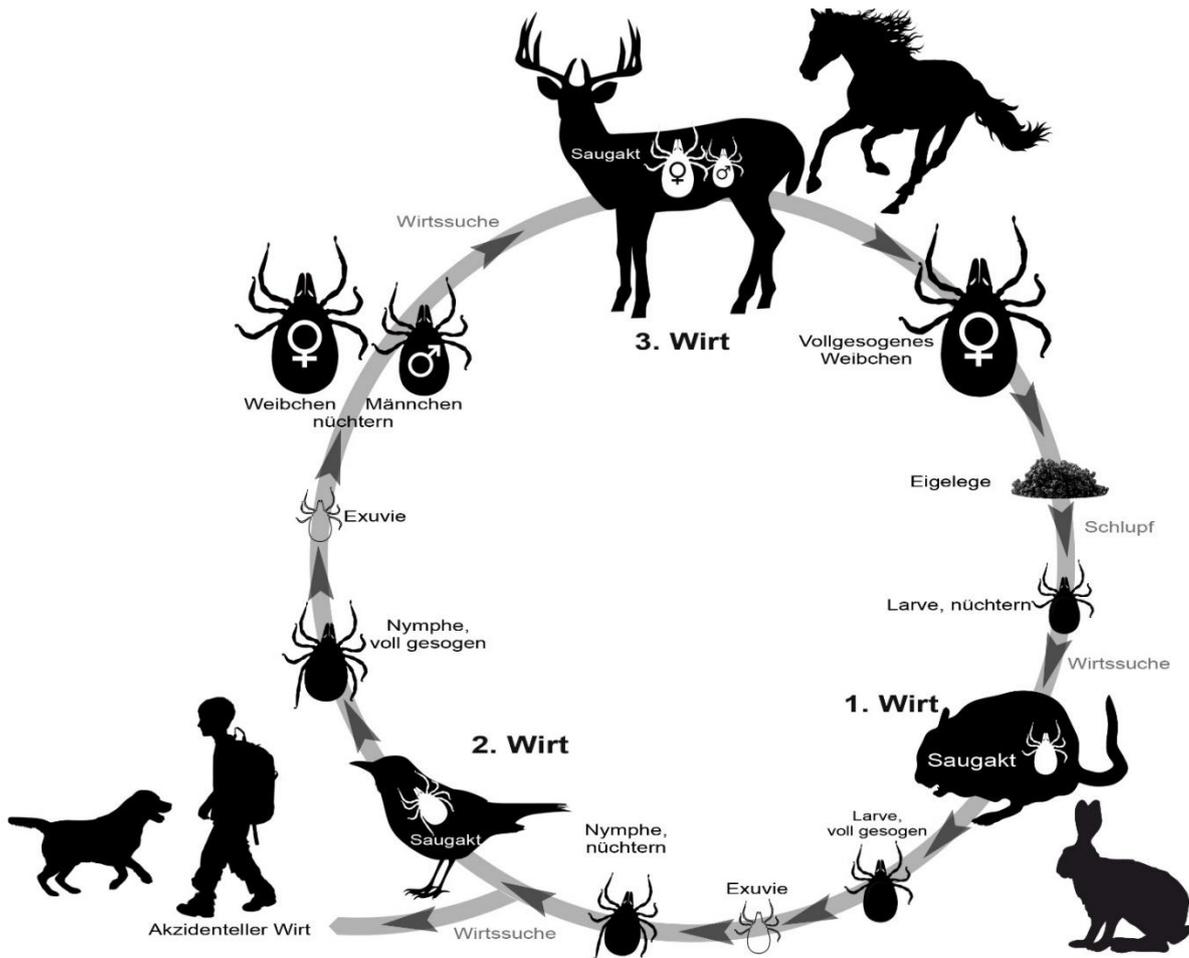
*I. ricinus* entwickelt sich in einem meist dreijährigen Entwicklungszyklus (Lane et al. 1991): zunächst schlüpfen die Larven aus dem 500 bis 3000 Eier umfassenden Gelege (Rufli und Mumcuoglu 1981), dann folgt ein Nymphenstadium und schließlich das Adultstadium.

Die inokulative Infektion mit Borrelien und Anaplasmen erfolgt in der Regel im larvalen Stadium mit der ersten Blutmahlzeit und wird dann transstadial auf die anderen Entwicklungsstadien übertragen (Kurtenbach et al. 2006). Auch eine transovariable Übertragung ist denkbar (Patrican 1997; Baldrige et al. 2009), allerdings hat diese im Hinblick auf Borrelien und Anaplasmen wohl keine Bedeutung (Nefedova et al. 2004).

### **2.1.6 Wirtsspektrum von *Ixodes ricinus***

*I. ricinus* hat als euryxene Art ein sehr breites Wirtsspektrum von etwa 200 Wirbeltierarten, darunter verschiedene Säugetiere, Vogel- und Reptilienarten (Hillyard 1996; Deplazes et al. 2012). Durch den unterschiedlichen Aktionsradius und die verschiedenen Vegetationshöhen in denen sich die verschiedenen Entwicklungsstadien der Zecke aufhalten, ergibt sich für jedes dieser Stadien ein entsprechendes Spektrum an möglichen Wirtstieren (Abbildung 1).

Larven halten sich eher in Bodennähe auf und befallen somit nahezu ausschließlich Nager und andere Kleinsäuger (Kurtenbach et al. 1995) und in Europa und Asien auch Vögel (Olsén et al. 1993) und Eidechsen (Richter und Matuschka 2006b). Nach der ersten Häutung und Überwinterung haben Nymphen schließlich einen größeren vertikalen und horizontalen Bewegungsradius. Sie können aktiv eine Höhe von 30 bis 60 cm erklimmen und damit auch Säugetierwirte mittlerer Größe (Igel, Eichhörnchen, Füchse, Marderartige) und ebenfalls Vögel und Reptilien befallen. Adulte sind an große Wirtstiere (Wild, Haussäugetiere) adaptiert. Der Mensch und seine vierbeinigen Begleiter sind akzidentelle Wirte von Nymphen und Adulten (Deplazes et al. 2012; Sonenshine 1993; Hillyard 1996).



**Abbildung 1:** Entwicklungszyklus Schildzecke

Quelle: modifiziert nach Deplazes et al. 2012

### 2.1.7 Bedeutung von Zecken als Vektoren

Infektionen mit Borrelien und Anaplasmen sind als klassische Naturherdinfektionen einzuordnen, die zwischen dem Vektor Zecke, den Reservoirwirten und den für die Erkrankung empfänglichen Wirten zirkulieren (Hiepe und Aspöck 2006). Dabei ist das Infektionsrisiko umso höher, je häufiger das Vektorhabitat frequentiert wird (Boehnke et al. 2015; Brugger et al. 2016).

Zum Erregerreservoir von *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*Bbsl*) und *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) zählen in Europa vor allem Maus- und Spitzmausarten, Ratten, Igel, Eichhörnchen, Siebenschläfer und Feldhasen (Tälleklint und Jaenson 1993; Gern et al. 1998; Huegli et al. 2002; Stuen et al. 2013). Reh-, Rot- und Damwild spielen als inkompetente, akzidentelle Wirte für *Bb* und *Ap* keine Rolle als Erregerreservoir (Gern et al. 1998; Stern et al. 2006; Stuen et al. 2013) und an ihnen saugende, adulte Zecken haben für die Aufrechterhaltung des Infektionszyklus im enzootischen Zyklus keine Bedeutung. Im

Gegenteil: Wiederkäuer sollen sogar einen negativen Effekt auf die Verbreitung der Infektion haben (Richter und Matuschka 2006a, 2010). Allerdings spielen größere Säugetiere insofern eine Rolle im Infektionszyklus, als dass männliche und weibliche Zecken auf ihnen kopulieren (Piesman und Schwan 2010). Vögel haben darüber hinaus eine wichtige Rolle in der Weiterverbreitung der Zecken und damit auch der Borrelien und Anaplasmen über größere geografische Entfernungen (Smith, Jr. et al. 1996; Humair 2002; Ogden et al. 2008; Stern et al. 2006).

Borrelien können in Europa durch *I. ricinus* als bedeutsamsten Vektor (Hubálek und Halouzka 1997), aber auch durch *I. hexagonus* (Beichel et al. 1996), *I. canisuga* (Liebisch und Liebisch 1991), und an den Küsten Frankreichs, Großbritanniens, Irlands und Skandinaviens von *I. uriae*, einer Zecke, die vor allem See- und Zugvögel infiziert, übertragen werden (Olsén et al. 1993). Im östlichen Europa und in Asien werden Borrelien vor allem durch Stiche der Taigazecke (*I. persulcatus*) und in den USA durch *I. scapularis* (Nordosten und mittlerer Westen), *I. pacificus* (Westküste) und *I. neotomae* übertragen (Anderson 1989; Gray 2002; Lane et al. 1991).

Für *Ap* sind die Vektoren vergleichbar: Die wichtigsten Vektoren sind in Europa *I. ricinus* und in den USA *I. scapularis* und *I. pacificus*. In Asien gilt *I. persulcatus* als Hauptvektor für *Ap* dar (Parola und Raoult 2001). Daneben wurde *Ap* aber auch in *Dermacentor*-, *Haemaphysalis*- und *Rhipicephalus*-Zecken beobachtet (MacLeod 1962; Holden et al. 2003; Alberti et al. 2005; Cao et al. 2006; Barandika et al. 2008).

Während des Entwicklungszyklus der Zecken verdoppeln sich deren Infektionsraten mit Borrelien näherungsweise. Während in Europa im Nymphenstadium rund 10-25 % aller Zecken infiziert sind (Greene 2012), können die Infektionsraten von adulten Zecken bis zu 75 % betragen (Hubálek und Halouzka 1997; Rauter und Hartung 2005). Trotz der geringeren Infektionsrate im Vergleich zu adulten Zecken, stellen Nymphen eine potente Infektionsquelle dar, weil sie aufgrund ihrer kleinen Größe oft unbemerkt und deshalb lange auf dem Wirt bleiben (Deplazes et al. 2012).

In Deutschland wird die Prävalenz von *Bbsl* in der Zeckenpopulation auf Werte zwischen 5 % und 35 % geschätzt (Robert Koch-Institut (RKI) 2007). Eine Einschätzung der Entwicklung der Prävalenzen von Borrelien in der Zeckenpopulation für Gesamtdeutschland ist schwierig. Es gibt allerdings Studien, die eine Zunahme in einzelnen Regionen beschreiben (Kampen et al. 2004; Tappe et al. 2014).

Hinsichtlich der Prävalenz von *Ap* bei *Ixodes*-Zecken in Deutschland werden Werte zwischen 1,0 % bis 13,3 % ermittelt, ebenfalls mit höheren Prävalenzen bei adulten Zecken als bei Nymphen (Fingerle et al. 1997; Baumgarten et al. 1999; Fingerle et al. 1999; Silaghi et al.

2008; Leonhard 2005; Hartelt et al. 2004; Schorn et al. 2011). Studien aus Süddeutschland ermittelten Koinfektionsraten von 0,7 bis 0,8 % für beide Erreger bei Zecken (Baumgarten et al. 1999; Fingerle et al. 1999; Hartelt et al. 2004).

In Deutschland heimische Zeckenarten sind in den letzten Jahren ganzjährig aktiv und neue Zeckenarten siedeln sich an, die von Zugvögeln, reisebegleitenden Tieren und durch internationalen Tierhandel nach Deutschland gebracht werden (Gray et al. 2009; Kohn et al. 2019; Dautel et al. 2008). Die Änderung der Zusammensetzung der lokalen Zeckenpopulation (z.B. auch Zunahme von *Dermacentor reticulatus*) aufgrund klimatischer Veränderungen könnte auch die Gefahr der Erkrankung an zuvor in Nordeuropa eher als exotisch geltenden Erkrankungen, wie zum Beispiel der caninen oder equinen Babesiose, erhöhen (Jongejan et al. 2015; Gray et al. 2009).

Die Zeckenarten *Hyalomma marginatum* und *Hyalomma rufipes* sind beispielsweise inzwischen in Deutschland deutlich häufiger zu finden als früher und 2019 verkündeten Wissenschaftler der Universität Hohenheim, dass es *Hyalomma*-Zecken wohl erstmals gelungen sei, in Deutschland zu überwintern (Chitimia-Dobler et al. 2019).

## **2.2 Der *Borrelia-burgdorferi-sensu-lato*-Komplex**

### **2.2.1 Geschichtlicher Überblick über die Erforschung der Lyme-Borreliose**

Die ersten Beschreibungen von Erkrankungsfällen, die mit einer LB assoziiert waren, findet man schon in Veröffentlichungen aus dem späten 19. Jahrhundert. 1883 beschreibt Buchwald einen Patienten mit diffuser, idiopathischer Hautatrophie; später von Herxheimer und Hartmann als Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) bezeichnet. Über die Ätiologie dieser klinischen Erscheinung war zu diesem Zeitpunkt noch nichts Näheres bekannt (Buchwald 1883; Herxheimer und Hartmann 1902).

1910 stellte Afzelius erstmalig einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Erythema chronicum migrans (ECM) und einem vorangegangenen Zeckenstich her (Afzelius 1910) und Bäfverstedt zog 1943 die Verbindung eines Zeckenstichs zu einer weiteren klinischen Manifestation der LB, der Lymphadenosis cutis benigna (Bäfverstedt 1943). In den kommenden Jahren folgten weitere Berichte neurologischer Erkrankungen, die nach dem Auftreten eines ECM beobachtet wurden (Hellerström 1930; Bannwarth 1941).

Den Anstoß zur weiteren Erforschung der Erkrankung ging aber nicht von Wissenschaftlern, sondern von zwei kritischen Müttern aus, die die Diagnose bei ihren angeblich an juveniler rheumatoider Arthritis erkrankten Kindern in Frage stellten und sich an den Humanmediziner und Rheumatologen Allen Steere wandten. Steere leitete daraufhin in den Jahren 1972 bis

1976 in dem kleinen Ort Old Lyme (Connecticut, USA) eine epidemiologische Studie zu den dort gehäuft auftretenden Arthritiden bei Kindern und Jugendlichen ein, die er aufgrund der von der juvenilen rheumatoiden Arthritis abweichenden Symptomatik und der auffälligen lokalen Häufung mit der neuen Bezeichnung „Lyme Arthritiden“ betitelte (Steere et al. 1977b). Nach eingehender Anamnese und Untersuchung der betroffenen Personen, vermutete er eine Übertragung durch Insektenstiche von Arthropoden, höchstwahrscheinlich Zecken (Steere et al. 1977a; Steere et al. 1978).

In einer Vergleichsstudie mit behandelten und unbehandelten ECM-Patienten entdeckten Steere und Kollegen 1980 die Penicillinempfindlichkeit des Erregers. Sie gingen vor Durchführung der Studie noch von Viren oder Rickettsien als Erreger der LB aus, was durch diese Erkenntnis allerdings widerlegt wurde (Steere et al. 1980b).

Die Aufklärung des ätiologischen Agens gelang einer Arbeitsgruppe rund um Burgdorfer erst im Jahr 1982, als das die Erkrankung hervorrufende schraubenförmige Bakterium aus Zecken der Art *I. dammini* (inzwischen *I. scapularis*) isoliert werden konnte. Das aus den Zecken isolierte Spirochätenantigen reagierte darüber hinaus im Immunfluoreszenztest mit den Seren von an LB erkrankten Patienten. Außerdem konnte die Arbeitsgruppe zeigen, dass die gewonnenen Bakteriensuspensionen beim Kaninchen eine dem ECM entsprechende Hautrötung auslösten. Dies alles stellte die Forschungsgruppe in der Zeitschrift „Science“ in einem kurzen, aber sehr bedeutungsvollen Beitrag vor (Burgdorfer et al. 1982).

In Europa konnten die schraubenförmigen Bakterien zwei Jahre später ebenfalls in der *I. scapularis* nahe verwandten Zeckenart *I. ricinus* nachgewiesen werden (Burgdorfer 1984). Seinem Entdecker Willy Burgdorfer zu Ehren erhielt das Bakterium den Namen *Borrelia burgdorferi* und die Zuordnung zur taxonomischen Ordnung der *Spirochaetales* (Johnson et al. 1984a).

Die Pathogenität von *B. burgdorferi* bei anderen Spezies als dem Menschen, konnte in den folgenden Jahren experimentell im murinen Modell (Moody et al. 1994) sowie für Hunde und Pferde nachgewiesen werden (Bosler et al. 1988; Appel et al. 1993; Lissman et al. 1984; Chang et al. 2005; Burgess 1986).

### **2.2.2 Taxonomie und Systematik von *Borrelia burgdorferi***

Das Bakterium *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*) wird der taxonomischen Ordnung der *Spirochaetales* zugeordnet. Die Ordnung *Spirochaetales* umfasst neben der Familie der *Borreliaceae*, der die Gattungen *Borrelia* und *Borreliella* zugeordnet sind, die Familie der *Spirochaetaceae* (Abbildung 3).

Die Gattung *Borrelia* wurde nach dem französischen Mediziner und Bakteriologen Amédée Borrel, der umfangreiche Forschungen zu *Spirillum gallinarum*, inzwischen unter dem Namen *Borrelia gallinarum* bekannt, und den morphologischen Unterschieden verschiedener Spirochäten durchführte (Wright 2009). Die Erstbeschreibung des Genus *Borrelia* erfolgte 1907 durch Swellengrebel (Skerman et al. 1980).

Nach eingehenden phylogenetischen Studien durch Adelou und Gupta, wurde im Jahr 2015 die Taxonomie novelliert und das Genus *Borrelia* in zwei Genera (*Borrelia* und *Borrelia*) aufgeteilt (Janda 2015).

Adelou und Gupta hatten molekulare Marker, sogenannte Indels, in konservierten, proteincodierenden DNA(Desoxyribo-nucleic-acid)-Sequenzen von 38 verschiedenen *Borrelia*-Stämmen analysiert und außerdem die Vektoren der verschiedenen Spezies und die unterschiedlichen Pathogenitätsprofile berücksichtigt. Als spezifische Marker zur Unterscheidung der Klade der Lyme-Borreliose(LB)-Borrelien und der Rückfallfieber(RF)-Borrelien dienten „Conserved signature indels“ (CSIs) und „Conserved signature proteins“ (CSPs) (Adeolu und Gupta 2014). Die RF-Borrelien wurden fortan im bereits bestehenden Genus *Borrelia* und die Borrelien des LB-Komplexes im neugeschaffenen Genus *Borrelia* geführt (Abbildung 2).

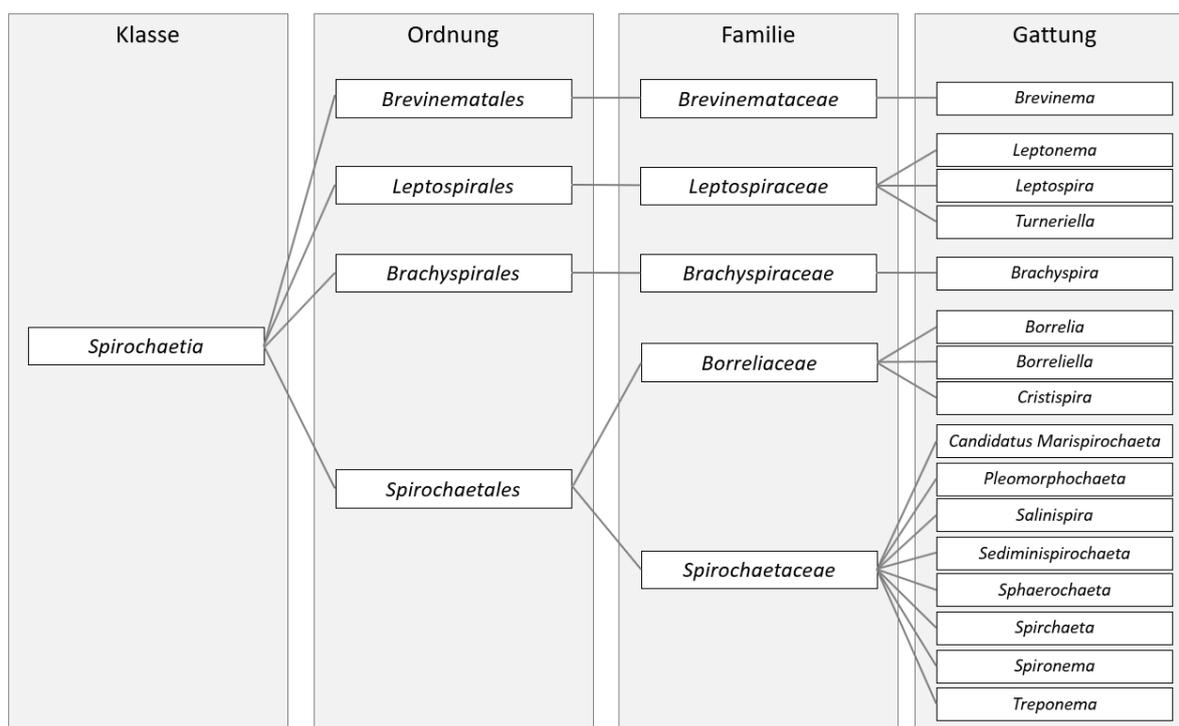
Dies löste eine Kontroverse über die Verwendung dieser Marker aus, da Margos und Mitarbeiter die Aufspaltung aufgrund der eng verwandten Genomstruktur, übereinstimmenden Morphologie und vergleichbaren vektor-assoziierten Lebenszyklen für übereilt erachteten (Margos et al. 2017; Margos et al. 2018).

Eine Unterscheidung in RF- und LB-Borrelien aufgrund der Vektoren, also dadurch, dass Erstere durch Lederzecken und Zweitere durch Schildzecken übertragen werden, müsse revidiert werden, da es auch RF-Borrelien-Spezies wie *B. miyamotoi* gäbe, die durch Schildzecken übertragen würden. Auch die Klinik von Infektionen mit RF-Borrelien und Spirochäten aus der LB-Gruppe, ließe sich nicht eindeutig unterscheiden (Margos et al. 2017). Eine Fallbeschreibung eines Menschen mit klinischen Symptomen einer Neuroborreliose, die durch *B. miyamotoi* aus der RF-Gruppe verursacht wurde, stellte dies infrage (Boden et al. 2016).

Eine relativ neu beschriebene Genospezies, *B. mayonii*, aus der LB-Gruppe, erregte aufgrund ihrer hohen Virulenz besondere Aufmerksamkeit (Pritt et al. 2016). Untypisch für einen Vertreter des *Borrelia-burgdorferi-sensu-lato*(*Bbsl*)-Komplexes, zeigt diese Spezies eine sehr hohe Reproduktion und Spirochätendichte im Blut. Während die klinischen Konsequenzen noch unklar sind (Cutler et al. 2017), ist das pathophysiologische Verhalten in diesem Zusammenhang eher typisch für RF-Borrelien (Margos et al. 2017).

Eine neue, dritte Gruppe von Borrelien (reptilien-assoziierte Borrelien und australische Borrelien) mit den Spezies *B. turcica* (Güner et al. 2004) und „*Candidatus Borrelia tachyglossi*“ (Loh et al. 2016), die mit Reptilien und Ameisenigeln als Wirt assoziiert sind (Takano et al. 2010; Loh et al. 2016) und in keine der vorigen Gruppen phylogenetisch eingeordnet werden können, wurde von Adelo und Gupta bislang gar nicht berücksichtigt.

Gupta beharrte weiterhin darauf, dass die Unterschiede der beiden Gruppen, die sowohl phylogenetische als auch genomische, molekulare, phänotypische und klinische Merkmale betreffen, als relevant einzustufen wären (Gupta 2019).



**Abbildung 2:** Taxonomische Einteilung der Spirochaetia  
in Anlehnung an Gupta et al. 2013

Zum *Bbsl*-Komplex zählen zum aktuellen Zeitpunkt 21 Genospezies (Cutler et al. 2017) (Tabelle 2). Die Humanpathogenität der Genospezies *Bbss* (*Borrelia burgdorferi* sensu stricto), *B. garinii* (Baranton et al. 1992), *B. afzelii* (Canica et al. 1993) und *B. bavariensis* (Markowicz et al. 2015) wurde nachgewiesen und *B. spielmanii* im Zusammenhang mit frühen Hautmanifestationen isoliert (Maraspin et al. 2006; Fingerle et al. 2008). Auch *B. bisetti*, *B. lusitaniae* und *B. valaisiana* wurden schon mehrmals aus Proben erkrankter Patienten isoliert, wobei der Nachweis der Humanpathogenität noch nicht gelang (Le Fleche et al. 1997; Wang et al. 1997; Postic et al. 1998; Rudenko et al. 2008; Markowicz et al. 2015; Stanek und Reiter 2011). Bei Pferden wurden bislang *B. lusitaniae* (Veronesi et al. 2012) und *B. afzelii* (Sommerauer et al. 2019) im Zusammenhang mit klinischen Erkrankungen isoliert.

**Tabelle 2:** Übersicht der Genospezies des *Bbsl*-Komplexes

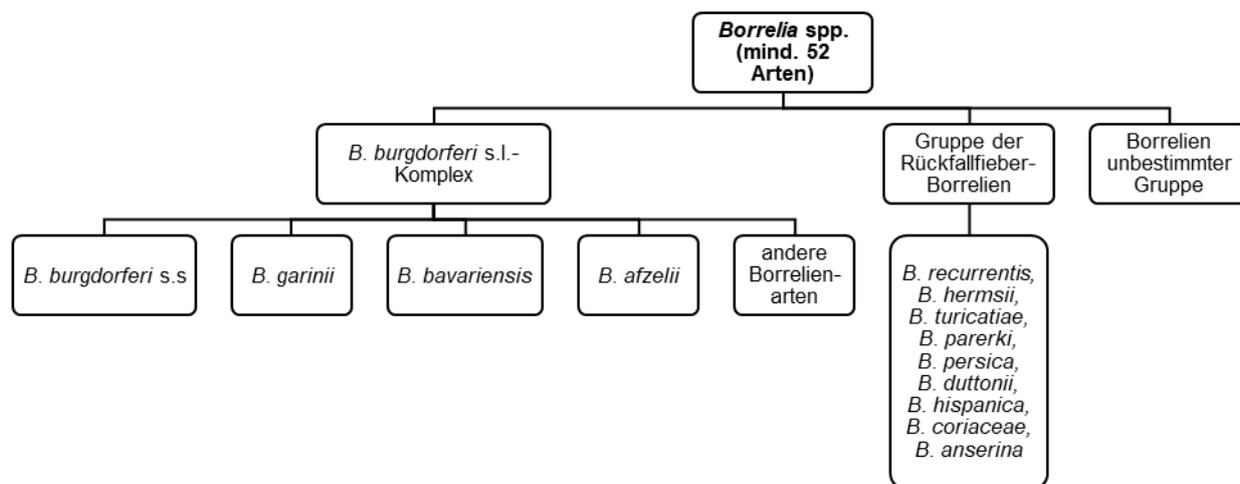
Quelle: angelehnt an Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre (Selbitz et al. 2015)

Spezies	Vektor	Verbreitung	Pathogenität	Erkrankung	Wirte	Referenz
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Europa, Asien	ja	LB (ECM, Polyarthritis, Meningitis, Karditis)	Mensch, Pferd, Hund(?), Katze(?), Rind(?)	Canica et al. 1993
<i>B. americana</i>	<i>I. minor</i>	Nordamerika	nein	-	Nager, Vögel	Rudenko et al. 2009b
<i>B. andersonii</i>	<i>I. dentatus</i> , <i>I. scapularis</i>	Nordamerika	nein / unklar?	-	Mensch (selten)	Marconi et al. 1995
<i>B. bavariensis</i>	<i>I. ricinus</i>	Europa	ja	LB (v.a. neurologische Manifestationen)	Mensch	Margos et al. 2009
<i>B. bissettii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. minor</i>	Europa (Slowenien), Nordamerika	ungeklärt	ECM, Lymphozytom	Mensch	Postic et al. 1998
<i>B. burgdorferi</i> sensu stricto	Nordamerika: <i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> Europa: <i>I. ricinus</i>	Nordamerika , Europa	ja	LB (v.a. Arthritis)	Mensch, Hund, Katze, Pferd(?), Rind(?)	Johnson et al. 1984a
<i>B. californiensis</i>	<i>I. jellisoni</i> , <i>I. spinipalpis</i> <i>I. pacificus</i>	Nordamerika (Westen)	nein	-	kalifornische Känguru-Ratte, Hirsche	Postic et al. 2007
<i>B. carolinensis</i>	<i>I. pacificus</i>	Nordamerika (Südosten)	nein	-	Baumwollmaus, grüne Wasserschlange	Rudenko et al. 2009a
<i>B. chilensis</i>	<i>I. stilesi</i>	Südamerika	ungeklärt	-	Langschwanz- Zwergreisratte	Ivanova et al. 2014
<i>B. finlandensis</i>	<i>I. ricinus</i>	Europa	nein	-	Feldhasen	Casjens et al. 2011
<i>B. garinii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Europa, Asien	ja	LB (v.a. Neuroborreliose)	Mensch, Hund(?), Katze(?), Pferd(?), Rind(?)	Baranton et al. 1992
<i>B. japonica</i>	<i>I. ovatus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Asien (Japan)	nein	-	Mensch, Hund	Kawabata et al. 1993
<i>B. kurtenbachii</i>	<i>I. scapularis</i>	Nordamerika	nein / unklar?	-	Nager	Margos et al. 2010
<i>B. lusitaniae</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. uriae</i>	Europa, Nordafrika	ungeklärt	Haut- veränderungen, Vaskulitiden?	Mensch, Eidechsen, Nager, Vögel, Pferde	Le Fleche et al. 1997
<i>B. mayonii</i>	<i>I. scapularis</i>	Nordamerika	vermutet	LB mit hoher Spirochätämie, Hautausschlag, Erbrechen, Fieber	Mensch	Pritt et al. 2016
<i>B. sinica</i>	<i>I. ovatus</i> , <i>Neotomae</i> <i>confucianus</i>	Asien (China)	nein / unklar?	-	unbekannt	Masuzawa et al. 2001
<i>B. spielmanii</i>	<i>I. ricinus</i>	Europa	vermutet	Haut- veränderungen	Mensch	Richter et al. 2006
<i>B. tanukii</i>	<i>I. tanuki</i> , <i>I. ovatus</i>	Asien (Japan)	nein / unklar?	-	Hund, Katze	Fukunaga et al. 1996

<i>B. turdi</i>	<i>I. turdus</i>	Europa, Asien (Japan)	nein / unklar?	-	Hund, Katze	Fukunaga et al. 1996
<i>B. valaisiana</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Europa, Asien	ungeklärt	unbekannt (LB?)	Mensch	Wang et al. 1997
<i>B. yangtzensis</i>	<i>I. granulatus</i> , <i>Haemaphysalis longicornis</i>	Asien	nein	-	Nager	Chu et al. 2008

Das Borrelien-Oberflächenantigen OspA (Kapitel 2.2.3.1) weist innerhalb der humanpathogenen Genospezies eine ausgeprägte Heterogenität auf (Jauris-Heipke et al. 1995; Wilske et al. 1992; Wilske et al. 1993). Die unterschiedliche Affinität verschiedener OspA-Serotypen für spezielle Körpergewebe und damit assoziiert die Ausprägung bestimmter klinischer Erscheinungen ist für humanpathogene Spezies beschrieben (Wilske et al. 1993; van Dam et al. 1993). *Bbss* entspricht OspA-Serotyp 1 und wird mit der Entstehung von Lyme-Arthritiden in Verbindung gebracht. *B. afzelii* entspricht OspA-Serotyp 2 und wird verantwortlich gemacht für Hautmanifestationen wie die ACA. Die OspA-Serotypen 3-8 entsprechen der Spezies *B. garinii* und diese soll, ebenso wie *Bbss*, an der Entstehung der Neuroborreliose beteiligt sein (Canica et al. 1993; Steere 1989; Balmelli und Piffaretti 1995). Die oben genannten Spezies können aber auch vereinzelt in anderen Geweben auftreten (Hovius et al. 1999).

Die Southern Tick-associated Rash Illness (STARI), eine Erkrankung, die in ihrem klinischen Bild mit Erythem, Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen der LB ähnelt, wurde bislang ausschließlich in den Südstaaten der USA beobachtet. Sie wird durch *B. lonestari* verursacht (Stromdahl et al. 2003), einer Borreliose, die bislang nur aus der Zecke *Amblyomma americanum* isoliert werden konnte (Burkot et al. 2001). STARI-verursachende Borrelien mit *B. lonestari* als einzigem Vertreter können weder zur Gruppe der RF-, noch zu den LB-Borrelien zugeordnet werden und bilden derzeit eine eigene Gruppe (Abbildung 3).



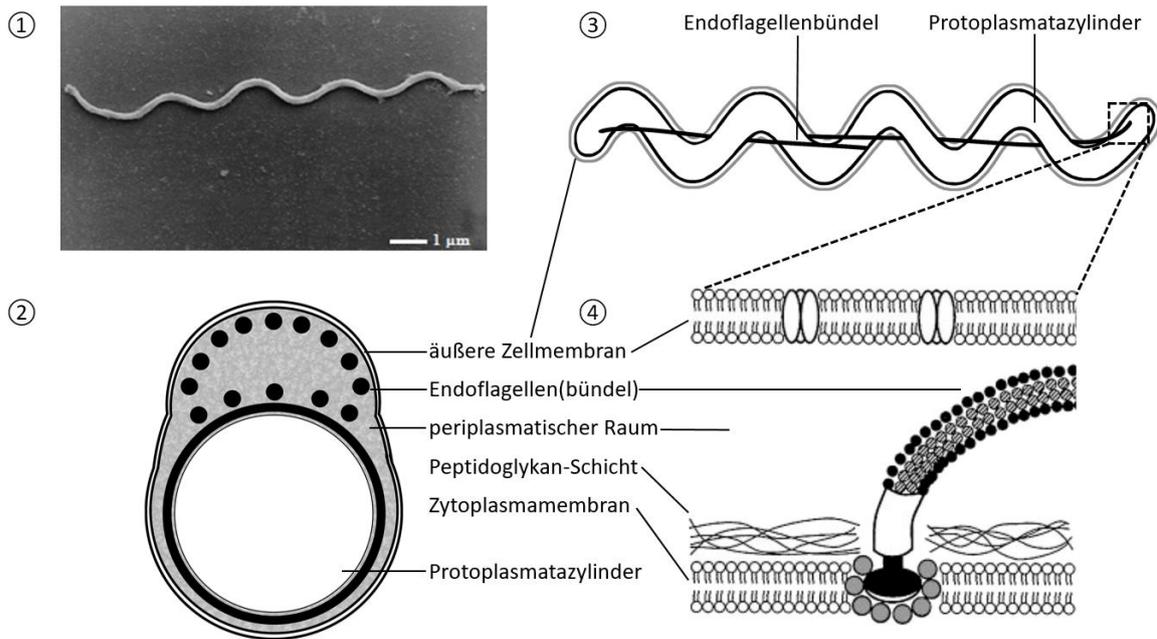
**Abbildung 3:** Einteilung der Familie der Borreliaceae  
Quelle: in Anlehnung an Cutler et al. 2017

*B. afzелиi* und *B. garinii* werden als dominante Genospezies in Europa angesehen, gefolgt von *Bbss* (Hubálek und Halouzka 1997) und einer kleinen Minderheit von *B. spielmanii*, *B. valaisiana* und *B. bissetiae* (Tappe et al. 2014; Fingerle et al. 1999; Fingerle et al. 2008; May et al. 2015; Hildebrandt et al. 2010).

### **2.2.3 Mikrobiologische und morphologische Eigenschaften der Borrelien**

Wie alle Spirochäten, haben Borrelien eine dünne, längliche, schraubenförmige Gestalt und periplasmatische Flagellen. Borrelien sind gram-negativ und lassen sich gut mittels Giemsa- und Warthin-Starry-Färbung anfärben. Ungefärbte Zellen sind im Lichtmikroskop nicht sichtbar, nur im Phasenkontrast- oder Dunkelfeldmikroskop. Die optimale Temperatur zur Kultivierung liegt zwischen 34 und 37 °C und die Generationsdauer beträgt etwa 12 Stunden bei 35°C. Zur Aufzucht sind komplexe Medien notwendig. Borrelien sind Katalase-negativ und mikroaerophil und in der freien Umwelt nicht überlebensfähig, sondern auf Wirtsorganismen angewiesen (Barbour 1988).

Der Zellkörper der Borrelien ist 10 bis 30 µm lang bei einem Durchmesser von 0,2 bis 0,3 µm (Johnson et al. 1984a) und in seiner flachen Wellenform drei- bis zehnfach locker gewunden (Goldstein et al. 1996). Der im Inneren liegende Protoplasmazyylinder, der Zellorganellen und die DNA enthält, wird von einer Zytoplasmamembran und einer Peptidoglykanschicht (Zellwand) umgeben. Die Peptidoglykanschicht wiederum begrenzt zusammen mit der äußeren Zellmembran den sogenannten periplasmatischen Raum (Barbour und Hayes 1986). Im periplasmatischen Raum befinden sich sieben bis elf Endoflagellen in Bündeln (Hovind-Hougen 1984). Auf der äußeren Zellmembran aufliegend, gibt es noch eine wasserlösliche, muköse Schicht („surface layer“) zum Schutz vor schädigenden, äußeren Einflüssen (Johnson et al. 1984a; Barbour und Hayes 1986; Charon und Goldstein 2002) (Abbildung 4).



**Abbildung 4:** Morphologie von *B. burgdorferi*, mikroskopische und strukturelle Darstellung  
 ①&② nach Rößle 2001, ③ nach Charon und Goldstein 2002, ④ nach Rosa et al. 2005

Die links-helikalen Endoflagellenbündel inserieren an den Basalkörpern der beiden Zellpole. Sie ermöglichen den Borrelien eine aktive Fortbewegung durch Formveränderung. Die Endoflagellen verlaufen entlang der Längsachse des Protoplastazyinders, überlappen in der Zellmitte und sind asymmetrisch verdrillt (Goldstein et al. 1996). Während der translationalen Fortbewegung drehen sich die Endoflagellenbündel beider Zellpole in entgegengesetzte Richtungen, einmal mit und einmal gegen den Uhrzeigersinn (Li et al. 2002; Goldstein et al. 1994). Borrelien können sich auch in hochviskösen, gelartigen Medien schwimmend fortbewegen (Goldstein et al. 1994; Kimsey und Spielman 1990).

Das Chromosom der Borrelien besteht aus über 910.000 Basenpaaren sowie neun zirkulären und zwölf linearen Plasmiden, die wiederum zusammen aus über 530.000 Basenpaaren bestehen (Baril et al. 1989; Barbour 1988; Hyde und Johnson 1988; Casjens et al. 2000). Die Tatsache, dass über 40 % des Genoms auf Plasmiden verteilt ist, ist eine Besonderheit, die bislang in diesem Ausmaß noch bei keinem weiteren Bakterium beobachtet wurde und vermutlich die laterale Gentransduktion und -rekombination und damit die genetische Diversifikation fördert (Casjens et al. 2000).

Unter unterschiedlichen Kulturbedingungen wurden verschiedene Formationen von Borrelien beobachtet, von Biofilm-artigen Aggregaten in Suspension über sphärische Ruhestadien unter osmotischem Stress und schraubenförmigen Organismen mit Blebs unter Nährstoffentzug oder Antibiotikaeinfluss (Meriläinen et al. 2015; Brorson und Brorson 1997). In einem Übersichtsartikel zeigte MacDonald die mögliche Vielgestalt von Borrelien im Gewebe:

verschiedene zystische Formen, granuliert „Morsecode“-Formen, zellwandlose L-Formen und gestreckte Formen mit mutierten Flagellin-Genen und stellte damit die Hypothese auf, dass auch *in vivo* strukturelle Alterationen im betroffenen Gewebe auftreten können (MacDonald 2006). Ein Gen, das Homologie mit einem Quorum sensor hat (*luxS*, Gen BB0377), wurde im Genom von *Bbss* identifiziert (Stevenson und Babb 2002). Dies könnte eine Rolle in der Entstehung von Biofilmen spielen.

### **2.2.3.1 Antigenstruktur von *Borrelia burgdorferi***

Auf ihrer Oberfläche exprimieren Borrelien neben anderen Proteinstrukturen eine Vielzahl plasmidkodierter Oberflächenproteine („Outer surface protein“, Osp), wobei einige davon hochvariable Antigene darstellen (Cullen et al. 2004; Schröder et al. 2008).

Als bedeutendste Oberflächenantigene von *Bb* werden derzeit sechs heterogene Lipoproteine angesehen, deren Benennung (OspA-F) sich aus ihrem molekularen Gewicht ableitet. Insbesondere OspA (31-33 Kilodalton; kDa) und OspC (22-24 kDa) weisen eine besonders ausgeprägte Heterogenität auf (Jauris-Heipke et al. 1995; Wilske et al. 1992; Wilske et al. 1993). OspA wird auf einem linearen, aus 49 Kilobasen (kb) bestehenden Plasmid (Jonsson et al. 1992) kodiert, während sich das Operon für das OspC-kodierende Gen auf einem 27 kb großen zirkulären Plasmid befindet (Sadziene et al. 1993).

OspA wird von Borrelien zur Adhäsion im Zeckendarm benötigt. Seine Bildung wird während der Blutmahlzeit der Zecke und bedingt durch den damit einhergehenden Temperaturanstieg zugunsten der vermehrten OspC-Expression reduziert (Schwan et al. 1995; Fingerle et al. 1995). Dies veranlasst die Borrelien dazu, den Darm der Zecke zu verlassen und die Speicheldrüsen der Zecken zu besiedeln (Kapitel 2.2.4). Die Transformation der Oberflächenantigene ist essentiell für den erfolgreichen Übertragungsprozess vom Vektor auf den Wirt (Pal et al. 2004; Fingerle et al. 2007).

Den Oberflächenantigenen OspB, OspE und OspF wird von einigen Autoren (Hefty et al. 2002; Akin et al. 1999; Wagner et al. 2013) darüber hinaus immunologische und damit auch diagnostische Bedeutung zugesprochen (Kapitel 2.3.4.3). OspE und OspF werden während der Infektion kontinuierlich exprimiert, wodurch spezifische Antikörpertiter entstehen. OspE kann darüber hinaus an den Komplementfaktor H im Wirtsserum binden und so die Komplementaktivierung verhindern (Hefty et al. 2002).

Weiterhin immunologisch bedeutsam ist das plasmidkodierte Oberflächenprotein „Variable major protein like sequence expressed“ (VlsE; 34 kDa), das mittels Lipidanker in der äußeren Borrelienmembran verankert ist (Embers et al. 2007; Liang et al. 2000; Tilly et al. 2013). Die Synthese von VlsE wird, wie die des OspA, durch den Saugakt reguliert und bei Übertragung auf den Wirt aktiviert (Liang et al. 2004; Fischer et al. 2003).

VlsE weist neben sechs invariablen (IR1-IR6) auch noch sechs variable (VR1-VR6) Regionen auf, welche gemeinsam die inkonstante Domäne dieses Proteins darstellen. Diese wird flankiert von zwei konstanten Regionen, welche das Carboxy- und N-terminale Ende des Proteins bilden (Liang et al. 1999a; Eicken et al. 2002). Die kombinatorische, antigenetische Variation des VlsE, die während des Infektionszyklus stattfinden kann, könnte als Immunevasionsmechanismus eine Rolle in der Persistenz der *Bb*-Infektion spielen (Bykowski et al. 2006; Coutte et al. 2009).

Darüber hinaus existiert ein immundominantes, im protoplasmatischen Zylinder lokalisiertes Protein (Luft et al. 1992), dessen Molekulargewicht von 83 kDa bis 100 kDa variiert (Wilske et al. 1992). Obgleich wenig über die Funktion dieses Proteins (p83/100) bekannt ist und bisher lediglich eine Beteiligung an der Immunevasion vermutet wird (Rössler et al. 1995), wird ihm aufgrund seiner hohen Spezifität für *Bbsl* eine große Bedeutung für die Diagnostik zugeschrieben (Bruckbauer et al. 1992). Da Antikörper gegen p83/100 häufig in Blutseren von Patienten mit Anzeichen einer chronischen LB beobachtet wurden, wird ihm von einigen Autoren eine mögliche Rolle als Marker-Antigen für das Spätstadium der LB zugesprochen (Ma et al. 1992; Zöller et al. 1991).

*Bb* wird regelmäßig in Geweben mit hohem Kollagengehalt, wie den Gelenken oder Meningen, gefunden und die Adhäsion an kollagene Fasern scheint eine bedeutsame Rolle bei der Entstehung einer LB-Infektion und beim Gewebe-Tropismus zu spielen (Fischer et al. 2003). Ein den Borrelien intrinsischer Mangel an N-Acetylglucosamin (NAG), welches sie für ihr Wachstum benötigen und das ein Bestandteil von Kollagen im Wirt ist, könnte ein Grund für diesen Tropismus sein (Fraser et al. 1997).

Es gibt zwei Adhäsine, die an das kollagen-assoziierte Proteoglykan Decorin binden: Decorin binding protein A und B (DbpA und DbpB) (Cullen et al. 2004). DbpA, das auf der äußeren Membran der Borrelien lokalisierte 18 kDa große Protein, das auch als „Exported Plasmid Protein A“ (EppA) bezeichnet wird (Champion et al. 1994), weist eine hohe Spezifität und Sensitivität gegenüber dem Immunglobulin (Ig) G auf und DbpA-Antikörper sind daher erst während des chronischen Infektionsverlaufs nachweisbar. Dessen Verwendung als ergänzendes, rekombinantes AG für ELISA und WB zur Untersuchung von Pferdeseren ist bereits beschrieben (Müller 1999; Jauris-Heipke et al. 1999).

Diagnostische Relevanz besitzt zudem ein als „Borrelia membrane protein A“ (BmpA) bezeichnetes, membranassoziiertes Protein mit einem Molekulargewicht von 39 kDa. Aufgrund der Fähigkeit Laminine zu binden, spielt BmpA eine große Rolle bei der Aufrechterhaltung des Borrelienstoffwechsels im Säugerorganismus (Verma et al. 2009) und scheint eine bedeutsame Rolle bei der Entstehung der Lyme-Arthritis zu spielen (Pal et al. 2008).

Eine frühzeitige Immunantwort bis spätestens fünf Wochen nach der Infektion wird durch ein 41 kDa großes, flagellenassoziiertes Strukturprotein (p41) induziert (Ma et al. 1992). Daneben wird p41 Bedeutung bei der phylogenetischen Differenzierung verschiedener *Borrelia*-Spezies bemessen (Fukunaga et al. 1996). Die diagnostische Relevanz dieses Proteins ist jedoch umstritten. Obwohl ausgeprägte Kreuzreaktivitäten gegenüber RF-*Borrelia* und anderen verwandten Erregern (*Leptospiren*, *Treponemen*) nachgewiesen wurden (Bruckbauer et al. 1992; Shin et al. 1993; Zöller et al. 1993), sehen einige Autoren in der Detektion von p41-Antikörpern den spezifischen Nachweis einer aktiven LB (Craft et al. 1986; Magnarelli et al. 1997). p41-spezifische Antikörper könnten auch eine Rolle bei der Entstehung autoimmunologischer Reaktionen und chronischer Organmanifestationen im Rahmen des LB sein, da p41 und menschliches Gewebe, insbesondere Myelin und Schwann'sche Zellen von den gleichen Antikörpern markiert werden (Aberer et al. 1989).

Es existieren noch eine Reihe weiterer immundominanter Proteine, darunter p58, p60 und p66. Lediglich für p58 konnte eine hohe Spezifität (> 96 %) im Immunoblot gezeigt werden (Hauser et al. 1997), wogegen sich p60, auch als „Common-Antigen“ (CA) bezeichnet, aufgrund seiner Kreuzreaktivität (u.a. mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Treponema pallidum*) als ungeeignet für die Diagnostik erwies (Hansen et al. 1988; Bruckbauer et al. 1992). Die Rolle von p66 im Infektionsgeschehen ist bislang unklar (Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Wichtige immundominante Proteine von *Borrelia burgdorferi*

Quelle: nach Fingerle et al. 2017

Protein/(MW*)	Bekannte Funktion oder Lokalisierung	Kreuzreaktivität	Bemerkungen
p83/100 (83.000-100.000)	Protoplasmazylinder- oder Flagellum-assoziiert	gering	Chromosomal kodiert, Antigenverwandtschaft innerhalb des Genus <i>Borrelia</i>
p60 (60.000)	-	breite Kreuzreaktivität ( <i>Pseudomonas</i> , <i>Treponema</i> ...)	Plasmid-kodiert, ungeeignet für die Diagnostik
p66 (66.000)	Membran-assoziiert, Porin	gering	Chromosomal kodiert
p58 (58.000)	Oligopeptid Permease	gering	Chromosomal kodiert
p41 (FlaB) (41.000)	Flagellin, Subunit	breite Kreuzreaktivität bei Exposition der konservierten Epitope	Chromosomal kodiert, zentrale variable und flankierende konservierte Genabschnitte
BmpA ( <b>B</b> orrelial <b>m</b> embrane <b>p</b> rotein <b>A</b> ) (p39) (39.000)	Membran-assoziiert, Bindung an Laminin	gering (gelegentlich Kreuzreaktivität mit <i>Treponema</i> )	Chromosomal kodiert, Stamm-variabel
VisE ( <b>V</b> ariable <b>m</b> ajor <b>p</b> rotein like <b>s</b> equences <b>E</b> )	Oberflächenprotein, Immunevasion	gering	Expression nur <i>in vivo</i>

(34.000-37.000)			
OspB ( <b>O</b> uter <b>s</b> urface <b>p</b> rotein <b>B</b> ) (34.000-36.000)	äußeres Membranprotein, Zeckenbesiedelung	unklar	Plasmid-kodiert, Stamm- variabel, variabel exprimiert (Gen fehlt bei einigen <i>Bb</i> -Stämmen)
OspA ( <b>O</b> uter <b>s</b> urface <b>p</b> rotein <b>A</b> ) (31.000-33.000)	äußeres Membranprotein, Plasminogenbindung, Besiedelung Zecke	gering	Plasmid-kodiert, Stamm- variabel, variabel exprimiert
OspC ( <b>O</b> uter <b>s</b> urface <b>p</b> rotein <b>C</b> ) (21.000-24.000)	äußeres Membranprotein, Übertragung Vektor- Wirt	gering	Plasmid-kodiert, Stamm- variabel, variabel exprimiert
DbpA ( <b>D</b> ecorin <b>b</b> inding <b>p</b> rotein <b>A</b> ) (17.000-18.000)	äußeres Membranprotein, Dekorinbindung	gering	Stamm-variabel, variabel exprimiert

\*MW = Molecular Weight

### 2.2.4 Der von *Borrelia burgdorferi* ausgelöste Infektionszyklus

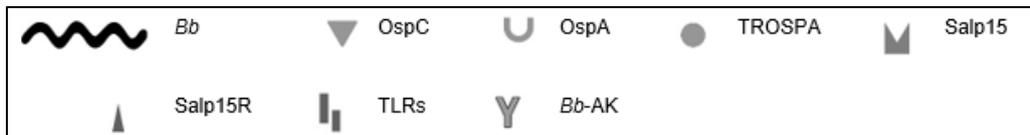
Schildzecken infizieren sich über unterschiedliche Reservoirwirte während ihres zwei- bis dreijährigen Lebenszyklus mit Borrelien (Lane et al. 1991; Bosler et al. 1988): In jedem Stadium, respektive im Larven-, Nymphen- und Adultstadium, nehmen die Zecken je eine mehrtägige Blutmahlzeit zu sich, wobei sie sich mit *Bbsl* infizieren können (Sonenshine 1991; Hillyard 1996).

Bei simultanem Befall eines Wirtes mit mehreren Zecken kann es auch zu einer Übertragung der Borrelien von Zecke zu Zecke kommen, wenn diese auf dem Wirt dicht nebeneinander saugen (Ogden et al. 1997). Eine transovariable Übertragung von *Bbsl* findet unregelmäßig statt und ist nicht in der Lage den Infektionsdruck in den Zecken in einem Maße aufrecht zu erhalten, dass dadurch die Population an Borrelien konstant bliebe (Nakayama und Spielman 1989; Nefedova et al. 2004).

Das Zusammenspiel von Faktoren, die sowohl das Überleben im Mitteldarm des poikilothermen Vektors, der Zecke, als auch im Bindegewebe des homoiothermen Wirts, des Säugetiers, begünstigt, ist das Ergebnis verschiedener evolutionsbedingter Anpassungsmechanismen der Borrelien: Die Reproduktion des Infektionszyklus im experimentellen Maus-Modell erlaubte die genaue Analyse der Abläufe der Spirochäten-Übertragung (Piesman et al. 1987; Ribeiro et al. 1987; Piesman 1993, 1995; Piesman et al. 1990; Zung et al. 1989).

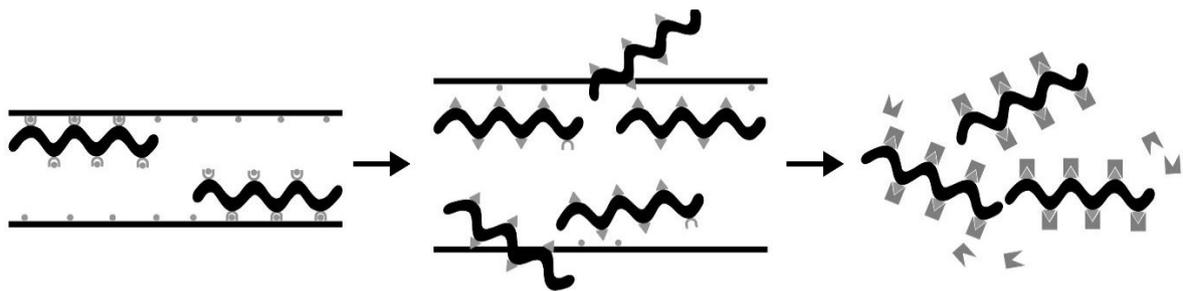
Nach der Blutmahlzeit einer Larve an einem infizierten Tier vermehren sich die Spirochäten im Mitteldarm der Zeckenlarve, wo sie die erste Häutung zur Nymphe überdauern und bis zur nächsten Blutmahlzeit verweilen. Im Mitteldarm verändert sich das Profil der Oberflächenproteine (Outer surface proteins, Osp) der Borrelien, es findet eine

Hochregulierung von OspA statt und infolgedessen kommt es zu einer Protein-Protein-Interaktion mit TROSPA (Tick-Receptor For OspA), einem Mitteldarm-Protein in der Zecke, wodurch das Bakterium vor den Verdauungs- und Verteidigungsmechanismen des Mitteldarms geschützt ist (Fikrig und Narasimhan 2006). Wenn nun die Nymphe wiederum Blut saugt, vermehren sich die Spirochäten im Mitteldarm und eine kleine Zahl verlässt diesen Ort über die Hämolymphe und migriert zu den Speicheldrüsen der Zecke. Unmittelbar vor und während der Übertragung durchlaufen die Spirochäten erneut eine signifikante Veränderung ihrer Oberflächenproteine. Das Oberflächenprotein wandelt sich von OspA zu OspC (Schwan et al. 1995) (Abbildung 5).



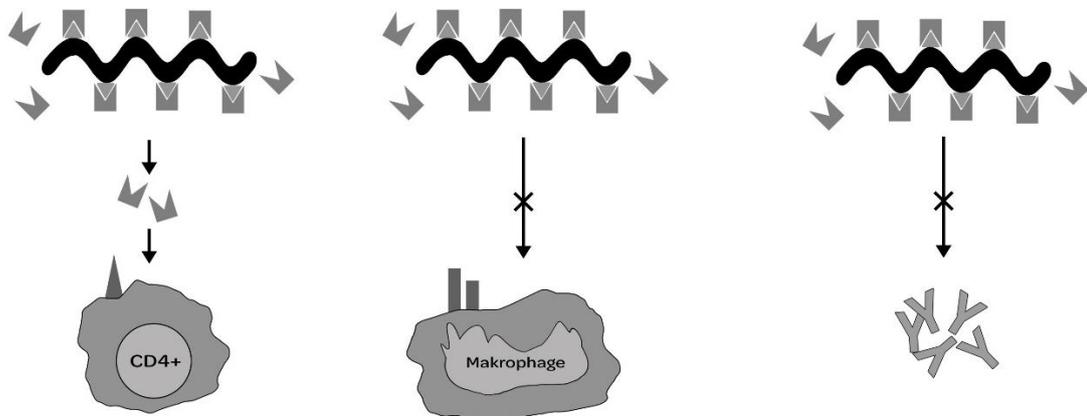
**In der Zecke:**

- ① Mitteldarm, vor Blutmahlzeit      ② Mitteldarm, Blutmahlzeit      ③ Speicheldrüse, Blutmahlzeit



Vor der Blutmahlzeit binden im Zeckendarm TROSPA und OspA. Während der Blutmahlzeit wird im Zeckendarm OspC hochreguliert, TROSPA und OspA dagegen herunter. Die Borrelien sind nun frei im Zeckendarm, penetrieren die Darmwand in die Hämolymphe und migrieren zur Speicheldrüse der Zecke. In der Speicheldrüse der Zecke bindet Salp15 an OspC.

**Im Wirt:**



Salp15 legt sich über OspC und wirkt immunprotektiv. Eine AK-Bindung wird verhindert. Salp15 ist darüber hinaus immunsuppressiv, vermindert die Makrophagen-Aktivierung und inhibiert die CD4+/T-Zellen-Aktivierung und damit die Cytokinfreisetzung (weniger IL-2).

**Abbildung 5:** Der Infektionszyklus von *Bbsl*

Quelle: nach Fikrig und Narasimhan 2006

Eine Rolle bei dieser Modifikation der Oberflächenproteine sollen Umweltfaktoren wie Temperatur, pH-Wert, Nährstoff- und Zelldichte spielen (Yang et al. 2000; Schwan et al. 1995). Die synchronisierte Herabregulierung von TROSPA könnte die Ablösung der Spirochäten vom Mitteldarm der Zecke begünstigen (Pal et al. 2004). Nur Borrelien mit OspC-Konfiguration sind in der Lage eine Infektion im Säugetier zu etablieren, da das OspC-Protein durch seine Variabilität vom Immunsystem des Wirtes anfangs unerkant bleibt (Grimm et al. 2004; Templeton 2004).

Eine mögliche Veränderung der Oberflächenproteine im Wirbeltier Wirt ist ansonsten aufgrund der geringen Erreger-Anzahl schwierig zu analysieren. Rückschlüsse darauf wurden über die Immunantwort des Wirts auf verschiedene bakterielle Antigene (Suk et al. 1995) und quantitative PCR-Analyse der Transkripte bestimmter Gene geschlossen (Fikrig et al. 1999). Crother und Kollegen gelang es Spirochäten-Proteine, die direkt aus den Geweben infizierter Mäuse und Hasen extrahiert worden waren, mittels Immunoblots zu visualisieren (Crother et al. 2004; Crother et al. 2003).

Aufgrund der für die Wanderung der Borrelien vom Mitteldarm der Zecke in die Speicheldrüsen des Vektors und die für die Veränderungen der Oberflächenantigene der Borrelien benötigten Zeit, erfordert die effiziente Übertragung von *Bbsl* über infizierte Nymphen auf den Wirbeltierwirt einen Saugakt von etwa 48 bis 52 Stunden, mindestens jedoch 18 bis 24 Stunden (Piesman et al. 1987; Des Vignes et al. 2001; Ohnishi et al. 2001; Piesman et al. 2001). Aufgrund dieser Beobachtung wurde gemeinhin davon ausgegangen, dass das Risiko einer Übertragung von Borrelien durch Zecken innerhalb der ersten 48 Stunden nach Anheftung sehr gering ist, da nur nichtinfektiöse Borrelien in den Speicheldrüsen vorhanden wären (Piesman et al. 2001; Sood et al. 1997). Allerdings zeigen neuere Studien mit Nagetieren, dass das Pathogen sehr wohl in der Lage ist, den Wirt bereits innerhalb von 12 Stunden nach Anheftung zu infizieren (Sertour et al. 2018).

Über die Dynamik der Ausbreitung einer natürlichen *Bbsl*-Infektion im Säugetierwirt wird noch diskutiert. Aufgrund eines Infektionsversuchs im Maus Modell wurde zunächst postuliert, dass sich *Bbsl* zunächst als lokalisierte Infektion der Haut an der Stelle des Zeckenstichs etabliert, dann langsam über den Blutkreislauf ausbreitet und schließlich persistierende Infektionen verschiedener Gewebe, wie Haut, Gelenke, Herz und Blase entstehen (Barthold et al. 1991).

Ein hämatogene Ausbreitung von *Bbsl* bis in die Körperperipherie wird bereits seit den 90er-Jahren aufgrund von Studien in Blutspenderbanken für unwahrscheinlich gehalten (Nadelman et al. 1990). Wenn *Bbss* im Rahmen einer hämatogenen Verbreitung in den Blutkreislauf eintritt, findet eine rasche Elimination statt. RF-Borrelien wie *Borrelia persica* können sich dagegen erfolgreich über den Blutkreislauf verbreiten (Liang et al. 2020). Heute geht man daher davon aus, dass sich Erreger des *Bbsl*-Komplexes von der Zeckenstichstelle aus, nach

Eindringen in den Wirbeltierkörper, zentrifugal ausbreiten und dabei überwiegend extrazellulär verbleiben (Straubinger et al. 1997a), wobei sie sich aktiv fortbewegen (Kapitel 2.2.3).

### **2.2.5 Pathogenitätsmechanismen von *Borrelia burgdorferi***

Die Etablierung, Vermehrung und Ausbreitung von *Bb* im Wirtsorganismus wird über Mechanismen der Adhäsion, Invasion, Persistenz und Immunevasion gefördert. Eine weitere Überlebensstrategie der LB-verursachenden Spirochäten ist die Besiedelung immunprivilegierter Nischen, wie der extrazellulären Flüssigkeiten der Gelenke, Augen und des Zentralnervensystems (Embers et al. 2004; Liang et al. 2002). Erklärungen für die teils eingeschränkten Therapieerfolge könnten hier gefunden werden.

Motilität und Chemotaxis sind wichtige Virulenzaspekte der Borrelien. Die Motilität ist notwendig, um vom Darm der Zecke zur Speicheldrüse zu gelangen und die Chemotaxis, um während des Saugakts der Zecke die Haut des neuen Wirts zu durchdringen. Soweit man heute weiß, sind Glucosamin, N-Acetylglucosamin und Glutamat (Bakker et al. 2007) wichtige Lockstoffe und methylakzeptierende chemotaktische Proteine (MCPs) in einer Signalkaskade mit CheY- und CheA-Homologa involviert in die Chemotaxis bei Borrelien (Li et al. 2002, 2002; Bakker et al. 2007; Li et al. 2002; Bakker et al. 2007; Motaleb et al. 2005). Während eines entzündlichen Geschehens werden im Wirt Enzymsysteme aktiviert, wie auch das proteolytische Enzym Plasmin, was wiederum von *B. burgdorferi* für die Penetration der endothelialen Zellschichten genutzt werden könnte (Kramer et al. 1996).

Die Fähigkeit zur Adhäsion an Strukturen der extrazellulären Matrix des Bindegewebes, wird durch das Laminin-bindende Membranprotein BmpA und das Decorin-bindende DbpA ermöglicht (Verma et al. 2009; Liang et al. 2004). Die Adhärenz an und die Invasion verschiedener Zellarten wie epithelialer Zellen (Hechemy et al. 1992), Endothelzellen (Szczepanski et al. 1990; Comstock und Thomas 1991; Ma et al. 1991), Fibroblasten (Klempner et al. 1993), Thrombozyten (Coburn et al. 1993), Muskelzellen (Pachner et al. 1995) sowie Synovialzellen (Girschick et al. 1996) konnte in *in vitro* Studien gezeigt werden. Auch bei T- und B-Lymphozyten konnte das Eindringen von Borrelien nachgewiesen werden, wobei Dorward und Mitarbeiter über die Infiltration hinaus auch vom zytopathischen Effekt der *Bb*-Infektion mit Zerstörung eben jener Zellen berichteten (Dorward et al. 1997).

Die Etablierung einer Infektion im Säugetier wird wesentlich von den Oberflächenproteinen (Kapitel 2.2.4) der Borrelien beeinflusst (Cullen et al. 2004; Schröder et al. 2008; Grimm et al. 2004). OspC verhilft den Borrelien gemeinsam mit einem während der Blutmahlzeit übertragenen Zeckenspeichelprotein (Salivary protein 15; Salp15) zur Evasion vor ersten Reaktionen des spezifischen und unspezifischen Immunsystems im Säugerorganismus.

Salp15 bindet unmittelbar vor dem Wirtswechsel an OspC und schützt die Borrelie vor Angriffen durch spezifische Antikörper (AK) (Ramamoorthi et al. 2005).

Proteine aus der Familie der CRASPs (Complement Regulator-Acquiring Surface Proteins) und Erps (Exported repetitive proteins) der Borrelien unterbinden die Komplementaktivierung durch Bindung an Komplementregulatoren (FHL-1/reconectin und Faktor H) des Wirtes (Schuijt et al. 2008; Kraiczy et al. 2001). Das Oberflächenantigen p83/100 besitzt Struktureigenschaften, die die Oberflächen eukaryotischer Zellen imitieren, was ebenfalls zur Immunevasion beiträgt (Rössler et al. 1995). Außerdem unterdrücken weitere Faktoren aus dem Zeckenspeichel die proinflammatorischen Immunantworten des Wirtes und vermindern so die Sekretion Makrophagen-assoziiierter Zytokine wie Interleukin-1 (IL-1) und Tumornekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und die Sekretion T-Helferzellen-assoziiierter Zytokine wie Interleukin-2 (IL-2) und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Hu und Klempner 1997).

Verschiedene den Borrelien intrinsische Regulationsmechanismen, sollen eine über die Dauer des Infektionsverlaufs andauernde räumliche und zeitliche Änderung und damit Heterogenität der Oberflächenproteine bewirken, die nicht nur auf temporären Änderungen der Antigen(AG)-Expression beruhen und die wiederum die Persistenz der Infektion begünstigen (Hefty et al. 2002).

Das Oberflächenprotein VlsE ist ebenfalls an der Immunevasion beteiligt. Durch Veränderung der Oberflächenstruktur der hochvariablen Regionen von VlsE (Liang et al. 1999a) wird es für die Persistenz von *Bbsl* im Wirtstier und für mögliche Reinfektionen nach überstandener Infektion verantwortlich gemacht, da eine effektive AK-Bildung nicht möglich ist (Rogovskyy und Bankhead 2013). Der Expressionsbereich des variable major protein-(VMP) like sequence (vls) Locus auf einem 28-kb großen Plasmid ermöglicht die Expression neuer antigenischer Varianten des VlsE-Proteins im Wirt bereits ab dem 4. Tag *post infectionem* (Zhang et al. 1997; Zhang und Norris 1998; Eicken et al. 2002; Embers et al. 2007). *In vitro* bei kultivierten Erregern und in der Zecke ließ sich dieser Effekt bislang nicht nachweisen (Zhang und Norris 1998; Indest et al. 2001). Aufgrund seiner immundominanten Natur, könnte VlsE die Antikörperproduktion des Wirtes zugunsten von anti-VlsE-AK verschieben und damit geringere Titer von Immunglobulinen gegen andere Oberflächenantigene bedingen (Labandeira-Rey et al. 2003).

### **2.2.6 Die Rolle von Koinfektionen bei der Pathogenese**

Bei der LB können gleichzeitig andere Infektionen vorliegen, die den Krankheitszustand des Patienten beeinflussen und synergistisch verschlimmern können. Durch Zecken übertragene Koinfektionen können durch Modulation des Immunsystems die Ausprägung von Krankheitszuständen begünstigen und werden als wesentlicher Grund für

Therapieresistenzen angesehen (Dattwyler et al. 1988; Grab et al. 2007; Krause et al. 1996; Mitchell et al. 1996; Owen 2006; Straubinger et al. 2000; Thomas et al. 2001; Zeidner et al. 2000).

Eine Koinfektion mit *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) trägt zu höheren Spirochätenlasten und höherem Schweregrad der LB bei. Neutrophile Granulozyten, die mit *Ap* infiziert sind, schütten größere Mengen Metalloproteasen und Chemokine aus, die wiederum die Transmigration von *Bb* durch Blutgefäßwände und auch über die Blut-Hirn-Schranke im Falle einer Koinfektion mit beiden Erregern begünstigen (Nyarko et al. 2006).

Beim Menschen kann eine latente LB durch eine Herpes-simplex-Virus-Infektion aktiviert werden (Gylfe et al. 2002). Hunde mit Borrelien- und Anaplasmen-Koinfektion haben ein zweifach höheres Risiko klinisch zu erkranken, also Lahmheit, Fieber, Lethargie, Gelenkschmerzen und Anorexie zu zeigen als bei einer Mono-Infektion (Beall et al. 2008).

## **2.3 Lyme-Borreliose**

### **2.3.1 Epidemiologie der Lyme-Borreliose**

#### **2.3.1.1 Exposition gegenüber und Übertragung von Borrelien**

Die LB zählt zu den bakteriellen Zoonosen. Die Übertragung erfolgt über Schildzecken. Neben Schildzecken wurden Borrelien auch in blutsaugenden Insekten identifiziert: unter anderem in Hirschfliegen, Bremsen, Mosquitos (Magnarelli et al. 1986) und Flöhen (Rudolph et al. 1992). In Schweden entwickelte ein Mensch eine expandierende Hautrötung nach einem Mosquito-Stich (Hård 1966), wobei kein Erregernachweis erfolgte. Allerdings scheint dieser Übertragungsweg eine unbedeutende Rolle zu spielen: eine mechanische Übertragung wäre denkbar, für das Borrelienreservoir haben hämatophage Insekten aber keine relevante Rolle (Rudolph et al. 1992).

Andere nicht-vektorgebundene Übertragungswege, wie die Übertragung via Körpersekrete wie Urin und Sperma, sind als höchst ungewöhnlich einzustufen (Kumi-Diaka und Harris 1995; Manion et al. 1998b), wurden in älteren Studien aber zum Beispiel bei Hund und Maus vermutet (Burgess et al. 1986a; Burgess 1986). Die intrauterine Übertragung einer *Bbss*-Infektion ist bei künstlich infizierten Hündinnen beschrieben worden (Gustafson et al. 1993). Außerdem wurde ein Fall einer LB mit ECM, Arthritis, Fieber und Gewichtsverlust bei einem Mann in Großbritannien ein paar Tage nach einem Pferdebiss beobachtet. Das Pferd selbst hatte zuvor Husten, aber kein Fieber und keine offensichtlichen Gelenkprobleme gezeigt, allerdings hohe Titer von *Bb*-Antikörpern (Marcelis et al. 1987).

Kinder und ältere Menschen scheinen ein höheres Infektionsrisiko zu besitzen (Berglund et al. 1995; Huppertz et al. 1999; Bacon et al. 2008). Aufenthalte in der Natur wie Wanderungen, Spaziergänge mit dem Hund oder Reitaktivitäten könnten auch im Freizeitbereich das Risiko einer humanen LB erhöhen (Bae 2018; Wilking et al. 2015). Auch Wohnen oder Reisen in endemische Gebiete und dortige Aktivitäten im Freien, Haustiere im Haushalt, die Zecken mit in die heimischen vier Wände bringen und ein Haus in einer Gegend mit hohem Wildtierbestand beziehungsweise im Vorstadtgebiet erhöhen das Risiko des Kontakts mit infizierten Zecken (Maupin et al. 1991). Jäger, Förster und Landwirte sind von Berufs wegen vermehrt exponiert (Fülöp 2011; Jurke et al. 2015). Ein höheres Risiko für den Erregerkontakt besteht auch für extensiv gehaltene Haussäugetiere (Deplazes et al. 2012).

### **2.3.1.2 Geographische Verbreitung der Lyme-Borreliose und erfasste Meldedaten**

Die LB ist die häufigste vektorassoziierte Erkrankungen in Europa und Nordamerika (Nadelman und Wormser 1998; Wang et al. 1999). Auch in Brasilien und Uruguay wurden Borrelien in Zecken nachgewiesen und Erkrankungen beschrieben (Basile et al. 2017). Auf der Südhalbkugel ist die LB nicht anzutreffen, denn dort fehlen die Borrelien-übertragenden Schildzeckenarten (Deplazes et al. 2012).

Mehr als 65 % der Patienten, die im Rahmen eines Überwachungsprogramms von den CDC (Centers for Disease Control und Prevention) in den USA 1992 bis 2006, erfasst wurden, hatten einen Krankheitsbeginn zwischen Juni und August gemeldet (Bacon et al. 2008). Ähnliches (57 % der Fälle zwischen Juni und August) wird auch in Deutschland beschrieben, mit einem Peak im Juli, wobei Spätmanifestationen wie die Lyme-Arthritis eher ganzjährig beobachtet werden (Enkelmann et al. 2018).

In Europa existieren nur wenige Zahlen zur Inzidenz der LB, da nur in nur wenigen Mitgliedsstaaten eine Meldepflicht besteht. Schätzungen liegen bei einer jährliche Inzidenz von 16 bis 140 Fällen pro 100.000 Einwohner (Fingerle 2008).

Auch in Deutschland ist die humane LB gemäß IfSG keine meldepflichtige Infektionskrankheit. Lediglich einzelne Bundesländer haben bei Auftreten von EM, akuter Neuroborreliose sowie akuter Lyme-Arthritis Meldeverpflichtungen ausgesprochen.

Die Meldungen können über „SurvStat@RKI 2.0“ eingesehen werden und wurden von Enkelmann und Kollegen im Rahmen eines „Scientific Reports“ für die Jahre 2013 bis 2017 zusammengefasst (Enkelmann et al. 2018): Klinisch waren 95 % der Fälle nur von einem EM betroffen, 2,7 % von Neuroborreliose und 2,1 % von Lyme-Arthritis. Eine Hospitalisierung wurde bei 10 % der Lyme-Arthritis- und 71 % der Neuroborreliose-Fälle notwendig. Die Inzidenz bewegte sich zwischen 26/100.000 (2015) und 41/100.000 Einwohnern (2013). Es wurden weder ansteigende noch absteigende Tendenzen über den Beobachtungszeitraum

bezüglich der Inzidenzen festgestellt. Das mediane Alter lag bei 54 Jahren, allerdings fiel eine bimodale Altersverteilung auf und Jungen zwischen 5 und 9 Jahren und Frauen zwischen 50 und 69 Jahren waren mit einer mittleren Inzidenz von 36/100.000 beziehungsweise 57/100.000 Fällen überrepräsentiert. Fünf Regionen fielen aufgrund besonders hoher Inzidenzen auf: West-Mecklenburg, inklusive der Stadt Schwerin und Teilen Nord-Brandenburgs, das Erzgebirge, die Hunsrück-Eifel-Region, die Fränkische Schweiz und der Bayerische Wald.

In verschiedenen Studien wurden Seroprävalenzen von spezifisch gegen Borrelien gerichteten Antikörpern beim Menschen in Deutschland zwischen 13,4 bis 34,6 % bei hohem Expositionsrisiko (Oehme et al. 2002; Reimer et al. 2002; Rieger et al. 2002) und 1,8 bis 12,0 % bei geringem Expositionsrisiko gegenüber infizierten Zecken festgestellt (Wilking et al. 2015; Rieger et al. 2002; Nübling et al. 2002).

### **2.3.2 Pathogenese der Lyme-Borreliose**

Es ist anzunehmen, dass die Anwesenheit von Borrelien in den betroffenen Geweben für die Ausbildung histopathologischer Veränderungen verantwortlich ist und dass unter anderem die Induktion der vermehrten Freisetzung der Zytokine Interleukin-8 (IL-8) sowie Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) an der Pathogenese beteiligt sind (Straubinger et al. 1997a).

Ob im Rahmen der LB chronische, therapieresistente Infektionen (Stichwort „Post-Lyme-Syndrom“, Kapitel 2.3.3.1) auftreten, wird kontrovers diskutiert. Sphärische Borrelienstadien, auch als „L-Formen“ oder zystische Formen bezeichnet, wie sie teilweise bei Patienten mit einer entsprechenden klinischen Symptomatik und bei Nichtansprechen auf die antibiotische Behandlung nachgewiesen werden, werden teils als verantwortliche Faktoren für die Pathogenese der chronischen LB herangezogen (Preac-Mursic et al. 1996). Allerdings wurde bislang in keiner *in vivo*-Studie der kausale Zusammenhang zwischen dieser morphologischen Variante und der klinischen Erkrankung und auch nicht der Relevanz für die Therapie untersucht (Lantos et al. 2014).

In einer retrospektiven Studie zeigten Asch und Kollegen, dass chronische Organmanifestationen mit teils akuten Schüben bei 53 % der Patienten, die vor mindestens einem Jahr erstmalig aufgrund ihrer klinischen Veränderungen und eines positiven *Bb*-Antikörpertiters mit LB diagnostiziert worden waren, vorkommen. Persistierende Symptome waren Arthralgien, Arthritiden, kardiale und neurologische Probleme mit oder ohne Müdigkeit (Asch et al. 1994).

Eine mögliche Erklärung für chronische Organmanifestationen wäre die Bildung von Auto-Antikörpern aufgrund molekularer Mimikry. Das 41-kDa Flagella-Protein und menschliches Gewebe, insbesondere myelinisierte Nervenfasern, Epithelzellen, Synoviozyten und

Herzmuskelzellen, teilen sich antigenetische Determinanten (Aberer et al. 1989). Außerdem ist es möglich, dass eine Entzündung in und um betroffenes Gewebe, das eine geringe Anzahl persistierender, an den Wirt adaptierter Spirochäten oder Antigen enthält, aufrechterhalten wird (Crossland et al. 2018).

Die die chronische Phase der LB (Stadium III) kennzeichnenden Arthritiden (Kapitel 2.3.3.1) entstehen überwiegend aufgrund von immunpathologischen Reaktionen mit massiver Infiltration von Leukozyten in die betroffenen Gelenke (Hu und Klempner 1997). Diese Leukozytenmigration entsteht durch Interaktionen zwischen den Borrelien-Membranproteinen, insbesondere BmpA und BmpB, sowie dem auf den Leukozyten lokalisierten Toll-like-receptor-2 (TLR-2) (Hirschfeld et al. 1999; Schröder et al. 2008) und durch die daraus resultierende Zytokinkaskade, u. a. mit Beteiligung von TNF- $\alpha$  und IL-8 (Straubinger et al. 1997a; Puius und Kalish 2008). Autoimmune Mechanismen unter Beteiligung des MHC-II Oberflächenrezeptors „Human Leukocyte Antigen - Antigen D Related Haplotyp 4“ (HLA-DR4) werden als weitere Pathogenitätsfaktoren bei der Entstehung der humanen Lyme-Arthritis diskutiert (Steere et al. 1990; Kalish et al. 1993; Behar und Porcelli 1995). Laut Akin und Mitarbeitern korreliert der Schweregrad der Arthritiden beim Menschen mit der Entwicklung spezifischer Antikörper gegen verschiedene Borrelien-Antigene. Je höher der IgG-Antikörperspiegel gegen p35 in der frühen Phase der Infektion ist, desto milder und kürzer fällt die Phase der folgenden Arthritis aus, wohingegen ein hoher IgG-Antikörperspiegel gegen OspA und OspB mit einer schwereren und längeren Verlaufsform der Lyme-Arthritis korreliert (Akin et al. 1999).

Die akute Lyme-Neuroborreliose (Kapitel 2.3.3.1) tritt als schmerzhafte Meningoradikulitis mit Entzündung der Nervenwurzeln und lanzinierendem, radikulärem Schmerz (Bannwarth-Syndrom), lymphozytärer Meningitis und verschiedener Formen einer kranialen und peripheren Neuritis auf. Die Pathogenese der Neuroborreliose ist komplex und beginnt damit, dass die Spirochäten in einen an und für sich gut beschützten Bereich, nämlich das zentrale Nervensystem (ZNS), eindringen. Drei Prinzipien führen schließlich zur Schädigung der Nervenzellen: die Sekretion zytotoxischer Substanzen durch Leukozyten und Gliazellen, eine direkte Zytotoxizität des Erregers und autoimmun-getriggerte Prozesse durch molekulare Mimikry (Rupprecht et al. 2008).

Aus dem Genom von *Bb* haben Cartwright und Kollegen ein Gen identifiziert, welches ein Neurotoxin codiert, das den Namen Bbtox 1 trägt (Cartwright et al. 1999). In einer Patentschrift (USP 6 667 038) haben Donta und Cartwright die Aminosäuresequenz dieses Toxins offengelegt und neue Möglichkeiten zur Diagnose und Behandlung aufgezeigt. Bbtox 1 ist lipophil und kann an Fettmoleküle gekoppelt die Körpergewebe durchwandern und schädigt als Neurotoxin neben anderen Zellen auch die Stäbchen der Retina. Die intrazelluläre

Wirkweise des Bbtox 1 ist nicht exakt bekannt, es besteht aber eine Ähnlichkeit zum Botulinumtoxin C2 (Donta und Cartwright 2003).

Experimentelle Infektionsversuche bei spezifisch pathogenfreien (SPF) Ponys konnten die Ausprägung einer serologisch detektierbaren Immunreaktion veranschaulichen und postmortal gelang der Nachweis von Borrelien in der Haut, peripheren Lymphknoten, Gelenkkapseln und dem Nervengewebe, jedoch war bei den infizierten Pferden keine klinische Ausprägung feststellbar (Chang et al. 2005; Chang et al. 2000b). Burgess und Gendron-Fitzpack infizierten 1990 Ponys intravenös mit *Bbss* und fanden postmortal Läsionen der Synovialmembran mit perivaskulären Leukozytenansammlungen vergleichbar mit den Läsionen, die auch bei der humanen Lyme-Arthritis beschrieben sind (Burgess und Gendron-Fitzpatrick 1990).

Weitere pathohistologische Befunde im veterinärmedizinischen Sektor:

- Hund: chronische diffuse, membranproliferative Glomerulonephritis mit multifokaler, interstitieller Nephritis (Grauer et al. 1988), nicht-suppurative Arthritis, kortikale Hyperplasie in den drainierenden Lymphknoten (Straubinger et al. 1997a), plasma- und lymphozytäre Synoviitis (Susta et al. 2012)
- Pferd: villöse Hypertrophie der Synovialmembran von Sehnenscheiden und Gelenken, fokale Meningoenzephalitis mit Vaskulitis und perivaskulärer, leukozytärer Infiltration, fokale Entzündung im Filtrationswinkel der vorderen Augenkammer, fokale interstitielle Nephritis (Hahn et al. 1996), Neuritis und Hautläsionen vergleichbar mit dem humanen EM (Chang et al. 2000b), perivaskuläre bis diffuse Meningoradikuloneuritis (Imai et al. 2011), Gefäßsklerose mit pleozellulären entzündlichen Infiltraten (Johnstone et al. 2016)
- Ratten: akute exsudative Arthritis, Sehnenscheidenentzündung und Bursitis mit kapsulärer Fibrose und lymphoplasmazellulären Infiltraten, nichtsuppurative Myokarditis und Vaskulitis (Moody et al. 1990b)
- Mäuse: synoviale Hyperplasie mit Pannusbildung und Knorpelzerstörung, Karditis, Nephritis, Hepatitis (Philipp und Johnson 1994)
- Rhesusaffen: Nervenscheidenfibrose, fokale Demyelinisierung im ZNS und den peripheren Nerven, Nekrose der sensorischen Ganglien (Philipp und Johnson 1994).

### **2.3.2.1 Immunantwort des Wirtes**

Im Zuge ihrer Wirtsadaptation entwickelten viele Borrelien-Arten effektive Mechanismen, um sich der Immunantwort ihrer Wirte zu entziehen (Kapitel 2.2.5). Die Besiedelung immunprivilegierter Nischen (Embers et al. 2004), die Fähigkeit zur schnellen Variation ihrer Oberflächenproteine (Rogovskyy und Bankhead 2013) oder auch die Fähigkeit von der

Schraubengestalt abweichende Überlebensformen anzunehmen (Preac-Mursic et al. 1996), gehören dazu.

Trotz dieser Immunevasionsmechanismen der Borrelien, finden besonders in der Initialphase der Infektion (Stadium I, Kapitel 2.3.3.12.3.3.1) unspezifische Immunabwehrreaktionen statt. Zur Phagozytose befähigte Immunzellen (Makrophagen, Granulozyten) wandern in das Gewebe ein mit der Folge der möglichen Entstehung des EM beim Menschen (Steere et al. 2004). Trotz partieller Heterophagie der Spirochäten durch diese Zellen, gelingt dem Immunsystem oftmals keine vollständige Erregerelimination (Montgomery et al. 2002; Montgomery et al. 1994).

Nach Ausbreitung der Borrelien treten in den befallenen Geweben multisystemische Entzündungsreaktionen auf, wobei nach Erstinfektion die AK-Produktion ungefähr mit Beginn der akuten Phase (Stadium II) einsetzt. Frühestens zwei bis vier Wochen nach dem ersten Erregerkontakt, sind beim Menschen Antikörper der Klasse IgM in nachweisbaren Konzentrationen vorhanden; nach sechs bis acht Wochen ist der serologische Nachweis von IgG-Antikörpern möglich (Craft et al. 1984a; Christen et al. 1993; Frey und Rao 1995).

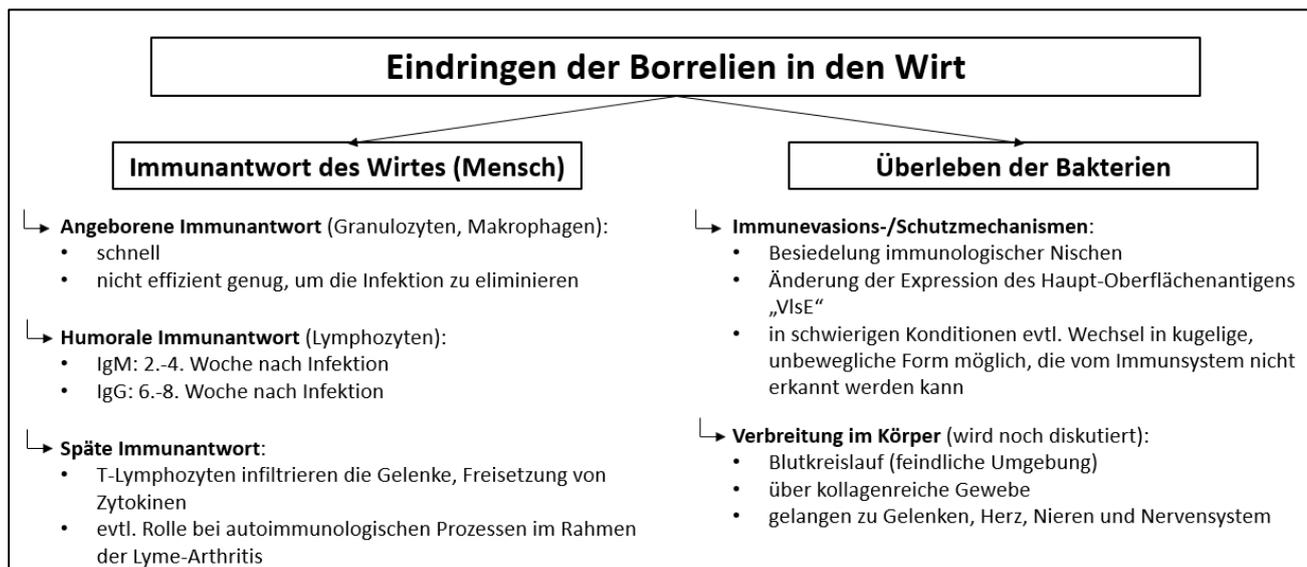
In der Regel erreichen die *Bb*-spezifischen IgM-Antikörper ihr Maximum ungefähr nach sechs bis acht Wochen und fallen dann allmählich wieder ab. In manchen Fällen sind sie aber auch länger nachweisbar, was wiederum Rückschlüsse auf den Infektionszeitpunkt erschwert. *Bb*-spezifischen IgG-Antikörper können hingegen über Monate bis Jahre bei persistierender Infektion langsam bis zum Erreichen eines Plateauwertes ansteigen und dann auch über lange Zeit relativ konstant bleiben (Dattwyler et al. 1989) (Abbildung 6).

Im Falle einer Reinfektion steigt die IgG-Konzentration schnell an, während IgM-Antikörper in der Regel gar nicht nachweisbar sind. In seltenen Fällen sind gar keine Antikörper trotz klinisch-evidenter Lyme-Borreliose nachweisbar (Wilske et al. 2007; Steere 1993a; Dattwyler et al. 1988).

Trotz erfolgreich vermittelter Phagozytose der Bakterien, die durch die während des Infektionsverlaufs gebildeten AK vermittelt werden (Benach et al. 1984) sowie Aktivierung des Komplementsystems durch letztere (Kochi et al. 1991), wird keine protektive Immunität erzeugt (Straubinger et al. 2000; Steere et al. 2001).

Die Immunreaktionen von Pferden gegenüber Borrelien sind schwierig zu interpretieren, da es bei Pferden kein pathognomisches Symptom wie das EM und generell keine eindeutige klinische Symptomatik der equinen LB beschrieben ist (Krupka 2010). In zahlreichen seroepidemiologischen Studien wurde zwar die immunologische Auseinandersetzung mit *Bb* (Kapitel 2.3.3.2.2.4) nachgewiesen, aber die Unterscheidung zwischen einer aktiven LB,

klinisch inapparenten Infektionen sowie einem residualen AK-Spiegel infolge einer länger zurückliegenden Infektion, allein aufgrund eines seropositiven Befundes, ist schwierig.



**Abbildung 6:** Reaktionen von Wirt und Bakterien nach Eindringen der Borrelien

Quelle: frei nach GuideLyme 2019

### 2.3.3 Klinik der Lyme-Borreliose

#### 2.3.3.1 Lyme-Borreliose in der Humanmedizin

Die humane LB ist eine durch Erreger des *Bbsl*-Komplexes ausgelöste Multisystemerkrankung (Steere et al. 2004) (Tabelle 4). Beim Menschen kann eine Einteilung in drei Stadien vorgenommen werden, wobei die einzelnen Stadien teilweise fließend ineinander übergehen, beziehungsweise die Erkrankung intermittierend mit symptomfreien Intervallen verlaufen kann (Steere 1989).

In einer großen Fallstudie aus Mitteldeutschland mit LB-Patienten, zeigten 89 % ausschließlich das EM, 5 % hatten Arthritis, 3 % Anzeichen einer frühen Neuroborreliose, 2 % ein Borrelien-Lymphozytom, 1 % ACM und weniger als 1 % Lyme-Karditis. In dieser Studie traten keine Fälle einer späten Neuroborreliose auf (Huppertz et al. 1999).

Die Stelle des Zeckenstiches könnte mit der klinischen Ausprägung korrelieren: so wurden in einer schwedischen Studie vermehrt Fälle von Neuroborreliose bei Kindern beobachtet, die Zeckenstiche im Bereich des Kopfes und Halses aufwiesen (Berglund et al. 1995; Huppertz et al. 1999).

#### Stadium I – lokalisierte Frühmanifestation

Bei näherungsweise 90 % der LB-Patienten taucht in diesem Stadium das EM auf (Nadelman und Wormser 1998; Gerber et al. 1996) und zwar wenige Tage bis Wochen (im Mittel 7-10 Tage) nach dem Zeckenstich (Robert Koch-Institut (RKI) 2019).

Beim EM, das auch als Wanderröte bezeichnet wird, handelt es sich um einen sich kreisförmig rund um den Zeckenstich ausdehnenden roten bis blauroten Fleck, oft mit zentraler Abheilung. Der Rand der Läsion ist in der Regel scharf begrenzt, intensiv verfärbt und kaum erhaben. Grippeähnliche Begleiterscheinungen, die meist intermittierend auftreten, können sein: Fieber, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Nackensteifigkeit, Arthralgien und Myalgien (Gray 2002).

Das benigne Borrelien-Lymphozytom, auch Lymphadenosis cutis benigna genannt, tritt selten auf (Steere et al. 1986). Hierbei handelt es sich um schmerzlose blau-rote Knoten oder Plaques, die meist am Ohr, an der Brustwarze oder dem Skrotum auftreten und zwar meist innerhalb zweier Monate (bis zehn Monate) nach dem Zeckenstich (Evison et al. 2005).

### **Stadium II – disseminierte Frühmanifestation**

Breiten sich die Erreger im Körper systemisch aus, wenn zum Beispiel im ersten Stadium keine antibiotische Intervention erfolgte, treten Wochen bis Monate nach dem Zeckenstich verschiedene Symptome einer disseminierten Frühmanifestation auf (Nadelman und Wormser 1998). Multiple, sekundäre Hautrötungen oder Borrelien-Lymphozytome, neurologische Symptome (frühe Neuroborreliose), kardiologische Störungen (Lyme-Karditis) sowie Arthritiden (Lyme-Arthritis) und Myalgien können beobachtet werden (Steere et al. 1980a; Shapiro und Gerber 2000). Selten können Erkrankungen mit Augenbeteiligung auftreten, wie Konjunktivitis, Uveitis, Papillitis, Episkleritis und Keratitis (Stanek et al. 2012).

Die Lyme-Arthritis zeichnet sich durch wiederholte kurze Attacken von Gelenkschwellungen an einem oder mehreren großen Gelenken aus und kann in eine chronische Arthritis übergehen. Intermittierende Arthralgien können vorangehen (Steere et al. 1977b).

Die Lyme-Karditis ist gekennzeichnet durch einen akuten Beginn eines transienten AV-Blockes zweiten oder dritten Grades oder durch Herzrhythmusstörungen, die gelegentlich mit einer Myokarditis oder Pankarditis verbunden sein können (Steere et al. 1986).

Die frühe Neuroborreliose hat verschiedene Ausprägungen. Eine schmerzhafte lymphozytäre Meningoradikuloneuritis mit oder ohne Fazialisparese oder mit einer anderen kranialen Neuritis (Garin-Bujadoux-Bannwarth-Syndrom) ist möglich (Preac-Mursic et al. 1984). Bei Kindern tritt meist eine Meningitis oder eine isolierte einseitige, manchmal aber auch beidseitige Fazialisparese oder eine andere kraniale Neuritis auf (Evison et al. 2005).

### **Stadium III – Spätmanifestation**

Von Spätmanifestationen der LB spricht man, wenn klinische Veränderungen Monate bis Jahre nach dem Zeckenstich auftreten. Es handelt sich hierbei vor allem um chronische Arthritiden (insbesondere der Knie (Shapiro und Gerber 2000)) und als Hautmanifestation kann die ACA auftreten.

Bei der ACA handelt es sich um rote bis rot-blaue Läsionen mit pergamentpapierartiger Ausdünnung der Haut, die typischerweise über den Extensoren der Extremitäten liegen. Im zeitlichen Verlauf werden die Läsionen atroph, insbesondere über Knochenvorsprüngen. Eine Induration der Haut ist möglich (Müllegger 2004).

Eine späte Neuroborreliose, die meist innerhalb von zwei bis drei Jahren nach Zeckenstich auftritt, ist gekennzeichnet durch eine langanhaltende Enzephalitis, Enzephalomyelitis, Meningoenzephalitis oder Radikulomyelitis (Evison et al. 2005).

### **Post-Lyme-Syndrom und chronische Lyme-Borreliose**

In der Regel verschwinden die objektivierbaren Symptome der LB wie EM, Meningitis oder Arthritis nach oder während der antibiotischen Behandlung. Auch die begleitenden subjektiven Erscheinungen verschwinden normalerweise im Zuge dessen. Nichtsdestotrotz beklagen manche Patienten auch langfristige ( $\geq 6$  Monate andauernde) Symptome wie Müdigkeit, muskuloskelettale Schmerzen, Konzentrationsschwierigkeiten und Erinnerungsschwäche (Cerar et al. 2010; Steere et al. 2016). Dies wird als Post-Lyme-Syndrom bezeichnet (Wormser et al. 2006; Klempner et al. 2001). Über die Ätiologie dieses Syndroms ist noch nichts Näheres bekannt.

Um von einem Post-Lyme-Syndrom sprechen zu können, muss eine frühere LB klinisch oder durch Laboruntersuchungen bestätigt sein, eine antibiotische Therapie adäquat durchgeführt worden sein, darf keine Evidenz für eine aktive Infektion vorliegen und andere neurologische, rheumatologische und internistische Erkrankungen, ebenso wie psychiatrische und Sucht-Erkrankungen müssen sicher ausgeschlossen sein. Liegen nun, mehr als sechs Monate nach Abschluss der Therapie, den Patienten in seinen täglichen Aktivitäten beeinträchtigende Symptome wie Müdigkeit, Arthralgien, Myalgien, kognitive Dysfunktion und/oder radikuläre Beschwerden vor, ist die Definition des Post-Lyme-Syndroms nach Evison et al. erfüllt (Evison et al. 2005).

Auch der Begriff „chronische Lyme-Borreliose“ wird verwendet, welcher allerdings nur unzureichend definiert ist und allzu oft für Patienten mit nichterklärlichen Symptomen, deren Ursache nicht gefunden werden kann, verwendet wird (Feder et al. 2007). Inwiefern die Erkrankung aufgrund der Erregerpersistenz chronifizieren kann, wird kontrovers diskutiert und ist nicht abschließend geklärt (Asch et al. 1994; Cameron 2010; Feder et al. 2007).

Die größte Kritik an der Diagnose „chronische Lyme-Borreliose“ besteht darin, dass die antibiotische Therapie einer Erkrankung bei einem Patienten ohne klare Zeckenexposition, dessen Laborergebnisse einen Borrelien-Kontakt nicht eindeutig nachweisen und der nur oberflächlich klinisch untersucht wurde, dem Antibiotika-Minimierungskonzept entgegensteht (Steere 1993b; Reid et al. 1998).

**Tabelle 4:** Die humane Lyme-Borreliose als Multisystemerkrankung

Quelle: modifiziert nach Epidemiologisches Bulletin 17/2019 (Robert Koch-Institut (RKI) 2019)

Stadium	Auftreten nach Zeckenstich	Hautmanifestation	neurologische Manifestation	andere Manifestation
Lokalisierte Früh-manifestation	nach Tagen bis Wochen	Erythema migrans, Borrelien-Lymphozytom		
Disseminierte Früh-manifestation	nach Wochen bis Monaten	multiple Erythemata migrantia, multiple Borrelien-Lymphozytome	frühe Neuroborreliose	Lyme-Karditis; frühe Lyme-Arthritis; sehr selten Augenbeteiligung
Spät-manifestation	nach Monaten bis Jahren	Acrodermatitis chronica atrophicans	späte Neuroborreliose	chronische Lyme-Arthritis

### 2.3.3.2 Lyme-Borreliose in der Veterinärmedizin

Auch in der Veterinärmedizin sind Infektionen mit Erregern des *Bbsl*-Komplexes beschrieben (Lissman et al. 1984; Burgess 1988a; Cohen et al. 1988; Appel 1990; Magnarelli et al. 1990). Ein mit dem Menschen vergleichbarer Krankheitsverlauf und vergleichbare klinische Manifestationen der *Bbsl*-Infektion, sind allerdings lediglich bei nicht-humanen Primaten beschrieben worden (Pachner et al. 1995; Embers et al. 2017; Philipp und Johnson 1994). Bei den anderen (Haus-)Säugetieren ist keine vergleichbare Pathogenese mit voneinander abgrenzbaren Phasen feststellbar.

Experimentell erfolgreich infiziert wurden bislang Mäuse (Burgess et al. 1986a; Moody et al. 1994), Ratten (Moody et al. 1990b), Hamster (Johnson et al. 1988), Kaninchen (Moody et al. 1990a), Gerbils (Mursic et al. 1990), Hunde (Wasmoen et al. 1992; Appel et al. 1993; Burgess 1986; Cerri et al. 1994), Katzen (Burgess 1992; Gibson et al. 1995), Pferde (Burgess und Gendron-Fitzpatrick 1990; Chang et al. 2000b) und Affen (Pachner et al. 1995).

Untersuchungen an Schafen und Rindern (Burgess 1988b; Käsbohrer und Schönberg 1990; Liebisch et al. 1990; Hovmark et al. 1986; Blowey et al. 1994) bestätigen das Vorkommen von mit *Bbsl*-infizierten Zecken unter den Hauswiederkäuern in Amerika und Europa, wobei gezeigt werden konnte, dass beim Saugakt subadulter Zecken an Wiederkäuern einen zooprophyktischen Effekt im Sinne einer Erregereliminierung hatte (Richter und Matuschka 2010, 2006a).

Die Klinik und Pathogenese der *Bbsl*-Infektion ist in der Veterinärmedizin am eingehendsten für den Hund beschrieben (Kapitel 2.3.3.2.1). Beim Pferd sind nur einzelne Erkrankungsfälle der equinen LB beschrieben, für die ein Zusammenhang von Ätiologie und klinischer Erkrankung erkennbar ist (Kapitel 2.3.3.2.2).

### 2.3.3.2.1 Canine Lyme-Borreliose

Obwohl man davon ausgehen kann, dass in Deutschland 2-20 % aller Hunde Kontakt mit Borrelien hatten, werden nur bei wenigen klinische Veränderungen beobachtet (Krupka et al. 2007; Barth et al. 2012). In zwei Feldstudien aus den 90er Jahren, entwickelten nur etwa 5 % der Hunde klinische Veränderungen (Levy und Magnarelli 1992). Bei experimentell infizierten Hunden ist der Anteil der Tiere, die ein klinisches Krankheitsbild entwickeln, mit bis zu 75 % deutlich höher (Appel et al. 1993; Straubinger et al. 1998; Chandrashekar et al. 2017; Chang et al. 2001).

Beim Hund kann im Gegensatz zum Menschen nach einem Zeckenstich einer mit Erregern des *Bbsl*-Komplexes infizierten Zecke kein EM beobachtet werden (Straubinger et al. 1997b). Die dennoch häufig auftretenden Rötungen, Schwellungen und Hautreizungen sind vermutlich durch lokale Entzündungsreaktionen bedingt (Straubinger et al. 1998; Krupka et al. 2009).

In der Frühphase der Infektion zeigen die betroffenen Hunde Inappetenz, Mattigkeit, regionale Lymphknotenschwellung sowie in seltenen Fällen Fieber bis 40,5 °C; allesamt antibiotika-responsive Symptome (Appel 1990; Straubinger et al. 2000).

Im Verlauf der Infektion wandert der Erreger von der Einstichstelle in das nächstgelegene Gelenk und es können Arthritiden entstehen. Die vermehrt gefüllten Gelenke führen zu Bewegungsunlust und akut auftretenden, teils auch wechselnden und in Schüben verlaufenden Lahmheiten. Dies wurde experimentell bestätigt (Straubinger et al. 1997a; Susta et al. 2012). In zwei Fällen wurde auch eine rheumatoide Arthritis bei Hunden infolge eines Zeckenstiches beschrieben (Roush et al. 1989).

Eine Rasseprädisposition (Wilkling und Stark 2014; Preyß-Jägeler et al. 2016) der Rassen Golden Retriever, Labrador und Berner Sennenhunde für einen schwerwiegenden, teils auch tödlichen Verlauf mit Nierenerkrankungen (Glomerulonephritis, akutes Nierenversagen) ist im Rahmen der caninen LB beschrieben (Dambach et al. 1996; Gerber et al. 2007; Grauer et al. 1988). Eine experimentelle Reproduktion der renalen Veränderungen durch Infektionsversuche konnte bislang aber nicht erbracht werden. Außerdem ist noch unklar, inwiefern Borrelien in der Niere unmittelbare Auslöser der Veränderungen sind oder ob immunpathologische Prozesse eine Rolle spielen (Hutton et al. 2008).

Neurologische Manifestationen (Azuma et al. 1993; Detmer et al. 2016) und Myokarditiden (Levy und Duray 1988) sind beim Hund sehr selten beschrieben und bakteriologisch bislang nicht bestätigt worden (Tabelle 5). Eine orbitale Myositis wurde bei einem Hund beschrieben (Raya et al. 2010). Koinfektionen mit anderen zecken-übertragenen Erregern können auch beim Hund das klinische Bild verschlimmern und die Diagnostik verkomplizieren (Beall et al. 2008).

**Tabelle 5:** Klinisches Bild der Lyme-Borreliose beim Hund

Quelle: nach GuideLyme 2019

Kategorie (Häufigkeit)	Klinik	Kinetik der Infektion
Allgemeine klinische Veränderungen (häufig)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lethargie</li> <li>• (mäßiges) Fieber</li> <li>• Bewegungsunlust</li> <li>• Anorexie</li> </ul>	früh, spät
Orthopädische Probleme (häufig)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• intermittierende Lahmheit eines oder mehrerer Beine</li> <li>• Mono- oder Oligoarthritis mit Gelenkschwellung</li> </ul>	früh, spät
Renale Probleme (atypisch)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• periphere Ödeme</li> <li>• Aszites</li> <li>• Erbrechen</li> <li>• Azotämie, Proteinurie</li> </ul>	spät
Kardiale Probleme (selten)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arrhythmie</li> <li>• blasse Schleimhäute, Pulsdefizit, verzögerte kapilläre Rückfüllzeit</li> </ul>	intermediär, spät

### 2.3.3.2.2 Equine Lyme-Borreliose

#### 2.3.3.2.2.1 Experimentelle Infektionen mit Vertretern des *Bbsl*-Komplexes bei Pferden

Die Pathogenität von Vertretern des *Bbsl*-Komplexes konnte bei Pferden im experimentellen Modell nachvollzogen werden. In Infektionsversuchen wurden unter anderem Erkenntnisse über die Ausbildung einer Immunantwort von Pferden gegenüber Borrelien und Ausprägungen pathohistologischer Befunde im Rahmen der Infektion gewonnen (Chang et al. 2000b, 2000c). Einheitliche klinische Veränderungen infolge der erfolgreichen Infektion außer leichten Hautläsionen an der Zeckenstichstelle und lokalen Lymphknotenschwellungen (Chang et al. 2000b), konnten bislang *in vivo* aber nicht reproduziert werden.

Insgesamt drei erfolgreiche Infektionsversuche wurden von Chang und Mitarbeitern an spezifisch-pathogenfreien Ponys mit adulten, borrelienlastigen *I.-scapularis*-Zecken durchgeführt und mittels indirekter Antikörper-Nachweismethoden die Serokonversion bestätigt (Chang et al. 2000b, 2000c; Chang et al. 2005).

Bei einem der experimentell infizierten Ponys wurde neun Monate *post infectionem* eine Neuritis des Fazialis-, des Tibialis- und des Fibularisnervs an jener Körperseite, an der die infizierte Zecke gesaugt hatte, festgestellt. *Post mortem* konnten Borrelien im Nervengewebe, aber auch in Hautproben und Gelenkkapseln isoliert werden (Chang et al. 2000b).

Burgess und Gendron-Fitzpatrick erhoben *post mortem* pathohistologische Befunde bei intravenös mit *Bbss* infizierten Ponys, wobei Läsionen der Synovialmembran mit perivaskulären Leukozytenansammlungen und lymphoplasmazelluläre perivaskuläre

Infiltrationen in Herz, Leber, Lunge und Nieren gefunden wurden (Burgess und Gendron-Fitzpatrick 1990).

Pathohistologische Veränderungen können also nachgewiesen werden, aber solange die klinischen Veränderungen nicht experimentell reproduziert werden können, bleibt der Zusammenhang zwischen einer *Bb*-Infektion und der klinischen Erkrankung spekulativ.

#### **2.3.3.2.2 Beispiele für in der Literatur beschriebene klinische Befunde im Rahmen einer equinen Lyme-Borreliose**

Obwohl es bislang nicht gelang ein homogenes Krankheitsbild der equinen LB zu definieren (Divers 2013), existieren Fallberichte, die einen Zusammenhang mit Borrelieninfektionen vermuten lassen. Eine equine Borrelieninfektion wurde erstmals 1986 bei einer zwölfjährigen Shetlandpony-Stute aus Wisconsin, USA postuliert. Die Stute zeigte eine sich in einer Lahmheit äußernde degenerative Entzündung des Karpalgelenks und eine Keratitis und Konjunktivitis und Serum- und Synoviaprobe ergaben im Immunfluoreszenz-Assay-Test (IFAT) einen *Bb*-AK-Titer von 1:1.024. *Post mortem* wurden in der linken vorderen Augenkammer mikroskopisch Spirochäten nachgewiesen, die in der direkten Immunfluoreszenz als Borrelien klassifiziert wurden (Burgess et al. 1986b).

Ein breites Spektrum verschiedener klinischer Veränderungen wurden im Zusammenhang mit der LB beim Pferd beschrieben, wobei die Validität der Laboranalytik zum Nachweis der Infektion bei den einzelnen Fallbeispielen unterschiedlich zu werten ist. Da in endemischen Regionen die Seroprävalenzen der equinen LB hoch sind und gleichzeitig mögliche klinische Fälle nicht eindeutig auf eine *Bb*-Infektion zurückzuführen sind, ist die equine LB eine kontrovers diskutierte Erkrankung (Bartol 2013).

Am häufigsten wurden gleichzeitig auf mehr als einer Gliedmaße auftretende Lahmheiten, Muskelverspannungen und -schmerzen, Hyperästhesien, niedriges Fieber, Lethargie und Verhaltensauffälligkeiten im Zusammenhang mit der equinen LB beschrieben (DeVilbiss et al. 2009; Burgess und Mattison 1987; Magnarelli et al. 1988; Browning et al. 1993; Hahn et al. 1996). Auch Störungen des Allgemeinbefindens, Arthritiden, neurologische Störungen, dermatologische und ophthalmologische Manifestationen (Uveitis, Konjunktivitis), sowie Aborte und Störungen der Fruchtbarkeit wurden beschrieben (Burgess et al. 1986b; Burgess et al. 1988; Burgess 1988b; Cohen et al. 1988; Burgess und Gendron-Fitzpatrick 1990; Sorensen et al. 1990; Cohen et al. 1992; Eisner et al. 1994; Gerhards und Wollanke 1996; Liebisch et al. 1999; Egenvall et al. 2001; Manion et al. 2001; Salinas-Meléndez et al. 2001; Schönert et al. 2008; James et al. 2010; Imai et al. 2011; Priest et al. 2012; Sears et al. 2012; Passamonti et al. 2015; Johnstone et al. 2016).

Eine vertikale Erregerübertragung wird diskutiert (Burgess et al. 1988; Sorensen et al. 1990). Eine Studie zeigte, dass Fruchtresorptionen und Frühaborte bei seropositiven Stuten signifikant häufiger vorkamen als bei seronegativen Stuten (Sorensen et al. 1990). Deutliche Gelenkschwellungen, wie sie beim Menschen beschrieben sind, werden bei den Pferden selten beobachtet (Divers 2013).

Eine Kohorte von 50 Pferden aus Deutschland, die aufgrund eines klinischen LB-Verdachtens untersucht wurden, zeigte am häufigsten ophthalmologische Veränderungen (42 %), gefolgt von unspezifischen, generalisierten klinischen Veränderungen (24 %; Fieber, Kachexie, Leistungsabfall, Lethargie), Gelenkerkrankungen (12 %), Lahmheiten (10 %), neurologischen (6 %) und dermatologischen (4 %) Veränderungen (Liebisch und Liebisch 1997).

In einer Studie wurde die LB (durch Serologie oder Spirochätämie bestätigt) bei Pferden mit Lahmheit und/oder Verhaltensänderungen häufiger gesehen als bei Pferden derselben Region ohne klinische Anzeichen einer Erkrankung (Manion et al. 1998a). Am häufigsten scheint die Diagnose „equine LB“ im Sportpferdebereich gestellt zu werden. Dies kann damit zusammenhängen, dass subtile Änderungen wie Steifheit und Hyperästhesie bei diesen Pferden schneller und leichter bemerkt werden (Divers 2013).

Browning und Mitarbeiter beobachteten bei einem Pferd eine unerklärbare Lahmheit mit Fieber, Ataxie und Steifheit der Hintergliedmaßen, Gelenkschwellung, Hautveränderungen und Konjunktivitis. Der Patient hatte vorberichtlich Zeckenkontakt, einen hochpositiven ELISA-Antikörpertiter gegen *Bb* und reagierte zeitnah positiv auf eine antibiotische Behandlung mit Oxytetracyclin (Browning et al. 1993).

Fälle einer „Neuroborreliose“ beim Pferd mit Meningoradikuloneuritis und peripherer Neuropathie wurden vereinzelt beschrieben (Hahn et al. 1996; Imai et al. 2011; Divers 2013; Johnstone et al. 2016). Als klinische Veränderungen wurden Muskelatrophien im Lendenbereich, Ataxie, Schmerzhaftigkeit im Rücken, Bewegungseinschränkungen der Halswirbelsäule und Schmerzen im Genickbereich sowie Gehirnnervenausfälle diagnostiziert. Eine pathohistologische Untersuchung dieser Patienten *post mortem* ergab eine chronische perivaskuläre bis diffuse Meningoradikuloneuritis (Imai et al. 2011) und eine Gefäßsklerose mit pleozellulären entzündlichen Infiltraten (Johnstone et al. 2016).

118 Proben aus an Equiner Rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankten Augen von 88 Pferden wurden mittels real-time PCR auf Borrelien untersucht. In keiner einzigen Probe war der Borrelien-spezifische DNA-Nachweis erfolgreich (Wollanke et al. 2017).

Variationen des klinischen Bildes, insbesondere hohes Fieber und Gliedmaßenödeme, die teilweise im Zusammenhang mit positiven *Bb*-Antikörpertitern beobachtet wurden, dürften meist die Folge einer Koinfektion mit *Ap* sein (Chang et al. 2000a; Magnarelli et al. 2000; Butler

et al. 2005). Eine schwedische Studie fand bei 4,5 % der im Jahr 2001 untersuchten Pferde Antikörper gegen beide Erreger (Egenvall et al. 2001).

Als Differentialdiagnosen zur LB sollten neben der EGA, auch eine Vaskulitis, immunmedierte Arthritiden und andere Ursachen neurologischer Erkrankungen in Betracht gezogen werden (Reed et al. 2017).

#### **2.3.3.2.2.3 Fallberichte einer equinen Lyme-Borreliose mit Bestätigung durch direkte Nachweismethoden**

Trotz der häufig klinisch inapparenten Verläufe bei Infektionen mit Erregern des *Bbsl*-Komplexes (Venner und Deegen 1996), existieren auch Beschreibungen klinischer Verdachtsfälle, bei denen der direkte Erregernachweis mittels Kultivierung (Burgess und Mattison 1987; Manion et al. 1998b; Liebisch et al. 1999) bzw. Polymerase-Kettenreaktion (PCR) gelang (Hahn et al. 1996; Schönert et al. 2008; James et al. 2010; Imai et al. 2011; Priest et al. 2012; Sears et al. 2012; Johnstone et al. 2016; Sommerauer et al. 2019; Wagner et al. 2011b) (Tabelle 6).

Einige Publikationen sind allerdings aufgrund der untergeordneten Aussagekraft der verwendeten Tests, wie einer isolierten PCR-Untersuchung ohne ergänzende Nachweisverfahren (Kapitel 2.3.4.2.2), die eine stattgefundenen Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Erreger beweisen würden (Imai et al. 2011; Priest et al. 2012; Sommerauer et al. 2019) und der Schwierigkeit der Anzucht von Borrelien (Karlsson et al. 1990) (Kapitel 2.3.4.2.1) aufgrund der meist geringen Erregerdichte im Gewebe (Burgess und Mattison 1987; Liebisch et al. 1999) infrage zu stellen. Auch die fehlende Angabe konkreter Vorgehensweisen in der Diagnostik erlaubt das Anzweifeln der Ergebnisse (Burgess und Mattison 1987; Liebisch et al. 1999).

Im Jahr 2012 wurde der erste Fall eines LB-assoziierten, kutanen Pseudolymphoms beim Pferd beschrieben, bei dem auch der direkte Erregernachweis mittels PCR aus einem Hautbioptat nahe des Zeckenstiches gelang. Bei dem Patienten waren drei Monate nach einem Zeckenstich in der Region des *Musculus masseter*, multiple Papeln in eben jener Region aufgefallen. Der Patient hatte einen positiven *Bb*-Serotiter und sprach gut auf Doxycyclin an (Sears et al. 2012).

An der Pferdeklinik der Universität Wien wurde ein dreizehnjähriger Warmblutwallach mit hochgradiger Hinterhandlahmheit, Muskelatrophie und Gewichtsverlust über drei Monate vorgestellt. Außerdem zeigte das Pferd Stupor, Laryngitis, eine linksseitige Hyperästhesie am dorsalen Rumpf und Gelenkschwellungen mehrerer Gelenke. Die Synovia wurde positiv auf *Bbss*-DNA getestet. Da das Pferd ebenfalls eine anteriore Uveitis des rechten Auges und eine Panuveitis des linken Auges zeigte, wurde zusätzlich Augenkammerwasser untersucht. Auch

hier gelang der PCR-DNA-Nachweis von Borrelien (*B. afzelii*). Nach einer oralen Doxzyklin-Gabe über 6 Wochen, antiinflammatorischer Therapie und intravitrealer Injektion von niedrig-dosiertem Gentamicin verbesserte sich der Zustand des Pferdes initial und drei Monate nach Beginn der Therapie war kein *Bb*-Nachweis in der Synovia mehr möglich. Allerdings verstarb das Pferd zwölf Monate später nach einer rasanten erneuten Verschlechterung des Allgemeinzustandes (Sommerauer et al. 2019).

Ein vierzehnjähriger Vollblutwallach wurde aufgrund progressiver Schwächesymptomatik der Hintergliedmaße über sechs Monate am „New England Equine Medical and Surgical Center“ vorgestellt. Neben der Hinterhandschwäche fiel ein schlechter Ernährungszustand und eine Lahmheit des linken Vorder- und Hinterbeines, die auf eine Osteoarthritis zurückzuführen waren, auf. Das Pferd zeigte darüber hinaus eine Schmerzhaftigkeit im Rücken und eine eingeschränkte Halsbeweglichkeit sowie deutliche propriozeptive Defizite der Hinterhand. Die Liquor-Analyse zeigte eine lymphozytäre Pleozytose. Mittels Multiplexanalyse (Kapitel 2.3.4.3.5) konnten im Liquor Antikörper gegen OspA und im Serum und Liquor Antikörper gegen OspC detektiert werden. *Bb* in geringer Anzahl wurden auch mittels real-time PCR im Liquor bestätigt, was den Verdacht einer Neuroborreliose erhärtete. Das Pferd sprach gut auf Doxycyclin und antiinflammatorische Medikation an (Wagner et al. 2011b).

**Tabelle 6:** Fallberichte equine LB mit Bestätigung durch direkte Nachweismethoden

<b>Autor</b>	<b>nPatienten / Land (Region)</b>	<b>Jahr</b>	<b>Klinische Befunde</b>	<b>Erreger-nachweis / Serologie</b>	<b>Behandlung &amp; Verlauf</b>
<i>Burgess et al.</i>	1 USA (Wisconsin)	1986 (→ Erstbeschreibung)	rezidivierende Lahmheit, Gelenkschwellung, ulzerative Keratitis, Uveitis	IFAT: 1:1.024 in Blut und Synovia, Erreger im Auge	Euthanasie
<i>Burgess &amp; Mattison</i>	1 USA	1987	Schweiflähmung, Dysphagie, Enzephalitis, Kopfschiefhaltung, Drangwandern	IFAT: 1:2.048 im Blut, Erreger im Gehirn	Euthanasie
<i>Hahn et al.</i>	1 UK	1996	Uveitis, Ataxie, Hyperästhesie, Apathie, Anorexie, Fieber, Gelenkschwellung	PCR: Liquor pos.; ELISA: IgG-NW pos.	Oxytetracyclin; Rezidive; Euthanasie
<i>Schönert et al.</i>	1 Deutschland	2008	Ataxie, Kachexie, Masseteratrophie, Festliegen	ELISA & IFAT: negativ im Blut, PCR: Liquor pos.	Trimethoprim-Sulfadoxin; Euthanasie
<i>James et al.</i>	1 USA	2010	Nackensteifigkeit, Leistungsinsuffizienz, Lethargie	ELISA: pos. im Blut, PCR: Liquor pos.	Doxycyclin; Rezidiv; Euthanasie
<i>Wagner et al.</i>	1 UK	2011	Nackensteifigkeit, Hinterhandschwäche, Osteoarthritis, propriozeptive Defizite	PCR: Liquor pos., Multiplexanalyse: Liquor und Serum positiv	Doxycyclin; Genesung
<i>Imai et al.</i>	2 USA	2011	Lethargie, Gewichtsverlust Hyperästhesie, Rückenschmerzen,	<i>post mortem</i> Spirochäten- und <i>Bb</i> -Nachweis (Silber-	Trimethoprim-Sulfadoxin; Euthanasie

			Uveitis, Ataxie, Fazialisparese, Muskelatrophie	Imprägnierung, Immunhistochemie, PCR)	
<i>Priest et al.</i>	2 USA	2012	Uveitis, Muskelatrophie am Rumpf	PCR: Glaskörper pos.	Euthanasie
<i>Sears et al.</i>	1 USA	2012	kutanes Pseudolymphom	ELISA: hochpositiv im Blut; PCR: Hautbiopsie pos.	Doxycyclin; Genesung
<i>Johnstone et al.</i>	16 USA	2016	Muskelatrophie, Gewichtsverlust, Gehirnnervenausfälle Ataxie, Verhaltensänderungen, Dysphagie, Faszikulationen, Genicksteifheit, Atemnot, Uveitis, Fieber, Gelenkschwellungen, Herzarrhythmien	PCR: Liquor (n=7) negativ, Augenkammerwasser (n=1) pos.	Euthanasie
<i>Sommerauer et al.</i>	1 Deutschland	2019	Hinterhandlahmheit, Muskelatrophie, Gewichtsverlust, Stupor, Laryngitis, Hyperästhesie, Gelenkschwellungen, Uveitis	PCR: Synovia, Kammerwasser	Doxycyclin oral, intravitreale Injektion von Gentamicin, Tod nach 12 Monaten

#### 2.3.3.2.4 Seroepidemiologische Studien zur equinen Lyme-Borreliose

Seroepidemiologische Studien zeigen unterschiedliche Seroprävalenzen (Tabelle 7), abhängig davon, ob es sich um Endemiegebiete von infizierten *Ixodes*-Zecken handelt.

Es wird kontrovers diskutiert, ob ein hoher Antikörpertiter im Blut mit klinischen Veränderungen korreliert (Burgess 1988a; Magnarelli et al. 1988; Magnarelli und Anderson 1989; Browning et al. 1993; Liebisch et al. 1999; Manion et al. 2001; Durrani et al. 2011; Laus et al. 2013; Funk et al. 2016; Lindenmayer et al. 1989; Maloney und Lindenmayer 1992) oder ob kein Zusammenhang belegt werden kann (Marcus et al. 1985; Cohen et al. 1988; Bernard et al. 1990; Käsbohrer und Schönberg 1990; Cohen et al. 1992; Tasai et al. 1993; Carter et al. 1994; Gerhards und Wollanke 1996; Magnarelli et al. 2000; Štefančíková et al. 2000; Štefančíková et al. 2008; Egenvall et al. 2001; Salinas-Meléndez et al. 2001; Müller et al. 2002; Schönert et al. 2002; Bhide et al. 2008; Hansen et al. 2010; Kiss et al. 2011; Ebani et al. 2012; Veronesi et al. 2012; Lee et al. 2016; Meersschaert et al. 2016).

**Tabelle 7:** Überblick seroepidemiologische Studien zur equinen LB

Autor	Publikations-Jahr	nPatienten	Methodik	Bb-Befund	Land (Region)
<i>Marcus et al.</i>	1985	50	IFAT	24 % positiv (≥ 1:8)	USA (New England), Endemiegebiet
		50	IFAT	2 % positiv (≥ 1:8)	USA (New England), nicht

Literaturübersicht

					endemisches Gebiet
<i>Burgess et al.</i>	1988	190	IFAT	62 % positiv ( $\geq 1:128$ )	USA (WI)
			Kultur	6 % positiv	
<i>Cohen et al.</i>	1988	180	ELISA	60 % positiv	USA (zentrales NJ, Endemiegebiet)
		57	ELISA	12 % positiv	USA (südliches NJ)
		20	ELISA	10 % positiv	USA (PA)
<i>Magnarelli et al.</i>	1988	705	IFAT	5,3 % IgM-AK-, 12,8 % IgM- & IgG-AK- positiv	USA (CT, NY)
<i>Lindenmayer et al.</i>	1989	19 (1987)	IFAT	74 % positiv	USA (MA)
		61 (1988)	IFAT	75 % positiv	
<i>Magnarelli &amp; Anderson</i>	1989	122	ELISA	34 % positiv	USA (CT)
<i>Bernard et al.</i>	1990	100 (Juni)	ELISA	13 % positiv	USA (NJ, PA, NY, MD, DE, VA, FL)
		91 (Oktober)	ELISA	6 % positiv	
<i>Carter et al.</i>	1994		ELISA, Western-blot	max. 2 % positiv für IgM-, bis zu 36% positiv für IgG-AK	UK (verschiedene Regionen)
<i>Doby et al.</i>	1987	$n_{\text{ges}} = 400$ Pferde häufig im Wald	IFAT	52 % positiv	Frankreich (Bretagne)
		Pferde selten im Wald	IFAT	23,7 % positiv ( $\geq 1:128$ )	
<i>Käsbohrer &amp; Schönberg</i>	1990	224	IFAT	alle negativ ( $< 1:128$ )	Deutschland (Berlin)
			ELISA	16,1 % positiv	
<i>Cohen et al.</i>	1992	469	ELISA	1,9 % positiv	USA (TX)
<i>Maloney &amp; Lindenmayer</i>	1992	273	ELISA	35,5 % positiv	USA (MA)
<i>Browning et al.</i>	1993	123 (klinisch unauffällig)	ELISA	4 % positiv	UK
		43 (klinisch auffällig)	ELISA	49 % positiv	
<i>Tasai et al.</i>	1993	549 (1991)	ELISA	2,6 % positiv	Japan
		700 (1992)	IFAT	4,6 % positiv ( $\geq 1:32$ )	
<i>Wollanke</i>	1995	232	IFAT	48 % positiv ( $\geq 1:64$ ) bzw. 27 % ( $\geq 1:128$ )	Deutschland
<i>Liebisch et al.</i>	1999	1.492	IFAT	47,9 % positiv	Deutschland
<i>Magnarelli et al.</i>	2000	82	ELISA, IFAT, Immuno-blot	45,1 % positiv	USA (CT)

Literaturübersicht

Štefančíková et al.	2000	207	ELISA	47,8 % positiv	Ostslowakei
Egenvall et al.	2001	2.018	IFAT	16,8 % positiv	Schweden
Salinas-Meléndez et al.	2001	100	IFAT, Immuno-blot	34 % positiv	Mexico (Monterrey, Nuevo León)
Müller et al.	2002	309	Immuno-blot	<i>B. afzelii</i> : 52-93 %, <i>Bbss</i> : 39-93 %, <i>B. garinii</i> : 31-84 %, <i>B. lusitaniae</i> : 17-72 %, <i>B. valasiana</i> : 15-84 % positiv	Österreich
Schönert et al.	2002	337	ELISA	<i>B. afzelii</i> : 61,1 %, <i>Bbss</i> : 9,8 %, <i>B. garinii</i> : 3,3 % positiv	Deutschland
			IFAT	<i>B. garinii</i> : 33,2 % positiv	
Bhide et al.	2008	300	BAT	6,3 % positiv	Türkei
			ELPAGA	6 % positiv	
Štefančíková et al.	2008	395	ELISA	25,6 % positiv	Polen
Maurizi et al.	2009	408	SNAP® 4Dx	13,5 % positiv	Frankreich
		113	SNAP® 4Dx	0 % positiv	Afrika
Hansen et al.	2010	390	SNAP® 4Dx	29 % positiv	Dänemark
Durrani et al.	2011	1.260	IFAT	58,7 % positiv	USA (MN)
Kiss et al.	2011	260	ELISA, IFAT	11,9 % positiv	Rumänien
Ebani et al.	2012	386	IFAT	24,3% positiv	Italien (Toskana)
Veronesi et al.	2012	98	SNAP® 4Dx	15,3 % positiv	Italien (Latium)
			PCR	5,1 % positiv	
Laus et al.	2013	300	IFAT	7 % positiv	Italien (Umbrien, Latium, Marken)
			PCR	2,3 % positiv	
Schvartz et al.	2015	376	SNAP® 4Dx	1,6 % positiv	Kanada
Funk et al.	2016	250	Lyme Multiplex Assay	33 % positiv	USA (VA)
Lee et al.	2016	727	SNAP® 4Dx	5,5 % positiv	Korea
			PCR	0 % positiv	
Meersschaert et al.	2016	303	ELISA, IFAT, Immuno-blot	22 % positiv	Belgien (Norden)

<i>Palm</i>	2016	169	Virotech-ELISA	6-7 % positiv	Deutschland (Bayern)
			Virotech-Blot (LIA):	0-2 % positiv	
			Mikrogen-Blot:	64 % positiv	
<i>Cerri et al.</i>	2017	303	ELISA	22 % positiv	Belgien (Süden)
<i>Socoloski et al.</i>	2017	367	ELISA	54 % positiv	Brasilien (Mato Grosso State)
			PCR (n=89)	0 % positiv	
<i>Fritz</i>	2018	2.102	KELA, Immuno-blot, SNAP® 4Dx	14,5 % positiv	Deutschland (+ Schweden, Schweiz)

IFAT = Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test, ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay, BAT = (flow-cytometry-based) borreliacidal antibody test, ELPAGA = enzyme-linked protein A/G assay, KELA = kinetischer ELISA, PCR = Polymerase-Kettenreaktion, AK = Antikörper, UK = Großbritannien, USA = Vereinigte Staaten von Amerika, CT = Connecticut, DE = Delaware, FL = Florida, MA = Massachusetts, MD = Maryland, MN = Minnesota, NJ = New Jersey, NY = New York, PA = Pennsylvania, TX = Texas, VA = Virginia, WI = Wisconsin.

## 2.3.4 Diagnostik der equinen Lyme-Borreliose

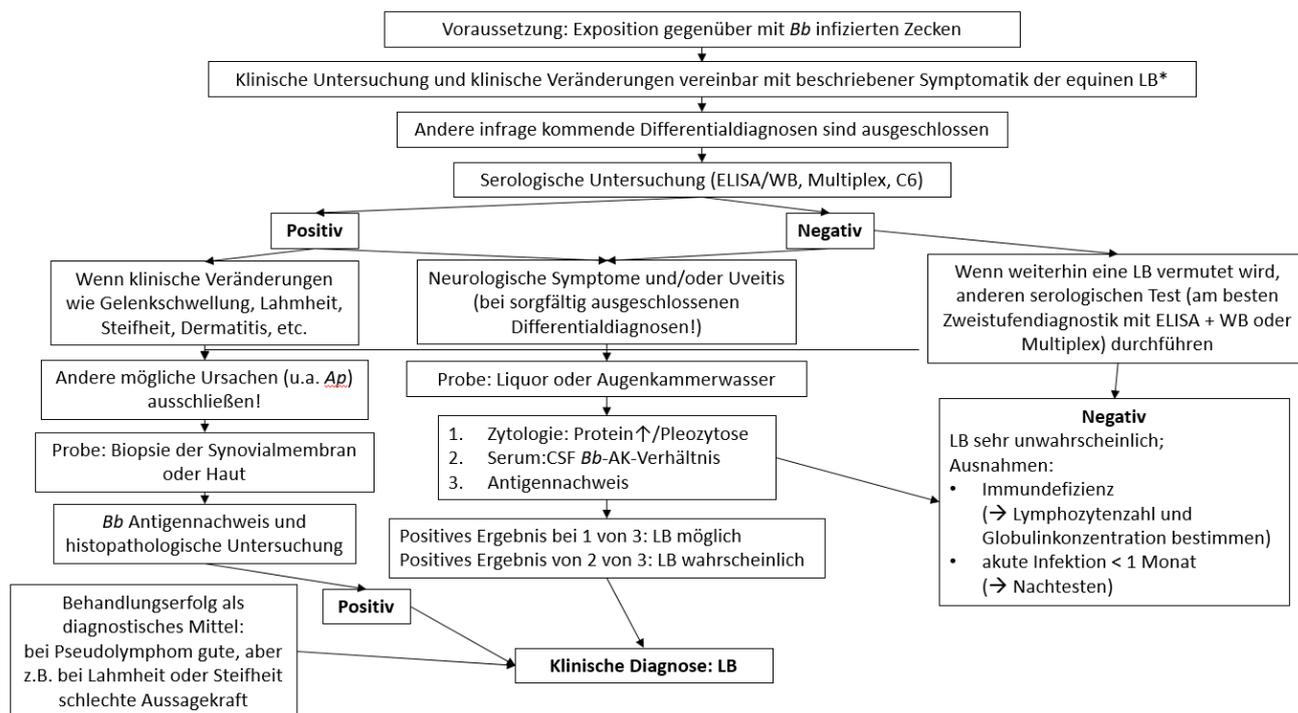
### 2.3.4.1 Anamnese & klinische Veränderungen in der Borreliosedagnostik

Eine Diagnose allein anhand klinischer Veränderungen, wie beim EM des Menschen (Stanek et al. 2012), ist beim Pferd aufgrund deren Variabilität nicht möglich (Johnson et al. 2008; Divers 2013). In Kombination mit anamnetischen Befunden ist lediglich eine Verdachtsdiagnose auszusprechen (Abbildung 7). Da auch subklinische Krankheitsverläufe möglich sind (Post et al. 1987; Cohen et al. 1992; Manion et al. 1998b; Divers 2013), sind stets weiterführende labordiagnostische Untersuchungen zum Nachweis einer Infektion erforderlich (Schönert 2004).

Im Rahmen des Vorberichts sollten neben klinischen Erscheinungen, das Risiko der Zeckenexposition, ein Aufenthalt in Endemiegebieten, eine mögliche Impfung gegen die LB und Vorbehandlungen mit Antibiotika erfasst werden (Fritz und Kjemtrup 2003; Butler et al. 2005; Divers 2013). Die Anamnese ist für die Diagnose von grundlegender Bedeutung (Straubinger 2015b), vor allem auch, um andere Differentialdiagnosen auszuschließen (Divers et al. 2001).

Je unspezifischer die vorliegende Symptomatik, desto geringer ist die a-priori-Wahrscheinlichkeit der Diagnose einer Lyme-Borreliose und desto geringer wird der positive prädiktive Wert der mikrobiologischen Untersuchungsverfahren (Fingerle et al. 2017). Wesentliche Punkte des Vorberichts und des klinischen Bildes, die erfüllt sein sollten, um weitere Diagnostik einzuleiten, sind folgende: das Pferd sollte eine Zeckenexposition erfahren haben und die klinischen Veränderungen sollten mit dem in der Literatur beschriebenen Bild

der Lyme-Borreliose beim Pferd vereinbar und Differentialdiagnosen ausgeschlossen sein (Ständige Impfkommission Veterinärmedizin 2019).



\* Dokumentierte Syndrome (Neuroborreliose, Uveitis, Pseudolymphom der Haut) versus bislang nicht evidenzbasierte, aber regelmäßig beobachtete Symptome im Zusammenhang mit einer vermuteten LB wie Lahmheit, geschwollene Gelenke und Sehnscheiden, Myokarditis, Arrhythmien...

**Abbildung 7:** Vorgeschlagenes Vorgehen für die *ante mortem* Diagnose der LB beim Pferd  
Quelle: angelehnt an Consensus Statement, Divers et al. 2018

### 2.3.4.2 Direkter Erregernachweis bei Lyme-Borreliose

Als direkte Erregernachweisverfahren stehen der kulturelle Erregernachweis unter mikroskopischer Kontrolle und Antigennachweise in Form von Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken, insbesondere die PCR (Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion), zur Verfügung. Direkte Erregernachweisverfahren sollten vor Antibiotikagabe zum Einsatz kommen (Fingerle et al. 2017).

#### 2.3.4.2.1 Kultivierung und Mikroskopie

Der Goldstandard der Infektionsdiagnostik ist der direkte Erregernachweis durch Isolation und Nachweis des Erregers in der Kultur. Im Falle der LB ist der kulturelle Erregernachweis zwar durchführbar (Fritz und Kjemtrup 2003), er spielt in der Routinediagnostik aber nur eine untergeordnete Rolle, da die Erregermengen in den verwendbaren Proben sehr gering sind (Magnarelli et al. 2000) und die Kultivierung von *Bbsl* durch hohe Ansprüche an Wachstumsbedingungen und verwendete Medien schwierig ist (Schönert et al. 2002). Ein Direktnachweis ohne Kultivierung ist ebenfalls, aufgrund der geringen Keimdichte, nicht möglich (Fingerle et al. 2017). Der mikroskopische Erregernachweis nach Kultivierung ist

speziellen Indikationen, z.B. der Klärung klinisch und serologisch nicht eindeutiger Befunde vorbehalten (Fingerle et al. 2017) und kommt nur in spezialisierten Laboren und in der Forschung zum Einsatz (Wilske und Fingerle 2005).

Für den kulturellen Erregernachweis sollten alle Materialien (Liquor, Hautbiopsie, Gelenkpunktat, Synovialisbiopsie) das Labor möglichst rasch erreichen; idealerweise innerhalb von zwei bis vier Stunden. Die Synovialisbiopsie ist dem Gelenkpunktat vorzuziehen (Fingerle et al. 2017). Nichtsdestotrotz kann die Sensitivität trotz hoher Spezifität zu gering sein, wenn im Probenmaterial zu wenig Borrelien vorhanden sind, wie es unter Feldbedingungen oft der Fall ist (Krupka et al. 2012). Optimal wäre eine Probe vom Bereich rund um die Zeckenstichstelle. Ein Erregernachweis aus dem Blut oder Urin ist in seltenen Fällen auch möglich (Manion et al. 1998b; Liebisch et al. 1999; Chang et al. 2000c). Grundsätzlich sind Körperflüssigkeiten wie Blut, Synovialflüssigkeit, Urin oder Zerebrospinalflüssigkeit aufgrund des überaus seltenen Erregervorkommens als Probenmaterial nicht geeignet (Barbour 1984).

Als Anzuchtmedium werden das 1984 von Barbour beschriebene Barbour-Stoenner-Kelly (BSK)- sowie das nach Preac-Mursic modifizierte Modifizierte Kelly (MKP)-Medium verwendet (Barbour 1984; Munderloh et al. 1988; Preac-Mursic et al. 1991; Berger et al. 1992; Pollack et al. 1993). Optimale Wachstumsbedingungen für Borrelien sind bei einer mikroaerophilen Atmosphäre, einem pH-Wert von 7,6 und einer Temperatur zwischen 30 °C und 34 °C gegeben (Barbour 1984).

Aufgrund der sehr langen Generationszeit von 7 bis 20 Stunden, liegt die Kultivierungsdauer bei Borrelien bei mehreren Wochen bis Monaten. Mit regelmäßigen Untersuchungen unter dem Phasenkontrast- oder Dunkelfeldmikroskop überprüft man die Kultur auf das Vorhandensein lebender, mobiler Spirochäten (Barbour 1984). Eine Schwierigkeit, bedingt durch die langsame Wachstumsrate, ist das unerwünschte Wachstum bakterieller Begleitkeime, die ihrerseits wiederum das Borrelienwachstum unterdrücken (Schönberg et al. 1989). Dies kann durch steriles Arbeiten beim Herstellen der Medien und durch Zugabe von Antibiotika (Amphotericin B, Cotrimoxazol, Nystatin, Polymyxin B), gegen die Borrelien resistent sind (Boerner 1994), zum Kulturmedium verringert und damit die Nachweisrate von Borrelien gesteigert werden (Schönert 2004).

Eine gelungene Erregeranzucht ist nur bei wenigen LB-Verdachtsfällen beim Pferd in der Literatur beschrieben (Burgess und Mattison 1987; Liebisch et al. 1999). Auch bei klinisch gesunden Pferden ist ein positiver kultureller Erregernachweis möglich (Chang et al. 2000b), was die klinische Relevanz eines positiven Befundes infrage stellt (Butler et al. 2005).

#### **2.3.4.2.2 Polymerase-Kettenreaktion**

Der Nachweis borrelienspezifischer DNA-Sequenzen aus Liquor, Synovia, Blut, Urin, Haut und anderen Gewebeproben, wie beispielsweise dem Glaskörper des Auges, ist mittels PCR auch im fortgeschrittenen Erkrankungsstadium möglich (Priest et al. 2012; Rosa und Schwan 1989).

Bei der PCR wird die exponentielle Amplifikation erregerspezifischer DNA-Doppelstrangsequenzen mittels thermostabiler DNA-Polymerase und wiederholten Reaktionszyklen aus Denaturierung und Hybridisierung mittels Gelelektrophorese ausgewertet (Mullis und Faloona 1989; Reischl 1996). Moderne PCR-Verfahren wie die real-time PCR erlauben eine bessere Quantifizier- und Standardisierbarkeit, reduzieren den Personalaufwand und verbessern die Effizienz durch Einbau fluoreszierender DNA-Farbstoffe und Nutzung fluoreszenzgekoppelter Thermus-aquaticus-Sonden (TaqMan-Sonden). Eine anschließende Gelelektrophorese ist nicht mehr notwendig, da eine optische Auswertung des Reaktionsablaufs in Echtzeit mittels Spektrophotometer möglich ist (Heid et al. 1996; Schubert und Wieser 2013).

Die PCR ist als Verfahren in der Borreliose-Diagnostik bislang weder klinisch-diagnostisch unter standardisierten Studienbedingungen validiert, noch ist sie bislang als Verfahren zum Nachweis von Borrelien aus verschiedenen Probenmaterialien standardisiert. Die Extraktions- und Amplifikationsverfahren sowie der ausgewählten Zielgene variieren in den verschiedenen Laboren und Protokollen sehr stark (Fingerle et al. 2017).

Beim Menschen ist die Sensitivität von kultureller Erregeranzucht und PCR bis auf eine Ausnahme, dem Gelenkpunktat beziehungsweise der Synovialisbiopsie, bei dem die PCR der Kultur überlegen ist, vergleichbar (Fingerle et al. 2017). Die Spezifität der Kultur ist höher, da nur lebende, komplett erhaltene Erreger angezüchtet werden, während die PCR nicht zwischen lebenden und toten Erregern unterscheidet, sondern sowohl intakte als auch fragmentierte Spirochäten-DNA nachweist (Chang et al. 2000b). Über die Sensitivität des kulturellen Erregernachweises beim Pferd ist wenig bekannt, wobei Gall und Pfister die PCR der Kultivierung als überlegen erklären (Gall und Pfister 2004).

Die PCR ist keinesfalls als Suchtest geeignet: Eine negative PCR allein ist nicht aussagekräftig, da aufgrund der geringen Besiedelungsdichte bei einer Erregerdissemination in einer lokal entnommenen Gewebeprobe keine Borrelien vorhanden sein können (Karlsson et al. 1990). Ein positiver Befund muss sorgfältig auf Plausibilität geprüft werden, da der DNA-Nachweis über die Vitalität der Borrelien keine Aussage treffen und deshalb auch nach einer Antibiose positiv sein kann, womit auch keine zuverlässige Beurteilung des Therapieerfolgs stattfinden kann (Fingerle et al. 2017; Schönert 2004; Straubinger 2000).

Zusammenfassend kann man sagen, dass die PCR bei gezielter Indikationsstellung ein hilfreiches Zusatzverfahren sein kann, sie aber nur unter Berücksichtigung der klinischen Befunde zur Anwendung kommen sollte (Talaska 1998; Priem und Krause 1999). Für die Routinediagnostik ist sie nur begrenzt einsetzbar (Krupka 2010).

Der PCR-Nachweis aus der Zecke ist zur Indikationsstellung für eine antibiotische Therapie aufgrund fehlender Evidenz für eine sinnvolle Prophylaxe und der fehlenden Möglichkeit eine Infektion mit ausreichender Wahrscheinlichkeit vorherzusagen nicht geeignet; diese Untersuchung dient nur epidemiologischen Fragestellungen (Wilske und Fingerle 2005).

#### **2.3.4.3 Indirekter Erregernachweis bei Lyme-Borreliose**

Sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin hat sich mittlerweile der indirekte Erregernachweis in Form serologischer Nachweisverfahren von spezifischen *Bbsl*-Antikörpern als sensitive, kostengünstige und schnelle labordiagnostische Methode etabliert. Als Verfahren stehen der Immunfluoreszenztest (IFAT), verschiedene ELISAs (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) und Immunoblots als Ein- oder Zweistufenverfahren zur Verfügung (Krupka et al. 2012).

Beim Menschen kann bei früher (< 4 Wochen nach Zeckenstich) lokalisierter Infektion der LB (Stadium I) in lediglich 20-50 % der Fälle mit einem positiven Antikörpernachweis gerechnet werden und zwar zunächst als IgM-Antwort (ab der 2. Woche *post infectionem*) und später als IgG-Antwort (ab etwa der 6. Woche *post infectionem*, VlsE/C6-IgG auch früher) (Craft et al. 1984a; Philipp et al. 2001). Bei frühen disseminierten Infektionen (Stadium II) kann man in ca. 70 bis 90 % der Fälle einen positiven Antikörpernachweis erwarten. Bei Spätmanifestationen (Stadium III) lassen sich IgG-Antikörper in nahezu 100 % der Fälle nachweisen, während der IgM-Nachweis für späte Erkrankungen nicht hilfreich ist (Wilske et al. 2007; Steere 1989). Folglich schließt eine negative Serologie eine frühe Infektion nicht aus. Dagegen ist eine seronegative Spätmanifestation sehr unwahrscheinlich (Fingerle et al. 2017).

Hinweise auf eine aktive Infektion kann man indirekt über einen positiven IgM-Antikörpernachweis, einen signifikanten Antikörperanstieg über einen Zeitraum von beispielweise zwei Wochen und/oder eine Serokonversion von negativ zu positiv oder IgM zu IgG erlangen (Fingerle et al. 2017). IgG- und selbst IgM-Antikörper können auch nach erfolgreicher Therapie über lange Zeit persistieren, es fehlen aber labordiagnostische Aktivitätsmarker bei den Spätmanifestationen (Zöller et al. 1989; Glatz et al. 2008).

Die Unterscheidung zwischen einer akuten und einer überstandenen Borrelien-Infektion allein aufgrund des einmaligen Nachweises eines positiven *Bb*-IgG-Antikörpertiters ist nicht möglich, wohingegen der Ausschluss einer chronischen LB im Falle eines ausschließlichen Nachweises von *Bb*-IgM-Antikörpern durchaus möglich ist (Fingerle 2008).

Bei Vorliegen verdächtiger neurologischer Symptome kann eine Untersuchung des Liquors auf intrathekal gebildete Antikörper gegen *Bb* in Kombination mit Entzündungszeichen (lymphoplasmazytäre Pleozytose) sinnvoll sein. Der Nachweis intrathekal produzierter Antikörper gelingt bei früher Neuroborreliose je nach Dauer der neurologischen Symptome in 80 % ( $\leq 2$  Wochen Krankheitsdauer) bis 100 % ( $> 6$  Wochen; bei entzündlichem Liquor) der Fälle (Fingerle et al. 2017).

Ein positiver Antikörpertest ohne entsprechende klinische Symptomatik, ist kein hinreichendes Kriterium für die Diagnose einer LB (Fingerle et al. 2017). Die Ergebnisse verschiedener Laboratorien und unterschiedlicher serologischer Testverfahren differieren teils erheblich, verschiedene Testantigene kommen zur Anwendung und die Tests besitzen heterogene diagnostische Wertigkeiten (Ang et al. 2011).

In der Pferdemedizin kommen in der indirekten Erregerdiagnostik am häufigsten ELISAs, Immunfluoreszenstests, Western-Blots, und das Equine Multiplex Assay als Ein- oder Zweistufentests zum Einsatz (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Überblick über die gängigsten serologischen Testverfahren, die in der Pferdemedizin zur Borreliose-Diagnostik zum Einsatz kommen

Quelle: angelehnt an Consensus Statement, Divers et al. 2018

Testmethode	Herkunft der Antigene	Interpretation	Vorteile	Nachteile
<b>ELISA, IFAT</b> (Serum, Liquor, Synovia)	Ganzzelllysantigene aus kultivierten <i>Bb</i> -Stämmen	<ul style="list-style-type: none"> <li>quantitativ, Ergebnis wird als Antikörpertiter ausgegeben</li> <li>positive Ergebnisse müssen mittels WB bestätigt werden</li> <li>Kreuzreaktionen mit AKs anderer Spirochäten oder gegen Flagellen können auftreten</li> <li>keine Unterscheidung von Impfung und natürlicher Infektion möglich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>eine breite Auswahl verschiedener Antikörper gegen <i>Bb</i>-Proteine können nachgewiesen werden</li> <li>quantitativer Test</li> <li>steigende Titer können aktive Infektion anzeigen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bestätigungstest (WB) notwendig</li> <li>Kreuzreaktionen sind ein Problem</li> <li>keine Information hinsichtlich des zeitlichen Krankheitsverlaufs oder des Impfstatus</li> <li>bei Geimpften kann das Ergebnis verfälscht sein</li> </ul>
<b>WB</b> (Serum, Liquor, Synovia)	2 Varianten: 1. Ganzzelllysantigene, aufgetrennt nach Molekulargewicht 2. rekombinante Antigene	<ul style="list-style-type: none"> <li>qualitativ, Bandenmuster wird visuell beurteilt</li> <li>qualitative Information hinsichtlich Impfstatus und Krankheitsstadium</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>eine breite Auswahl verschiedener Antikörper gegen <i>Bb</i>-Proteine können nachgewiesen werden</li> <li>natürliche Infektion kann von Impfung unterschieden werden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>technisch aufwendige Untersuchung, subjektive Interpretation</li> <li>nicht-quantitative Ergebnisse</li> </ul>
<b>Equine Multiplex Assay</b> (Serum, Liquor)	drei rekombinante Antigene: OspA, OspC, OspF	<ul style="list-style-type: none"> <li>quantitativ, Ergebnisse werden als MFIs ausgegeben</li> <li>Anti-OspA-Antikörper: Impfung und/oder Infektion</li> <li>Anti-OspC-Antikörper: frühe Infektion</li> <li>Anti-OspF-Antikörper: chronische Infektion</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>quantitativ, steigende MFIs können auf eine aktive Infektion hindeuten</li> <li>schon sehr geringe Mengen Antikörper genügen für den Nachweis (pg/ml)</li> <li>nähere Informationen zu Krankheitsstadium und Impfstatus möglich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>falsch-negative Befunde aufgrund genetischer Variationen des OspC möglich</li> <li>bisher keine experimentellen Studien zum Thema Antikörper-Kinetik bei LB bei Pferden</li> </ul>
<b>SNAP 4Dx</b> (IDEXX) (Serum, Plasma, Vollblut)	synthetisches Peptid (C6), das ein spezifisches <i>Bb</i> -AG (IR6) imitiert	<ul style="list-style-type: none"> <li>qualitativ, Farbentstehung wird visuell interpretiert</li> <li>positive Befunde sprechen für natürliche Infektion, nicht für eine Impfung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>günstig, einfach vor Ort in der Praxis anzuwenden, schnelle Ergebnisse</li> <li>gute Übereinstimmung mit dem Multiplex OspF und WB</li> <li>Impfstatus beeinflusst Befund eher nicht</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>subjektive Interpretation</li> <li>nicht-quantitativ bei Pferden</li> </ul>

#### **2.3.4.3.1 Zweistufentest**

Der Einsatz mikrobiologischer Testverfahren zur LB-Diagnostik erfolgt in der Regel nach den Prinzipien einer Stufendiagnostik. Das heißt es wird ein serologischer Suchtest (sensitiver ELISA) und bei positivem oder grenzwertigem Ergebnis ein Bestätigungstest (spezifischer Immunoblot) durchgeführt. Ein Verfahren mit hoher Sensitivität verbessert den negativen prädiktiven Wert und ein Verfahren mit hoher Spezifität den positiven prädiktiven Wert des Testverfahrens (Johnson 2011). Such- und Bestätigungstest sollten nicht nebeneinander, sondern nur nacheinander eingesetzt werden, da ansonsten die Gesamtspezifität der Stufendiagnostik vermindert wird (Fingerle et al. 2017).

Grund für den Einsatz zweier Stufen der Diagnostik ist das Vermeiden falsch-positiver Testergebnisse aufgrund unspezifischer Reaktionen durch kreuzreaktive AK (Bruckbauer et al. 1992; Shin et al. 1993; Zöller et al. 1993). Es werden nur jene Proben als positiv eingestuft, welche sowohl im ELISA positiv reagieren als auch im Immunoblot spezifische Banden aufweisen, wodurch sich auch die Anzahl fraglich-positiver Ergebnisse verringert (Steffen und Hirsch 2005; Krupka 2010).

Die Wertung des Gesamtergebnisses der serologischen Stufendiagnostik wird in der Regel als „positiv“, „grenzwertig/fraglich“ oder „negativ“ angegeben. Falls die Kriterien für ein positives Ergebnis nicht erfüllt sind, dennoch aber spezifische diagnostische Banden im Immunoblot vorliegen, ist das Ergebnis „fraglich“. In diesem Fall kann gegebenenfalls eine serologische Verlaufskontrolle zwei Wochen nach der ersten Blutuntersuchung empfohlen werden (Fingerle et al. 2017).

In der Humanmedizin wird dies seit 1995 von den „Centers of Disease Control“ empfohlen (Steffen und Hirsch 2005; Steere et al. 2008; Ledue et al. 1996). Auch in der Veterinärmedizin hat sich der Zweistufentest, bestehend aus einem ELISA mit anschließendem Immunoblot, als Methode der Wahl für die Labordiagnose der LB etabliert (Shin et al. 1993; Magnarelli et al. 2000; Chang et al. 2000b). Einige Autoren präferieren auch die Kombination von direktem Erregernachweis (Borrelienkultur aus Hautstanzen) und serologischem Zweistufentest (van der Kolk, J. H. 2016).

#### **2.3.4.3.2 Immunfluoreszenztest (IFAT)**

Beim IFAT werden IgG-AK mittels Fluoreszenzfarbstoff in einem Fluoreszenzmikroskop in einem nicht automatisierten Testverfahren detektiert (Müller 2013). Burgdorfer und Kollegen entwickelten einen IFAT, der sich aufgrund seiner hohen Sensitivität schnell etablierte (Magnarelli et al. 1987), dessen Spezifität allerdings durch die Detektion kreuzreaktiver AK, die gegen Leptospiren, Spirochäten aus dem Magen-Darm-Trakt sowie gramnegative Enterobakterien gerichtet sein können (Burgdorfer et al. 1982; Magnarelli et al. 1987;

Käsbohrer und Schönberg 1990; Talaska 1998), eingeschränkt ist. Grund dafür ist die Verwendung des gesamten AG-Spektrums morphologisch intakter Borrelien (Talaska 1998; Straubinger 2015b).

Beim Pferd wird der IFAT für den *Bb*-AK-Nachweis beschrieben (Magnarelli und Anderson 1988) und er wurde bis vor wenigen Jahren insbesondere für die epidemiologische Untersuchung von Seroprävalenzen noch eingesetzt (Durrani et al. 2011; Lindenmayer et al. 1989; Doby et al. 1987; Käsbohrer und Schönberg 1990; Liebisch et al. 1999; Egenvall et al. 2001; Ebani et al. 2012; Laus et al. 2013). Bei Anwendung des IFATs können Feldinfektionen nicht von Impf-Antikörpern unterschieden werden (Littman et al. 2006).

Beim Pferd existieren verschiedene Titergrenzwerte: einige Autoren geben beim IFAT Titerwerte oberhalb des Grenzwertes von 1:8 (Marcus et al. 1985), 1:32 (Magnarelli und Anderson 1989; Tasai et al. 1993), 1:64 (Bernard et al. 1990) bzw. 1:128 (Doby et al. 1987; Lindenmayer et al. 1989; Käsbohrer und Schönberg 1990) als positiv an.

Dzierzecka und Kita verglichen in ihrer Studie die Zuverlässigkeit serologischer *Bb*-Untersuchungsverfahren bei Pferden und kamen zu dem Ergebnis, dass die Sensitivität des IFAT im Vergleich zum in der Studie verwendeten ELISA (*Borrelia burgdorferi* Veterinary ELISA No. 122.00; Genzyme Virotech GmbH) zwar besser war, aber eben auch eine wesentlich höhere Anzahl falsch-positiver Ergebnisse bei Verwendung des IFAT auftraten (Dzierzecka und Kita 2002a).

Der Immunfluoreszenztest sollte aufgrund mangelnder Vergleichbarkeit der Ergebnisse durch Anwendung uneinheitlicher Protokolle in den Laboren nicht mehr als Screeningtest eingesetzt werden, er bleibt speziellen Indikationen vorbehalten (Fingerle et al. 2017; Straubinger 2015b; Craft et al. 1984b).

#### **2.3.4.3.3 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Der ELISA basiert auf dem spezifischen AK-Nachweis nach Schlüssel-Schloss-Prinzip und kann sowohl IgG- als auch IgM-AK nachweisen (Magnarelli und Anderson 1988; Craft et al. 1984b). Die Sensitivität ist abhängig vom Stadium der Erkrankung (Johnson 2011).

In der Borreliendiagnostik wird ein indirekter ELISA angewandt, bei dem an einer Mikrotiterplatte aufgetragenes AG gebundene Primär-AK aus dem Serum von enzymgekoppelten Sekundärantikörpern markiert werden. Sind Primär-AK in der Probe vorhanden, findet über die Sekundär-AK eine Enzym-Substrat-Reaktion statt, deren Farbentwicklung photometrisch gemessen werden kann (Engvall und Perlmann 1972). Der Antikörpertiter korreliert mit der Farbtintensität (Voller et al. 1978).

Durch ELISA-Testverfahren können negative Seren schnell und unkompliziert detektiert werden und dadurch eine kostengünstige Vorselektion der Proben erfolgen (Magnarelli et al. 1997; Steffen und Hirsch 2005).

Die Sensitivität sowohl von ELISA-Testverfahren mit Borrelien-Ganzzell-Lysat als auch mit rekombinantem AG ist hoch. Dennoch bedürfen positive sowie grenzwertige Resultate einer nachfolgenden Untersuchung mittels Immunoblot, um die Immunantwort dahingehend zu spezifizieren, ob tatsächlich vom Vorliegen einer Infektion, Impfung oder einer unspezifischen Reaktion auszugehen ist (Krupka et al. 2012).

Werden persistierend hohe, spezifische Antikörperspiegel bei adäquat vorbehandelten Pferden ohne klinische Veränderungen beziehungsweise mit Besserung der klinischen Veränderungen beobachtet, sollte dies kein Grund für die Fortführung einer antibiotischen Behandlung sein (Divers et al. 2012).

#### **2.3.4.3.3.1 Kinetischer ELISA (KELA)**

In den 1980er Jahren wurde ein modifiziertes ELISA-Verfahren durch die Entwicklung des KELA (Kinetischer ELISA) etabliert. Die Besonderheit besteht darin, dass AK nicht wie beim herkömmlichen ELISA zu einem vordefinierten Zeitpunkt in den verschiedenen Verdünnungsstufen detektiert werden, sondern dass beim KELA in einer vorgegebenen Zeitspanne computergestützt dynamische Messungen der Farbentwicklung durchgeführt werden, um die Kinetik der Immunkomplexbildung zu erfassen.

Anstatt die Proben auszutitrieren, verlässt man sich beim KELA auf die Tatsache, dass wenige Reaktionskomplexe (Enzym-markierte AG-AK-Komplexe) weniger Substrat in einer gegebenen Zeiteinheit umsetzen können. Die Rate der gemessenen Enzym-Substrat-Reaktionen (viel oder wenig Farbentstehung) ist proportional zur Menge der Reaktionskomplexe in der untersuchten Probe (Tsang et al. 1980).

Die Mikrotiterplatten sind bei diesem Verfahren mit Borrelien-Lysat-AG (*B. burgdorferi* strain N40) beschichtet und die Extinktionsmessung der Entstehung der Enzym-Substrat-Farbkomplexbildungsreaktion erfolgt dreimal in einminütigen Abständen. Anhand der linearen Steigung der Messergebnisse kann die Reaktionsgeschwindigkeit berechnet werden (Shin et al. 1993) und eine computergestützte Umrechnung der auf diese Art und Weise erfassten Einheit „optische Dichte“ in vergleichbare Einheiten, sogenannte „KELA units“, erfolgen (Krupka 2010).

Zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen Borrelien wurde in den 1990er Jahren an der Cornell University (Ithaca, New York, USA) ein Protokoll für die Anwendung bei Hunden erarbeitet (Shin et al. 1993) und erprobt (Chang et al. 1995; Jacobson et al. 1996) und in zwei

experimentellen Infektionsversuchen wurde die Anwendung des KELA auch beim Pferd etabliert (Chang et al. 2000b, 2000c), der seither als diagnostische Komponente des Zweistufentests beim Pferd Erwähnung findet (Divers et al. 2001).

Für die Lyme-Borreliose beim Hund wurden 100 KELA-Einheiten als Cut-off experimentell bei mit *Bbsl*-infizierten SPF-Hunden bestimmt (Shin et al. 1993). Im Falle der Pferde wird in der Regel ein Cut-off verwendet, der zwischen dem Hintergrund (30-50 Einheiten) und um die 90 KELA-Einheiten liegt. Diese Seren enthalten i.d.R. keine spezifischen Antikörper (Chang et al. 2000b).

#### **2.3.4.3.3.2 C6-Peptid-Schnelltest**

Der C6-Peptid-Schnelltest dient der hochspezifischen und frühen Detektion erregerspezifischer Serum-AK bei klinisch manifester Borreliose-Infektion durch Verwendung des C6-Peptidantigens. Das C6-Peptid ist ein rekombinantes Peptid, das der invariablen Region 6 (IR6) des VlsE-Oberflächenproteins metabolisch aktiver Borrelien nachempfunden ist. Im Vergleich zu den anderen fünf invariablen Regionen des VlsE-Proteins weist C6 das höchste antigene Potential auf und wurde zum Nachweis von LB-Infektionen bei Mensch, Hund, Pferd und Maus etabliert (Liang und Philipp 1999; Liang et al. 1999a; Chandrashekar et al. 2008).

Kreuzreaktivitäten treten nicht auf und impfspezifische OspA-Antikörper interferieren nicht mit dem Ergebnis. In experimentellen Infektionsversuchen bei Hunden konnte darüber hinaus auch gezeigt werden, dass messbare C6-AK-Spiegel bereits innerhalb von drei Wochen nach Infektion nachweisbar sind, wodurch im Vergleich zu den herkömmlichen, auf Lysat-Proteinen basierenden Testsystemen, ein früherer AK-Nachweis erfolgen kann (Liang et al. 2000; Levy 2002; O'Connor et al. 2004; Liang et al. 1999b).

Bei Hunden und Menschen konnte nach einer erfolgreichen antibiotischen Behandlung ein messbares Absinken der C6-Antikörperspiegel bis unter die Detektionsgrenze nachgewiesen werden, was ein weiterer diagnostischer Vorteil zur Überwachung des Therapieerfolgs sein könnte (Philipp et al. 2001). Die Eignung der Beurteilung von Antikörpertiterverläufen gegen das C6-Peptid wird kontrovers beurteilt (Fleming et al. 2004). Ein signifikanter Titerabfall ist wohl am ehesten bei Frühmanifestationen zu erwarten (Fingerle et al. 2017; Philipp et al. 2005).

Zum schnellen und unkomplizierten Einsatz vor Ort in der tierärztlichen Praxis steht ein kommerziell verfügbares *in-vitro*-Diagnostikum (SNAP® 4Dx, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) Verfügung (Levy 2002; Levy et al. 2002). Ursprünglich zur Detektion von *Bb*-Antikörpern in caninen Seren entwickelt, erwies es sich auch zur Untersuchung feliner (Levy et al. 2003) und equiner Seren (Johnson et al. 2008; Hansen et al. 2010; Maurizi et al.

2009) als geeignet. Das C6-Testsystem kann den Zweistufentest (Kapitel 1.1.1.1.1) sinnvoll ergänzen (Barth et al. 2014).

#### 2.3.4.3.4 Western-Blot

Grenzwertige Befunde aus ELISA-Tests können im WB weitergehend beurteilt und positive Befunde hochspezifisch bestätigt werden. Der Immunoblot ist somit der zweite Schritt der Zweistufendiagnostik (Dzierzecka und Kita 2002b).

Durch Gelelektrophorese werden die Antigene größenchronologisch aufgetrennt (Wilske et al. 1993; Wilske und Preac-Mursic 1993) und danach werden diese auf eine Nitrozellulosemembran transferiert und das zu untersuchende Serum darauf inkubiert. Eine stattgefundenen Immunreaktion wird durch mit Farbstoff konjugierte Sekundär-AK sowie Substrat für die Farbreaktion sichtbar gemacht. Ein typisches Proteinbandenmuster entsteht (Haas und Beer 2015), wobei sich die Bezeichnung der Proteinbanden aus dem Buchstaben „p“ sowie dem jeweiligen Molekulargewicht in kDa ergibt.

Interpretationskriterien für den Immunoblot müssen regional und stammspezifisch definiert werden (Robertson et al. 2000; Mavin et al. 2007), wobei mindestens zwei Banden (Zwei-Banden-Kriterium) für einen seropositiven Befund positiv sein sollten (Hauser et al. 1997; Hauser et al. 1999). Da die pathogenen *Borrelia*-Spezies in Nordamerika und Europa unterschiedlich häufig vorkommen, wird empfohlen für den AK-Nachweis spezifische Lysat-Antigene zu verwenden (Steere et al. 2008); in Europa vorrangig Stämme von *B. afzelii* und *B. garinii* (Hauser et al. 1998, 1999).

Bei frühen Manifestationen werden nur wenige der zahlreichen borrelienspezifischen immunologisch relevanten Antigene erkannt, bei späten Manifestationen expandiert dann die Immunantwort und erkennt schließlich ein breites Spektrum an Antigenen. Die frühe Immunantwort (vor allem IgM) ist gegen Flagellin (p41), gegen OspC (p23) sowie gegen VlsE gerichtet (Goettner et al. 2005; Liang et al. 2000).

Die spätere Immunantwort (vor allem IgG) ist gegen weitere Proteine, wie p83/100, p39 (BmpA), p58, p43, p30, p21, DbpA, p14, p17 und p21, gerichtet (Wilske und Preac-Mursic 1993; Hauser et al. 1997; Zöller et al. 1993; Hauser et al. 1998, 1999). Insgesamt ist die Sensitivität und damit die Aussagekraft des IgM-WB im Vergleich zum IgG-WB als geringer zu betrachten (Hauser et al. 1999).

Nicht alle im Rahmen der humoralen Immunantwort erkannten Antigene haben eine ausreichende diagnostische Spezifität. Ein Teil der Proteine hat eine hohe Speziespezifität, während andere eine breite Kreuzreaktivität innerhalb des Genus, der Familie oder sogar anderer Bakterienfamilien aufweisen, z.B. das Flagellin und verschiedene

Hitzeschockproteine (Bruckbauer et al. 1992). Wie schon in Kapitel 2.2.3.1 beschrieben, weißt das VisE-Oberflächenprotein stark immunogene Epitope auf und wird als hochspezifischer Infektionsmarker in der frühen und späten Phase der Infektion betrachtet (Zhang et al. 1997; Philipp et al. 2001; Liang et al. 1999a).

Die erfolgreiche Vakzinierung mit einem OspA-AK-induzierenden Impfstoff beim Hund konnte durch Nachweis der p31(OspA)-Bande bestätigt werden (Straubinger et al. 1995). Beim Menschen sind AK gegen OspA in Europa nur sehr selten nachweisbar (Hauser et al. 1997). In den USA finden sich OspA-AK dagegen relativ häufig bei therapieresistenten Formen der Lyme-Arthritis beim Menschen (Kalish et al. 1993).

Insgesamt drei Infektionsversuche mit borrelienlastigen Feldzecken bei Ponys führten Chang und Mitarbeiter (2000, 2005) durch. Nach Vektorexposition konnte die Serokonversion im KELA (Chang et al. 2000b, 2000c) und WB (Chang et al. 2000b, 2000c; Chang et al. 2005) festgestellt werden. Im IgG-WB wurden als spezifische Banden p32, p20 (Chang et al. 2000c), p83, p65, p60, p41, p39 (Chang et al. 2000b), p29/p30, p25/p26, p22 und p19 (Chang et al. 2005) im Rahmen der Ausbildung einer Immunantwort gegenüber *Bb* detektiert.

Müller und Mitarbeiter führten in Österreich serologische Untersuchungen bei 309 Pferden im jahreszeitlichen Verlauf durch, wobei 186 Tiere zweimalig beprobt wurden und der *B.-afzelli*-WB bei bis zu 91 % dieser Tiere positiv war. AK gegen Antigene mit den Molekularmassen 17, 23, 39, 41 sowie >83 kDa traten am häufigsten auf. Starke Kreuzreaktivitäten zwischen den verschiedenen Borrelienspezies werden neben p41 ebenfalls für Antigene mit Molekularmassen zwischen 83 und 100 kDa, sowie 49 und 72 kDa angenommen (Müller et al. 2002).

Dzierzecka und Kita untersuchten in Polen 87 Pferdeseren mit einem Borrelien-IgG-WB (Milenia-Blot-Borrelia IgG Test; DPC Bierman GmbH) und fanden am häufigsten AK gegen Borrelienantigene mit den Molekularmassen 34 (OspB), 41, 60, 66, 72 und 93 kDa bei den als positiv befundenen Proben. AK gegen p41 traten aber auch in 55,5 % der als negativ interpretierten Befunden auf, weswegen die Autoren diese Bande als nur gering spezifisch einordneten (Dzierzecka und Kita 2002b).

Krupka und Mitarbeiter fanden bei der Auswertung von Pferdeseren aus Deutschland gehäuft die AK gegen *Bb*-Antigene mit Molekularmassen von 41, 60, 75 und 83/100 kDa, wobei sie deren Bedeutung zum Teil als gering einschätzen, da es sich um gegen Flagellen- und Hitzeschockproteine von Borrelien gerichtete AK handelt (Krupka et al. 2012).

#### **2.3.4.3.4.1 Line-Immunoassay**

Man unterscheidet Westernblots auf Basis aufgereinigter Antigene (Ganzzelllysate) und Westernblots auf Basis rekombinanter Antigene, die eine höhere Spezifität aufweisen (Fingerle et al. 2017). Ein auf dem IgG-WB basierendes Immunoblotverfahren ist der Line-Immunoassay (LIA) zum qualitativen Nachweis spezifischer AK gegen Erreger des *Bbsl*-Komplexes mittels rekombinanter Antigene.

Beim LIA erfolgt die Beschichtung der Nitrozellulosemembran mit homologen Antigenen verschiedener Spezies in unterschiedlichen Konzentrationen und Präparationen durch ein besonderes Sprühverfahren. Die Interpretation der Banden wird durch die reduzierte Anzahl aufgesprühter Proteine erleichtert (Straubinger 2015b).

Die Sensitivität des LIA wurde in einer 2008 durchgeführten humanmedizinischen Studie mit 93,2 % im Vergleich zu anderen indirekten, serologischen Testverfahren (ELISA, IFAT) als höher eingestuft (Lencáková et al. 2008). Die höchste Sensitivität zeigten die Banden DbpA und VlsE für die Detektion von IgG-Antikörpern (Lencáková et al. 2008; Goettner et al. 2005).

Die Interpretation des LIA ist aufgrund unvollständiger Kenntnisse über die Bildung spezifischer Antikörper gegen Borrelienantigene beim Pferd nur eingeschränkt möglich. Krupka und Mitarbeiter fanden in einer Evaluierungsstudie, vergleichbar zu den Ergebnissen der humanmedizinischen Kollegen, heraus, dass sich auch beim Pferd das Protein DbpA für den spezifischen Nachweis von Antikörpern gegen Erreger des *Bbsl*-Komplexes via LIA (*Borrelia Veterinär plus OspA LINE*; Sekisui Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany) als günstig erweist. Darüber hinaus eigneten sich die Proteinbandenkombinationen „VlsE-Mix horse“, DbpA und p83 bei 25 % der als positiv („Hinweis auf Infektion“) kategorisierten Proben, als spezifisches Auswertungskriterium. Als weniger spezifisch stufen die Autoren den AK-Nachweis gegen OspA und OspC ein, da sich diese bei Serumproben aller drei Befundkategorien („negativ“, „grenzwertig“ und „Infektion“) fanden (Krupka et al. 2012).

#### **2.3.4.3.5 Lyme Multiplex Assay**

Der Lyme Multiplex Assay (LMA) wurde vom Animal Health Diagnostic Center der Cornell University (Ithaca, New York, USA) entwickelt. Er basiert auf der gleichzeitigen quantitativen Bestimmung dreier borrelienspezifischer Antigene (OspA, OspC, OspF) in einer Probe (Serum, Liquor), kombiniert also die Vorteile von Immunoblot und ELISA.

Die rekombinanten Antigene OspA, OspC und OspF werden an fluoreszierende Kügelchen, sogenannte „Multiplex beads“, gekoppelt und im Falle der Bindung spezifischer AK entsteht dann mithilfe eines Biotin-konjugierten Anti-Pferd-AKs, des biotinbindenden Streptavidins und des Farbstoffes Phycoerythrin ein fluoreszierender Komplex. Dieser kann von einem „Multiplex

reader“ erkannt und die Intensität als „Median Fluorescent Intensity“ (MFI) ausgegeben werden, die mit der Höhe des Antikörperspiegels positiv korreliert. Durch dieses Verfahren ist es möglich schon AK-Konzentrationen im pg/ml-Bereich zu nachzuweisen, während ELISA und WB AK-Konzentrationen im ng/ml- beziehungsweise µg/ml-Bereich detektieren (Wagner et al. 2011a).

Equine Serumproben mit MFI-Werten von > 2.000 für OspA, > 1.000 für OspC und > 1.250 für OspF werden als positiver Befund eingestuft (Funk et al. 2016). Ein Vorteil des LMA ist die frühe Identifikation von Antikörpern gegen Erreger des *Bbsl*-Komplexes, bereits 3-5 Wochen nach stattgefundener Infektion (Wagner et al. 2013), während die AK-Detektion mittels ELISA und WB in experimentell infizierten Tieren frühestens nach fünf bis sechs Wochen gelang (Chang et al. 2000b).

Da das Testverfahren quantifizierbare Ergebnisse liefert, soll es laut den Forschern der Cornell University möglich sein, anhand des ermittelten AK-Profiles Rückschlüsse auf den Infektions- und Impfstatus der Patienten sowie den Zeitpunkt der Infektion mit LB-Erregern zu ziehen. Werden lediglich OspC- und OspF-Antikörpern oder auch nur OspC-AK allein nachgewiesen, weist dies auf ein frühes Infektionsstadium hin, da OspC-AK bereits drei Wochen nach einer Infektion mit *Bbsl* nachgewiesen werden könnten und diese schon bereits nach sieben bis elf Wochen im Serum erneut sinken würden. OspF-AK seien hingegen erst fünf bis acht Wochen *post infectionem* nachweisbar und stagnierten dann auf hohem Niveau, wären also hinweisend für eine chronische LB (Wagner und Erb 2012).

Mittels des LMA soll es möglich sein, nach Antibiotikabehandlung durch messbaren Rückgang der IgG-AK eine Kontrolle des Behandlungserfolges durchzuführen, und zwar frühestens sechs Wochen nach Therapiebeginn bei akuter Infektion bzw. drei Monate nach Therapiebeginn bei chronischer Infektion (Wagner et al. 2011a). Außerdem kann der LMA auch borrelienspezifische AK aus dem Liquor nachweisen, um die Diagnose einer equinen Neuroborreliose zu stützen, wenn außerdem eine lymphozytäre Pleozytose in der Zerebrospinalflüssigkeit und *Bb*-AK im Serum vorliegen (Divers 2013; Wagner et al. 2011b; Wagner 2014). Es gibt aber auch gegensätzliche Studien (Johnson et al. 2018).

In einer Studie an experimentell mit *Bb* infizierten Hunden und einer nichtinfizierten Kontrollgruppe, konnte eine hohe Korrelation zwischen dem Nachweis von OspF-Antikörpern und den Ergebnissen des C6-Peptid-Snaptests gezeigt werden (Wagner et al. 2013). In einem ähnlichen Versuchsaufbau konnte bei Pferden sogar bessere und belastbarere Ergebnisse beim Nachweis von OspF-Antikörpern beim LMA im Hinblick auf Infektionsmarker gefunden werden und es ist davon auszugehen, dass Pferde mit positivem OspF-AK-Nachweis bei negativem OspC-AK-Nachweis seit mindestens fünf Monaten mit *Bb* infiziert sind (Wagner et al. 2013; Wagner et al. 2011a).

Es existieren widersprüchliche Meinungen zur Nutzung des Nachweises von OspA- und OspC-AK in der Borreliendiagnostik beim Pferd (Krupka et al. 2012; Wagner et al. 2013). Krupka und Mitarbeiter hatten in ihrer Evaluierungsstudie zum Einsatz des LIA AK gegen OspC, wie oben erwähnt, als unspezifische Serumreaktion interpretiert. Obwohl der Nachweis von OspA-Antikörpern als spezifischer Nachweis für die Verabreichung einer OspA-Impfvakzine galt (Chang et al. 2000c), waren in dieser Studie OspA-AK in allen drei Befundkategorien („negativ“, „grenzwertig“ und „Infektion“) vertreten und wurden folglich als unspezifisch eingestuft (Krupka et al. 2012). In einer Seroprävalenzstudie von Funk und Mitarbeitern wurden ebenfalls bei 16 von 250 untersuchten Pferden OspA-AK nachgewiesen, obwohl keines der Tiere mit einer OspA-Vakzine geimpft worden war (Funk et al. 2016).

Schvartz und Mitarbeiter fanden in ihrer Vergleichsstudie zu Untersuchungsbefunden verschiedener in der Borreliose diagnostik beim Pferd eingesetzter Tests (ELISA, Zweistufenverfahren mit ELISA und WB, LMA) eine mangelhafte Übereinstimmung der Ergebnisse des LMA und des Zweistufenverfahrens beziehungsweise ELISAs, wobei sie eine Population von 50 Pferden in einem Gebiet mit geringem Risiko für eine *Bbsl*-Infektion untersuchten. Ein Pferd mit aktiver Infektion laut ELISA-Ergebnis, zeigte keine Antikörper gegen OspF und wurde damit durch den LMA als seronegativ eingestuft (Schvartz et al. 2015a).

Die Datenlage zur Leistungsfähigkeit dieses Tests in Europa ist noch nicht als ausreichend anzusehen, weswegen noch keine valide Aussage zur Wertigkeit dieser Tests getroffen werden kann.

#### **2.3.4.4 Zelluläre Diagnostik bei Lyme-Borreliose**

Alternative Testverfahren sollen die Nachteile der verzögerten serologischen Testmöglichkeit im Rahmen einer möglichen *Bb*-Infektion sowie die zu geringe Sensitivität der direkten Erregernachweisverfahren kompensieren. Außerdem sollen sie nur bei aktiver LB reaktiv sein, damit auch zur Verlaufskontrolle bei disseminierten Borrelieninfektionen und zur Therapiekontrolle geeignet und im Vergleich zur Serologie sensitiver und spezifischer sein (Baehr et al. 2007). Eine frühzeitig stattfindende, zelluläre Immunantwort durch Nachweis der Proliferationskapazität zytotoxischer T-Lymphozyten (CTL) soll durch den Lymphozyten-Transformationstest (LTT) untersucht und beurteilt werden.

Sowohl der Lymphozyten-Transformationstest als auch Lymphozyten-Aktivierungstests, wie der ELISPOT (Enzyme-Linked Immunospot Assay), sind allerdings bisher nur für die Verlaufskontrolle der Tuberkulose validiert (FDA 2008). Belastbare Daten zur Sensitivität und Spezifität liegen nicht vor, weswegen deren Verwendung bislang nicht für die Routine-Borreliendiagnostik empfohlen wird (Wilske und Fingerle 2005; Marques 2015).

#### **2.3.4.4.1 Enzyme-Linked Immunospot Assay (ELISPOT)**

Der Enzyme-Linked Immunospot Assay (ELISPOT) kann als Modifizierung des LTT verstanden werden. Er dient der Quantifizierung AG-spezifischer CTL, beruhend auf deren Zytokinproduktion, die wiederum in einem Sandwich-ELISA nachgewiesen wird (Czerkinsky et al. 1988). Im ersten Schritt erfolgt auch beim ELISPOT, wie zuvor beim LTT beschrieben, eine T-Lymphozytenstimulierung im Patientenblut durch Inkubation mit rekombinanten Borrelienantigenen sowie APC.

Werden die CTL aktiviert, sezernieren sie das Zytokin Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) in hoher Konzentration, das wiederum durch an der Mikrotiterplatte gekoppelte IFN- $\gamma$ -Fang-AK gebunden wird. Die so entstandenen IFN- $\gamma$ -IFN- $\gamma$ -Fang-AK-Komplexe auf der Mikrotiterplatte werden mit einem enzymgekoppelten IFN- $\gamma$ -Detektions-AK inkubiert. Ein chromogenes Substrat macht die Immunkomplexbildung sichtbar und es bilden sich farbige Punkte (Spots) im Umfeld der IFN- $\gamma$ -produzierenden Zellen. Die Auszählung der entstandenen Spots erfolgt computergestützt und soll mit der ursprünglich im Patientenblut vorhandenen borrelienspezifischen Lymphozytenmenge korrelieren (Janeway et al. 2001; Schütt und Bröker 2011).

Eine 2013 veröffentlichte Publikation schreibt einem neu entwickelten ELISPOT (iSPOT Lyme™) eine signifikant höhere Spezifität sowie Sensitivität verglichen mit dem WB zu (Jin et al. 2013). Andere Autoren üben dennoch Kritik an diesem Testverfahren, da die ELISPOT-Befunde nicht gut mit Ergebnissen aus anderen serologischen Testverfahren korrelieren und die Angaben zur Spezifität (82-94 %) und Sensitivität (36-84 %) des ELISPOT stark schwanken (Nordberg et al. 2012; Jin et al. 2013).

In Deutschland gibt seit 2013 es einen kommerziell verfügbaren ELISPOT zur Anwendung in der Veterinärmedizin bei Hund und Pferd (SpiroFind Vet™; Boulder Diagnostics Europe GmbH, Mellrichstadt, Germany).

#### **2.3.5 Therapie der Lyme-Borreliose**

Zur Behandlung der Lyme-Borreliose stehen Antibiotika aus der Gruppe der Tetracykline, verschiedene Penicilline, Cephalosporine der zweiten und dritten Generation und Makrolide zur Verfügung (Straubinger et al. 1997b; Chang et al. 2005; Wormser et al. 2006). *Bbsl* ist resistent gegen Fluorochinolone, Rifampicin und Cephalosporine der ersten Generation (Wormser et al. 2006; Hunfeld und Brade 2006). In der Pferdemedizin werden am häufigsten Penicilline, Cephalosporine und Tetracykline eingesetzt (Tabelle 9).

**Tabelle 9:** Überblick über die gegen *Bb*sl eingesetzten Antibiotika für Pferde

Quelle: modifiziert nach Divers et al. 2018

Antibiotikum	Dosis	MHK ( $\mu\text{g/ml}$ ) für <i>Bb</i>	Besonderheit
Cefotaxim	25 mg/kg i.v. q6h	$\leq 0,125$ (Ates et al. 2010)	höhere Dosierungen (50 mg/kg i.v. q6h) evtl. effektiver bei Neuroborreliose
Ceftiofur-Natrium	2,2 mg/kg i.v. q12h	$< 0,04-0,08$ (Caol et al. 2017)	
Ceftriaxon	25-50 mg/kg i.v. q12h	0,03 (Ates et al. 2010)	CAVE: Lebensbedrohende gastrointestinale Nebenwirkungen und Anaphylaxie beschrieben!
Doxycyclin	10 mg/kg p.o. q12h (Bryant et al. 2000)	0,125-0,25 (Ates et al. 2010)	Spitzenkonzentrationen in der Synovia möglicherweise höher als im Serum, niedrige Konzentrationen im Liquor und Augenkammerwasser (Gilmour et al. 2005)
Metronidazol	15-25 mg/kg p.o. q6-8h	0,06-32 (Sapi et al. 2011)	keine Daten über klinischen Einsatz bei Pferden, theoretisch bei zystischen <i>Bb</i> -Formen überlegen
Minocyclin	4 mg/kg p.o. q12h (Schnabel et al. 2012)	0,4-0,8 (Hunfeld und Brade 2006)	dem Doxycyclin überlegene Konzentrationen im Augenkammerwasser und Liquor
Penicillin G	22.000-44.000 IU/kg i.v. q6h	0,03-8 (Hunfeld und Brade 2006)	höhere Dosis für Neuroborreliose
Oxytetracyclin	5,0-6,6 mg/kg i.v. q12-24h	0,25 (Ates et al. 2010)	nur i.v. beim Pferd, nicht p.o.
Trimethoprim / Sulfamethoxazol	25 mg/kg p.o. q12h	$> 256$ (Baradaran-Dilmaghani und Stanek 1996)	nicht empfohlen für die Behandlung motiler <i>Bb</i> , gewisse Aktivität gegen <i>Bb</i> -Persister

In der Humanmedizin konnte gezeigt werden, dass eine antibiotische Behandlung im Frühstadium wirksamer ist als in der Spätphase (Asch et al. 1994). Im Frühstadium ist bei der Antibiotikabehandlung mit einer Versagerquote von 10 % zu rechnen (Preac-Mursic et al. 1989; Steere 1993a), während diese bei den chronischen Verlaufsformen mit bis zu 50 % wesentlich höher ist (Wormser et al. 2006; Manning 1989; Preac-Mursic et al. 1989; Dattwyler et al. 1988; Halperin 1989). Der Therapieerfolg tritt teilweise verzögert oder gar nicht ein (Manning 1989; Preac-Mursic et al. 1989; Johnson 1989).

Die Behandlungsdauer ist von entscheidender Bedeutung für den Therapieerfolg (Clarissou et al. 2009). In zahlreichen Studien wurde die limitierte Wirksamkeit der antibiotischen Therapie bei der Erregerelimination belegt, denn Erreger blieben trotz antibiotischer Therapie anzüchtbar und eine Reinfektion nach abgesetzter Therapie ist möglich (Hassler 1997; Preac-Mursic et al. 1989; Strle et al. 1993; Embers et al. 2012). Eine Unterscheidung der

verschiedenen *Borrelia*-Spezies scheint in Bezug auf die Therapie keine Rolle zu spielen (Sicklinger et al. 2003).

Es gibt zahlreiche Untersuchungen zur *in vitro* Aktivität verschiedener Antibiotika gegen *Bb*, insbesondere Makrolide, Tetracycline und Beta-Lactam-Antibiotika, wie sie in der Humanmedizin eingesetzt werden (Ates et al. 2010; Johnson et al. 1990; Hunfeld und Brade 2006; Johnson et al. 1984b; Johnson et al. 1987; Baradaran-Dilmaghani und Stanek 1996; Sapi et al. 2011; Salmon et al. 1996).

Es wurde allerdings eine Diskrepanz zwischen der *in vitro*- und *in vivo*-Empfindlichkeit der Borrelien in Bezug auf verschiedene Antibiotika nachgewiesen (Hunfeld 2004). Aufgrund des Gewebetropismus für wenig durchblutete Gewebe (Bindegewebe, Haut, Gelenkkapseln...), ist eine hohe Gewebekonzentration der Antibiotika in diesen Geweben für eine Erregerelimination erforderlich (Fraser et al. 1997).

Die Deutsche Borreliose-Gesellschaft empfiehlt in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium Beta-Lactame, Tetracycline und Makrolide als Mono- oder Kombinationstherapie (Deutsche Borreliose-Gesellschaft e. V. 2011). Aufgrund der guten Anreicherung im zentralen Nervensystem und der Fähigkeit die Blut-Hirnschranke zu penetrieren, werden für die Therapie der Neuroborreliose beim Menschen Cephalosporine, wie parenteral appliziertes Ceftriaxon und Cefotaxim, eingesetzt (Logigian et al. 1999; Cadavid et al. 2016). Aber auch orales Doxycyclin penetriert gut ins ZNS und wäre somit eine Alternative zur parenteralen Antibiotikagabe (Borg et al. 2005; Mygland et al. 2010). Die antibiotische Behandlung des „Post-Lyme Disease Syndroms“ bringt keinen Vorteil für den Patienten (Mygland et al. 2010).

Bei der Empfindlichkeit von *Bb* gegen Nitroimidazole herrscht keine eindeutige Studienlage (Johnson et al. 1987; Brorson und Brorson 2004; Caol et al. 2017). Die Bedeutung zystischer Borrelien-Formen und der Nutzen des Einsatzes von Metronidazol oder Tinidazol ist fraglich, da eine Rolle der verschiedenen morphologischen Varianten in der Entstehung chronischer LB-Fälle nicht hinreichend bewiesen ist (Lantos et al. 2014; Kersten et al. 1995). Metronidazol hat eine schlechte Wirkung gegen motile Spirochäten (Caol et al. 2017), während Tinidazol die Umwandlung motiler Spirochäten in enzystierte Formen reduziert und sowohl gegen motile Formen als auch zystische Formen *in vitro* eine Effektivität gezeigt hat (Brorson und Brorson 2004).

In einer *in-vivo* Studie an experimentell mit *Bb* infizierten Hunden, konnte die langwirksame Formulierung des Antibiotikums Cefovecin die Anzahl an Hunden mit Gelenkläsionen reduzieren und eine Reduktion der Serumantikörper erreichen (Wagner et al. 2015).

Beim Pferd gibt es keinen Goldstandard in der Therapie, da es kein experimentell reproduzierbares Krankheitsmodell gibt (Divers et al. 2003). Deshalb beruhen die

Therapieempfehlungen in der Pferdemedizin auf *in vitro* Empfindlichkeiten des Erregers gegen verschiedene Antibiotika, Extrapolieren von Richtlinien aus der Humanmedizin, pharmakokinetischen Daten der Antibiotika in der Anwendung beim Pferd und einem einzelnen experimentellen Behandlungsversuch artifiziell infizierter Ponys (Chang et al. 2005). Ein frühzeitiger Therapiebeginn durch rechtzeitige Diagnosestellung ist beim Pferd schwierig (Butler et al. 2005).

Generell gilt: Eine antibiotische Behandlung gegen *Bb* sollte beim Pferd nur nach strenger Indikationsstellung, nach Ausschluss von Differentialdiagnosen und Durchführung weiterführender serologischer Untersuchungen und beim Vorliegen klinisch manifester Veränderungen über einen ausreichend langen Zeitraum (mindestens drei Wochen) erfolgen (Divers 2013).

Der experimentelle Behandlungsversuch der Forschergruppe rund um Chang zur Wirksamkeit von Tetrazyklin, Doxycyclin und Ceftiofur, wurde bei 16 via Zecken mit *Bb* infizierten Ponys über einen Zeitraum von 28 Tagen, drei Monate nach Zeckenexposition, durchgeführt (Chang et al. 2005). Sie verwendeten Ceftiofur-Natrium in einer Dosis von 2,2 mg/kg Körpergewicht i.m. täglich bei einer Gruppe von vier der experimentell mit *Bb* infizierten Ponys, was bei zwei von vier Ponys zur Erregerelimination führte. Wenn auch die Serumlevel über der MHK (Minimale Hemm-Konzentration) für *Bb* gelegen haben dürften (Collard et al. 2011; Scofield et al. 2014), ist es denkbar, dass mit dieser Dosis im Gewebe teils keine für die Erregerelimination adäquate Dosis erreicht werden konnte (Witte et al. 2010).

Doxycyclin, das in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht p.o. alle 24 Stunden eingesetzt wurde, führte bei nur einem von vier Ponys zur Erregerelimination und nur zu einem geringen oder keinem Abfall der *Bb*-AK-Titer (Chang et al. 2005). Allerdings liegt diese Dosis auch unter der heute üblichen Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht alle 12 Stunden (Bryant et al. 2000).

Intravenös appliziertes Tetrazyklin (5 mg/kg alle 24 Stunden) war in der oben genannten Studie (Chang et al. 2005) das einzige Antibiotikum, das bei allen Ponys zur Erregerelimination (Kultur und PCR negativ) mit progressivem Rückgang der Antikörperspiegel führte. Aufgrund der niedrigen Zahl an Probanden in den drei Behandlungsgruppen und den von den aktuellen Dosis-Empfehlungen abweichenden Therapieplänen, ist eine unmittelbare Übertragung der Ergebnisse auf die Praxis nicht sinnvoll.

Für Doxycyclin und Minocyclin wurde wiederholt eine hohe Effektivität in der Behandlung vor allem früher LB-Symptome beim Menschen gezeigt (Arvikar und Steere 2015; Carris et al. 2015; Dersch et al. 2015; Dattwyler et al. 1997). Allerdings ist die orale Bioverfügbarkeit beider Antibiotika bei Pferden bedeutend niedriger (20-30 % versus 95-100 %) und der Zeitraum der bestehenden Infektion vor Beginn der Behandlung bei Pferden in der Regel deutlich länger

als beim Menschen, was Unterschiede in der Effektivität der Behandlung wahrscheinlich macht (Bryant et al. 2000; Schnabel et al. 2012; Davis et al. 2006; Divers et al. 2012).

Generell hat bei Pferden Minocyclin die bessere Bioverfügbarkeit gegenüber Doxycyclin und erreicht bei der gängigen Dosis von 4 mg/kg per os alle 12 Stunden eine Serumkonzentration, die die notwendige *Bb*-MHK übersteigt (Hunfeld und Brade 2006; Schnabel et al. 2012), bei Neuroborreliose oder Uveitis durch *Bb* allerdings nicht ausreichen dürfte (Schnabel et al. 2012).

Doxycyclin scheint sich in gewissem Maße in der Synovia von Gelenken anzureichern, da es bei Pferden zu einer verzögerten Ausscheidung kommt und sowohl Minocyclin als auch Doxycyclin führen in Feldstudien zu einer Besserung der Steifheit und Lahmheit in LB-Fällen bei Pferden. Man weiß, dass beide Antibiotika inhibitorischen Einfluss auf entzündliche Reaktionen im Gelenk durch reduzierte Produktion von Tumor-Nekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin (IL)-6 und IL-8 haben (Bernardino et al. 2009; Schnabel et al. 2010; Fortier et al. 2010). Auch die kollagenolytische und gelatinolytische Aktivität in osteoarthritischem Knorpel wird durch Doxycyclingabe beeinflusst und das Voranschreiten einer Osteoarthritis gemildert (Yu, Jr. et al. 1992).

Post empfiehlt die diagnostische und kurative Verabreichung von Tetrazyklinen, Penicillinen oder Cephalosporinen an mit *Bbsl* infizierte Pferde über einen ausreichend langen Zeitraum (10 bis 14 Tage oder länger), wobei er die parenterale Gabe von Tetrazyklinen bevorzugt (Post 1990). Tetrazykline haben auch eine bakteriostatische Wirkung auf *Ap*, was sie aufgrund möglicher Koinfektionen attraktiv macht. Auch heute noch werden beim Pferd am häufigsten parenteral verabreichtes Tetrazyklin und oral verabreichtes Doxycyclin angewandt. Die kombinierte Gabe dieser beider Antibiotika, wie z.B. im von Divers vorgeschlagenen Therapieschema mit einer Gabe von Oxytetrazyklin (6,6 mg/kg zweimal täglich i.v.) über 7-10 Tage, gefolgt von Doxycyclin (10 mg/kg zweimal täglich p.o.) über 1-2 Monate, ist möglich (Divers 2013).

Doxycyclin weist gegenüber Oxytetrazyklin ein besseres Verteilungsvolumen im Gewebe auf. Eine intravenöse Gabe beim Pferd ist dennoch nicht sinnvoll, da beim Pferd jedoch hochgradige kardiovaskuläre Nebenwirkungen bis hin zu Todesfällen auftreten können (Riond et al. 1992). Oxytetrazyklin sollte beim Pferd nicht oral gegeben werden, zum einen aufgrund der geringen Bioverfügbarkeit bei oraler Gabe und zum anderen aufgrund des Risikos von schweren Durchfällen, wenn aktive Metaboliten das Colon erreichen (White und Prior 1982).

Die erfolgreiche Behandlung der Neuroborreliose beim Pferd ist schwierig (Johnstone et al. 2016). Hochdosierte, parenterale Gaben von Penicillin (44.000 U/kg i.v. alle 4-6 Stunden) oder Cefotaxim (25-50 mg/kg i.v. alle 6-8 Stunden) dürften am effektivsten, aber eben auch sehr

aufwendig und kostenspielig, sein. Im ACVIM Consensus Statement von 2018 wird als Alternative Minocyclin per os empfohlen (Divers et al. 2018). Ceftriaxon, das bei humaner Neuroborreliose am häufigsten eingesetzt wird, ist bei Pferden aufgrund schwerer Nebenwirkungen, wie anaphylaktoider Reaktionen mit darauffolgenden Kolikanzeichen und Hufrehe, eher nicht anzuwenden (Basile et al. 2015).

In der Literatur beschriebene Therapieversuche bei Pferden mit klinischem LB-Verdacht blieben oftmals erfolglos, da es zu Rezidiven zuvor aufgetretener klinischer Manifestationen am Bewegungsapparat, Störungen des Allgemeinbefindens und des ZNS kam (Browning et al. 1993; Hahn et al. 1996; Liebisch et al. 1999; Schönert et al. 2008; James et al. 2010; Imai et al. 2011; Passamonti et al. 2015; Sommerauer et al. 2018). Im Falle einer Warmblutstute mit borrelienassoziertem kutanem Pseudolymphom war die antibiotische Behandlung erfolgreich und es kam zu keinem Rezidiv (Sears et al. 2012).

Bei Hunden konnte gezeigt werden, dass es bereits nach ein bis drei Tagen Therapie zu einer Verbesserung des Krankheitsbildes kommt (Krupka und Straubinger 2010). Eine Überprüfung des Therapieerfolgs mittels serologischer Marker, wie die erneute Durchführung eines Multiplex-Assays, Western-Blots oder C6-ELISAs, ist beim Pferd nicht sinnvoll und die Fortsetzung beziehungsweise der Abbruch der Behandlung sollte sich eher nach der zeitnahen Veränderung des klinischen Bildes unter Antibiotikagabe richten (Divers et al. 2018; Fleming et al. 2004), auch wenn im Experiment negative serologische Tests nach Therapie mit Tetrazyklin, Doxycyclin und Ceftiofur beobachtet wurden (Chang et al. 2005). Manche Autoren erachten den Nachweis des Verschwindens der Erreger in Hautbiopsaten als wertvoll zur Überprüfung des Therapieerfolgs (Liebisch und Liebisch 2001).

In der Spätphase der Infektion dürfte die zelluläre Immunabwehr eine wesentliche Rolle dabei spielen, die persistierende *Bb*-Infektion in Schach zu halten und die Anwendung von Kortison in einer immunsupprimierenden Dosis, kann dieses Gleichgewicht derart stören, dass es zu einem Voranschreiten der klinischen Veränderungen kommen kann (Straubinger et al. 2000). Im Gegensatz zu experimentell infizierten Hunden, ließen sich im Ponymodel durch Dexamethasongabe keine Krankheitsexazerbationen auslösen (Chang et al. 2000b).

Neben Antibiotika werden auch die Effektivität von Phytotherapeutika im Einsatz gegen vegetative und latente Borrelienstadien untersucht (Feng et al. 2020; Goc et al. 2015, 2017; Liebold et al. 2008, 2011; Rauwald et al. 2008). In einer aktuellen Studie von 2020 wurden die *in vitro* Effekte von zwölf regelmäßig eingesetzten phytotherapeutischen und anderen natürlichen antimikrobiell wirkenden Stoffen auf *Bb* untersucht. Sieben davon zeigten als 1%ige Extrakte eine den als Kontrolle dienenden Antibiotika Doxycyclin und Cefuroxim vergleichbare Effekte. *Cryptolepis sanguinolenta* und *Polygonum cuspidatum* (Japanischer Staudenknöterich) zeigten eine sehr gute Aktivität gegen sowohl die motilen als auch die nicht-

motilen *Bb*-Formen. In Subkulturstudien konnte der Extrakt aus *Cryptolepis sanguinolenta* eine komplette Erregerelimination erreichen, während sowohl Doxzyklin als auch Cefuroxim und die anderen aktiven Phytotherapeutika dies nicht schafften (Feng et al. 2020).

### **2.3.6 Prophylaxe der Lyme-Borreliose**

Als Prophylaxemaßnahmen kommen Maßnahmen in Betracht, die entweder die Infektion (Vektorprophylaxe mit Akariziden/Repellentien, Vektorexposition reduzieren durch Meiden von Risikogebieten während der Vektor-Aktivitätszeiten) oder eine Krankheitsentwicklung nach einer Infektion verhindern sollen (Immunprophylaxe durch Erreger-spezifische Impfungen) (Pantchev et al. 2018; Butler et al. 2005). Die Impfung als Baustein in der Prophylaxe von Borrelieninfektionen wird in Kapitel 2.3.6.1 besprochen.

Die ESCAAP (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites)-Empfehlungen zur Bekämpfung von Ektoparasiten bei Hunden und Katzen geben Tierbesitzern Hinweise wie mit bestehendem Zeckenbefall umzugehen ist und welche Prophylaxemaßnahmen in Abwägung des bestehenden Risikos anzuwenden sind (ESCCAP 2018). Eine umgehende Entfernung der Zecken von den Hunden und Katzen wird angeraten, um die Übertragung von Krankheitserregern zu verhindern. Eine frühzeitige Zeckenentfernung kann eine Infektion verhindern (Des Vignes et al. 2001). Auch Pferde sollten täglich auf Zecken abgesucht werden (Butler et al. 2005).

Für die Zeckenentfernung sollen Zeckenzangen verwendet werden und die Zecken seien langsam mit nicht zu starkem Zug gerade aus dem Stichkanal zu ziehen. Beim Entfernen allein mit den Fingern bestünde die Gefahr, die Zecke zu quetschen und dadurch Krankheitserreger in den Stichkanal zu drücken. Von der Verwendung von Öl, Alkohol oder Klebstoff wird abgeraten. Freier Auslauf in Gebieten mit hoher Zeckenpopulationsdichte, besonders in den Jahreszeiten, in denen diese aktiv sind, sei zu beschränken (ESCCAP 2018). Ebenso sind Weidetiere von bekannten Zeckenhabitaten fernzuhalten (Deplazes et al. 2012).

Für Hunde und Katzen steht eine breite Auswahl verschiedener zugelassener Akarizide zur Verfügung (Littman et al. 2018). Eine Umwidmung von Repellentien mit Wirkstoffen aus der Gruppe der Pyrethroide, Phenylpyrazole und Amidine, die bei Hunden Anwendung finden, wäre möglich und hat sich auch bei Pferden ohne Auftreten von Nebenwirkungen bewährt (Bushmich 1999; Divers et al. 2001). Permethrin- und Saltidin-haltige Akarizide stehen als Repellentien auch für Pferde zur Verfügung (Pusterla und Madigan 2013; Blagburn et al. 2004).

Eine Chemoprophylaxe nach Zeckenstich wird derzeit in der Humanmedizin nicht empfohlen (Wormser et al. 2006). Die Identifikation der entfernten Zecke wird aber als sinnvoll

angesehen, um deren Zugehörigkeit zur Gattung *Ixodes* zu bestätigen und somit auf eine potenzielle Infektionsgefahr rückzuschließen (Butler et al. 2005).

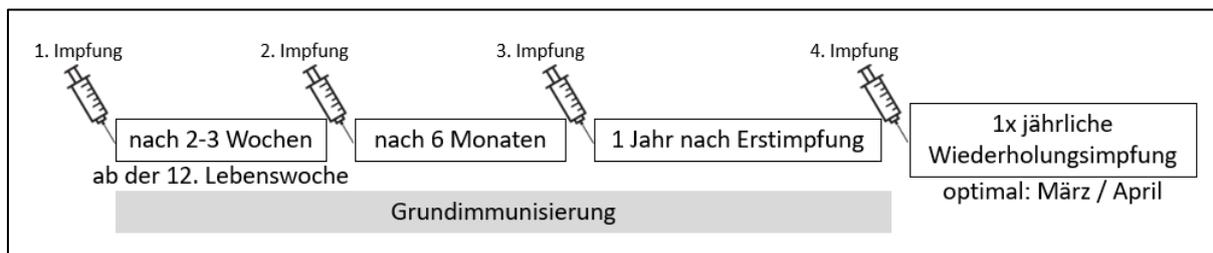
### 2.3.6.1 Lyme-Borreliose Impfung

In der Humanmedizin wurde 1998 ein Impfstoff (LYMERix, SmithKline Beecham) in den USA von Food and Drug Administration (FDA) zugelassen, dessen Produktion allerdings aufgrund mangelnden kommerziellen Erfolgs 2002 wieder eingestellt wurde (Lantos 2013). Ein neuer multivalenter OspA-Impfstoff auf Fusionsbasis von sechs OspA-Serotypen wird in Europa erforscht, dessen Sicherheit und immunogene Wirksamkeit bereits in einer randomisierten Phase I/II-Doppelblindstudie gezeigt werden konnte (Wressnigg et al. 2013; Wressnigg et al. 2014). Ein weiterer, ebenfalls multivalenter, rekombinanter OspA-Impfstoffkandidat eines anderen Herstellers wird ebenfalls in einer Phase I-Studie getestet (Comstedt et al. 2014).

In der Veterinärmedizin stehen dem deutschen Markt derzeit LB-Vakzinen für Hunde und seit 2015 auch für Pferde zur Verfügung. Zunächst gab es für Hunde nur einen Borrelien-Lysat-Impfstoff mit OspA von *Bbss*, der für Hunde in Europa keinen ausreichenden Infektionsschutz bot, da die AK-Induktion bei Vakzinierung mit OspA nur einer Borrelien-Spezies keine ausreichende Kreuzreaktivität gegenüber heterologen Spezies gewährleistet (Gern et al. 1997; Cullen et al. 2004; Wilske et al. 1996) und die Zeckenpopulation in Europa überwiegend *B. afzelii* (38 %) und *B. garinii* (33 %) und zu einem geringeren Anteil *Bbss* (18 %) beherbergt (Liebisch und Liebisch 2003; Rauter und Hartung 2005). So kam 2013 in Europa ein verbesserter Lysat-Impfstoff für Hunde auf den Markt, der neben *Bbss* auch die Spezies *B. afzelii* und *B. garinii* abdeckt. Die Impfung schützt sowohl vor der Infektion durch Ausbildung eines hohen OspA-Antikörpertiters als auch vor der klinischen Erkrankung, was in experimentellen Infektionsversuchen sowohl bei Hunden und auch bei Pferden bestätigt wurde (Chang et al. 1995; Chang et al. 2000c; Grosenbaugh et al. 2016; Straubinger et al. 1995; Straubinger et al. 2001).

Seit März 2015 ist ein Vollantigenimpfstoff (Equilyme®, Boehringer Ingelheim) zur aktiven Immunisierung von Pferden auf dem Markt verfügbar. Er kann bei Equiden ab einem Alter von 12 Wochen eingesetzt werden und immunisiert wie der Lysat-Impfstoff der Hunde gegen drei aus europäischen Feldzecken isolierte Impfantigene des *Bbsl*-Komplexes: *B. afzelii*, *B. garinii* und *Bbss*. Nach den Empfehlungen der Leitlinie zur Impfung von Pferden der StlKo Vet sollte die Grundimmunisierung folgendermaßen durchgeführt werden (Abbildung 8): Zwei Impfungen im Abstand von zwei bis drei Wochen, gefolgt von der dritten Impfung nach sechs Monaten und einer vierten Impfung weitere sechs Monate später, also ein Jahr nach der Erstimpfung. Durch eine jährliche Wiederholungsimpfung, die optimalerweise im März oder April, also vor Beginn der Zeckensaison, durchgeführt werden sollte, wird der Impfschutz

aufrechterhalten (Ständige Impfkommission Veterinärmedizin 2019). Dieses Impfschema wird auch in einer Studie von 2019 als das effektivste angesehen (Knödseder et al. 2019).



**Abbildung 8:** Impfpfempfehlung für Pferde ab der 12. Lebenswoche gegen *Bb*-Infektionen gemäß Empfehlungen der Leitlinie zur Impfung von Pferden der StIKo Vet. (Stand 02/2019)

Empfohlen wird der Einsatz der LB-Vakzine bei Pferden mit besonders hohem Infektionsdruck, also Pferden, die in Endemiegebieten von *I. ricinus* leben, insbesondere solchen mit einem erhöhten Risiko für eine Zeckenexposition, also in Weidehaltung beziehungsweise bei regelmäßiger Geländearbeit. Der Wirkmechanismus der Vakzine beruht auf einer OspA-AK-Induktion im geimpften Tier. Im Falle eines Stiches einer mit *Bbsl* infizierten Zecke kommt es zur Bindung der impfinduzierten Antikörper an die OspA-Oberflächenproteine des Bakteriums im Zeckendarm und Immobilisierung der vorhandenen Borrelien an Ort und Stelle (Dennehy 2001; Pal et al. 2001).

Wie der genaue Prozess abläuft, über den OspA-bindende AK die Erreger am aktiven Übertritt in den Wirt hindern, ist noch nicht geklärt (Gipson und Silva 2005). Was bekannt ist, ist dass das Absterben der Borrelien im Zeckendarm mit der Höhe der OspA-AK-Titer im Blut des Wirtes zu korrelieren scheint, wie im Mausmodell untersucht wurde (Fikrig et al. 1992; Rathinavelu et al. 2003; Silva et al. 1999). Eine Persistenz lebender Borrelien im Zeckendarm bei niedriger zirkulierender OspA-AK-Konzentration ist möglich, wobei die Infektion des Wirtes dennoch verhindert werden konnte (Silva et al. 1999). Um das Risiko einer Infektion zu verhindern, wird dennoch zur Einhaltung der vorgeschriebenen Impfintervalle zur Aufrechterhaltung der Immunität geraten (Silva et al. 1999; Nowling und Philipp 1999).

Die Impfung ist ausschließlich als Präventionsmaßnahme zu verstehen. Sie vermag es nicht, bereits zuvor im Wirtstier befindliche Borrelien zu eliminieren (Chang et al. 2000c; Zhong et al. 1997). Die StIKo Vet. (Stand 02/19) empfiehlt bei unklarem Immunstatus des Pferdes vor der Impfung die Durchführung eines serologischen AK-Nachweises und wenn infektionsspezifische AK vorliegen, von der Impfung abzusehen (Ständige Impfkommission Veterinärmedizin 2019). Eine Unterscheidung infektions- und impfspezifischer AK ist bei Verwendung eines OspA-Impfstoffes möglich (Kapitel 2.3.4.3.3.2) (O'Connor et al. 2004).

## **2.4 *Anaplasma phagocytophilum***

### **2.4.1 Geschichtlicher Überblick über die Erforschung der Anaplasmosose**

Eine Infektion mit *Anaplasma phagocytophilum* beim Menschen wurde erstmals 1990 bei einem Patienten in Wisconsin beschreiben, der zwei Wochen nach einem Zeckenstich infolge einer schweren fieberhaften Erkrankung verstarb (Chen et al. 1994). In der terminalen Phase der Infektion wurden Cluster kleiner Bakterien innerhalb der Neutrophilen beobachtet. In den folgenden zwei Jahren wurden 14 ähnliche Fälle im Nordwesten Wisconsins und Osten Minnesotas beobachtet (Bakken et al. 1994). Auch hier wurden Einschlusskörperchen in den neutrophilen Granulozyten, Fieber, Kopfschmerzen, Myalgien, Leukopenie und Thrombozytopenie beobachtet.

1994 gelang es den Erreger von *Ehrlichia chaffeensis*, dem Erreger der Humanen Monozytären Ehrlichiose, abzugrenzen und er bekam initial den Namen „Überträger der Humanen Granulozytären Ehrlichiose“ („HGE agent“) (Bakken et al. 1994; Chen et al. 1994), obwohl morphologische und serologische Studien eine nahe Verwandtschaft oder Übereinstimmung mit den tiermedizinisch relevanten Erregern, *Ehrlichia equi* und *Ehrlichia phagocytophila* vermuten ließen (Gribble 1969).

Pusterla et al. berichten über erfolgreiche experimentelle Infektionen von Rindern und Pferden mit dem HGE-Agent, woraufhin diese die charakteristischen klinischen Veränderungen einer Anaplasmosose entwickelten (Pusterla et al. 1999b). Dass die intravenöse Verabreichung von mit *Ap* infiziertem Menschenblut an Pferde eine Erkrankung hervorrufen kann, die nicht von der EGA zu unterscheiden ist, bestätigten auch Madigan und Kollegen experimentell (Madigan et al. 1995).

*Ap* (zuvor unter dem Namen *Ehrlichia equi* geführt) ist auch der Erreger der Equinen Granulozytären Anaplasmosose (EGA), die in den USA erstmals 1969 von Gribble beschrieben wurde (Gribble 1969) und 1984 von Büscher auch in Deutschland bei einem Pferd diagnostiziert werden konnte (Büscher et al. 1984).

### **2.4.2 Taxonomie und Systematik von *Anaplasma phagocytophilum***

*Anaplasma phagocytophilum* gehört der Ordnung *Rickettsiales* und Familie der *Anaplasmataceae* an (Madigan und Gribble 1987; Selbitz et al. 2015). Innerhalb der Familie *Anaplasmataceae* gelten *Ap* und *Neorickettsia risticii* als pferdepathogene Krankheitserreger (Dumler et al. 2001) (Tabelle 10).

Rickettsien sind gramnegative, unbewegliche und in ihrer Form kokkoide, stäbchenförmige oder pleomorphe Bakterien mit Zellwänden (Walker und Dumler 1996), die allerdings keinen Lipopolysaccharid-Biosynthese-Mechanismus besitzen (Lin und Rikihisa 2003). Sie

vermehren sich obligat intrazellulär durch Zweiteilung und parasitieren in retikuloendothelialen Zellen oder Erythrozyten von Vertebraten oder Arthropoden, wobei Arthropoden sowohl als Vektoren als auch primäre Wirte dienen (Selbitz et al. 2015).

2001 erfolgte die Neuordnung der Genera der Familien Rickettsiaceae und Anaplasmatacea, sodass zum jetzigen Zeitpunkt die Genera *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* und *Wolbachia* zur Familie der *Anaplasmataceae* zählen (Dumler et al. 2001). Die einzelnen Genera unterscheiden sich durch ihren sehr spezifischen Zelltropismus (Rikihisa 1991):

Die Gattung *Ehrlichia* infiziert in der Regel Monozyten und Makrophagen, wobei *Ehrlichia ewingii* und *Ehrlichia ruminantium* eine Ausnahme darstellen und nur neutrophile Granulozyten und Gefäßendothelzellen infizieren. Die Gattung *Anaplasma* infiziert Granulozyten, Thrombozyten und Erythrozyten. Die Gattung *Neorickettsia* infiziert Monozyten und Makrophagen und *Neorickettsia risticii* darüber hinaus Darmepithelzellen und Mastzellen (Rikihisa 1991; Dumler et al. 2001).

*Neorickettsia risticii* (früher *Ehrlichia risticii*), das infektiöse Agens des Potomac Horse Fevers (PHF) (Madigan et al. 1997), ist genetisch und antigenetisch divergent zu *Ap* und *Ehrlichia canis* (Genus *Ehrlichia*) (Madigan und Gribble 1987; Dumler et al. 2001). Im 16S rRNA Gensequenzenvergleich war lediglich eine Homologie von 83,3 %, respektive 82,4 % vorhanden (Rikihisa et al. 2015).

Es gibt verschiedene Genospezies und Subtypen von *Ap*, vergleichbar mit dem *Bbsl*-Komplex, die mit bestimmten Wirten und unterschiedlicher relativer Pathogenität assoziiert sind (Massung et al. 2007; Scharf et al. 2011). Die ehemals nach den infizierten Tierarten getrennten Erreger *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* („tick-borne fever“) und das „Agens der humanen granulozytären Ehrlichiose (HGE)“ weisen nur bis zu drei Basen Abweichungen in den 16S rRNA Gensequenzen auf und werden daher jetzt als Stämme von *Anaplasma phagocytophilum* angesehen (Dumler et al. 2001).

Tiermedizinisch relevante Rickettsien sind neben *Ap* und *Neorickettsia risticii*, *Anaplasma platys* und *A. marginale*, *Ehrlichia canis*, *E. ewingii* und *E. ruminantium* (Tabelle 10).

**Tabelle 10:** Tiermedizinisch relevante Rickettsien

Quelle: Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre; Selbitz et al. 2015

Spezies	Wirt	Vektor	Krankheit
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (früher: <i>Ehrlichia phagocytophila</i> , <i>Ehrlichia equi</i> )	Wiederkäuer, <b>Pferd</b> , Hund, Mensch	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> , <i>I. scapularis</i>	Zeckenbissfieber, equine/ kanine/ humane granulozytäre Anaplasmosen

<i>Anaplasma platys</i> (früher: <i>Ehrlichia platys</i> )	Hund	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	kanine zyklische Thrombozytopenie
<i>Anaplasma marginale</i>	Wiederkäuer	<i>Boophilus</i> spp., <i>Dermacentor</i> spp.	Gallenseuche
<i>Ehrlichia canis</i>	Hund	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Dermacentor variabilis</i>	kanine monozytäre Ehrlichiose
<i>Ehrlichia ewingii</i>	Hund	<i>Amblyomma americanum</i>	kanine granulozytäre Ehrlichiose
<i>Ehrlichia ruminantium</i>	Wiederkäuer	<i>Amblyomma hebraeum</i>	Herzwasserkrankheit
<i>Neorickettsia risticii</i> (früher: <i>Ehrlichia risticii</i> )	<b>Pferd</b>	Trematoden	Potomac Horse Fever, equine monozytäre Ehrlichiose

#### 2.4.3 Mikrobiologische und morphologische Eigenschaften von *Anaplasma phagocytophilum*

Anaplasmen werden von Zecken der Gattung *Ixodes* auf den Wirt übertragen. Im Wirt befinden sich Anaplasmen in den Granulozyten in frühen Endosomen, wo sie Nährstoffe für die Zweiteilung aufnehmen und in einem Cluster wachsen, das sich Morula nennt (Webster et al. 1998). Mit Hilfe der Romanowsky-Färbung lassen sie sich als runde, dunkel-violette, wegen ihrer Ähnlichkeit zu Maulbeeren, als Morulae bezeichnete Punkte im Zytoplasma vor allem von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten identifizieren (Gribble 1969). Unter dem Elektronenmikroskop erkennt man mehrere hundert dicht gepackte ovoide, runde oder stäbchenförmige Einschlusskörperchen in den betroffenen Granulozyten (Sells et al. 1976). Die Größe der Einschlusskörperchen variiert zwischen 1,5 bis 5 µm im Durchmesser (Lewis, Jr. 1976). Die einzelne Anaplasmenzelle wird als Initialkörper bezeichnet, durch Teilung entstehen in den Wirtszellen die aus mehreren Zellen bestehenden Elementarkörper (Webster et al. 1998).

*Ap* bindet an fucosylierte und sialylierte Gerüstproteine der Granulozyten (Ojogun et al. 2012). Genomische Studien haben gezeigt, dass Anaplasmen einen Typ-IV-Sekretionsapparat besitzen, der den Molekültransfer zwischen Bakterium und Wirt begünstigen könnte (Ohashi et al. 2002; Caturegli et al. 2000). Der am intensivsten untersuchte Ligand ist PSGL-1 (CD162) (Herron et al. 2000), an den das Bakterium zumindest teilweise mithilfe eines 44-kDa Major Surface Protein-2 (Msp2) bindet (Park et al. 2003). Msp2 ist wahrscheinlich Teil eines Adhäsionskomplexes, der auch noch weitere Membranproteine beinhaltet. Nach Internalisierung des Bakteriums, bricht die Reifung des Endosoms ab (Webster et al. 1998), das heißt die Vakuolen werden weder angesäuert noch fusionieren sie mit Lysosomen und so kann *Ap* weiter reproduzieren bis es zur Zellyse kommt oder die Bakterien von anderen Immunzellen erkannt und vernichtet werden.

Antigenetische Diversität wird unter anderem durch Konversion des *msp2* Gens erreicht (Lin und Rikihisa 2003). Diese wird vermutlich durch Immunselektion begünstigt und könnte eine

wichtige Rolle in der Persistenz in Reservoir-Wirten spielen (Park et al. 2003; Scorpio et al. 2004; Webster et al. 1998).

Ein weiteres wichtiges *Ap*-Gen ist *ankA*. Dieses Gen kodiert für ein 153-160 kDa großes Protein mit mindestens 11 N-terminalen Ankyrin-Wiederholungen (Ankyrin-repeat protein, *AnkA*). Ein Vergleich dieser *AnkA*-Sequenzen, die von Pferden, Hunden, Rindern, Zecken und Menschen in unterschiedlichen geographischen Regionen Europas und Nordamerikas isoliert wurden, ergab eine Heterogenität der Isolate, wobei eine Aufgliederung nach Wirtsspezies oder geographischer Region nicht möglich ist (Chae et al. 2000; Massung et al. 2000; Dumler et al. 2001). Über die Funktion von *AnkA* im Hinblick auf die Pathogenese ist wenig bekannt, was man aber weiß ist, dass *AnkA* das einzige *Ap*-Protein ist, das die Bakterien-, Vakuolen- und die Nukleusmembran passieren kann, um an Proteine des Zellkerns und Granulozyten-DNA zu binden (Park et al. 2004).

## **2.5 *Anaplasma-phagocytophilum*-Infektionen**

### **2.5.1 Epidemiologie von *Anaplasma-phagocytophilum*-Infektionen**

*Ap* kann ein weites Spektrum an domestizierten und wilden Tieren infizieren: In Europa wurden Infektionen bei verschiedenen Nagern, Schafen, Ziegen, Rindern, Equiden, Hunden, Katzen, Rehen, Rentieren und Menschen beobachtet, wobei sogar noch mehr Säugerspezies seropositiv oder PCR-positiv waren (Stuen 2007). Als Erregerreservoir dienen aber vor allem kleine wildlebende Säuger wie Nager (Aeschlimann 1976; Liz et al. 2000; Ogden et al. 1998). Auch Schafe und Rehe könnten in Europa als natürliche Wirte zum Infektionszyklus von *Ap* beitragen (Ogden et al. 1998). In den USA ist die Weißfußmaus (*Peromyscus leucopus*) nicht nur wichtiges Reservoir für Borrelien, sondern auch enzootisches Reservoir für *Ap* (Telford et al. 1996; Marshall et al. 1994).

Die Humane Granulozytäre Anaplasmosis ist bislang in Deutschland, im Gegensatz zum Mittleren Westen und der Ostküste der USA, nicht endemisch und bislang wurden hier keine autochthonen Infektionen beschrieben. Allerdings werden bei Blutspendern *Ap*-Seroprävalenzen zwischen 1,0-4,4 %, bei Waldarbeitern zwischen 14,0-19,5 % und bei Individuen mit einem positiven *Bbsl*-Antikörpertiter zwischen 4,5-13,1 % beobachtet (Wissmann et al. 2015).

Die Equine Granulozytäre Anaplasmosis wurde 1969 erstmals in den USA beschrieben (Gribble 1969) und ist inzwischen auch in Europa (u.a. Deutschland), Israel und Brasilien aufgetreten (Loewenich et al. 2003; Levi et al. 2006; Salvagni et al. 2010). Eine Saisonalität des Auftretens der Erkrankung ist bekannt, mit Häufungen in den USA im späten Herbst,

Winter und Frühjahr (Madigan und Gribble 1987). In einigen Regionen tritt die EGA endemisch auf, vergleichbar mit dem PHF, während sie in anderen Regionen nicht beobachtet wird (Madigan et al. 1990). Die EGA ist nicht kontagiös; in den meisten Fällen ist innerhalb eines Bestandes nur ein einzelnes Pferd betroffen (Madigan und Gribble 1987). Subklinische Infektionen können bei Pferden in Endemiegebieten auftreten (Madigan et al. 1990).

Für die Infektionszyklus postulierte Gribble 1969, dass auch bei der EGA, wie bei anderen Infektionen mit *Anaplasmataceae*, Zecken als Vektoren dienen (Gribble 1969). In Nordamerika wurde mit der Hirschzeckenart *I. pacificus* ein kompetenter Vektor für *Ap* gefunden (Lewis, Jr. et al. 1975; Richter, Jr. et al. 1996). 18 bis 25 Tage nach Exposition mit natürlich infizierten Zecken der Gattung *I. pacificus* traten bei den Pferden klinische Symptome auf (Lewis, Jr. et al. 1975). Auch bei experimentell infizierten Zecken der Gattung *I. scapularis* gelang die Übertragung der Infektion (Pusterla et al. 2002; Reubel et al. 1998). In der Studie von Pusterla et al. entwickelten die beiden Tiere 11 Tage nach Zeckenexposition schwere klinische Symptome und für die EGA typische Blutwertveränderungen (Pusterla et al. 2002).

Zecken des *I.-persulcatus*-Komplexes (*I. ricinus*, *I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. persulcatus*) werden somit als wichtigste Vektoren für *Ap* angesehen (Woldehiwet 2010), in Europa vor allem *I. ricinus* (Strle 2004). Andere Vektoren als Zecken wurden bislang nicht gefunden und anderen Möglichkeiten der Übertragung, neben der Übertragung via Zecken, wird keine Bedeutung zugesprochen.

Eine experimentelle Infektion gelang durch parenterale Applikation von Blut und Organ-Homogenaten, die von akut erkrankten Pferden gewonnen wurden (Lewis, Jr. 1976; Nyindo et al. 1978). 1995 provozierten Madigan und Kollegen durch die experimentelle intravenöse Verabreichung von Blut eines akut mit dem „Agens der HGE“ (heute *Anaplasma phagocytophilum*) infizierten Menschen an Pferde eine Erkrankung, die von der EGA nicht zu unterscheiden war, womit der Beweis dafür gebracht worden war, dass die Erreger verwandt, wenn nicht sogar identisch wären (Madigan et al. 1995). Dawson und Kollegen isolierte den Erreger aus experimentell infizierten Katzen und waren ebenfalls in der Lage damit wiederum Ponys experimentell zu infizieren und eine EGA auszulösen (Dawson et al. 1988). Bislang ist es nicht gelungen, experimentell via Zecken die *Ap*-Infektion von einem akut erkrankten Pferd auf ein anderes zu übertragen (Gribble 1969).

Bei wenigen Pferden kommt es zu einer Persistenz der Anaplasmen (Nyindo et al. 1978; Franzén et al. 2005). Es sind weitere Untersuchungen zum Infektions- und Übertragungsmechanismus notwendig. Seroprävalenzstudien beim Pferd wurden in verschiedenen europäischen Ländern (Tabelle 11) durchgeführt (Hansen et al. 2010; Leblond et al. 2005; Maurizi et al. 2009; Laus et al. 2013; Passamonti et al. 2010; Butler et al. 2008; Egenvall et al. 2001).

**Tabelle 11:** Studien zu *Ap*-(Sero-)Prävalenzen bei Pferden in verschiedenen europäischen Ländern mit unterschiedlicher Methodik

Land	<i>Ap</i> -Seroprävalenz (% , n/n <sub>ges</sub> )	Methode	Quelle
Dänemark	22,3 % (87/390)	SNAP 4Dx	Hansen et al. 2010
Frankreich	11,3 % (48/424)	ELISA	Leblond et al. 2005
	13,5 % (55/408)	SNAP 4Dx	Maurizi et al. 2009
Italien	13,4 % (41/300)	IFAT, PCR	Laus et al. 2013
	17,0 % (23/135)	IFAT, PCR	Passamonti et al. 2010
Niederlande	9,8 % (6/61)	PCR, Blutaussstrich	Butler et al. 2008
Schweden	16,7 % (337/2018)	IFAT	Egenvall et al. 2001
Spanien	6,5 % (3/46)	IFAT	Amusategui et al. 2006
Tschechien	72,8 % (67/92)	IFAT	Praskova et al. 2011

### 2.5.2 Pathogenese & Immunantwort des Wirtes bei Anaplasmosen

*Ap* wird bei einem Zeckenstich übertragen, breitet sich dann von der Zeckenstichstelle ausgehend über Lymphe und Blutbahnen aus und befällt seine Zielzellen im hämatopoetischen und lymphatischen System (Madigan und Gribble 1987; Granquist et al. 2010) über Bindung an sialyinierte Glykoproteine auf der Oberfläche der Granulozyten (Ojogun et al. 2012; Madigan und Gribble 1987). *Ap* kann die phagolysosomale Fusion, den oxidativen Burst und die Apoptose in den infizierten Granulozyten verhindern (Songer und Post 2005; Carlyon et al. 2004; Carlyon und Fikrig 2003; Choi et al. 2005; Ge und Rikihisa 2006).

Diese und weitere Mechanismen sorgen dafür, dass *Ap* nicht nur durch Ausnutzung von Internalisierungsmechanismen in die Neutrophilen, eindringt, sondern sich auch auf einzigartige Weise ein geeignetes Wirtszell-Milieu generiert (Carlyon et al. 2004; Carlyon und Fikrig 2003).

Das Bersten der Zellen und die darauffolgende Freisetzung von infektiösem Material erfolgen, nachdem das Zytoplasma mit infizierenden Mikroorganismen komplett gefüllt ist. Über Exozytose und Fusion der Vakuolenmembran mit der Plasmamembran kann es ebenfalls zur Freisetzung der Anaplasmen kommen. Somit geht die Besiedlung der Wirtszelle nicht immer mit deren Zerstörung einher. Anaplasmen können auch zwischen benachbarten Zellen durch die Kopplung von Exozytose und Endozytose transmittieren (Rikihisa 1990).

Ein Eindringen der Anaplasmen über Mastzellen der Haut in der Region des Zeckenstichs wird ebenfalls diskutiert (Ojogun et al. 2011). Beim Kalb wurde ein Fall einer kongenitalen, intrauterinen Infektion beschrieben (Henniger et al. 2013). Bei experimenteller Infektion einer graviden Stute, konnten beim Fohlen im Alter von 15 Tagen eine geringe Anzahl infizierter

neutrophiler Granulozyten nachgewiesen werden (Gribble 1969; Rikihisa et al. 2004). Die Bluttransfusion von lediglich 20 ml Blut eines akut infizierten Pferdes führt zur Infektion des Empfängertieres; das Blut von Pferden in der Rekonvaleszenzphase wird dagegen als nicht infektiös angesehen (Pusterla und Madigan 2013; Nyindo et al. 1978).

Im Gegensatz zu anderen Gram-negativen Bakterien, hat *Ap* weder Lipopolysaccharide noch Peptidoglykane, dafür aber Cholesterol in der äußeren Zellmembran. Aus diesem Grund wird *Ap* durch Toll-like-Rezeptoren des angeborenen Abwehrsystems schlechter erkannt (Lin und Rikihisa 2003).

Die in der akuten Phase auftretende Bakteriämie verursacht eine entzündliche Reaktion mit Zytokinfreisetzung und vermehrter Durchlässigkeit der Blutgefäße (Rikihisa 1991; Choi et al. 2004). Während der Entzündungsreaktion, werden Zytokine wie IL-1 und -6 und TNF- $\alpha$  freigesetzt, die mit Rezeptoren im Hypothalamus interagieren und eine Temperatursollwertänderung nach oben im Wärmeregulationszentrum bewirken. Auch Prostaglandine könnten bei der Entstehung des Fiebers mit eine Rolle spielen (Robinson 1997).

*Post mortem* werden bei Pferden mit EGA großflächige hämorrhagische und ödematöse Läsionen an den Gliedmaßen, dem Präputium und der ventralen Bauchdecke beobachtet. Histologisch handelt es sich hierbei um eine Vaskulitis der kleinen Blutgefäße in den betroffenen Regionen. Diese vaskulären Läsionen sind proliferativ und nekrotisierend mit perivaskulären Ansammlungen von Monozyten und Lymphozyten, die zu zellulären Thrombosen, endothelialen Zellschwellungen und Anschwellungen der glatten Muskelzellen führen (Pusterla und Madigan 2003).

Lokalisierte pathologisch-inflammatorische interstitielle Läsionen können vor allem auch in der Milz, Leber, den Lungen und Nieren beobachtet werden. Die im Rahmen der EGA beobachtete Panzytopenie mit besonders deutlich ausgeprägter Anämie und Thrombozytopenie könnte die Folge von peripherer Sequestration, vermehrtem Verbrauch, vermehrtem Abbau und Schädigung des Knochenmarks sein (Lepidi et al. 2000; Gribble 1969; Reubel et al. 1998; Dumler et al. 2001).

Die teilweise beobachtete Ataxie wird hervorgerufen durch inflammatorische Läsionen im Gehirn mit vermehrter Flüssigkeitsansammlung in den Ventrikeln (Madigan und Gribble 1987). In seltenen Fällen entwickelt sich auch eine myokardiale Vaskulitis, die wiederum transiente ventrikuläre Arrhythmien verursacht (Pusterla und Madigan 2003).

Im Rahmen einer Infektion mit *Ap* werden die Abwehrmechanismen des Wirtes geschwächt; opportunistische Infektionen aufgrund chronischer bakterieller Vorbelastung (Bronchopneumonie, Arthritis, Perikarditis, Lymphadenitis und Cellulitis) und

Sekundärinfektionen treten vermehrt auf (Gribble 1969). Sowohl die humorale als auch die T-Zell-medierte Immunabwehr sind durch die Modulation der Chemokinsynthese betroffen (Garyu et al. 2005).

Außerdem sind die phagozytären und migratorischen Eigenschaften der Neutrophilen Granulozyten eingeschränkt: *Ap* verändert im Rahmen seiner Vermehrung in den Neutrophilen deren Zellfunktionen, indem es die endotheliale Zelladhäsion, die Transmigration und den oxidativen Burst reduziert, die Degranulation und Chemokinsynthese erhöht und die Apoptose verzögert. Diese Modulation der Neutrophilen verlängert das Überleben infizierter Neutrophiler in der Zirkulation und trägt dadurch zur Erkrankung des Wirtes bei, indem Entzündungen gefördert und die mikrobiozide Aktivität dysreguliert wird (Garyu et al. 2005).

Pferde mit Spontanheilungen entwickeln innerhalb von drei Wochen eine über bis zu zwei Jahre protektive Immunität, unabhängig von einer latenten Infektion oder einem Carrierstatus (Madigan et al. 1995; van Andel et al. 1998; Nyindo et al. 1978). Lediglich in einer Studie konnte bislang das Persistieren von *Ap* über vier Monate mittels positiver PCR-Befunde bei experimentell infizierten Pferden, allerdings ohne klinische Veränderungen nach akuter Erkrankung, beobachtet werden (Franzén et al. 2009). Die Existenz einer chronischen EGA, also einer persistierenden Infektion mit *Ap* mit einhergehenden klinischen Veränderungen, wurde bei natürlich infizierten Pferden bislang aber nicht bewiesen (Pusterla und Madigan 2013).

Die Inkubationszeit beträgt bei experimenteller Infektion nach Nadel-Inokulation mit infiziertem Blut drei bis zehn Tage, bei Verwendung infizierter Zecken acht bis zwölf Tage und bei natürlicher Infektion wird in der Regel von einer Inkubationszeit von weniger als 14 Tagen ausgegangen (Pusterla und Madigan 2014; Gribble 1969; Lewis et al. 2009). Der Peak des Antikörpertiters ist nach etwa 19 bis 81 Tagen erreicht (Pusterla und Madigan 2003). Eine Oxytetracyclinbehandlung eliminiert zwar *Ap*, jedoch kann es zu einer Reinfektion kommen, die in der Regel nur minimale klinische Symptome induziert (Nyindo et al. 1978).

### **2.5.3 Klinik einer Infektion mit *Anaplasma phagocytophilum***

#### **2.5.3.1 Humane Granulozytäre Anaplasmosen**

Beim Menschen äußert sich die klinische Manifestation durch mild verlaufende fieberhafte Erkrankung bis hin zu fataler Infektion. In der Regel treten grippeartige Symptome wie Fieber, Kopfschmerzen, Myalgien und Unwohlsein auf, die selbstlimitierend sind (Bakken et al. 1994; Walker und Dumler 1996). Bei schweren Komplikationen kann es zu einem septischen Schock, Koagulopathien, atypischer Pneumonie, Rhabdomyolyse, Myokarditis, akutem Nierenversagen, demyelinisierender Polyneuropathie und opportunistischen Infektionen kommen (Dumler et al. 2005; Eng et al. 1990). Labordiagnostisch fallen vor allem eine

Thrombozytopenie, Leukopenie, Anämie, erhöhte Akute-Phase-Proteine und Leberenzyme auf (Walker und Dumler 1996; Eng et al. 1990; Bakken 1996; Bakken und Dumler 2008).

### **2.5.3.2 *Anaplasma phagocytophilum* in der Veterinärmedizin**

Das natürliche Wirtsspektrum von *Ap* umfasst zahlreiche domestizierte und wilde Tierarten, wie das Rotwild, Rehwild, wilde Nagetiere, Elche, Lamas, Bisons (Dumler et al. 2001; Stuen et al. 2013), ebenso wie Menschen und domestizierte Haussäugetiere wie Hunde, Katzen, Rinder, Schafe, Ziegen und Pferde (Gribble 1969; Sykes und Foley 2014; Stannard et al. 1969; Reubel et al. 1998; Foggie 1951; Goodman et al. 1996; Munderloh et al. 1996; Massung et al. 2007; Kohn et al. 2011).

Das experimentelle Wirtsspektrum von *Ap* umfasst neben Pferden auch Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde, Katzen, Rhesusaffen und Paviane (Lewis, Jr. et al. 1975; Lewis, Jr. 1976; Pusterla et al. 1999b). Ratten, Mäuse, Meerschweinchen, Hamster und Kaninchen zeigen experimentell keine Empfänglichkeit für eine *Ap*-Infektion (Stannard et al. 1969; Reubel et al. 1998).

Schwerwiegende Infektionen konnten bislang nur bei Schafen, Rindern, Pferden, Rentieren, Rehwild, Elchen, Hunden und beim Menschen beobachtet werden (Stuen et al. 2013; Heine et al. 2007; Jenkins et al. 2001; Franzén et al. 2007). Das Zeckenbissfieber der Wiederkäuer und die Canine und Equine Granulozytäre Anaplasmosen werden im Folgenden beschrieben.

#### **2.5.3.2.1 Zeckenbissfieber der Wiederkäuer**

Über Zeckenbissfieber infolge von *I.-ricinus*-Befall wurde erstmals 1932 aus Schottland berichtet (Gordon et al. 1932). Neben Rindern sind Schafe, Ziegen und Wildwiederkäuer empfänglich (Foggie 1951; Nieder et al. 2012; Scharf et al. 2011; Silaghi et al. 2011). Infektionen konnten in vielen europäischen Ländern inklusive Deutschland nachgewiesen werden (Stuen et al. 2013). Nach einer Inkubationszeit von etwa einer Woche mit Bakteriämie treten Fieber, reduzierte Futteraufnahme, Apathie und verringerte Milchproduktion auf. Aborte sind möglich (Tuomi 1967). Die meisten Infektionen verlaufen asymptomatisch bzw. milde. Schwere Krankheitsverläufe können auftreten, wenn nicht immune Tiere in endemisch verseuchte Gebiete verbracht werden. Der Erreger kann bis zu zwei Jahren persistieren (Straubinger 2015a; Woldehiwet und Ristic 1993).

#### **2.5.3.2.2 Canine Granulozytäre Anaplasmosen**

Das klinische Bild der Caninen Granulozytären Anaplasmosen umfasst Fieber, Anorexie, Dyspnoe, Lethargie, Lymphadenopathie, Splenomegalie, Polyarthritiden mit Bewegungsunwillen, Polydipsie, Durchfall, Erbrechen und schwacher Husten (Sykes und Foley 2014). Eine Thrombozytopenie ist diagnostisch hinweisend (Kohn et al. 2008). Die

Erkrankung ist in Deutschland endemisch; etwa 20-47 % der Hunde tragen spezifische Antikörper (Kohn et al. 2011; Barth 2013; Krupka et al. 2007).

Katzen erkranken sehr viel seltener an Anaplasmosen als Hunde. Bei Katzen wurden primär Anorexie, Lethargie, Hyperästhesie, Konjunktivitis, Myalgie, Arthralgie, Lahmheit und Inkoordination beobachtet (Egenvall et al. 1997; Bjöersdorff et al. 1999; Cohn 2003; Heikkilä et al. 2010).

### **2.5.3.2.3 Equine Granulozytäre Anaplasmosen**

Die erste klinische Veränderung, die im Rahmen einer EGA auftritt, ist hohes Fieber mit Temperaturen von 39,4-41,3 °C, das ein bis neun Tage anhält. Lethargie, partielle oder vollständige Anorexie, Gliedmaßen- und Unterbrustödeme, Ikterus, Petechien und Ekchymosen, Bewegungsunlust und Ataxie sind in Folge häufige klinische Merkmale der EGA (Brewer et al. 1984; Telford et al. 1996; Madigan und Pusterla 2000; Schusser et al. 2007).

Taumeln und das Einnehmen eines breiten Standes werden oft beobachtet, was propriozeptive Defizite vermuten lässt. Die Herzfrequenz ist meist moderat erhöht; ventrikuläre Tachykardie und ventrikuläre Extrasystolen können vorkommen (Pusterla und Madigan 2013). Vereinzelt wurden auch Lymphadenopathie, Pneumonie, Durchfall, Rhabdomyolyse, Gelenkentzündungen und neurologische Veränderungen wie epileptiformes Anfallsgeschehen und Paralysen beobachtet (Burgess et al. 2012; Reubel et al. 1998; Adaszek et al. 2009; Nolen-Walston et al. 2004; Uehlinger et al. 2011; Hilton et al. 2008).

Werden tragende Stuten experimentell mit *Ap* infiziert, zeigen sie diese klinischen Veränderungen in unterschiedlichen Schweregraden, aber keinen Abort (Rikihisa et al. 2004). Der Schweregrad der Erkrankung ist vom Alter des Pferdes und der Dauer der Erkrankung abhängig. Pferde jünger als vier Jahre entwickeln mildere Symptome als ältere Pferde, wobei Pferde unter einem Jahr sich wiederum oftmals nur mit einer geringgradigen Apathie und Fieber präsentieren. In den meisten Fällen weist die EGA einen subklinischen oder milden Verlauf auf (Madigan und Gribble 1987).

Die Krankheit ist meist selbstlimitierend mit klinischen Symptomen über sieben bis vierzehn Tage (Gribble 1969). Die Letalität der Erkrankung ist gering, es sei denn, es treten Sekundärinfektionen oder infolge von Stürzen durch die Ataxie schwere Verletzungen auf (Rikihisa et al. 2004). Ein vierjähriges, an EGA erkranktes Pferd verstarb trotz Einleitung einer adäquaten Therapie (Butler et al. 2008). Auch bei einem experimentell infizierten 19-jährigem Pferd wurde ein fataler Krankheitsverlauf beschrieben: Die Obduktion ergab weit verbreitete Blutungen in den inneren Organen sowie Vaskulitis und Thrombose in den Nieren, die auf eine disseminierte intravasale Gerinnung hindeuten (Franzén et al. 2007). Eine einjährige Friesenstute entwickelte im Rahmen einer EGA akutes renales Nierenversagen, eine

Pneumonie und Hufrehe und musste intensivmedizinisch versorgt werden (Schusser et al. 2007). Die Prognose der EGA ist aber grundsätzlich gut (Pusterla und Madigan 2014).

Die am häufigsten beobachteten hämatologischen Veränderungen sind ein erniedrigter Hämatokrit, Thrombozytopenie sowie Leukopenie. Zu Beginn der febrilen Phase ist oft eine massive Lymphopenie und danach eine Neutropenie zu beobachten (Rikihiya 1991; Franzén et al. 2005). Auch Hyperbilirubinämie, Fibrinogenämie, Hypoalbuminämie und Azotämie wurden beschrieben (Franzén et al. 2005; Schusser et al. 2007).

Da die klinischen Anzeichen insgesamt eher unspezifisch sind, können sie nicht allein als Basis für die Diagnose der EGA verwendet werden (Engvall et al. 1996). Differentialdiagnosen sind die equine Lyme-Borreliose, Equine Infektiöse Anämie, Equine Virale Arteriitis, Piroplasmose, Potomac Horse Fever, virale Enzephalitiden, Purpura haemorrhagica, Morbus maculosus und Lebererkrankungen (Pusterla und Madigan 2003; Feige und Müller 2007; Lewis et al. 2009).

### **2.5.4 Therapie der Equinen Granulozytären Anaplasmosen**

Die EGA kann effektiv mit Antibiotika behandelt werden. Durch antibiotische Behandlung wird die Erkrankungsdauer signifikant verkürzt und die Schwere der Erkrankung gemindert. Da *Ap* ein intrazelluläres Pathogen ist, sind Tetracykline die Antibiotika der Wahl (Madigan und Pusterla 2000; Maurin et al. 2003). Pusterla et al. (1998) verwendeten Oxytetracyclin intravenös in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht über 5 Tage bei einer 12-jährigen Stute (Pusterla et al. 1998). Verschiedene Studien zeigten die Effizienz einer geringeren Dosis Oxytetracyclin (7 mg/kg Körpergewicht einmal täglich über 5-7 Tage) durch schnelles Ansprechen der infizierten Pferde auf die Therapie (Hermann et al. 1985; Madigan und Gribble 1987).

Innerhalb von 12 bis 24 Stunden nach erstmaliger Gabe von intravenösem Oxytetracyclin kann bereits eine Besserung des klinischen Bildes eintreten (Madigan und Gribble 1987; Adaszek und Winiarczyk 2011; Pusterla et al. 1998). Ein Nicht-Ansprechen auf die Therapie mit ausbleibender Fiebersenkung innerhalb von 24 Stunden halten manche Autoren für einen Hinweis, dass die Diagnose revidiert werden sollte (Madigan und Gribble 1987; Pusterla und Madigan 2013). Eine Ataxie sollte innerhalb von zwei bis drei Tagen und die Gliedmaßenödeme innerhalb von mehreren Tagen verschwinden (Pusterla und Madigan 2013).

Nebenwirkungen wie perivaskuläre Schwellungen (Lewis et al. 2009), hepato- und neurotoxische Effekte, gastrointestinale Affektionen und farbliche Veränderungen des Zahnschmelzes können im Rahmen einer Oxytetracyclin-Behandlung auftreten (Maurin et al. 2003; Klein et al. 1997). Als Alternative kommt Doxycyclin (10 mg/kg alle 12 Stunden p.o. über

10-14 Tage) infrage, das ebenfalls bereits effektiv bei EGA eingesetzt wurde (Lewis et al. 2009). Diese beiden Antibiotika könnten auch in Kombination eingesetzt werden: zwei intravenöse Gaben Oxytetracyclin und darauffolgend über 7-10 Tage oral verabreichtes Doxycyclin (Pusterla und Madigan 2013). Auch neue Generationen der Fluorochinolone und Rifampicin haben *in vitro* eine Effektivität gegen *Ap* gezeigt (Klein et al. 1997; Branger et al. 2004).

Unterstützend können NSAIDs zur Fiebersenkung, Kortikosteroide bei Vaskulitis und autoimmun-induzierter Anämie, Infusionstherapie und Stallruhe mit Stallgamaschen zur Minderung der Verletzungsgefahr in begründeten Einzelfällen zum Einsatz kommen (Dzięgiel et al. 2013; Adaszek et al. 2009; Pusterla und Madigan 2013).

### **2.5.5 Prophylaxe der Equinen Granulozytären Anaplasmose**

Bislang existiert noch keine Impfung gegen *Ap*. Verschiedene Vakzine-Kandidaten wurden vorgeschlagen, aber die Entwicklung einer effektiven Impfung ist noch nicht gelungen (Herron et al. 2005; Ge und Rikihisa 2006; Ijdo et al. 1998; Dark et al. 2011; Palmer et al. 2012). Die Prophylaxemaßnahmen sind also auf die Verhinderung oder Minderung einer Zeckenexposition beschränkt (Parola und Raoult 2001).

### **2.5.6 Diagnostik bei Equiner Granulozytärer Anaplasmose**

In der Humanmedizin müssen folgende Kriterien zur Diagnose der HGA erfüllt sein:

1. Die klinischen und labordiagnostischen Veränderungen müssen mit den in der Literatur beschriebenen Veränderungen im Rahmen der HGA im Einklang sein UND
2. Morulae in Neutrophilen sind nachweisbar und ein einmalig positiver *Ap*-Antikörpertiter wird nachgewiesen ODER
3. Ein vierfacher Anstieg des Antikörpertiters in einer gepaarten Serumprobe über 4 Wochen ist nachweisbar ODER
4. Ein positiver *Ap*-PCR-Nachweis liegt vor ODER
5. Eine erfolgreiche Isolation von *Ap* aus dem Blut des Patienten ist gelungen (Bakken und Dumler 2008).

Diese Kriterien lassen sich auch in die Veterinärmedizin übertragen.

#### **2.5.6.1 Anamnese und Vorbericht bei Verdacht auf Equine Granulozytäre Anaplasmose**

Die Diagnose der EGA basiert auf den gesammelten Daten aus epizootischer Anamnese (jahreszeitlich und regional typisches Auftreten, vorhandene Zeckenexposition), klinischen und labordiagnostischen Befunden (Amusatogui et al. 2006; Feige und Müller 2007).

### **2.5.6.2 Labordiagnostische Veränderungen im Rahmen der Equinen Granulozytären Anaplasmosose**

Leukopenie, Thrombozytopenie, Neutropenie, Anämie, Ikterus und Einschlusskörperchen im Blutausschlag (s.u.) sind charakteristische Veränderungen der Blutchemie und des Blutbildes, die im Rahmen der EGA auftreten können (Pusterla und Madigan 2014; Franzén et al. 2005).

### **2.5.6.3 Direkter Erregernachweis von *Anaplasma phagocytophilum***

#### **2.5.6.3.1 Kultivierung von *Anaplasma phagocytophilum***

Die Kultivierung von *Ap* aus Pferdeblut *in vitro* auf Zelllinien wird aufgrund der hohen Kosten, des hohen Zeitaufwands und des niedrigen diagnostischen Nutzens selten durchgeführt (Goodman et al. 1996; Munderloh et al. 1996), obwohl der Erreger routinemäßig aus dem Blut von humanen Patienten mit HGE isoliert wird (Engvall et al. 1996; Rikihisa et al. 2004).

#### **2.5.6.3.2 Mikroskopische Untersuchung von Blutausschlägen zum Nachweis von *Anaplasma phagocytophilum***

Der Goldstandard der Diagnostik bei der EGA besteht im Nachweis der typischen Einschlusskörperchen (Morulae) von *Ap* im Zytoplasma von neutrophilen und zum Teil auch eosinophilen Granulozyten (Sells et al. 1976; Pusterla et al. 1998; Gribble 1969). Morulae treten nur in der akuten Phase der Infektion, beginnend etwa zwei bis vier Tage *post infectionem*, in den Granulozyten auf (Gribble 1969; Dzięgiel et al. 2013). Die Infektionsrate der Neutrophilen und damit die Nachweisrate der Morulae liegt im Initialstadium der Erkrankung bei weniger als 1 % der Zellen und am 3. bis 5. Tag der Erkrankung bei bis zu 60 % (Berrington et al. 1996; Uehlinger et al. 2011; Lukaszewska et al. 2008; Pusterla und Madigan 2014; Franzén et al. 2005).

Zum Nachweis der Morulae sind Blutausschläge, die mittels Diff-Quick-, Wright- oder Giemsa-Färbung eingefärbt wurden, geeignet (Sells et al. 1976; Pusterla et al. 1998; Gribble 1969). Bei mehr als drei nachweisbaren Morulae ist die Diagnose eindeutig zu stellen (Madigan und Gribble 1987; Rikihisa et al. 2004). Nach Therapiebeginn sind Morulae nur noch schwer nachweisbar und 48 bis 72 Stunden später gar nicht mehr vorhanden (Pusterla und Madigan 2014). Nachteil dieser Nachweismethode ist, dass sie in den ersten zwei Tagen *post infectionem* schwierig ist und subjektive Fehler sowohl zu falsch-positiven als auch falsch-negativen Resultaten führen können (Schotthoefler et al. 2013).

#### **2.5.6.3.3 Polymerase-Kettenreaktion**

Der Nachweis von *Ap*-DNA via PCR ist eine sensitive und spezifische Methode zum Nachweis der EGA (Barlough et al. 1996; Drazenovich et al. 2006; Pusterla et al. 1999a). Die PCR ist vor allem im Anfangs- und Endstadium der Erkrankung eine gute diagnostische Hilfe, weil

dann der mikroskopische Nachweis von Morulae oft nicht möglich ist (Franzén et al. 2005; Pusterla und Madigan 2014). Als Untersuchungsmaterial für die PCR eignen sich Vollblut, Leukozytenanreicherungen, Knochenmark und Milzgewebe (Dzięgiel et al. 2013).

Für die Detektion des Gene ANK und P44 von *Ap* in Pferdeblut und Zecken wurde eine nested-PCR entwickelt, mit der eine frühzeitige Diagnose der EGA möglich ist (Barlough et al. 1996). Die Ergebnisse dieser PCR korrelierten gut mit der Präsenz mikroskopisch beobachteter Morulae (Engvall et al. 1996). Mit keiner der aktuell verwendeten PCR-Methoden ist eine Differenzierung zwischen den einzelnen Stämme von *Ap* möglich (Rikihisa et al. 2004). Die PCR erlaubt aber die Unterscheidung von *Ap* und *Ehrlichia ewingii*, einem Pathogen, das ebenfalls für eine Morulae-Bildung in neutrophilen Granulozyten verantwortlich sein kann (Lukaszewska et al. 2008). Die Kombination von Morulaenachweis im Blutaussstrich und Erreger-DNA-Nachweis im Blut mittels PCR ist als besonders spezifisch anzusehen (Lewis et al. 2009).

#### **2.5.6.4 Indirekter Erregernachweis bei *Anaplasma-phagocytophilum*-Infektionen**

Indirekte Erregernachweisverfahren zur Diagnose der EGA in Form serologischer Laboruntersuchungen stehen zur Verfügung (Amusategui et al. 2006). In der Regel kommen ELISAs und Immunfluoreszenztests zum Einsatz (Magnarelli et al. 2000). Ein Anstieg der Antikörper um das Vierfache lässt eine sichere Diagnose zu (Madigan et al. 1990; Songer und Post 2005). Antikörper gegen *Ap* können ab dem 14. Tag *post infectionem* und bis zu zwei Jahre später nachgewiesen werden (Franzén et al. 2005; Madigan und Gribble 1987).

##### **2.5.6.4.1 Immunfluoreszenztest (IFAT)**

Der Immunfluoreszenztest (IFAT) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Ap* gilt bei Pferden als Goldstandard der serologischen Diagnostik (Nyindo et al. 1978; Rikihisa et al. 2004). Ein Antikörpertiter von 1:1.280 oder höher lässt sich bis zum 75. Tag nach Infektion mit *Ap* nachweisen (Rikihisa et al. 2004). Eine Kreuzreaktivität mit anderen Anaplasmen und Ehrlichien ist möglich (Nicholson et al. 1997). Falsch-negative Befunde sind möglich, wenn die Tiere noch nicht serokonvertiert sind und zu früh untersucht wurde; in diesem Fall ist die PCR zu bevorzugen (Engvall et al. 1996).

##### **2.5.6.4.2 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Die relative Sensitivität und Spezifität des kommerziell erhältlichen ELISAs (SNAP® 4Dx, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) verglichen mit dem IFAT zum Nachweis von Antikörpern gegen *Ap* liegt bei 87-100 % und 100 % (Chandrashekar et al. 2008; Veronesi et al. 2014). Die etwas geringere Sensitivität, die Veronesi und Mitarbeiter gefunden hatten, war vor allem durch Fälle mit niedrigen IFAT-Titern in einer asymptomatischen Gruppe von Pferden begründet (Veronesi et al. 2014). Schwartz und Mitarbeiter beurteilten die

Übereinstimmung der IFAT- und ELISA-Ergebnisse in ihrer Studie an 50 Pferden einer Population mit geringem *Ap*-Infektionsrisiko als eher schlecht (Schvartz et al. 2015a).

### **3 MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 Studiendesign und Zielsetzung**

Primäres Ziel der Studie war die Ermittlung der klinischen Relevanz der equinen Lyme-Borreliose in Deutschland. Hierfür wurden Pferde mit klinischem Borrelioseverdacht sowie Kontrolltiere beprobt. Die eingesandten Blutproben wurden zusätzlich auf Anaplasmen-Antikörper getestet, um den Anteil an Koinfektionen zu ermitteln. Dies sollte die Frage klären, inwiefern Anaplasmen-Infektionen für eine Variabilität des beschriebenen klinischen Bildes bei equiner LB verantwortlich sind.

Einschlusskriterien für die Aufnahme von Pferden in die Studie waren, dass die Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“ durch den betreuenden (Haus-)Tierarzt gestellt wurde und ein kurzer Frage- und Befundbogen vom Tierarzt beziehungsweise der Tierärztin\* (Abbildung 68 im Anhang) sowie dem Pferdebesitzer beziehungsweise der Pferdebesitzerin\* (Abbildung 65 im Anhang) ausgefüllt wurden. Dabei gab es die Möglichkeit die Fragebögen online auszufüllen oder in Papierform zusammen mit den Proben einzuschicken. Die Fragebögen dienten der Erhebung begleitender Daten zum Signalement der Patienten (Fall-Gruppe), der Haltungs- und Nutzungsform, der Zeckenexposition, Prophylaxemaßnahmen, klinischem Krankheitsbild und vorangegangener Therapie.

Für die serologischen (*Bb*-, *Ap*-Diagnostik) und hämatologischen (Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten) Untersuchungen wurden Blutproben (circa 5 ml EDTA-Blut und 10 ml Serum) des Patienten und eines gesunden Kontrolltieres aus demselben Stall benötigt. Für die Zuordnung der Proben wurde den Tierärzten ein Probenbegleitblatt zur Verfügung gestellt.

Der Tierversuch (Ziehen von Blutproben bei gesunden Pferden) wurde in Berlin angezeigt unter dem Versuchsvorhaben A 0284/17 („Studie von Prävalenz der Borreliose und granulozytären Ehrlichiose bei Pferden in Deutschland“).

\*im Folgenden Tierarzt beziehungsweise Pferdebesitzer genannt

#### **3.2 Tiere**

Die vorliegende Arbeit umfasst die Daten von 236 Equiden im Alter von ½ bis 30 Jahren, von denen im Zeitraum vom 23.05.2017 bis 29.08.2018 Blutproben in einer Kooperation der Klinik für Pferde der FU Berlin und dem Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie des Veterinärmedizinischen Departments der Tiermedizinischen Fakultät der LMU München hämatologisch und serologisch untersucht wurden. Die Proben wurden, bis auf vier Patienten, die direkt in der Klinik für Pferde vorstellig wurden, von deutschlandweit tätigen praktizierenden Tierärzten eingesandt. Der Patientenfundes repräsentiert nur eingeschränkt eine natürliche Population, da bei allen Patienten der „Fall-Gruppe“ (n = 123) ein Verdacht einer Infektion mit

Erregern des *Bbsl*-Komplexes bestand. Die Patienten der „Kontroll-Gruppe“ (n = 113) waren durchweg vom Tierarzt als gesund eingestuft, weswegen auch hier eine gewisse Vorselektion stattfand. Neben Pferden (*Equus caballus*) wurde auch ein Esel-Paar (*Equus asinus*) untersucht. Die Pferde befanden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung größtenteils in privatem Besitz. Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie wurden den Tierärzten und Pferdebesitzern auf Rückfrage mitgeteilt bzw. fanden sich auch auf den, den Fragebögen angefügten, Begleitschreiben (Abbildung 66 und Abbildung 64 im Anhang). Die Korrektheit der Angaben wurde nicht persönlich überprüft.

### 3.3 Materialien

Für die Auswertung herangezogen wurden die Daten aller im erwähnten Zeitraum von praktischen Tierärzten aus dem gesamten Bundesgebiet eingesandten Blutproben von Equiden. Die Einsendung der Proben erfolgte gezielt für die spezifische Untersuchung auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen Erreger aus der *Bbsl*-Gruppe und *Ap*. Bei n = 114 Patienten lagen die zusätzlichen Unterlagen (Frage- und Befundbögen) vollständig vor. Zusätzliche labordiagnostische Parameter und Befunde vorangegangener serologischer Untersuchungen lagen bei n = 82 den Unterlagen bei. Bei n = 9 Patienten fehlten die Unterlagen teilweise. Weitere 8 Patientenproben fanden keinen Eingang in die Studie, da sie aufgrund fehlender Unterlagen nicht sicher zugeordnet werden konnten. 26 Tierärzte und 66 Pferdebesitzer nutzten den Online-Fragebogen, der über Limesurvey (LimeSurvey GmbH, Hamburg) zur Verfügung gestellt wurde. Der Rest beantwortete die Fragen handschriftlich.

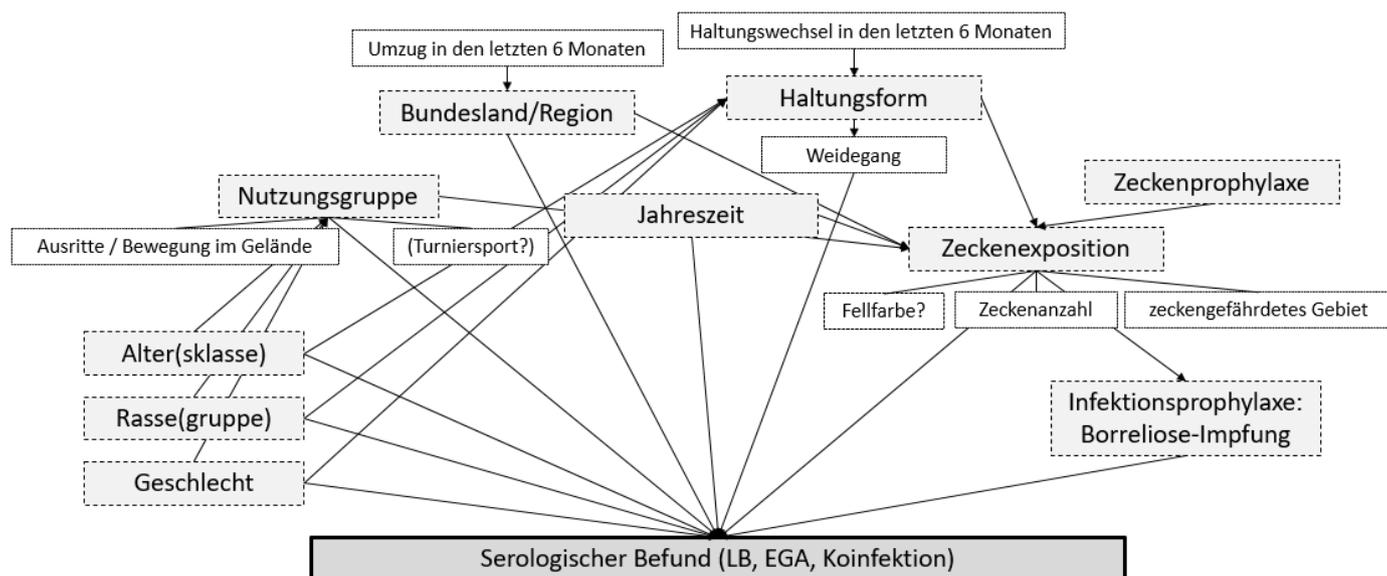
### 3.4 Methoden

#### 3.4.1 Frage- und Befundbogen

##### 3.4.1.1 Entwicklung und Gestaltung der Fragebögen

Die Erstellung der Fragebögen erfolgte unter Verwendung von Microsoft Office Word 2016. Die Pferdebesitzer und Tierärzte bekamen ihn auf Anfrage per E-Mail in PDF-Form zugestellt. Die Online-Version wurde mittels der von der Firma LimeSurvey GmbH (Hamburg) bereitgestellten Umfragedienste als Homepage erstellt (Version 2.56.1+161118).

Verschiedene potenzielle Risikofaktoren für einen positiven *Bb*- oder *Ap*-Serobefund sollten über die Fragebögen erfasst werden (Abbildung 9). Die weitere Aufteilung der Fragebögen in verschiedene Themenbereiche soll im Folgenden erläutert werden.



**Abbildung 9:** In der Studie erfasste und untersuchte Risikofaktoren

### 3.4.1.2 Aufbau des Besitzerfragebogens

#### 3.4.1.2.1 Erster Abschnitt: Besitzerdaten

In diesem Abschnitt wurden Name, Anschrift und Kontaktmöglichkeiten (Telefonnummer, E-Mail-Adresse) sowie der Name des behandelnden Tierarztes erfragt, um die Proben zuordnen und die Befunde mitteilen zu können.

#### 3.4.1.2.2 Zweiter Abschnitt: Allgemeine Angaben zum Pferd

Dieser Teilbereich befasste sich mit den allgemeinen Daten des Pferdes wie Alter, Rasse, Geschlecht, Körpergewicht und fragte ab, seit wann sich das Pferd im Besitz des Pferdehalters befand.

#### 3.4.1.2.3 Dritter Abschnitt: Angaben zur Haltung

In dieser Rubrik ging es um die Haltungsform des Pferdes, die Dauer des Weidegangs und es wurde darüber hinaus erfragt, ob ein Stall- oder Hal tungswchsel innerhalb des letzten Jahres stattgefunden hatte. Außerdem wurde der Standort des Stalles (Landkreis, Bundesland) abgefragt.

#### 3.4.1.2.4 Vierter Abschnitt: Angaben zur Nutzung des Pferdes

Dieser Abschnitt des Fragebogens befasste sich mit der Nutzung des Pferdes, bei Sportpferden auch mit der Leistungsklasse, und damit, wie häufig das Pferd im Gelände bewegt wurde.

#### **3.4.1.2.5 Fünfter Abschnitt: Zeckenexposition**

Dieser Fragebogenabschnitt ging näher auf eine mögliche Zeckenexposition ein. Die Pferdebesitzer waren aufgefordert Angaben zu den beobachteten Zecken in der letzten Zeckensaison, zum Zustand des Weidelandes, der Art der Zecken-Entfernung und den angewandten Repellentien zu machen.

#### **3.4.1.2.6 Sechster Abschnitt: Gesundheitsvorsorge**

Im Teil „Gesundheitsvorsorge“ drehten sich die Fragen vorrangig um Impfungen und Entwurmungen, mit besonderer Berücksichtigung der Borreliose-Impfung.

#### **3.4.1.2.7 Siebter Abschnitt: Aktuelles Krankheitsbild / Gesundheitszustand**

In dieser Rubrik wurden insbesondere klinische Veränderungen und der Zeitpunkt des Auftretens dieser, die den LB-Verdacht aufkommen ließen, abgeklärt. Bei den klinischen Veränderungen wurden unspezifische (Allgemein-)Symptome, Erkrankungen des Nervensystems, Erkrankungen des Bewegungsapparates und weitere, keiner einheitlichen Kategorie zuordenbare klinische Veränderungen zur Auswahl angeboten. Außerdem bestand die Möglichkeit nicht aufgeführte klinische Zeichen zu ergänzen. Der Pferdebesitzer wurde auch um eine Einschätzung des Schweregrads der Erkrankung und um eine Einschätzung bezüglich des Therapieerfolgs möglicher vorangegangener Therapieversuche (gegebenenfalls auch mit Angabe der Medikation) gebeten. Außerdem sollten sie angeben, ob bereits eine LB- und/oder EGA-Diagnostik erfolgt war. Regelmäßige Medikamentengaben und chronische Erkrankungen, die nicht im Zusammenhang mit dem aktuellen Krankheitsbild standen, konnten ebenfalls angegeben werden.

#### **3.4.1.2.8 Achter Abschnitt: Weitere Mitteilungen**

Dieser Teilbereich ermöglichte es Pferdebesitzern zusätzliche Anmerkungen im freien Text zu machen.

### **3.4.1.3 Aufbau des Tierärzterfrage- und -befundbogens**

#### **3.4.1.3.1 Erster Abschnitt: Persönliche Daten**

In diesem Abschnitt wurden Name und Anschrift der Klinik bzw. Praxis, der Name des behandelnden Tierarztes und seine Kontaktdaten (Telefonnummer, E-Mail-Adresse) erfasst, um die Proben zuordnen und die Befunde mitteilen zu können.

#### **3.4.1.3.2 Zweiter Abschnitt: Allgemeine Angaben zum Patienten**

Der Name des Pferdes und seines Besitzers und der Zeitpunkt des Kennenlernens des Patienten und der ersten Vorstellung mit dem aktuellen Krankheitsbild wurde in diesem Abschnitt erfragt.

#### **3.4.1.3.3 Dritter Abschnitt: Angaben zur Probennahme für die Studie**

Dieser Teil befasste sich mit den Formalitäten rund um die Probennahme, den Angaben zum Kontrolltier wie Name, Alter, Rasse und Geschlecht und sicherte das Erfüllen der Einschlusskriterien für die Studie.

#### **3.4.1.3.4 Vierter Abschnitt: Allgemeinbefinden des Patienten**

In diesem Themenbereich wurden die Tierärzte aufgefordert, den Allgemein-, Ernährungs- und Pflegezustand Ihres Patienten mittels einer Notenskala mit den Ausprägungen „1 = sehr gut“ bis „5 = sehr schlecht“ zu beurteilen. Außerdem bestand die Möglichkeit sonstige Auffälligkeiten bei der Allgemeinuntersuchung im freien Text darzulegen.

#### **3.4.1.3.5 Fünfter Abschnitt: Krankheitsbild**

Die Tierärzte sollten, analog zu den Pferdebesitzern, den Schweregrad der Erkrankung des Patienten einstufen und die klinischen Veränderungen, die zur Verdachtsdiagnose „LB“ geführt hatten, angeben. Eine Einteilung der klinischen Veränderungen in die Gruppen „Unspezifische (Allgemein-) Symptome“, „Neurologische Probleme“, „Orthopädische Probleme“ und „Sonstige klinische Veränderungen“ wurde vorgenommen. Darüber hinaus sollten weitere Krankheitssymptome erfasst werden, die auch im Rahmen einer EGA auftreten können.

#### **3.4.1.3.6 Sechster Abschnitt: Weiterführende Diagnostik**

Mit der Beantwortung der hier gestellten Fragen wurde erörtert, welche weiterführende Diagnostik bislang angewandt wurde und ob auch schon im Bereich der Infektionsdiagnostik hinsichtlich LB und EGA Untersuchungen durchgeführt worden waren.

#### **3.4.1.3.7 Siebter Abschnitt: Bisherige Therapie**

In diesem Teilbereich wurden Fragen zur bisherigen Therapie, sofern erfolgt, geklärt. Auch der Therapieerfolg oder -misserfolg wurde erörtert und ob eine Kontrolluntersuchung nach Therapie erfolgt war.

#### **3.4.1.3.8 Achter Abschnitt: Meinungsbild equine Lyme-Borreliose**

Der letzte Fragenkomplex des Tierärzte-Fragebogens war so konzipiert, dass die Tierärzte einmalig ihre persönlichen Erfahrungen bzw. Meinungen zur klinischen Relevanz von Borrelien-Infektionen und Lyme-Borreliose-Erkrankungen beim Pferd angeben konnten, sowie welche Untersuchungsmethoden sie zur Abklärung verwenden und wie sie Pferde mit positivem Befund behandeln. Der Einsatz von Zeckenprophylaxe (Repellentien) und der Borreliose-Impfung in der jeweiligen Praxis wurden abgefragt.

#### **3.4.1.3.9 Neunter Abschnitt: Weitere Mitteilungen**

Dieser Bereich ermöglichte es den Tierärzten zusätzliche Anmerkungen im freien Text zu machen.

#### **3.4.1.4 Überprüfung der Verständlichkeit und Vollständigkeit des Fragebogens**

Der Fragebogen wurde in Papierform fünf Pferdehaltern vorgelegt, um die Verständlichkeit des Fragebogens für Laien und das Vorhandensein aller benötigten Antwortmöglichkeiten zu überprüfen. Anschließend wurde der Fragebogen nochmal mithilfe der Angaben der Testpersonen überarbeitet. Erst nach Beendigung dieses Testlaufes wurde die Fragebogen-Homepage online gestellt und auch diese wiederum in einem Testlauf bezüglich Nutzer-Freundlichkeit überprüft.

#### **3.4.2 Probandengewinnung und Bekanntmachung der Studie**

Die Bekanntmachung der Studie erfolgte auf verschiedenen Wegen, um sowohl Tierärzte als auch Pferdebesitzer zu erreichen.

Zunächst wurden verschiedene Pferdezeitschriften und Fachzeitschriften für Tierärzte kontaktiert, woraufhin Hinweise auf die Studie in der „Vetimpulse“ vom Juni 2017, im „Deutschen Tierärzteblatt“ vom Juni 2017, in der Zeitschrift „Cavallo“ (in der Printversion im August 2017, am 20.7.2017 schon Online und auf Facebook veröffentlicht) und „Reiterrevue“ (Online im Juli 2017 und in der Printausgabe vom November 2017) veröffentlicht wurden.

Auch die Tierärztekammern wurden kontaktiert und um Mithilfe bei der Bekanntmachung der Studie gebeten. Daraufhin wurde ein vorbereiteter Text über die E-Mail-Verteiler der (Landes-)Tierärztekammern Sachsen, Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Thüringen, Westfalen-Lippe und Berlin verbreitet. Die (Landes-)Tierärztekammern von Bayern, Baden-Württemberg, Rheinland-Pfalz, Hamburg, Schleswig-Holstein, Saarland und Niedersachsen verwiesen auf die auf Ihrer Homepage verfügbaren Listen der Fachtierärzte und Pferdekliniken, worüber weitere 228 E-Mail-Adressen gefunden und die Tierärzte kontaktiert werden konnten.

In den Facebook-Gruppen „Tierärzte“ und „Borreliose beim Pferd“ wurde ebenfalls auf die Studie hingewiesen und von September 2017 bis Oktober 2018 gab es auch eine Homepage zur Studie mit Informationen rund um die Erkrankungen LB und EGA ([www.BorrelioseStudie-Pferd.de](http://www.BorrelioseStudie-Pferd.de)).

Auch auf den Seiten der teilnehmenden Universitäten, genauer im News-Bereich der Klinik für Pferde der FU Berlin und unter dem Reiter „Aktuelles“ auf der Seite des Lehrstuhls für Bakteriologie und Mykologie der LMU München, fanden sich Hinweise zur Studie. Bei verschiedenen Fortbildungsveranstaltungen an der Klinik für Pferde wurden Flyer ausgelegt.

Im Rahmen eines Artikels von Dr. Beatrice Lehmann über die Borreliose beim Pferd in der „Pferdeheilkunde“, Ausgabe 4/2007, fand die Studie in einem Hinweiskasten ebenfalls Erwähnung.

Am 28.02.2018 fand schließlich noch ein Interview mit Bernd Stumm von Converg (convergo GmbH, Heidelberg, Deutschland) statt, woraufhin am 26.04.2018 eine DPA-Meldung (Deutsche Presse Agentur) generiert wurde und erneut in der „Reiterrevue“, der „Pferde fit & vital“ und der „Bayerns Pferde, Zucht + Sport“ Artikel erschienen.

#### **3.4.2.1 Beantwortung von Anfragen**

Eigens für die Studie wurde eine E-Mail-Adresse (BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de) eingerichtet. Anfragen per E-Mail oder Telefon wurden zeitnah persönlich beantwortet.

#### **3.4.2.2 Angestrebte Datenmenge**

Die statistische Planung ergab, dass bei einer erwarteten maximalen LB-Seroprävalenz von 15 % bei Untersuchung von 215 Pferdepaaren (Fall-Kontroll-Paare) ein 95%-Konfidenzintervall für die Seroprävalenz mit einer Genauigkeit von  $\pm 5$  % ermittelt werden könnte.

#### **3.4.2.3 Zeitlicher Rahmen**

Die ersten Proben gingen am 23.05.2017 im Labor der Klinik für Pferde der Freien Universität Berlin ein. Der Probeingang wurde Ende August 2018 geschlossen.

#### **3.4.3 Labordiagnostische Untersuchungen der Blutproben**

Alle eingesandten Blutproben wurden hämatologisch untersucht. Die serologische Untersuchung der eingesandten Blutproben umfasste einen quantitativen KELA, dessen Durchführung und Auswertung sich auf die an der Cornell University (Ithaca, New York, USA) erprobten Protokolle stützt, den auf dem ELISA-Prinzip basierenden SNAP® 4Dx Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) und ein LIA (Borrelia Veterinary plus OspA LINE, Sekisui Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany) auf Basis eines IgG-WBs. Im LIA wurden folgende Borrelienantigene für die serologische Borrelien-Diagnostik bei Pferden verwendet: DbpA Mix, Osp A Mix, OspC Mix, p39 (BmpA), p58, p83 und VlsE Mix horse.

##### **3.4.3.1 Blutstatus**

Mittels eines Hämatologie-Analyzers (VetScan® HM5, Fa. Abaxis) wurden folgende Parameter bestimmt: Anzahl der Erythrozyten und Leukozyten je Mikroliter und Hämatokrit.

Der Hämatokrit wurde zusätzlich manuell nach Zentrifugation der EDTA-Blutprobe (Heraeus® Haemofuge 3522) in einer Hämatokritkapillare (75 mm/75 µl, Fa. Hirschmann) ermittelt und mit den Ergebnissen des Hämatologiegeräts abgeglichen.

### 3.4.3.2 Blutausstrich

Ein Blutausstrich wurde unter dem Mikroskop (BX41, Fa. Olympus) mit einer fünfzigfachen Vergrößerung untersucht. Insbesondere bei Patienten mit positivem Anaplasmen-Antikörper wurde auf das Vorhandensein von Einschlusskörperchen in den Granulozyten geachtet.

### 3.4.3.3 SNAP® 4Dx Plus® ELISA

Der SNAP® 4Dx Plus® Schnelltest für vektorübertragene Infektionen bei Hunden und Pferden (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, USA) ist ein auf dem Prinzip des einstufigen ELISA basierendes Testsystem, das für den In-House-Diagnostik-Einsatz in tierärztlichen Praxen und Kliniken entwickelt wurde. Das Testkit besteht aus einer Membranmatrix, auf der punktförmig Konjugat-markierte Peptidantigene von *B. burgdorferi* (C<sub>6</sub>-Peptid), *A. phagocytophilum* und *Ehrlichia canis*, sowie gegen *Dirofilaria immitis* gerichtete Antikörper aufgebracht sind. Außerdem gibt es noch ein Kontrollfeld für die Funktionsprüfung des Testsystems (Abbildung 10). Vor Testdurchführung wurden die Serumproben auf Raumtemperatur gebracht. 100 µl der Probe und 4 Tropfen des Konjugats wurden in das dem Testkit beiliegende Einweg-Probenröhrchen gegeben. Mit einer Einmalpipette wurde der gesamte Inhalt des Probenröhrchens in die Probenvertiefung der SNAP-Testeinheit gegeben. Sobald sich der Aktivierungskreis zu verfärben begann, wurde die endständige Kunststofffläche fest eingedrückt. Durch das Eindrücken öffnete sich ein Zweikammersystem. Zunächst wurden in einem Waschschrift nicht gebundenes Konjugat, das heißt unspezifische Antikörper und sowie weitere Serumbestandteile entfernt. Anschließend bildete die freigesetzte Substratlösung mit dem auf der Membran gebundenem Enzymkonjugat einen blauen Farbkomplex, der als eindeutig gefärbter Punkt im Erreger-spezifischen Bereich nach acht Minuten abgelesen werden konnte. Beim Pferd werden nur Immunreaktionen gegenüber *Anaplasma phagocytophilum* und *Borrelia burgdorferi* beurteilt. Jede Farbentwicklung in den Probenanzeigen zeigt die Präsenz von *A.-phagocytophilum*-, *A.-platys*- oder *B.-burgdorferi*-spezifischen Antikörpern in der Probe an. Bleibt die Färbung aus, so handelt es sich um ein negatives Ergebnis (keine Farbreaktion, aber deutlich erkennbare Kontrollreaktion). Kommt es zu einer Farbreaktion, erfolgt die Beurteilung des damit positiven Testergebnisses rein visuell nach Färbungsgraden: „+/-“ (sehr schwach positiv, kaum sichtbare Farbreaktion), „+“ (geringgradig positiv, schwach sichtbare Farbreaktion), „++“ (mittelgradig positiv, sichtbare Farbreaktion), „+++“ (hochgradig positiv, prominente Farbreaktion). Hierdurch war eine semiquantitative Einschätzung der Testergebnisse möglich.



**Abbildung 10:** SNAP® 4Dx Plus® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA)

Quelle: <http://www.idexx.at/smallanimal/inhouse/snap/4dx.html>

#### 3.4.3.4 Kinetischer ELISA (KELA)

Die Methodik des verwendeten *Borrelia burgdorferi* IgG KELA wurde in der Cornell University, Ithaca, New York, USA etabliert und protokolliert. Zur Beschichtung der ELISA-Platten erfolgte vorab die Herstellung eines Ganzzellysate-Antigens unter Verwendung des Stammes *Bbss* N40, wie in der Dissertation von Krupka (2010) beschrieben (Krupka 2010). Die Kavitäten der 96-Well-ELISA-Platten (Nunc Immuno Plate®, Wiesbaden, Deutschland) wurden daraufhin mit je 100 µl einer Mischung aus dem Lysat-Antigen, rekombinantem OspA (*Borrelia Burgdorferi* Bacterial Extract Recombitek Lyme, Merial Inc., Athens, GA 30601 USA) und Pufferlösung (Carbonatpuffer und CO<sub>3</sub>/ME/SDS-Puffer) beschichtet. Für die Hintergrundkontrollen wurde eine entsprechende Anzahl Kavitäten mit je 100 µl 0,1 M Carbonatpuffer ohne Antigen beschichtet. Mit Abdeckfolie verschlossen wurden die Platten bei 4 °C im Kühlschrank für 24 Stunden inkubiert und anschließend für mindestens 24 weitere Stunden im Gefrierschrank (-20 °C) tiefgefroren. Das Auftauen der Platten erfolgte bei 37 °C auf dem Schüttelinkubator. Diesem schlossen sich vier Waschschriffe in einem automatisierten ELISA-Washer mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit 0,05 % Tween 20 (PBST) an. Serum- und Kontrollproben wurden in der Zwischenzeit auf Raumtemperatur gebracht. Die Serumproben wurden anschließend im Verhältnis 1:100 mit PBST und 2 % Milchpulver (PBSTM) verdünnt und aus dieser Serum-PBSTM-Lösung wurden jeweils 100 µl in eine Kavität mit Lysat-Antigen und in eine Kavität mit Carbonatpuffer pipettiert. Kontrollseren mit hochpositivem und negativem Antikörperspiegel wurden auf jeder ELISA-Platte mitgeführt. Nach einstündiger Inkubation der mit Folie abgeklebten Platte im 37 °C warmen Inkubator erfolgte erneut ein Waschschriff, wie zuvor beschrieben, und daraufhin wurden je 100 µl des Detektionsantikörpers Anti-Horse-IgG (Endverdünnung 1:2.000) in jede Kavität eingebracht. Erneut erfolgte nun eine Inkubation (30 Minuten bei Raumtemperatur) und ein weiterer Waschgang. Schließlich wurde in jede Kavität 100 µl des Farbsubstrates Tetramethylbenzidin (TMB) gegeben, wobei nach 1min 45s die kinetische Messung der Extinktionszunahme (Steigung der linearen Funktion der Reaktionsgeschwindigkeit) mittels ELISA-Reader (Bio-tek EL312 reader) bei einer Wellenlänge von 650 nm stattfand. Die Werte der Extinktion wurden

dreimal im Abstand von 45 Sekunden gemessen und als „optische Dichte“ (OD) ausgegeben. Es erfolgte anschließend eine computergestützte Umrechnung der Werte mittels Microsoft Office Excel 2003 für Windows, wobei die in der Cornell University (Ithaca, New York, USA) etablierten KELA-Einheiten mit Bezug auf die eingesetzten Kontrollseren verwendet wurden, wodurch eine Standardisierung und Vergleichbarkeit der Ergebnisse erreicht wurde. Im Befundbogen (Abbildung 69 im Anhang) wurden die KELA-Einheiten des eingesetzten Kontrollserums sowie der Mittelwert des Doppelansatzes mit Standardfehler der KELA-Einheiten des beprobten Pferdes zur Beurteilung der Messgenauigkeit des Mittelwertes angegeben.

### 3.4.3.5 Line-Immunoblot-Testsystem (LIA)

Bei dem hier angewandten „Borrelia Veterinär plus OspA Line Immunoblot“ Immunoassay der Firma Sekisui Virotech GmbH (Rüsselsheim, Deutschland) handelte es sich um ein auf dem Prinzip eines IgG-Westernblots basierendes Testsystem. Im Gegensatz zum klassischen Westernblot wurden die verschiedenen Borrelien-Antigenpräparationen in unterschiedlichen Konzentrationen durch ein spezielles Sprühverfahren auf Nitrozellulosemembran-Streifen aufgebracht. Das Testsystem wurde entsprechend den Herstellerangaben eingesetzt. Bei den rekombinanten Antigenen handelte es sich um p83, p58, p39 (BmpA), DbpA, OspA, OspC und VlsE als Mix (Tabelle 12).

**Tabelle 12:** Bedeutung der Antigene im Borrelia Veterinär plus OspA LINE (Sekisui Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany)

Bezeichnung	Antigen-Art & Genospezies	Bedeutung der Antigene
VlsE-Mix (Variable major protein like sequence E)	rekombinant: <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto (B31) und <i>B. garinii</i> (IP90)	Marker für Erregerkontakt bzw. Wildinfektion mit <i>Bbsl</i>
OspA-Mix (Outer surface protein A)	rekombinant: <i>B. afzelii</i> (PKo), <i>B. bavariensis</i> (PBi), <i>B. garinii</i> (PBr)	OspA-AK insbesondere nach Impfungen
DbpA-Mix (Decorin binding protein A)	rekombinant: <i>B. bavariensis</i> (PBi), <i>B. garinii</i> (PBr), hochaufgereinigt: <i>B. afzelii</i> (PKo)	DbpA-AK eher bei fortgeschrittenen/ disseminierten LB-Infektionen
OspC-Mix (Outer surface protein C)	rekombinant: <i>B. afzelii</i> (PKo), <i>B. bavariensis</i> (PBi), <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto (ZS7)	OspC-AK bei Wildinfektionen, gelegentlich auch nach Impfungen
BmpA (p39) (Borrelial membrane protein A)	rekombinant: <i>B. afzelii</i> (PKo)	Marker für disseminierte LB-Infektionen
p58	rekombinant: <i>B. bavariensis</i> (PBi)	p58-AK eher bei fortgeschrittenen/ disseminierten LB-Infektionen
p83	rekombinant: <i>B. afzelii</i> (PKo)	zentraler Marker für fortgeschrittene LB-Infektionen

Zu Beginn der Untersuchung wurden das Verdünnungs- bzw. Waschpufferkonzentrat, die Kontrollseren und Patientenproben (Serumproben) sowie sämtliche Testreagenzien auf Raumtemperatur gebracht. Bei jedem Testansatz wurde eine parameter- und chargenspezifische Cut-off-Kontrolle mitgeführt. Die Teststreifen (Anzahl entsprechend der zu untersuchenden Patientenproben zuzüglich der Kontrollen) wurden einzeln in Rinnen einer Inkubationswanne gelegt und am markierten oberen Ende durchnummeriert. Daraufhin wurde in jede Vertiefung der Inkubationswanne mithilfe eines Combitip und einer Multipipette je 1,5 ml Verdünnungs-/Waschpufferkonzentrat pipettiert und dabei darauf geachtet die Teststreifen ausreichend und gleichmäßig zu benetzen. Anschließend wurden 15 µl jeder Serumprobe und Serumkontrolle, einer Endverdünnung von 1:100 entsprechend, in je eine der Vertiefungen, nicht jedoch direkt auf den Teststreifen, pipettiert. Zudem wurden 100 µl der Cut-off-Kontrolle Pferd in eine separate Vertiefung hinzu pipettiert. Auf dem Kippschüttler wurden die Proben nun 30 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach die Flüssigkeit vollständig abgeschüttelt. Es folgte ein dreimaliges Waschen mit 1,5 ml Waschpufferkonzentrat je Schalenrinne, wobei die Nitrozellulosestreifen zusammen mit dem Waschpufferkonzentrat in drei aufeinanderfolgenden Durchgängen jeweils fünf Minuten auf dem Schüttler inkubiert wurden und das Waschpufferkonzentrat jedes Mal vollständig abgegossen wurden. Dann wurden mit Hilfe des Combitip und der Multipipette je 1,5 ml einer kurz zuvor angesetzten Konjugatverdünnung in jede Rinne pipettiert und die eingelegten Nitrozellulosestreifen erneut für 30 min bei Raumtemperatur auf dem Kippschüttler inkubiert. Im Anschluss wurde erneut die Flüssigkeit aus den Rinnen vollständig abgegossen. Wieder wurde nach dem oben beschriebenen Vorgehen dreimalig mit dem Waschpuffer gewaschen und anschließend noch einmal eine Minute mit Aqua dest./deionisiert gespült und dann die Flüssigkeit abgegossen. Nun wurden je 1,5 ml gebrauchsfertige Substratlösung (BCIP/NBT) in die Rinnen pipettiert und die Nitrozellulosestreifen damit 12 Minuten auf dem Schüttler entwickelt. Durch Abgießen der Substratlösung wurde die Farbentwicklung gestoppt und die Streifen ohne Zwischeninkubation dreimal mit je 1,5 ml Aqua dest./deionisiert gewaschen. Danach erfolgte die Lufttrocknung der Streifen und die Auswertung entsprechend der in der Tabelle 13 aufgeführten Auswertungskriterien. Banden deren Intensität schwächer als die Cut-off-Bande (VIsE-Mix) der IgG Pferd Cut-off-Kontrolle waren, wurden nicht in die Bewertung einbezogen.

**Tabelle 13:** Auswertungskriterien zur Beurteilung sowie Interpretation mittels LIA detektierter Ergebnisse (Banden  $\geq$  cut off Bandenintensität)

Antigenpräsentation	Befund	Interpretation
0 Banden oder Banden < cut off	negativ	kein Hinweis auf Erregerkontakt
0 - 2 Banden + VIsE-Horse	grenzwertig	Hinweis auf Erregerkontakt
$\geq$ 3 Banden + VIsE-Horse	Infektion	Hinweis auf Infektion
0 - 2 Banden OHNE VIsE-Horse	negativ	kein Hinweis auf Erregerkontakt
3 Banden OHNE VIsE-Horse	grenzwertig	Hinweis auf Erregerkontakt
$\geq$ 4 Banden OHNE VIsE-Horse	Infektion	Hinweis auf Infektion

VlsE-horse + DbpA + 1 Bande	Infektion	Hinweis auf Infektion
OspA isoliert oder zusätzlich	Impfung	Hinweis auf Impfung

### 3.4.4 Datenerfassung

Für jedes Fall-Kontroll-Paar wurde eine interne Identifikationsnummer vergeben, die im Verlauf der Datenerfassung stets eindeutig einem Pferdebesitzer, Tierarzt und den Pferdenamen von Fall- und Kontrolltier („allgemeine Daten“) zuzuordnen war. Die serologischen Befunde wurden mittels Excel (Microsoft Excel 2016 für Windows) erfasst und den Identifikationsnummern und allgemeinen Daten zugeordnet. Die handschriftlich eingegangenen Fragebögen wurden durch Eingeben in die Limesurvey-Onlineversionen der Fragebögen digitalisiert und alles nach Abschluss der Studie via Limesurvey-Funktion „Antworten > Export > Ergebnisse für externe Anwendungen exportieren“ in ein Excel-Dokument umgewandelt. Zunächst wurde mit getrennten Dokumenten für die serologischen Befunde, den Besitzer-Fragebogen und Tierärzte-Befundbogen weitergearbeitet und erst ganz am Schluss alles zusammengefügt. Es erfolgte eine regelmäßige Speicherung nicht nur lokal, sondern einmal monatlich zusätzlich auch auf einem externen Medium. Zur besseren Übersichtlichkeit und aus Gründen der besseren späteren Überführbarkeit der Daten in SPSS, bekamen alle Fragen eine Kurzbezeichnung und wurden die Antworten, soweit möglich, umcodiert. Daraufhin wurden alle Dokumente zu einem Gesamtdokument zusammengefügt und unter dem Titel „BorrelioseStudie\_gesamt.xls“ abgespeichert.

### 3.4.5 Statistische Analysen

Die erhobenen Daten wurden unter Zuhilfenahme des Programms „IBM SPSS Statistics“ (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, Version 25) ausgewertet. Mehrfachantworten waren bei den meisten Fragen möglich, weshalb die ermittelten Ergebnisse zum Teil mehr als 100 % ergaben. Bei Fragen mit mehreren möglichen Antworten wurden Mehrfachantwortsets nach der Methode multipler Dichotomien definiert. Es wurde ein Signifikanz-Niveau von  $p < 0,05$  festgelegt.

Zur Überprüfung auf Normalverteilung der hämatologischen Befunde und Angaben zum Alter der Probanden wurden Schiefe und Kurtosis und deren Standardfehler, Median und Mittelwert, sowie Grafiken (Histogramme, Q-Q-Plots) und statistische Testverfahren wie der Shapiro-Wilk- und Kolmogorov-Smirnov-Test zu Rate gezogen.

Für die deskriptive Analyse wurden Häufigkeitstabellen, Balken- und Kreisdiagramme ausgegeben, außerdem kamen Angaben zu den Lagemaßen zum Einsatz.

Im Rahmen der Assoziationsanalysen (z.B. Rasse, Alter, Geschlecht, serologische und hämatologische Befunde, klinische Veränderungen, Zeckenexposition etc.) wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet, beziehungsweise, wenn die Voraussetzungen für den Chi-Quadrat-

Test nicht gegeben waren, auch der Exakte Test nach Fisher. Auch die Odds Ratio wurde mit ausgegeben. Das Lebensalter der Verdachtstiere wurde mittels einfaktorieller ANOVA bezüglich des serologischen *Bb*-AK-Befunds untersucht.

Insgesamt wurden die Daten von 244 Pferden erfasst, davon 123 (kranke) Fall- bzw. Verdachtstiere (VT) und 121 (gesunde) Kontrolltiere (KT). Bei 114 Fall-Kontroll-Paaren waren alle notwendigen Teilnahme Kriterien erfüllt.

Teilweise wurde ein Kontrolltier als Kontrolle zu mehreren Verdachtstieren genutzt. Dies waren in der Gesamtpopulation der Kontrolltiere  $n = 7$ , die allesamt auch in der Teilpopulation der Fall-Kontroll-Paare mit vollständig erfüllten Einschlusskriterien vorkamen.

Verschiedene allgemeine und serologische Gruppen wurden für die statistischen Analysen definiert (Tabelle 14 & Tabelle 15).

**Tabelle 14:** Definierung von Gruppen für die statistische Analyse

Region:	Norddeutschland:	Brandenburg, Hamburg, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Sachsen-Anhalt, Schleswig-Holstein
	Süddeutschland:	Baden-Württemberg, Bayern, Hessen
Altersklasse:	Jungpferd:	< 7 Jahre
	Adultes Pferd:	7-15 Jahre
	Senior:	> 15 Jahre
Jahreszeit zum Zeitpunkt des Probeneingangs:	Frühling:	März-Mai
	Sommer:	Juni-August
	Herbst:	September-November
	Winter:	Dezember-Februar
Rassegruppe:	Warmblut:	Deutsches Reitpferd, Hannoveraner, Holsteiner, Trakehner, Oldenburger...
	Kleinpferd:	Deutsches Reitpony, Shetland Pony, Islandpferd, Fjordpferd, Haflinger...
	Kaltblut:	Süddeutsches Kaltblut, Schwarzwälder Kaltblut, Percheron, Ardenner...
	Vollblut:	Arabisches Vollblut, Englisches Vollblut, Traber...
	Westernpferd:	Quarter Horse, Appaloosa, Paint Horse...
	Spezial-/ Barockrassen:	Friese, Lipizzaner, Andalusier, Lusitano, Tinker
Gruppierung nach Fellfarben:	Schimmel	Schimmel
	Rappen	Rappe, Dunkelbraun
	Braune	Hellbraun, Fuchs, Falbe
	Schecken	Braun-, Rapp-, Fuchsschecke
	Sonstige	Sonstige
Gruppierung klinische Veränderungen:	Unspezifische klinische Veränderungen:	Leistungsabfall Lethargie mangelhafte Rittigkeit Gewichtsverlust Somnolenz Fieber Inappetenz

	Orthopädische Probleme:	Lahmheit Allgemeine Muskelsteifheit Muskelschmerzen Gelenkschwellungen Steifheit im Genick-/ Halswirbelsäulen-Bereich
	Neurologische Probleme:	Ataxie Hyperästhesie Haut Muskelzittern (neurogene) Muskelatrophie Kopfnervenausfälle Störungen peripherer Nerven Dysphagie Hinweise auf eine Meningoenzephalitis
	Sonstige klinische Veränderungen:	Augenerkrankung Hautveränderungen an Zeckenstichstelle Herzprobleme Abort
Chronizität:	akut:	≤ 6 Monate
	chronisch:	> 6 Monate

**Tabelle 15:** Definierung serologischer Gruppen

<i>Bbsl</i> -Antikörper:	<i>Bbsl</i> negativ (-)	kein Hinweis auf Erregerkontakt	negativ
	<i>Bbsl</i> grenzwertig (+/-)	hinweisend für Kontakt, fragliche klinische Relevanz	
	<i>Bbsl</i> positiv (+)	Hinweis auf Infektion	positiv
<i>Ap</i> -Antikörper:	<i>Ap</i> -	negativ	negativ
	<i>Ap</i> +/-	grenzwertig positiv	positiv
	<i>Ap</i> +	geringgradig positiv	
	<i>Ap</i> ++	mittelgradig positiv	
	<i>Ap</i> +++	hochgradig positiv	
Koinfektion:	<i>Bbsl</i> - bzw. +/- & <i>Ap</i> -	keine Koinfektion	negativ
	<i>Bbsl</i> + & <i>Ap</i> + bis +++	Koinfektion	positiv

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Deskriptive Statistik

#### 4.1.1 Patientengut

Insgesamt wurden 236 Pferde in die Studie eingeschlossen, davon 123 (kranke) Fall- bzw. Verdachtstiere (VT) und 113 (gesunde) Kontrolltiere (KT). Die Differenz der Anzahl der Probanden aus den beiden Gruppen ergab sich daraus, dass die Kontrolltiere teilweise als Kontrolle zu mehreren Verdachtstieren genutzt werden konnten, wenn zum Beispiel mehrere Verdachtstiere aus demselben Stall beprobt wurden.

Die serologischen Untersuchungen wurden bei allen eingesandten Blutproben durchgeführt. Bei 114 Fall-Kontroll-Paaren waren alle Teilnahmebedingungen der Studie erfüllt, d.h. es lagen vollständig ausgefüllte Besitzerfragebögen (  ) und Tierärztebefundbögen (  ) vor und es waren Blutproben eines Kontrolltieres vorhanden. Die Daten dieser 114 Fall-Kontroll-Paare flossen in die statistische Auswertung der Fragebögen ein. Das heißt, dass beim VT die Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“ durch den Tierarzt gestellt wurde und der Tierarzt angab, dass der vorgestellte Patient aufgrund seiner Nutzung und Haltung einer Zeckenexposition ausgesetzt war und der letzte Zeckenkontakt mehr als sechs Wochen zurücklag (n=114; 100 %). Das Kontrolltier war aus tierärztlicher Sicht zum aktuellen Zeitpunkt und im letzten halben Jahr gesund gewesen und hatte in diesem Zeitraum keine Antibiotika verabreicht bekommen (n=114; 100 %).

Unter den 114 Fall-Kontroll-Paaren erfüllten 83 Paare (72,8 %) die Einschlusskriterien vollständig. Kompromisse mussten beim ursprünglich für die Studie geplanten Alters-Matching von Fall-Kontroll-Paaren gemacht werden. Bei 31 Fall-Kontroll-Paaren (27,2 %) gab es Probleme mit dem Alters-Matching: Bei 14 Paaren (12,3 %) lagen entweder vom Fall- oder vom Kontrolltier keine Angaben zum Alter vor und somit konnte das Alters-Matching nicht beurteilt werden und bei den restlichen 17 (14,9 %) stimmte die Altersklasse nicht überein beziehungsweise lag die Altersdifferenz bei über zehn Jahren.

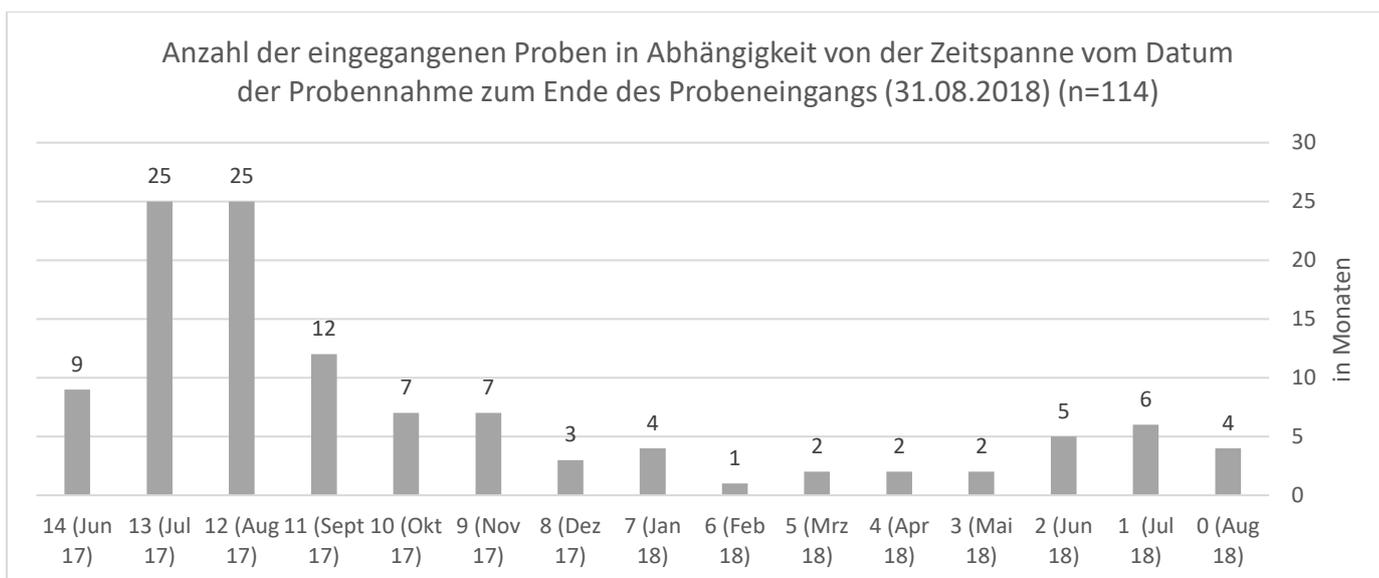
Der Grund für die Nichterfüllung der zuvor für die Studie angedachten Teilnahmebedingung von altersgleichen (gleiche Altersklasse) Fall- und Kontrolltieren, war jener, dass nur in Berlin der anzeigepflichtige Tierversuch der Blutabnahme bei gesunden Pferden zur Genehmigung gebracht wurde (Versuchsvorhaben A 0284/17), die Erweiterung auf andere Bundesländer aber ein zu großer administrativer und finanzieller Aufwand gewesen wäre. Die einzelnen Veterinärämter und Bundesländer erhoben unterschiedliche Auflagen und das Einreichen eines einheitlichen Antrags war nicht möglich. Daraufhin wurde der Versuchsaufbau dahingehend verändert, dass nur Blut von Kontrolltieren gewonnen wurde, die ohnehin aus

anderen Gründen beprobt wurden (z.B. im Rahmen von Routine-Blutuntersuchungen) bzw. einer Heilbehandlung aus anderen Gründen unterzogen wurden, die den Einschlusskriterien nicht entgegenstanden.

Da innerhalb der 114 Fall-Kontroll-Paare sieben Kontrolltiere doppelt genutzt wurden, wurden diese doppelten Fälle nur beim direkten Einzelfall-Matching, aber nicht in der Gesamt-Statistik berücksichtigt, was für die Kontrolltiergruppe eine Anzahl von  $n = 107$  Tiere innerhalb der strengen Teilnahme-kriterien bedeutet.

Bei drei Patienten fand eine zweite Untersuchung der Blutproben statt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Dies konnte in allen drei Fällen bestätigt werden.

Von Juni 2017 bis August 2018 gingen Daten und Proben von 114 Fall-Kontroll-Paaren für die Studie ein, mit der größten Beteiligung gleich zu Beginn der Studie und einer geringeren Beteiligung über die Wintermonate (Abbildung 11).

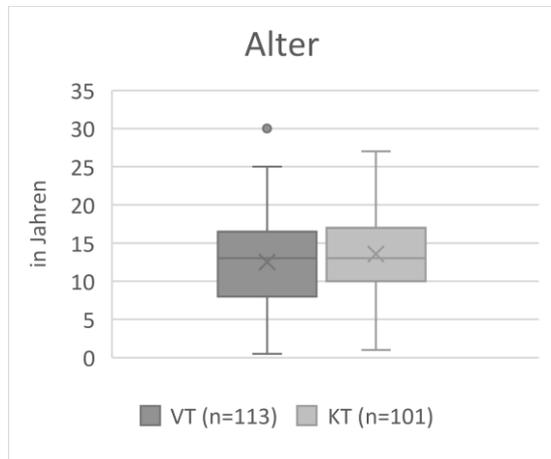


**Abbildung 11:** Anzahl der Einsendungen im Zeitraum der Probenannahme von Mitte Juni 2017 bis Ende August 2018

## 4.1.2 Ergebnisse der Fragebogenstudie

### 4.1.2.1 Allgemeine Angaben zu den Probanden

#### 4.1.2.1.1 Alter



**Abbildung 12:** Alter der Probanden in Jahren (VT & KT)

Das ermittelte Durchschnittsalter der Verdachtstiere ( $n=113$ ) betrug  $12,5 (\pm 5,7)$  Jahre; die Kontrolltiere ( $n=101$ ) waren im Mittelwert  $13,6 (\pm 5,7)$  Jahre alt. Das niedrigste Alter (Minimum) der Verdachtstiere lag bei einem halben Jahr; das höchste Alter in dieser Gruppe (Maximum) entsprach 30 Jahren. Die Kontrolltiere waren zwischen einem und 27 Jahren alt (Abbildung 12). Daraus ergab sich eine Verteilung innerhalb der Altersklassen entsprechend der folgenden Tabelle:

**Tabelle 16:** Einteilung nach Altersklassen (VT & KT)

	Verdachtstier ( $n_{ges}=114$ )	Kontrolltier ( $n_{ges}=107$ )
Altersklasse	$n=113$	$n=97$
Jungpferd (< 7 J.)	18 (15,9 %)	9 (9,3 %)
Adultes Pferd (7-15 J.)	60 (53,1 %)	57 (58,8 %)
Senior (> 15 J.)	35 (31,0 %)	31 (32,0 %)

Die mittlere Altersdifferenz von VT und KT lag bei  $4,6 (\pm 4,3)$  Jahren. 15 % der Fall-Kontroll-Paare wiesen eine Altersdifferenz  $\geq 10$  Jahren und 55 % eine Differenz in der Altersklasse auf. Insgesamt lag aber eine vergleichbare Altersklassenverteilung bei den Verdachts- und Kontrolltieren vor, wie sie im Rahmen des Studiendesigns auch vorgesehen war (Tabelle 16).

Sowohl bei den Verdachts- als auch bei den Kontrolltieren lag eine Normalverteilung der Lebensjahre vor.

#### 4.1.2.1.2 Rassezugehörigkeit

Eine Vielfalt von 55 verschiedenen Pferderassen und Rasse-Mixen wurden bei den Verdachtstieren durch die Angaben auf den Fragebögen erfasst, womit ein breites Spektrum an Rassen abgedeckt wurde. Die Rasseverteilung bei der Verdachts- und Kontrolltiergruppe

ließ sich gut vergleichen (VT & KT: 53,6 % bzw. 50,5 % Warmblüter, 19,6 % bzw. 28,4 % Kleinpferde, 12,5 % bzw. 11,6 % Spezial-/Barockrassen, 8,0 % bzw. 2,1 % Westernpferde, 3,6 % bzw. 6,3 % Vollblüter, 2,7 % bzw. 1,1 % Kaltblüter) (Tabelle 17 & Tabelle 18).

Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die häufigsten Pferderassen ( $n \geq 3$ ) bei den Verdachtstieren ( $n=112$ ) verschiedenen Rassegruppen, entsprechend der folgenden Tabelle, zugeteilt:

**Tabelle 17:** Rasseverteilung nach Rassegruppen in der Studienpopulation VT

<i>Verdachtstiere, n=112</i>	<i>n (%)</i>		<i>n (%)</i>
Warmblüter	60 (53,6 %)	Hannoveraner	12 (10,7 %)
		Westfale	10 (8,9 %)
		Oldenburger	6 (5,4 %)
		Dt. Reitpferd	5 (4,5 %)
		Rheinländer	4 (3,6 %)
		Trakehner	4 (3,6 %)
		Brandenburger	3 (2,7 %)
		KWPN	3 (2,7 %)
		Württembergischer	3 (2,7 %)
		Sonstige	10 (8,9 %)
Kleinpferde	22 (19,6 %)	Islandpferd	10 (8,9 %)
		Dt. Reitpony	4 (3,6 %)
		Shetland-Pony	3 (2,7 %)
		Sonstige	5 (4,5 %)
Spezial-/Barockrassen	14 (12,5 %)	P.R.E	5 (4,5 %)
		Sonstige	9 (8,0 %)
Westernpferde	9 (8,0 %)	Quarter Horse	5 (4,5 %)
		Sonstige	4 (3,6 %)
Vollblüter	4 (3,6 %)	Verschiedene Rassen	4 (3,6 %)
Kaltblüter	3 (2,7 %)	Verschiedene Rassen	3 (2,7 %)

**Tabelle 18:** Rasseverteilung nach Rassegruppen in der Studienpopulation KT

<i>Kontrolltiere, n=95</i>	<i>n (%)</i>		<i>n (%)</i>
Warmblüter	48 (50,5 %)	Vollblüter	6 (6,3 %)
Kleinpferde	27 (28,4 %)	Westernpferde	2 (2,1 %)
Spezial-/Barockrassen	11 (11,6 %)	Kaltblüter	1 (1,1 %)

Die genaue Rasseverteilung der Verdachts- und Kontrolltiere kann dem Tabellenband im Anhang (Tabelle 63) entnommen werden.

#### 4.1.2.1.3 Geschlechterverteilung

41 % der Verdachtstiere waren weiblichen Geschlechts, 59 % männlich. Bei den Kontrolltieren entfielen 40 % auf das weibliche und 60 % auf das männliche Geschlecht. Die exaktere

Untergliederung in Stute, Wallach und Hengst gemäß Fragebogenerfassung zeigt die folgende Tabelle:

**Tabelle 19:** Geschlechterverteilung VT & KT

	Verdachtstier ( $n_{ges}=114$ )	Kontrolltier ( $n_{ges}=107$ )
Geschlecht	$n=114$	$n=101$
Stute	47 (41,2 %)	40 (39,6 %)
Wallach	64 (56,1 %)	59 (58,4 %)
Hengst	3 (2,6 %)	2 (2,0 %)

#### 4.1.2.1.4 Fellfarbe

Bei 112 Verdachtstieren lagen Angaben zur Fellfarbe vor. Die meisten Probanden fielen unter die Kategorie „Braune“ (57,1 %), gefolgt von Rappen (20,5 %) und Schimmeln (13,4 %), während Schecken (6,3 %) und sonstige Fellfarben (2,7 %) die Minderheit bildeten (Tabelle 20). Zur besseren Übersichtlichkeit wurde auch hier eine Gruppierung nach Fellfarben analog der folgenden Tabelle vorgenommen:

**Tabelle 20:** Verteilung der Fellfarben VT

$n=112$	$n$ (%)		$n$ (%)
„Braune“	64 (57,1 %)	Braun	37 (33,0 %)
		Fuchs	21 (18,8 %)
		Graufalbe	3 (2,7 %)
		Braunfalbe	2 (1,8 %)
		Falbe	1 (0,9 %)
„Rappen“	23 (20,5 %)	Rappe	19 (17,0 %)
		Dunkelbraun	4 (3,6 %)
„Schimmel“	15 (13,4 %)	Schimmel	15 (13,4 %)
„Schecken“	7 (6,3 %)	Braunschecke	3 (2,7 %)
		Rappschecke	3 (2,7 %)
		Fuchsschecke	1 (0,9 %)
„Sonstige“	3 (2,7 %)	Palomino	2 (1,8 %)
		Grau	1 (0,9 %)

#### 4.1.2.1.5 Weitere Daten zum Signalement

Der Mittelwert für das Stockmaß lag bei  $158 \pm 15$  cm, bei einem Gewicht von  $519 \pm 125$  kg. In 43 % der Fälle handelte es sich hierbei um ein geschätztes Gewicht, bei knapp 30 % fehlte die Angabe, ob das Gewicht geschätzt oder gewogen war.

#### 4.1.2.2 Besitzdauer

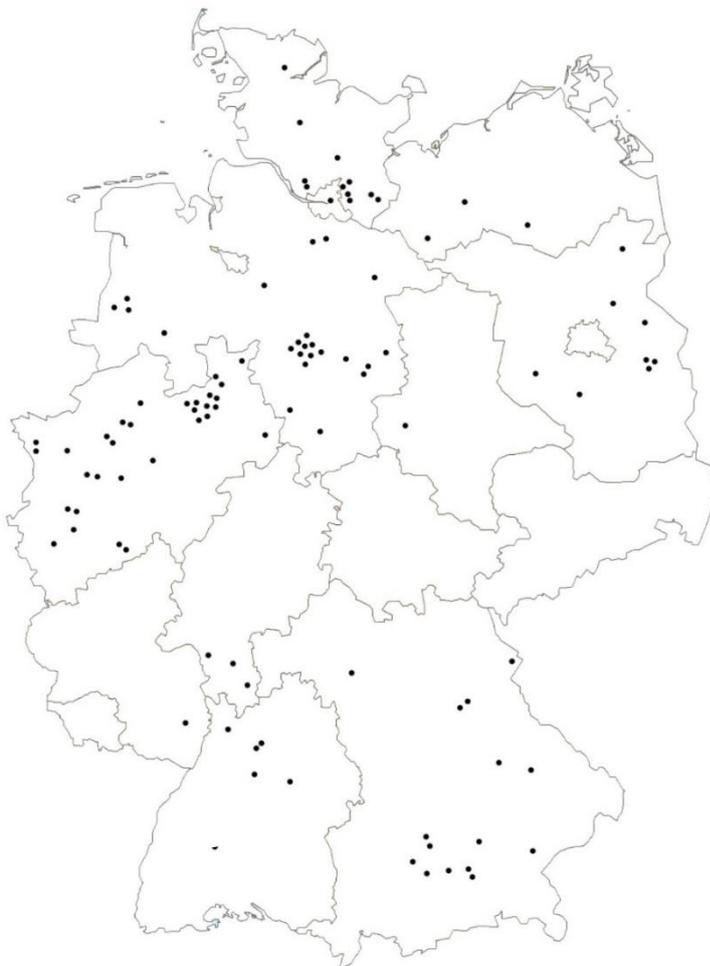
Die Besitzdauer des Pferdes wurde in Jahren zum Zeitpunkt der Probennahme berechnet und lag im Mittel bei  $6,8 \pm 5,6$  Jahren mit einer Spannweite von weniger als einem Jahr bis hin zu 23 Jahren.

#### 4.1.2.2.1 Angaben zum Standort des Stalles

Ein Großteil der Probanden (75,4 %) stammt aus einem Bundesland im nördlichen Deutschland, der Rest aus dem süddeutschen Raum (entsprechend der in der Studie vorgenommenen Aufteilung). Die genaue Verteilung der Stall-Standorte zeigen die folgende Tabelle (Tabelle 21) und Abbildung (Abbildung 13):

**Tabelle 21:** Angaben zum Standort des Stalles (Region, Bundesland)

<i>Region (n=114)</i>	<i>n (%)</i>	<i>Bundesland (n=114)</i>	<i>n (%)</i>
Norddeutschland	86 (75,4 %)	Nordrhein-Westfalen	36 (31,6 %)
		Niedersachsen	24 (21,1 %)
		Schleswig-Holstein	13 (11,4 %)
		Brandenburg	8 (7,0 %)
		Mecklenburg-Vorpommern	3 (2,6 %)
		Hamburg	1 (0,9 %)
		Sachsen-Anhalt	1 (0,9 %)
		Süddeutschland	28 (24,6 %)
		Baden-Württemberg	6 (5,3 %)
		Hessen	3 (2,6 %)



**Abbildung 13:** Standort des Stalles nach Landkreis (n=103)

Wie Abbildung 13 entnommen werden kann, war Mitteldeutschland in der Studie unterrepräsentiert. Aus Sachsen, Thüringen, Rheinland-Pfalz und dem Saarland wurden keine Proben eingesandt. Ein Überblick mit Auflistung aller angegebenen Landkreise entsprechend den KFZ-Kennzeichen findet sich im Tabellenanhang (Tabelle 64).

Sechs Pferdebesitzer (5,3 %,  $n_{\text{ges}}=114$ ) gaben an, dass Sie mit Ihrem Pferd innerhalb des letzten halben Jahres weiter als innerhalb des Bundeslandes umgezogen waren („Nr. 1-6“ in Tabelle 22). In einem Fall („Nr. 5“) kam es durch den Umzug auch zu einem Wechsel der Region, in der sich das Pferd befand. „Nr. 5“ zog von Süddeutschland nach Norddeutschland um. Das Verdachtstier „Nr. 5“ zeigte nach Besitzerangaben bereits seit 44 Monaten Symptome, also noch zu der Zeit, in der es sich voraussichtlich in Süddeutschland befand.

**Tabelle 22:** Probanden (VT) mit Umzugshintergrund im letzten halben Jahr

VT	Umzug von...	→ nach...	Wechsel Region	Serologischer Befund LB
Nr. 1 (id: 119)	SH	→ HH	nein	Hinweis auf Infektion
Nr. 2 (id: 13)	SH	→ NRW	nein	Hinweis auf Erregerkontakt
Nr. 3 (id: 23)	BB	→ NI	nein	kein Hinweis auf Erregerkontakt
Nr. 4 (id: 50)	BW	→ BY	nein	kein Hinweis auf Erregerkontakt
Nr. 5 (id: 30)	BY	→ NRW	ja	Hinweis auf Infektion
Nr. 6 (id: 76)	NI	→ ST	nein	kein Hinweis auf Erregerkontakt

(HH = Hamburg, NRW = Nordrhein-Westfalen, BB = Brandenburg, BY = Bayern, SH = Schleswig-Holstein, NI = Niedersachsen, BW = Baden-Württemberg)

#### 4.1.2.2.2 Haltungsfom des Pferdes

Etwas mehr als die Hälfte der an der Studie teilnehmenden Verdachtstiere wurde in der Box gehalten (52,6 %), gefolgt von im Offenstall gehaltenen Pferden (26,3 %), reiner Weidehaltung (15,8 %) und Laufstallhaltung (3,5 %) (Tabelle 23).

**Tabelle 23:** Angaben zur aktuellen Haltungsfom (VT) zum Zeitpunkt der Probennahme

Haltungsfom (n=114)	n (%)	Beschreibung	n (%)
Boxenhaltung	60 (52,6 %)	mit Paddock	21 (18,4 %)
		mit Auslauf	21 (18,4 %)
		ohne Paddock	13 (11,4 %)
		mit Paddock und Auslauf	4 (3,5 %)
		k.A.	1 (0,9 %)
Offenstallhaltung	30 (26,3 %)	<i>keine nähere Differenzierung</i>	
reine Weidehaltung	18 (15,8 %)	nur im Sommer	5 (4,4 %)
		ganzjährig	3 (2,6 %)
		k.A.	8 (7,0 %)
Laufstallhaltung	4 (3,5 %)	mit Auslauf	3 (2,6 %)
		ohne Auslauf	1 (0,9 %)
Sonstige	2 (1,8 %)	<i>keine nähere Differenzierung</i>	

Bei den fünf Pferden, bei denen die Besitzer angegeben hatten, dass sie nur im Sommer ganztägig auf der Weide gehalten wurden, gaben die Besitzer als Haltungsfom für den Winter viermal (80 %) Boxenhaltung und einmal (20 %) Offenstallhaltung an. Die entsprechenden

Pferde wurden allesamt im Sommer (n=3) beziehungsweise im Herbst (n=2) im Rahmen der Studie beprobt, also in der Phase der Weidehaltung.

Nähere Angaben zur Bodenbefestigung, die ebenfalls im Fragebogen angekreuzt werden konnten, werden an dieser Stelle nicht näher angeführt, können aber dem Tabellenband im Anhang entnommen werden (Tabelle 65).

Bei 11 Probanden (9,6 %,  $n_{\text{ges}}=114$ ) hatte sich die Haltungsform innerhalb des letzten halben Jahres geändert (Tabelle 24). Davon standen sieben Pferde (6,1 %) zuvor in der Box, während sie zum Zeitpunkt der Untersuchung im Offenstall (n=5), im Laufstall (n=1) und in reiner Weidehaltung (n=1) gehalten wurden. Zwei Pferde (1,8 %) wurden zuvor im Offenstall gehalten und dann umgestellt auf Boxen- (n=1) bzw. Weidehaltung (n=1). Weitere zwei Pferde (1,8 %) wurden von reiner Weidehaltung auf Boxenhaltung umgestellt.

**Tabelle 24:** Probanden (VT) mit Haltungswechsel auf Boxenhaltung im letzten halben Jahr

VT	Haltung von...	→ zu ...	Weidegang	Serologischer Befund LB
#1 (id: 30)	Offenstall	→ Box	weiterhin	Hinweis auf Infektion
#2 (id: 40)	Weide	→ Box	weiterhin	kein Hinweis auf Erregerkontakt
#3 (id: 102)	Weide	→ Box	weiterhin	Hinweis auf Erregerkontakt

Zwei der an der Studie teilnehmenden Pferde (1,8 %) hatten nach Besitzerangaben keinen Weidegang, der Rest hat während der Weidesaison oder ganzjährig Weidezugang. Die Frage nach der Dauer des Weidegangs während der Weidesaison in Stunden am Tag beantworteten 112 Pferdebesitzer, wobei der überwiegende Teil mehr als zwölf Stunden Weidegang am Tag (n=82, 73,2 %) auswählte (Tabelle 25).

**Tabelle 25:** Besitzerangaben zur Dauer des Weidegangs während der Weidesaison in Stunden (h)

Weidegang ( $n_{\text{ges}}=112$ )	n	genauer...	n
kürzer als halbtags	28	1-4h	15
		5-8h	9
		9-12h	4
halbtags	50	tagsüber	46
		nachts	4
ganztags	32		
kein Weidegang	2		

67,3 % (n=72) der Pferdebesitzer, die die Frage nach der Länge der Weidesaison beantworteten ( $n_{\text{ges}}=107$ ), wählten die Antwortoption „mehr als drei Monate, aber nicht ganzjährig“, 29,0 % (n=31) gaben an, dass ihre Pferde ganzjährig auf die Weide kämen und bei 3,7 % (n=4) ist die Weidesaison im Allgemeinen zwischen einem und drei Monaten lang.

#### 4.1.2.2.3 Nutzung des Pferdes

Bei der Frage nach der Nutzung des Pferdes und der genaueren Abfrage der einzelnen Nutzungsarten waren Mehrfachantworten möglich, weswegen die Frage nach der generellen Nutzung 132-mal und die Frage nach den einzelnen Nutzungsarten 200-mal beantwortet

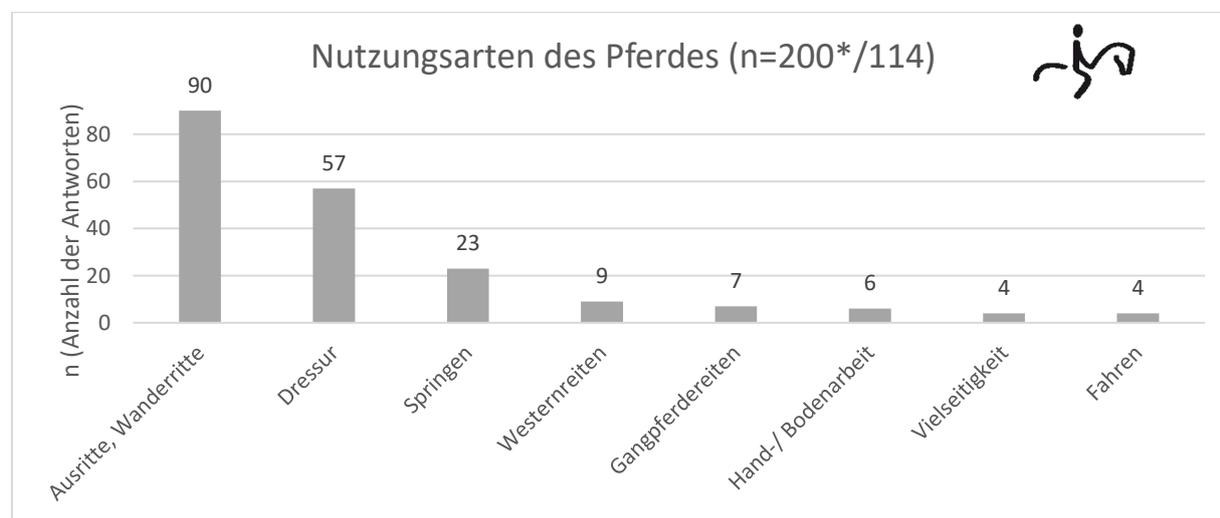
wurde. Eine sportliche Nutzung (Turniereinsatz) ergab sich bei 34 Pferden (29,8 % von  $n_{ges}=114$ ). 61 Pferde (53,4 % von  $n_{ges}=114$ ) wurden ausschließlich zu Freizeitzwecken genutzt, 12 Pferde waren Gnadenbrotpferde (10,5 % von  $n_{ges}=114$ ) und 5 Pferde Zucht- bzw. Jungpferde ohne reiterliche Nutzung (4,4 % von  $n_{ges}=114$ ) (Tabelle 26).

**Tabelle 26:** Nutzung des Pferdes (nach Gruppen), allgemein (Mehrfachnennung möglich (\*), s.r.)

<i>Nutzung des Pferdes (n=132*/114)</i>	<i>n (%)</i>		<i>GESAMT</i>	<i>n (%)</i>
Freizeit	61 (53,5 %)		Freizeit:	78 (59,1 %)
Sport + Freizeit	17 (14,9 %)		Sport:	34 (25,8 %)
Sport	16 (14,0 %)		Gnadenbrot:	12 (9,1 %)
Gnadenbrotpferd	12 (10,5 %)		Zucht-/ Jungpferd:	5 (3,8 %)
Zucht-/ Jungpferd	5 (4,4 %)		Schulpferd:	3 (2,3 %)
Schulbetrieb	2 (1,8 %)			
Sport + Schulbetrieb	1 (0,9 %)			

Bei der Frage nach den näheren Nutzungsarten wurden im Schnitt 1,9 Antwortoptionen ausgewählt. 24 (21,1 %) der Pferde ( $n_{ges}=114$ ) wurden, laut Besitzerangaben, nie im Gelände bewegt, während der Rest ( $n=90$ , 78,9 %) regelmäßig für Ausritte, Wanderritte, Spaziergänge oder beim Fahren im Gelände unterwegs war. Hiervon wurden 25 (21,9 %) einmal, 48 (42,1 %) zwei- bis dreimal und 17 (14,9 %) mehr als dreimal pro Woche im Gelände bewegt.

Neben der Geländearbeit wurden die Antwortoptionen „Dressurarbeit“ ( $n=57$  von  $n_{ges}=114$ ) und „Springtraining“ ( $n=23$  von  $n_{ges}=114$ ) am häufigsten gewählt. Die Antwortoptionen „Rennsport“, „Distanzreiten“ und „Voltigieren“ wurden nicht ausgewählt (Abbildung 14).



**Abbildung 14:** Nutzungsarten des Pferdes, Mehrfachnennung möglich (\*)

Die an der Studie teilnehmenden Pferde mit sportlicher Nutzung, wurden – soweit Angaben hierzu vorlagen ( $n=10$ ) – laut Pferdebesitzern ausschließlich auf nationalen Turnieren

vorgestellt. Im Tabellenband finden sich Angaben zu den genauen Prüfungsklassen, die die Pferdebesitzer für ihre Sportpferde angegeben hatten (u.a. Tabelle 66).

#### 4.1.2.2.4 Gesundheitsprophylaxe

##### 4.1.2.2.4.1 Impfungen

11 (9,6 %) der 114 teilnehmenden Probanden wurden laut Besitzerangaben nicht regelmäßig geimpft, davon waren neun Pferde (81,8 %) nicht mehr und zwei Pferde (18,2 %) noch nie geimpft, hatten also bislang keine Grundimmunisierung erhalten. Die letzte Impfung lag bei den nicht mehr geimpften Pferden bis zu vier Jahre zurück.

Alle, nach Besitzerangaben, „regelmäßig“ geimpften Pferde (n=103) waren gegen Tetanus geimpft, 74,8 % (n=77) hiervon auch gegen Equine Influenza und 24,3 % (n=25) gegen Equines Herpesvirus. 7,0 % (n=8) Pferde wurden zusätzlich gegen Tollwut, 4,4 % (n=5) gegen Lyme-Borreliose und 2,6 % (n=3) gegen Dermatophytose geimpft. Keines der teilnehmenden Pferde wurde gegen Druse, Equine Virale Arteriitis, Equines Rotavirus oder West-Nil-Virus geimpft.

74 Pferdebesitzer (67,9 %) beantworteten die Frage, ob sie eine Borreliose-Impfung ihres bislang nicht gegen Lyme-Borreliose geimpften Pferdes grundsätzlich in Betracht zögen, mit „Ja“, der Rest (n=35, 32,1 %) mit „Nein“. Als Gründe, warum die Pferde bislang nicht gegen die LB geimpft waren bzw. warum die Impfung nicht infrage käme, gaben die Pferdebesitzer folgende Antworten:

**Tabelle 27:** Von Besitzern genannte Gründe für die Entscheidung gegen die LB-Impfung

<i>Gründe gegen die LB-Impfung (n=109)</i>	<i>n (%)</i>
Ich möchte mein Pferd grundsätzlich so wenig wie möglich impfen.	37 (33,9 %)
Unwissenheit / keine Aufklärung über mögliche Impfung	28 (25,7 %)
Ich sehe keine Gefährdung für mein Pferd und somit keine Notwendigkeit.	18 (16,5 %)
Fehlendes Vertrauen in die Impfung	12 (11,0 %)
Pferd ist infiziert / hat Antikörper-Titer.	8 (7,3 %)
Eine weitere Impfung ist mir zu teuer.	1 (0,9 %)
Keine Angabe	5 (4,6 %)

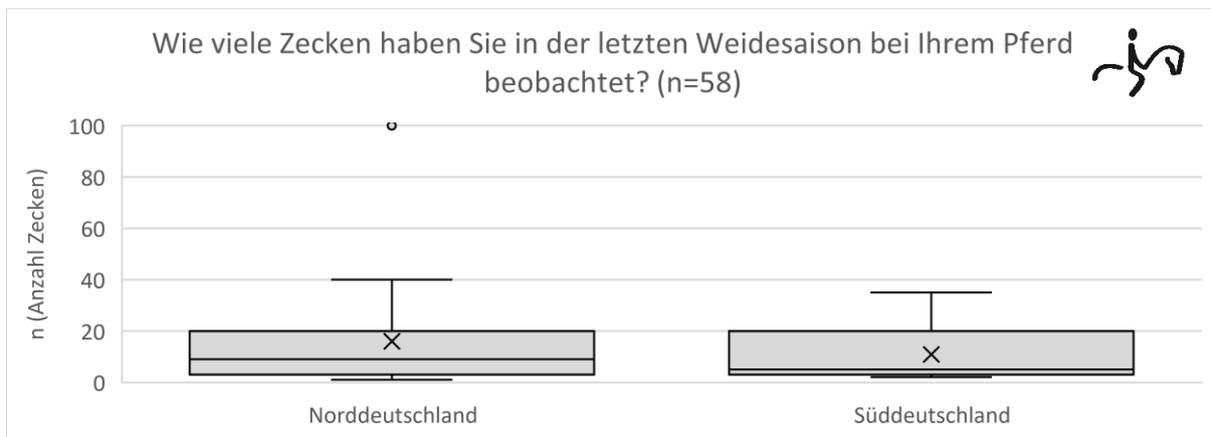
##### 4.1.2.2.4.2 Entwurmung

Die Frage nach dem Entwurmungsmanagement beantworteten die Pferdebesitzer folgendermaßen (n<sub>ges</sub>=114): Eines der Pferde (0,9 %) wurde gar nicht regelmäßig entwurmt, drei Pferde (2,6 %) einmal, 25 Pferde (21,9 %) zweimal, 37 Pferde (32,5 %) dreimal und 29 Pferde (25,4 %) viermal pro Jahr. Ein weiteres Pferd (0,9 %) wurde mehr als viermal pro Jahr entwurmt und die restlichen 18 Pferde (15,8 %) waren Teil eines selektiven Entwurmungsprogramms.

#### 4.1.2.2.5 Zeckenbefall und -prophylaxe

17,5 % (n=20) der 114 Pferdebesitzer gaben an, bei Ihrem Pferd in der letzten Weidesaison keine Zecken beobachtet zu haben, weitere 31,6 % (n=36) hatten Zecken beobachtet, konnten allerdings keine Angaben zur genauen Anzahl machen und der Rest (50,9 %, n=58) machte im Folgenden nähere Angaben zur Anzahl der beobachteten Zecken.

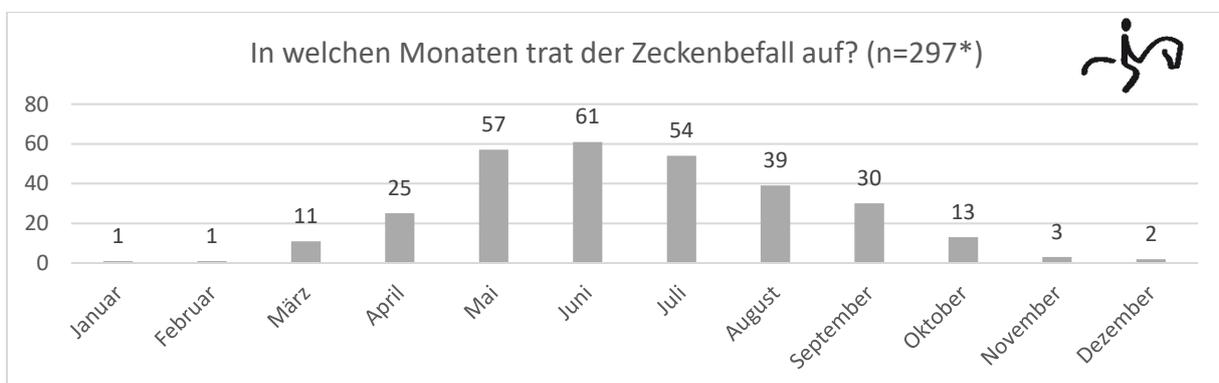
Im Mittel wurden  $15 \pm 19$  Zecken beobachtet. Zwei Pferdebesitzer (3,4 %) hatten angegeben über 100 Zecken, beziehungsweise mehr als eine Zecke pro Tag, beobachtet zu haben. Diese gingen mit der Zahl „100“ (Maximum) in die Auswertung ein (Abbildung 15).



**Abbildung 15:** Anzahl der Zecken in der letzten Weidesaison, aufgeteilt nach Region

Von den 94 Pferdebesitzern, die Zecken bei ihren Pferden gefunden hatten, kreuzten 85 weitere Optionen zum Zustand der Zecken auf dem Pferd an. 77,6 % (n=66) hatten die Zecken bereits angeheftet, 20,0 % (n=17) teilweise aber auch noch krabbelnd und 2,4 % (n=2) ausschließlich im krabbelnden Zustand vorgefunden.

Die Monate, in denen Zecken auf den Pferden von den Besitzern beobachtet worden waren, sind in der folgenden Abbildung kumulativ dargestellt (Abbildung 16). Der Peak liegt in den (frühen) Sommermonaten Mai, Juni und Juli, aber es werden ganzjährig Zecken bei Pferden in Deutschland beobachtet.



**Abbildung 16:** Auftreten des Zeckenbefalls in der letzten Weidesaison (\*Mehrfach-Beobachtungen berücksichtigt)

Auf die Frage, ob das Pferd nach Meinung des Besitzers in einem zeckengefährdeten Gebiet stünde, antworteten 72,8 % (n=83 von n<sub>ges</sub>=114) mit „Ja“, der Rest (27,2 %, n=31) verneinte. Das „zeckengefährdete Gebiet“ wurde in einem Infokasten auf dem Fragebogen wie folgt definiert:



Steht Ihr Pferd in einem zeckengefährdeten Gebiet?

„Zeckengefährdetes Gebiet“ = Laub- und Mischwälder mit Kraut- und Strauchzone, Moor, Heide, Wiesenflächen mit Sträuchern, Bäumen und altem, hohem Gras und Kräutern



Ja
  Nein

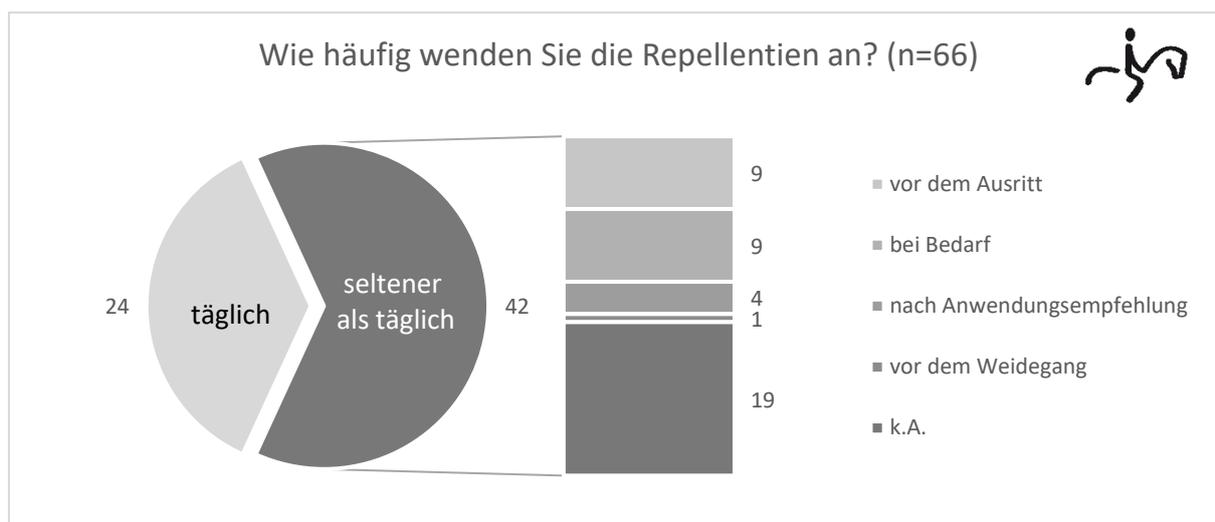
**Abbildung 17:** Infokasten „zeckengefährdetes Gebiet“ Besitzerfragebogen

Den Zustand der Weideflächen, auf denen sich das Pferd die meiste Zeit seines Weideganges aufhielt, beschrieben 59,8 % (n=67 von n<sub>ges</sub>=112) als eher kurzgefressenes Gras, bei 40,2 % (n=45) war das Gras die meiste Zeit eher langstielig.

50,9 % (n=57) der Pferde mit Weidezugang grasten auf einer Weide am Waldrand, die anderen 48,2 % (n=55) wurden auf einer Weide gehalten, die nicht an einen Wald angrenzte.

Auf die Nachfrage, welche Methode der Zeckenentfernung angewandt wurde, antworteten 85 Pferdebesitzer. Mehrfachnennungen waren möglich (n<sub>ges</sub>=109). 56 % (n=61) verwenden zum Entfernen einer Zecke bei ihrem Pferd eine Zeckenzange oder Pinzette, 43,1 % (n=47) verwenden die eigenen Fingernägel und eine Person (0,9 %) gab an, die Zecken gar nicht zu entfernen. Die Antwortoption „Beträufeln mit Öl, Alkohol...“ wählte niemand.

Die Frage nach dem Repellentien-Einsatz beantworteten 113 der 114 Pferdebesitzer. 47 (41,6 %) gaben an, nicht regelmäßig Repellentien einzusetzen, die auch zur Zeckenabwehr bestimmt sind. 66 (58,4 %) setzen regelmäßig Repellentien ein; in 36,4 % der Fälle (n=24 von n<sub>ges</sub>=66) täglich. Diejenigen, die die Repellentien seltener als täglich einsetzten, wendeten sie häufig bedarfsgerecht bzw. vor dem Ausritt an (n=18 von n<sub>ges</sub>=66) (Abbildung 18).



**Abbildung 18:** Häufigkeit des Repellentien-Einsatzes

Die Frage nach der Bezugsquelle für die Repellentien, ließ mehrere Antwortmöglichkeiten zu. 67 Pferdebesitzer beantworteten diese Frage und wählten im Schnitt 1,1 Antwortmöglichkeiten aus, wodurch sich 75 Antworten ergaben. 60 % (n=45) beziehen das Repellent über ein Reitsportfachgeschäft, 22,7 % (n=17) über den Tierarzt, 13,3 % (n=10) über das Internet und 4,0 % (n=3) im Supermarkt.

Dies spiegelt sich auch in den Angaben zum genauen Präparat wider, welches eingesetzt wurde (n<sub>ges</sub>=92 Antworten). Am häufigsten wurden hier Präparate aus dem Reitsportfachgeschäft (Leovet Power Phaser (n=21), Effol Bremsen Blocker (n=18)) genannt. Aber auch für das Pferd zugelassene Repellentien, die über den Tierarzt bezogen werden können (Wellcare® (n=13), Centaura® (n=5)) wurden häufiger genannt (Abbildung 19).



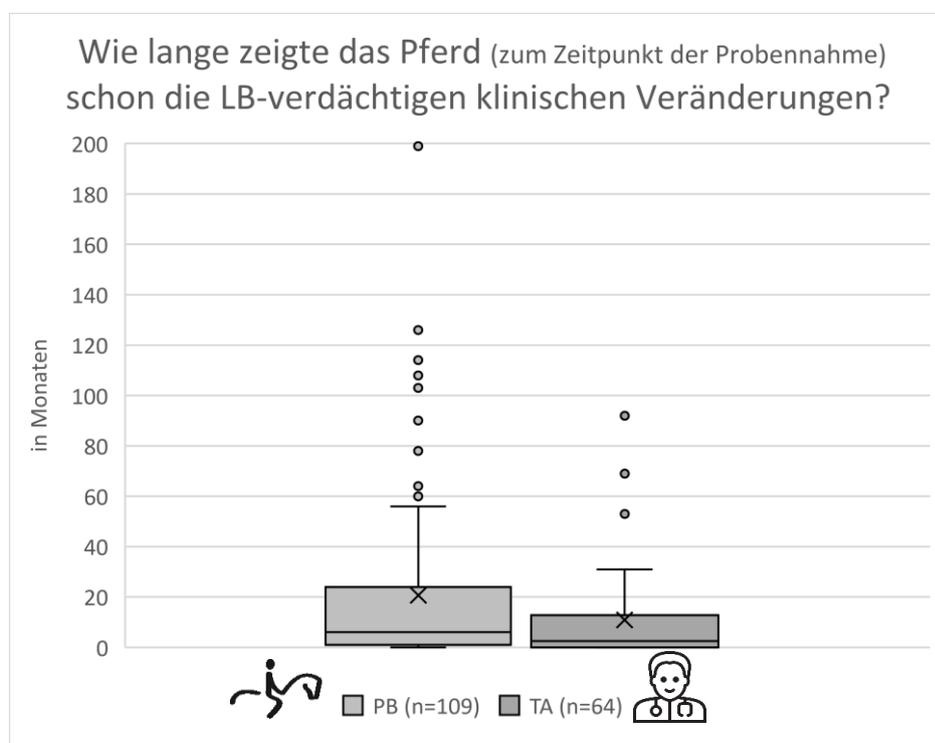
**Abbildung 19:** Eingesetzte Repellentien (PB), Mehrfachnennung möglich (\*)

Bei den Präparaten sind pflanzliche Wirkstoffe wie Geraniumöl (Leovet Tam Tam Vet), Eukalyptus-Citriodoraöl (Leovet Tam Tam Vet), aber auch chemische Verbindungen wie Geraniol (Zedan Bremsenbremse classic), Breitband-Insekten-Repellent IR3535® (Zedan Bremsenbremse classic, Ballistol stichfrei Animal) und N-Dieethyl-m-toluamide und Ethylbutylacetylaminopropionate (Leovet Power Phaser), sowie Icaridin (Virbac Equirepell, Serumwerk Bernburg Centaura®, Effol Bremsen Blocker) oder Permethrin (MSD Tiergesundheit Wellcare® Emulsion) enthalten, wobei zu beachten ist, dass die Wellcare® Emulsion keine Arzneimittelzulassung zum Schutz vor Zecken hat.

#### 4.1.2.2.6 Klinik

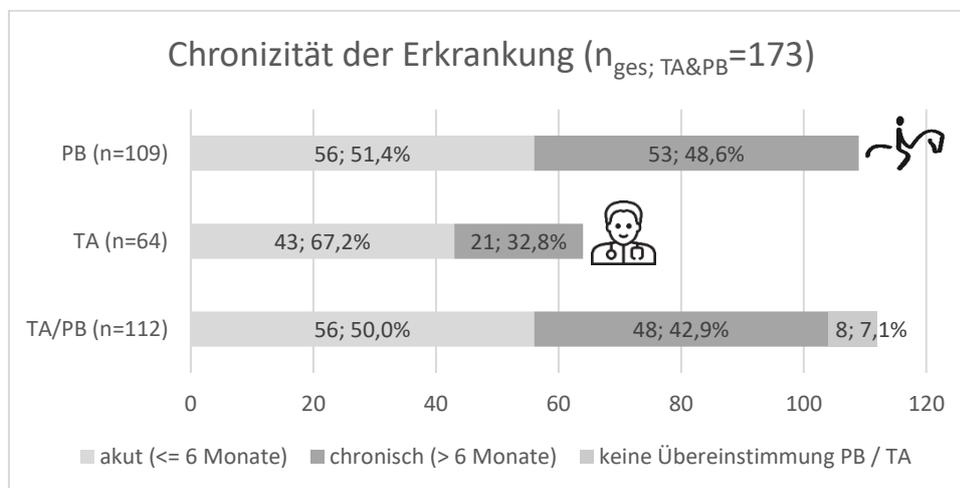
Bei den nun folgenden Daten überschneiden sich die Fragebögen von Tierärzten und Pferdebesitzern. Beide wurden gleichermaßen um eine Einschätzung und Angabe zur Klinik, Vorabdiagnostik und -therapie gefragt und diese Angaben sollen nun nebeneinander, vergleichend dargestellt werden.

Fasst man die Angaben von Pferdebesitzer und Tierarzt zusammen, so zeigten die Pferde zum Zeitpunkt der Probennahme im Mittel schon seit  $15,8 \pm 26,0$  Monaten (0-199 Monate) die LB-verdächtigen klinischen Veränderungen, respektive das aktuelle Krankheitsbild. Die einzelnen Angaben, aufgeteilt nach Pferdebesitzern und Tierärzten, finden sich in der folgenden Abbildung (Abbildung 20):



**Abbildung 20:** Zeitdauer der Erkrankung, die zum „LB-Verdacht“ geführt hatte, in Monaten (PB = Patienten-/Pferdebesitzer, TA = Tierarzt)

Durch Definierung einer neuen Variablen zur „Chronizität der Erkrankung“, mit einer „akuten Erkrankung“  $\leq$  sechs Monaten und einer „chronischen Erkrankung“  $>$  sechs Monaten ergibt sich, dass aus Besitzersicht (n=109 Antworten) etwa gleich viele Patienten akut (51,4 %; n=56) und chronisch (48,6 %; n=53) erkrankt waren, während die Tierärzte (n=64 Antworten) mehr Patienten als akut erkrankt (67,2 %; n=43) einstufen und weniger als chronisch erkrankt (32,8 %; n=21). Allerdings machten auch nur 64 Tierärzte Angaben zur Erkrankungsdauer, während 109 Pferdebesitzer sich dazu äußerten. Fasst man die Antworten von Tierärzten und Pferdebesitzern zusammen, können Angaben zu 112 der 114 Probanden abgeleitet werden. Bei acht Probanden (7,1 %) stimmten die Angaben von Tierärzten und Pferdebesitzern nicht überein. Von den restlichen 104 Probanden wurden 50,0 % (n=56) von Pferdebesitzer und/oder Tierarzt als akut und 42,9 % (n=48) als chronisch erkrankt eingestuft (Abbildung 21).

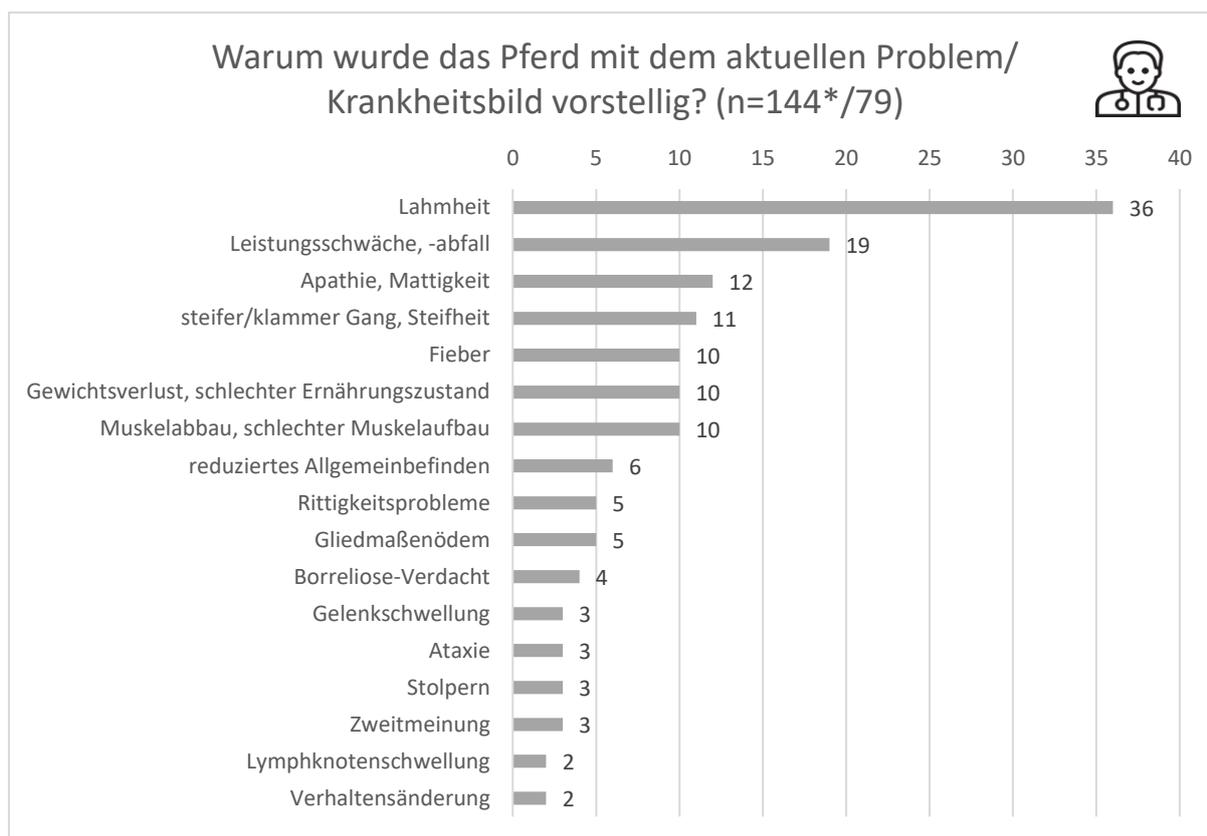


**Abbildung 21:** Chronizität der Erkrankung

Die Angabe zur genauen Krankheitsdauer lag im Mittel für die Akut-Gruppe (0-6 Monate) bei den Tierärzten  $1,3 \pm 1,7$  Monate und bei den Patientenbesitzern  $2,2 \pm 2,0$  Monate und für die Gruppe der chronisch Erkrankten bei den Tierärzten  $27,0 \pm 21,2$  (7-71 Monate) und bei den Patientenbesitzern  $42,5 \pm 39,3$  Monate (7-199 Monate).

Die Tierärzte wurden außerdem gebeten, anzugeben, wie lange (in Jahren) das Tierarzt-Patienten-Verhältnis bestand und dabei wurde ein Mittelwert von  $2,9 \pm 4,3$  Jahren (0-21 Jahre) ermittelt.

Als Vorstellungsgrund im aktuellen Krankheitsfall nannten die Tierärzte (n=79) im freien Text unter anderem die folgenden Punkte: Lahmheit (n=36), Leistungsschwäche (n=19), Apathie (n=12), klammer Gang und Steifheit (n=11) und Fieber (n=10). Weitere Vorstellungsgründe können Abbildung 22 und dem Tabellenband im Anhang entnommen werden (Tabelle 69).



**Abbildung 22:** Vorstellungsgrund bzw. aktuelles Krankheitsbild zum Zeitpunkt der Probennahme

Die Fragebögen von Pferdebesitzern und Tierärzten waren im Hinblick auf die Frage nach den klinischen Veränderungen ähnlich, aber zum besseren Verständnis der Besitzer, in ihrem Fall etwas weniger detailreich und für den Laien verständlicher aufgebaut. Im Tierärztes-Befundbogen wurden auch einige Punkte durch weitergehende Antwortmöglichkeiten detaillierter abgefragt.

Bei der Rubrik „Unspezifische Allgemeinsymptome“ wurden beim Tierarzt als zusätzliche Antwortmöglichkeiten neben Fieber, Gewichtsverlust, Leistungsabfall, mangelhafte Rittigkeit und Lethargie, die so auch im Besitzerfragebogen vorkamen, noch Inappetenz und Somnolenz als Antwortmöglichkeiten angeboten.

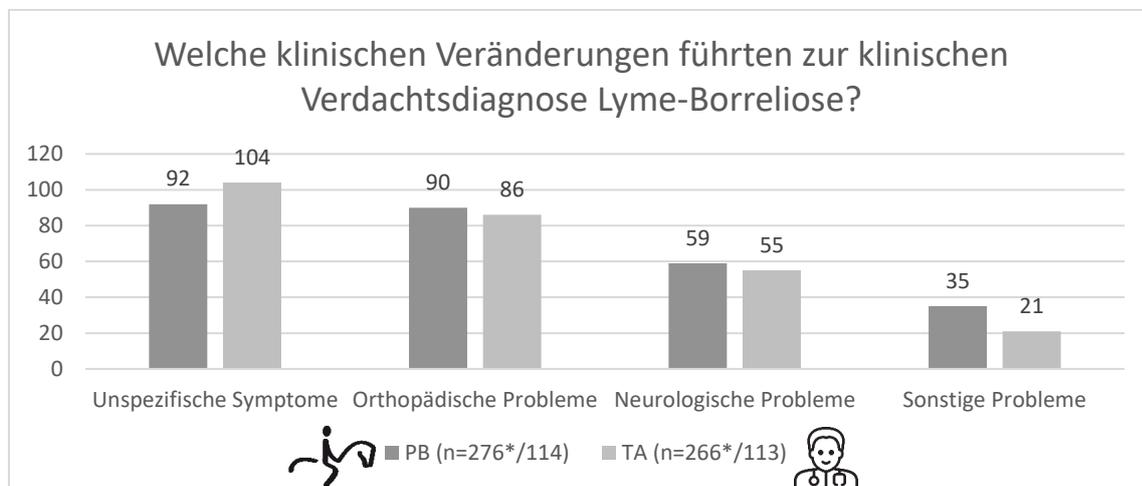
In der Rubrik „Neurologische Probleme“ wurden neben Ataxie, Kopfnervenausfällen, Störungen peripherer Nerven, Hinweise auf eine Meningoenzephalitis, Muskelzittern und Hyperästhesie beziehungsweise als „Überempfindlichkeit der Haut (bei Berührung)“ bei den Tierärzten zusätzlich „(neurogene) Muskelatrophie“ und „Dysphagie“ zum Ankreuzen vorbereitet.

In der Rubrik „Orthopädische Probleme“ konnten Lahmheiten, Gelenkschwellungen, allgemeine Muskelsteifheit und Steifheit im Genick-/Halsbereich ausgewählt werden. Ferner

konnten Tierärzte diagnostizierte Muskelschmerzen als beobachtete klinische Veränderung angeben.

Bei den „Sonstigen klinischen Veränderungen“ stimmten beide Fragebögen überein. Ophthalmologische Probleme, dermatologische Veränderungen (an einer möglichen Zeckenstich-Stelle), kardiologische Probleme und Abort standen sowohl bei Tierärzten als auch Pferdebesitzern zur Auswahl.

Die sehr umfangreich abgefragten Angaben zum genauen Krankheitsbild der betroffenen Pferde sind in Tabelle 34 wiedergegeben. Hierbei waren Mehrfachantworten möglich, wobei von 114 Pferdebesitzern insgesamt 276 und von 113 Tierärzten insgesamt 266 Häkchen bei den beobachteten Symptomen gesetzt wurden. Fasst man die klinischen Veränderungen unter den Kategorien zusammen, ergibt sich, dass unspezifische klinische Veränderungen bei 92 (PB-Angabe) bzw. 104 (TA-Angabe) der Probanden ( $n_{PB/TA}=114/113$ ), orthopädische Probleme bei 90 (PB) bzw. 86 (TA), neurologische Probleme bei 59 (PB) bzw. 55 (TA) und sonstige Probleme bei 35 (PB) bzw. 21 (TA) Probanden beobachtet werden konnten (Abbildung 23). Dadurch dass Mehrfachnennungen möglich waren, konnte ein Patient in mehr als einer Kategorie auftauchen, wenn er beispielweise gleichzeitig unspezifische und neurologische Probleme zeigte.



**Abbildung 23:** Kategorisierung der klinischen Befunde, Mehrfachnennung möglich (\*)

Unter den unspezifischen klinischen Veränderungen wurde bei den Pferden mit LB-Verdacht am häufigsten Leistungsabfall (PB/TA: 67,4 %/76,9 %) beobachtet. Die Angaben sind jeweils relativ zu den Fällen in der Kategorie zu sehen, das heißt unter den Patienten, die unspezifische klinische Veränderungen zeigten, zeigten nach Besitzerangaben 67,4 % und nach Tierärzteangaben 76,9 % einen Leistungsabfall. Mangelhafte Rittigkeit (PB/TA: 64,1 %/55,8 %) und Lethargie (PB/TA: 50,0 %/59,6 %) wurden ebenfalls häufig genannt. Laut Tierärzten zeigten 23 Pferde auch Fieber (Tabelle 34). Die Frage an die Tierärzte nach der

näheren Charakterisierung des Fiebers ergab folgendes Ergebnis: In fünfzehn Fällen (65,2 %) handelte es sich um hohes Fieber, in acht Fällen (34,8 %) um niedriges Fieber.

Bei den orthopädischen Problemen waren allgemeine Muskelsteifheit (PB/TA: 68,9 %/61,6 %) und Lahmheit (PB/TA: 66,7 %/68,6 %) die, gleichermaßen von Tierärzten und Pferdebesitzern, am häufigsten genannten klinischen Veränderungen (Tabelle 34).

Analog zur genaueren Eingrenzung des Fiebers, konnten die Tierärzte auch die orthopädischen Probleme eingehender beschreiben, indem sie die weiterführenden Fragen zu Lahmheiten (Tabelle 28), Gelenkschwellungen (Tabelle 29), Steifheit (Tabelle 30) und Muskelschmerzen (Tabelle 31) beantworteten.

Bei den von den 59 Tierärzten beobachteten Lahmheiten handelte es sich in 70,4 % der Fälle (n=38) um Lahmheiten, bei denen mehrere Gliedmaßen betroffen zu sein schienen, wohingegen 29,6 % (n=16) auf eine Gliedmaße beschränkt waren, wobei die Gliedmaßenverteilung vorne, hinten, links und rechts fast ausgeglichen war (23,3 % bis 27,8 % der Antworten vielen auf die einzelnen Gliedmaßen). Was das Wesen der Lahmheit betrifft, so waren es oft intermittierend auftretende Lahmheiten (78,2 %, n=43) und seltener permanent zu beobachtende Gangauffälligkeiten (21,8 %, n=12). Der Lahmheitsgrad war in etwas mehr als zwei Drittel der Fälle (undeutlich bis deutlich) geringgradig (Grad 1-2; 70,7 %, n=41) und nur in einem Fall (1,7 %) höchstgradig (Grad 5) (Tabelle 28).

**Tabelle 28:** Weitergehende Beschreibung der beobachteten Lahmheiten (TA) , Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =59)	Beschreibung	n (ggf. %)	% der Fälle
Lahmheit – Anzahl betroffene Beine	mehrere Gliedmaßen	38	70,4 %
	eine Gliedmaße	16	29,6 %
	<b>Gesamt</b>	<b>54</b>	<b>100 %</b>
	k.A.	5 (8,5 % von 59)	
Lahmheit – Wesen	intermittierend	43	78,2 %
	permanent	12	21,8 %
	<b>Gesamt</b>	<b>55</b>	<b>100 %</b>
	k.A.	4 (6,8 % von 59)	
Lahmheitsgrad	1	23	39,7 %
	2	18	31,0 %
	3	12	20,7 %
	4	4	6,9 %
	5	1	1,7 %
	<b>Gesamt</b>	<b>58 (100 %)</b>	<b>100 %</b>
	k.A.	1 (1,7 % von 59)	
Lahmheit – betroffene Beine (n=43)	hinten rechts	25 (27,8 %)	58,1 %
	vorne links	22 (24,4 %)	51,2 %
	hinten links	22 (24,4 %)	51,2 %
	vorne rechts	21 (23,3 %)	48,8 %
	<b>Gesamt</b>	<b>90 (100 %)</b>	<b>209,3 %</b>

Gelenkschwellungen wurden häufiger an den Hintergliedmaßen (77,1 %, n=27) als an den Vordergliedmaßen (22,9 %, n=8) beobachtet, wobei auf die Frage nach den betroffenen

Gelenken vor allem die Fesselgelenke (45,8 %, n=11) und Tarsalgelenke (33,3 %, n=8) genannt wurden (Tabelle 29).

**Tabelle 29:** Weitergehende Beschreibung der beobachteten Gelenkschwellungen (TA), Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =20)	Beschreibung	n (%)	% der Fälle
Gelenkschwellung - betroffene(s) Bein(e) (n=17)	hinten links	14 (40,0 %)	82,4 %
	hinten rechts	13 (37,1 %)	76,5 %
	vorne links	5 (14,3 %)	29,4 %
	vorne rechts	3 (8,6 %)	17,6 %
	<b>Gesamt</b>	<b>35 (100 %)</b>	<b>205,9 %</b>
	k.A.	3 (15,0 % von 20)	
Gelenkschwellung - betroffene(s) Gelenk(e) (n=18)	Fesselgelenk(e)	11 (45,8 %)	61,1 %
	Tarsalgelenk(e)	8 (33,3 %)	44,4 %
	Karpalgelenk(e)	2 (8,3 %)	11,1 %
	Ellenbogengelenk(e)	1 (4,2 %)	5,6 %
	Knie	1 (4,2 %)	5,6 %
	Hufgelenk(e)	1 (4,2 %)	5,6 %
	<b>Gesamt</b>	<b>24 (100 %)</b>	<b>133,3 %</b>
	k.A.	2 (10,0 % von 20)	

Bei den 58 Patienten mit beobachteter Steifheit, handelte es sich bei 39 Pferden (67,2 %) um eine allgemeine Muskelsteifheit und bei fünf Pferden (8,6 %) um eine Steifheit im Bereich der Halswirbelsäule beziehungsweise des Genicks. Bei vierzehn Pferden (24,1 %) wurde sowohl eine allgemeine Muskelsteifheit als auch eine Steifheit der Hals- und Genickregion beobachtet (Tabelle 30).

**Tabelle 30:** Weitergehende Beschreibung der beobachteten Steifheit (TA), Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =58)	Beschreibung	n (%)	% der Fälle
Körperregion Steifheit	allgemeine Muskelsteifheit	53 (73,6 %)	91,4 %
	Halswirbelsäule / Genick	19 (26,4 %)	32,8 %
	<b>Gesamt</b>	<b>72 (100 %)</b>	<b>124,1 %</b>

28 Probanden zeigten Muskelschmerzen, deren Lokalisation v.a. thorakolumbal (92,9 % der Fälle) und seltener in der Hals- und Hinterhandregion (je 14,3 % der Fälle) anzusiedeln waren. Mehrfachnennungen kamen bei 21,4 % der Patienten mit Muskelschmerzen vor (Tabelle 31).

**Tabelle 31:** Weitergehende Beschreibung der beobachteten Muskelschmerzen (TA), Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =28)	Beschreibung	n (%)	% der Fälle
Lokalisation Muskelschmerzen	thorakolumbal	26 (76,5 %)	92,9 %
	cervikal	4 (11,8 %)	14,3 %
	Hinterhand	4 (11,8 %)	14,3 %
	<b>Gesamt</b>	<b>34 (100 %)</b>	<b>121,4 %</b>

In der Kategorie „Neurologische Probleme“ kristallisierten sich Hyperästhesie (PB/TA: 61,0 %/36,4 %) und Ataxie (PB/TA: 50,8 %/36,4 %) als die häufigsten klinischen Anzeichen heraus (Tabelle 34). Bezüglich der neurologischen Probleme nutzten zwölf Tierärzte die

Möglichkeit das Wesen der Ataxie näher einzugrenzen, während neun keine weiteren Angaben hierzu machten. Neunmal gaben die Tierärzte an, es handelte sich um eine sensorische Ataxie (75,0 %), dreimal um eine zerebelläre Ataxie (25,0 %), und in keinem Fall um eine vestibuläre Ataxie (0,0 %).

Bei „sonstigen klinischen Veränderungen“ wurden lokale Hautveränderungen an der Zeckenstichstelle (PB/TA: 62,9 %/33,3 %) und Augenerkrankungen (PB/TA: 42,9 %/52,4 %) am häufigsten genannt (Tabelle 34). Bei den in sieben Fällen beobachteten Hautveränderungen handelte es sich um Hautknötchen bzw. Papeln (100,0 %), die in zwei Fällen (28,6 %) auch mit einer Rötung einhergingen (Tabelle 32).

**Tabelle 32:** Weitergehende Beschreibung der beobachteten Hautveränderungen (TA), Mehrfachnennungen möglich

( <i>n</i> <sub>Fälle=7</sub> )	Beschreibung	<i>n</i> (%)	% der Fälle
Beobachtete Hautveränderungen	Hautknötchen / Papeln	7 (77,8 %)	100,0 %
	Rötung	2 (22,2 %)	28,6 %
	<b>Gesamt</b>	<b>9 (100 %)</b>	<b>128,6 %</b>

Bei den in sieben Fällen beobachteten ophthalmologischen Veränderungen handelte es sich bei fünf Patienten um eine Konjunktivitis (71,4 %) und in zwei Fällen (28,6 %) um eine Equine Rezidivierende Uveitis. Mehrfachnennungen kamen hier nicht vor (Tabelle 32).

**Tabelle 33:** Weitergehende Beschreibung der beobachteten ophthalmologische Veränderungen (TA), Mehrfachnennungen möglich

( <i>n</i> <sub>Fälle=7</sub> )	Beschreibung	<i>n</i> (%)	% der Fälle
Ophthalmologische Befunde	Konjunktivitis	5 (71,4 %)	71,4 %
	ERU	2 (28,6 %)	28,6 %
	<b>Gesamt</b>	<b>7 (100 %)</b>	<b>100 %</b>

Weitere und die oben genannten Daten zu allen beobachteten und im Fragebogen erfassten LB-verdächtigen klinischen Veränderungen finden sich in der folgenden Tabelle 34.

**Tabelle 34:** Übersicht über die beobachteten und im Fragebogen erfassten klinischen Veränderungen (PB & TA), Mehrfachnennungen möglich

( <i>n</i> <sub>FällePB=114</sub> ) ( <i>n</i> <sub>FälleTA=113</sub> )	<i>n</i> (%)	% der Fälle(Gesamt*)	Beschreibung	<i>n</i> (%)	% der Fälle(Kategorie)
<b>Unspezifische klinische Veränderungen</b>					
PB	92 (33,3 %)	80,7 %	Leistungsabfall	62 (27,9 %)	67,4 %
			mangelhafte Rittigkeit	59 (26,6 %)	64,1 %
			Lethargie	46 (20,7 %)	50,0 %
			Gewichtsverlust	36 (16,2 %)	39,1 %
			Fieber	19 (8,6 %)	20,7 %
			<b>Gesamt</b>	<b>222 (100 %)</b>	<b>241,3 %</b>
TA	104 (39,1 %)	92,0 %	Leistungsabfall	80 (27,2 %)	76,9 %
			Lethargie	62 (21,1 %)	59,6 %
			mangelhafte Rittigkeit	58 (19,7 %)	55,8 %
			Gewichtsverlust	28 (9,5 %)	26,9 %
			Somnolenz	28 (9,5 %)	26,9 %
			Fieber	23 (7,8 %)	22,1 %

## Ergebnisse

			Inappetenz	15 (5,1 %)	14,4 %
			<b>Gesamt</b>	<b>294 (100 %)</b>	<b>282,7 %</b>
<b>Orthopädische Probleme</b>					
PB	90 (32,6 %)	78,9 %	Allgemeine Muskelsteifheit	62 (27,1 %)	68,9 %
			Lahmheit	60 (26,2 %)	66,7 %
			Muskelabbau	47 (20,5 %)	52,2 %
			Steifheit im Genick-/Nackebereich	41 (17,9 %)	45,6 %
			Gelenkschwellungen	19 (8,3 %)	21,1 %
			<b>Gesamt</b>	<b>229 (100 %)</b>	<b>254,4 %</b>
TA	86 (32,3 %)	76,1 %	Lahmheit	59 (33,0 %)	68,6 %
			Allgemeine Muskelsteifheit	53 (29,6 %)	61,6 %
			Muskelschmerzen	28 (15,6 %)	32,6 %
			Gelenkschwellungen	20 (11,2 %)	23,3 %
			Steifheit im Genick-/Halswirbelsäulen-Bereich	19 (10,6 %)	22,1 %
			<b>Gesamt</b>	<b>179 (100 %)</b>	<b>208,1 %</b>
<b>Neurologische Probleme</b>					
PB	59 (21,4 %)	51,8 %	Hyperästhesie/Überempfindlichkeit Haut	36 (36,4 %)	61,0 %
			Ataxie	30 (30,3 %)	50,8 %
			Muskelzittern	18 (18,2 %)	30,5 %
			Kopfnervenausfälle	8 (8,1 %)	13,6 %
			Störungen peripherer Nerven	6 (6,1 %)	10,2 %
			Hinweise auf eine Meningoenzephalitis	1 (1,0 %)	1,7 %
			<b>Gesamt</b>	<b>99 (100 %)</b>	<b>167,8 %</b>
TA	55 (20,7 %)	48,7 %	Ataxie	21 (23,3 %)	36,4 %
			Hyperästhesie Haut	20 (23,3 %)	36,4 %
			Muskelzittern (neurogene)	16 (18,6 %)	29,1 %
			Muskelatrophie	15 (17,4 %)	27,3 %
			Kopfnervenausfälle	5 (5,8 %)	9,1 %
			Störungen peripherer Nerven	5 (5,8 %)	9,1 %
			Hinweise auf eine Meningoenzephalitis	2 (2,3 %)	3,6 %
			Dysphagie	2 (2,3 %)	3,6 %
			<b>Gesamt</b>	<b>86 (100 %)</b>	<b>156,4 %</b>
<b>Sonstige klinische Veränderungen</b>					
PB	35 (12,7 %)	30,7 %	Hautveränderungen (an Zeckenstichstelle)	22 (52,4 %)	62,9 %
			Augenerkrankung	15 (35,7 %)	42,9 %
			Herzprobleme	5 (11,9 %)	14,3 %
			Abort	0 (0,0 %)	0,0 %
			<b>Gesamt</b>	<b>42 (100 %)</b>	<b>120,0 %</b>
TA	21 (7,9 %)	18,6 %	Augenerkrankung	11 (47,8 %)	52,4 %
			Hautveränderungen an Zeckenstichstelle	7 (30,4 %)	33,3 %
			Herzprobleme	5 (21,7 %)	23,8 %
			Abort	0 (0,0 %)	0,0 %
			<b>Gesamt</b>	<b>23 (100 %)</b>	<b>109,5 %</b>
<b>Gesamt*</b>					
<b>PB</b>	<b>276 (100 %)</b>	<b>242,1 %</b>			
<b>TA</b>	<b>266 (100 %)</b>	<b>235,4 %</b>			

Sonstige orthopädische (Tabelle 71) und neurologische (Tabelle 72) Probleme, zu denen Angaben im freien Text gemacht wurden, finden sich im Tabellenband. Der Freitext wurde nicht weiter statistisch erfasst, da die Angaben uneinheitlich, teils uneindeutig und nicht verifizierbar waren. Auch weitere ophthalmologische (Tabelle 72), sowie kardiologische Befunde (Tabelle 73) im Speziellen, die von den Tierärzten näher beschrieben wurden, finden sich im Tabellenband (Angaben im Freitext). Ferner bestand in der Rubrik „Sonstige klinische Veränderungen“ die Möglichkeit, im freien Text weitere klinische Veränderungen zu beschreiben, die von Tierärzten und Pferdebesitzern im Zusammenhang mit dem aktuellen Krankheitsbild beobachtet wurden. Diese sind ebenfalls im Tabellenband im Anhang aufgeführt (Tabelle 74 und Tabelle 75).

#### 4.1.2.2.6.1 Weitere Angaben zum Krankheitsbild

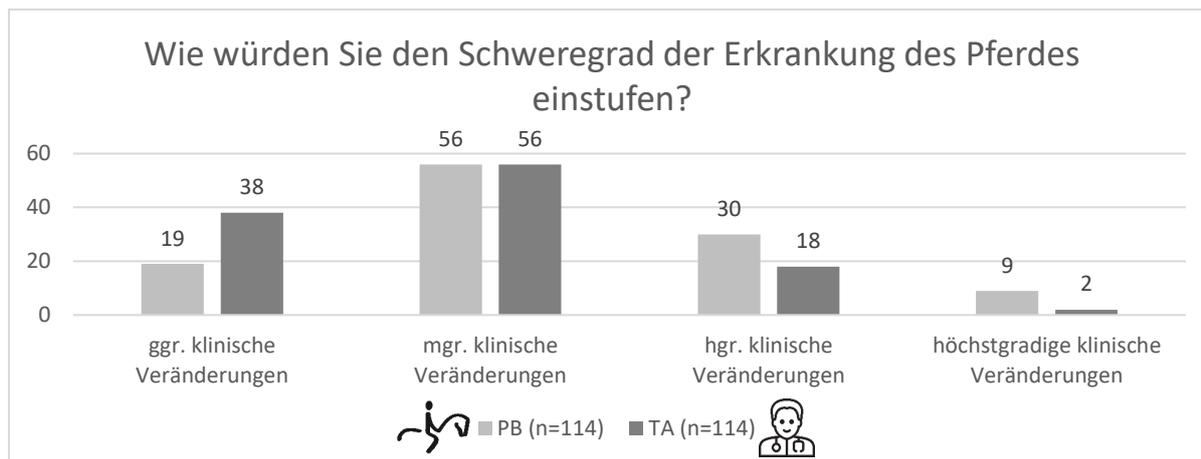
34 Pferde zeigten neben den LB-verdächtigen klinischen Veränderungen auch klinische Veränderungen, die zum **Krankheitsbild der EGA** passen könnten. Die Tierärzte gaben an, dass es sich hier vor allem um Ödeme im unteren Extremitätenbereich (bei 21 Pferden; 61,8 % der Fälle) und hohes Fieber (bei 15 Pferden; 44,1 %) handelte. Auch subkutane Ödeme in anderen Körperregionen als den Gliedmaßen wurden beobachtet (17,6 %, n=6) und Kreuzverschlag (8,8 %, n=3) (Tabelle 35).

**Tabelle 35:** Beobachtete EGA-typische klinische Veränderungen (TA), Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =34)	Beschreibung	n (%)	% der Fälle
EGA-typische Befunde	Ödeme im unteren Extremitätenbereich	21 (46,7 %)	61,8 %
	(hohes) Fieber bis 41 °C, Fieberschübe nach 2-4 Wochen	15 (33,3 %)	44,1 %
	subkutane Ödeme in anderen Körperregionen	6 (13,3 %)	17,6 %
	Rhabdomyolyse	3 (6,7 %)	8,8 %
	<b>Gesamt</b>	<b>45 (100 %)</b>	<b>132,4 %</b>

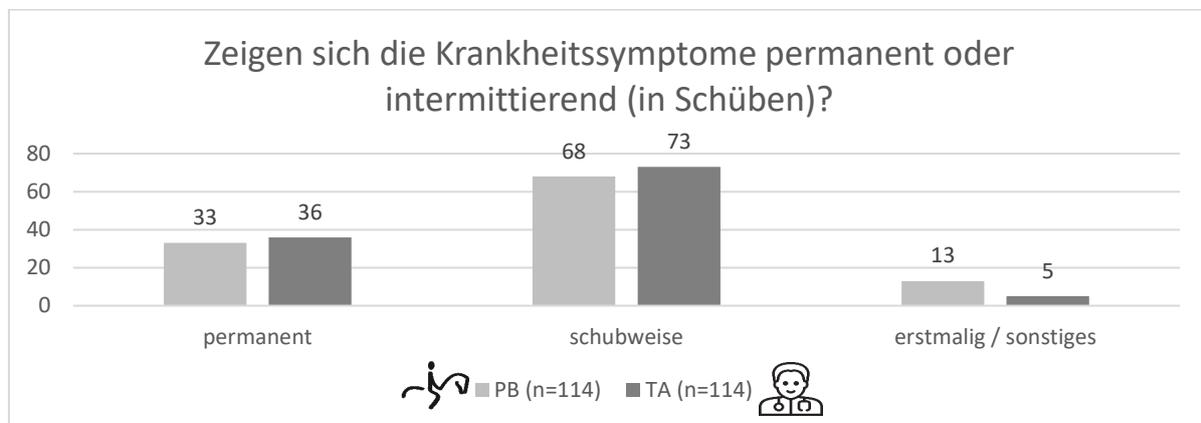
Sowohl Tierärzte als auch Pferdebesitzer waren im Folgenden aufgefordert, den **Schweregrad der Erkrankung** des Pferdes anhand einer Skala von „geringgradig“ bis „höchstgradig“ subjektiv einzuschätzen. Der Schweregrad wurde am häufigsten als mittelgradig eingestuft (PB/TA: 49,1 %). 19 Pferdebesitzer (16,6 %) und 38 Tierärzte (33,3 %) stufen ihn als geringgradig und 30 Pferdebesitzer (26,3 %) und 18 Tierärzte (15,8 %) als hochgradig ein. Höchstgradige klinische Veränderungen sahen lediglich neun Pferdebesitzer (7,9 %) und zwei Tierärzte (1,8 %) (Abbildung 24).

In 61 Fällen (53,5 %) stimmten dabei Tierärzte- und Besitzereinschätzung überein. In 11 Fällen (9,6 %) schätzten die Tierärzte den Schweregrad der Erkrankung eine Stufe höher ein als die Pferdebesitzer, während es in 30 Fällen (26,3 %) gerade umgekehrt war. In 12 Fällen (10,5 %) kam es zu einer deutlicheren Abweichung der Einschätzung in dem Sinne, dass die Besitzer den Schweregrad um zwei (n=10) bzw. drei (n=2) Stufen höher einschätzen als die Tierärzte.



**Abbildung 24:** Subjektive Einschätzung des Schweregrads der Erkrankung des Pferdes (TA & PB)

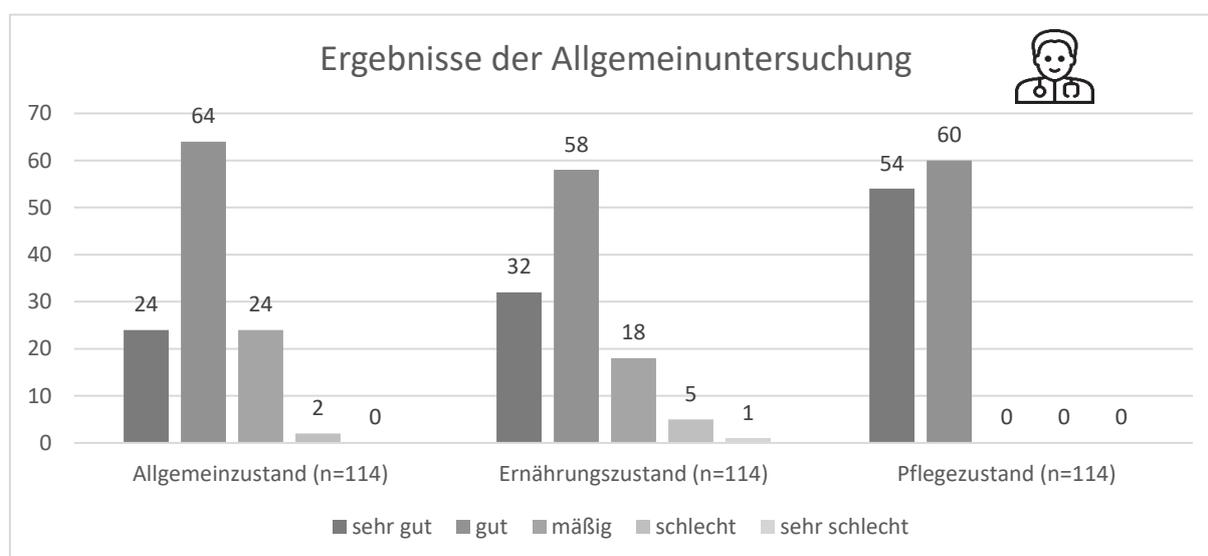
Darüber hinaus sollten beide Gruppen das **Wesen der Erkrankung** beschreiben, das heißt, ob die klinischen Veränderungen permanent, schubweise oder erstmalig aufgetreten waren. Hierbei wurde vor allem von schubweisen Verläufen (PB/TA: 59,6 %/64,0 %) berichtet. Permanent bestehende klinische Veränderungen zeigten laut Pferdebesitzern 33 Patienten (28,9 %) und laut Tierärzten 36 Patienten (31,5 %). Beim Rest waren die klinischen Veränderungen erstmalig aufgetreten oder zeigten einen anderen Verlauf (PB/TA: 11,4 %/4,4 %) (Abbildung 25).



**Abbildung 25:** Wesen der Erkrankung (permanent / schubweise / erstmalig aufgetreten) (TA & PB)

Am Ende des Besitzerfragebogens hatten die Pferdebesitzer noch die Möglichkeit im freien Text weitere, gegebenenfalls chronische **(Vor-)Erkrankungen** ihres Pferdes darzulegen. 48 der 114 Pferde (42,1 %) litten nach Besitzerangaben unter weiteren, zum Teil chronischen Erkrankungen. Sechsmal wurde PPID bzw. Cushing und COB bzw. Equines Asthma genannt, viermal Arthrose, dreimal Hufrehe, Borna bzw. der Borna-Verdacht, Sommerekzem und EGUS bzw. Magengeschwüre, zweimal Sehnenprobleme, EMND bzw. der EMND-Verdacht, Shivering, EOTRH, Equine Sarkoide und PSSM. Weitere Angaben zu Erkrankungen, die seltener als einmal genannt wurden, finden sich im Tabellenband (Tabelle 67).

Mittels einer Skala von „sehr gut“ über „gut“, „mäßig“, „schlecht“ bis „sehr schlecht“ waren die Tierärzte aufgefordert die **Ergebnisse der Allgemeinuntersuchung** des Patienten, insbesondere den Allgemein-, Ernährungs- und Pflegezustand zu beschreiben, wobei keiner der Patienten einen sehr schlechten Allgemeinzustand aufwies und auch kein Patient einen mäßig bis sehr schlechten Pflegezustand. Der durchschnittliche Allgemeinzustand lag bei 2,04 (1=sehr gut bis 5=sehr schlecht), der durchschnittliche Ernährungszustand bei 1,99 (gleiche Skalierung) und der durchschnittliche Pflegezustand bei 1,53 (ebenso gleiche Skalierung) (Abbildung 26). Sonstige Befunde aus der klinischen Allgemeinuntersuchung (Angaben im Freitext) finden sich im Tabellenband (Tabelle 76).



**Abbildung 26:** Ergebnisse der Allgemeinuntersuchung (Allgemein- / Ernährungs- / Pflegezustand) (TA)

#### 4.1.2.2.7 Therapie

71 Pferdebesitzer (62,8 %,  $n_{\text{ges}}=113$ ) gaben an, dass ihr Pferd bereits vorbehandelt war. Bei 42 Pferden (37,2 %) wurde bislang kein Therapieversuch unternommen. Bei einem Patienten lagen weder von Tierärzte- noch von Besitzerseite Informationen bezüglich einer vorangegangenen Therapie vor. 19 der 114 Tierärzte (16,7 %) machten keine Angaben zur bisherigen Therapie. In 66 Fällen konnten genauere Angaben zur vorangegangenen Therapie von Pferdebesitzer- und/oder Tierärzteseite erhoben werden, die gemeinsam in die Auswertung einfließen (Tabelle 36).

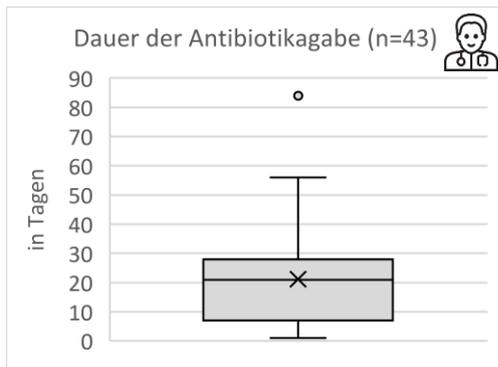
68,2 % ( $n=45$ ) der vorbehandelten Pferde hatten bereits Antibiotika erhalten und hierbei in 44,4 % der Fälle Doxycyclin ( $n=20$ ), wobei 20 % der Patienten sogar schon mehr als ein Antibiotikum erhalten hatten. Auch Nichtsteroidale Antiphlogistika waren schon häufig eingesetzt worden (42,4 % der Fälle,  $n=28$ ) und beinahe ein Drittel der Patienten aus der Studienpopulation wurden mittels komplementärer Behandlungsverfahren, wie beispielweise

Homöopathie und Phytotherapie, vorbehandelt (30,3 %, n=20). Einen kleineren Anteil machten mit steroidal Antiphlogistika vorbehandelte Pferde aus (13,6 %, n=9).

**Tabelle 36:** Eingesetzte Medikamente und Therapien, gegliedert nach Medikamentengruppen (TA & PB), Mehrfachnennungen möglich

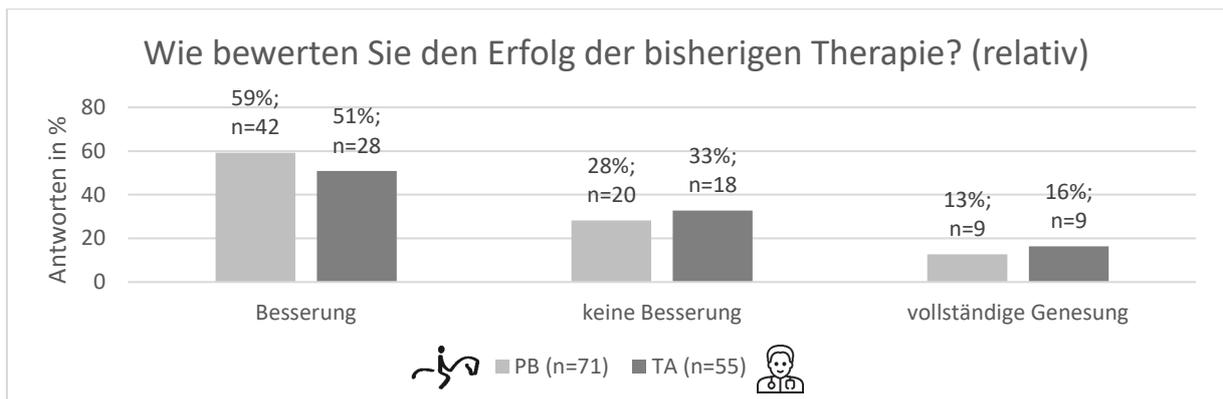
Medikamentengruppe (n <sub>Fälle</sub> =66)	n (%)	% der Fälle	Medikament	n (%)	% der Fälle
Antibiose	45 (38,0 %)	68,2 %	Doxycyclin	20 (37,0 %)	44,4 %
			Trimethoprim + Sulfadiazin	12 (22,2 %)	26,7 %
			Ceftiofur	5 (9,3 %)	11,1 %
			Marbofloxacin	3 (5,6 %)	6,7 %
			Penicillin	3 (5,6 %)	6,7 %
			Enrofloxacin	2 (3,7 %)	4,4 %
			Oxytetracyclin	2 (3,7 %)	4,4 %
			Cefquinom	1 (1,9 %)	2,2 %
			Metronidazol	1 (1,9 %)	2,2 %
			Amoxicillin	1 (1,9 %)	2,2 %
			Gentamicin	1 (1,9 %)	2,2 %
			k.A.	3 (5,6 %)	6,7 %
<b>Gesamt</b>	<b>54 (100 %)</b>	<b>120 %</b>			
Nichtsteroidale Antiphlogistika	28 (25,4 %)	42,4 %	Flunixin-Meglumin	15 (41,7 %)	53,6 %
			Meloxicam	10 (27,8 %)	35,7 %
			Phenylbutazon	5 (13,9 %)	17,9 %
			Firocoxib	2 (5,6 %)	7,1 %
			Suxibuzon	1 (2,8 %)	3,6 %
			Ketoprofen	1 (2,8 %)	3,6 %
			k.A.	2 (5,6 %)	7,1 %
			<b>Gesamt</b>	<b>36 (100 %)</b>	<b>129 %</b>
Steroidale Antiphlogistika	9 (6,3 %)	13,6 %	Dexamethason	5 (55,6 %)	55,6 %
			Prednisolon	3 (33,3 %)	33,3 %
			k.A.	1 (11,1 %)	11,1 %
			<b>Gesamt</b>	<b>9 (100 %)</b>	<b>100 %</b>
Komplementäre Therapiemethoden	20 (19,0 %)	30,3 %	Homöopathie	10 (37,0 %)	50,0 %
			Phytotherapie	7 (25,9 %)	35,0 %
			Kolloidales Silber	3 (11,2 %)	15,0 %
			Sonstiges (Akupunktur, Energetik, Eigenblut...)	7 (25,9 %)	35,0 %
			<b>Gesamt</b>	<b>27 (100 %)</b>	<b>135 %</b>
Sonstiges	16 (11,3 %)	24,2 %	Vitamin-B-Komplex	5 (31,3 %)	31,3 %
			Zylexis	7 (43,8 %)	43,8 %
			Gelenkinjektionen	4 (25,0 %)	25,0 %
			<b>Gesamt</b>	<b>16 (100 %)</b>	<b>100 %</b>
<b>Gesamt</b>	<b>118 (100 %)</b>	<b>178,8 %</b>			

Bei den Antibiotika wurde zusätzlich die Dauer der Antibiotikagabe in Tagen erfasst. Der Mittelwert lag bei  $21,0 \pm 17,1$  Tagen (1-84 Tage) (Abbildung 27).



**Abbildung 27:** Dauer der Antibiotikagabe in Tagen (TA)

Sowohl Pferdebesitzer als auch Tierärzte waren aufgefordert, den **Erfolg der vorangegangenen Therapie** zu beurteilen. Zur besseren Vergleichbarkeit, da sich lediglich 55 Tierärzte und immerhin 71 Pferdebesitzer dazu äußerten, ist das folgende Diagramm in relativen Zahlen angegeben (Abbildung 28). Eine Besserung unter Therapie trat bei einer knappen Mehrheit der Patienten ein (PB/TA: 59 %/51 %), aber nur wenige genasen vollständig (PB/TA: 13 %/16 %). Beim Rest trat keine Besserung ein (PB/TA: 28 %/33 %).



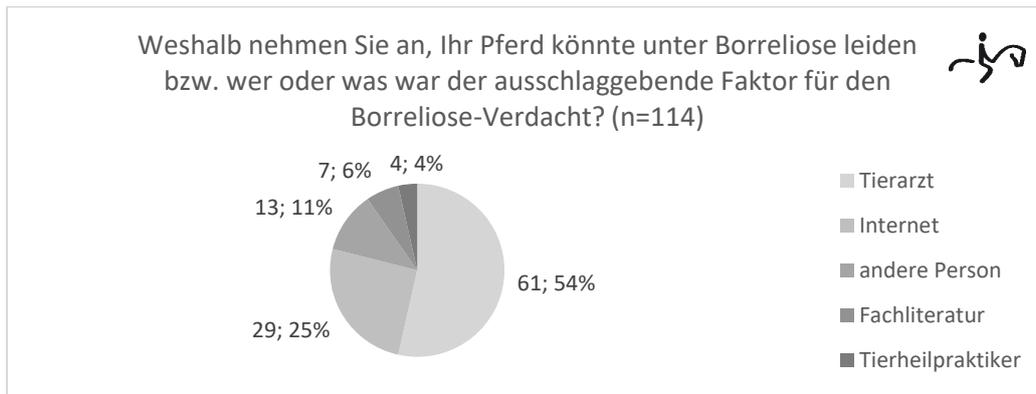
**Abbildung 28:** Einschätzung des Behandlungserfolgs, relative Angaben (TA & PB)

Neben der weiter oben erwähnten Frage nach den Vorerkrankungen und chronischen Erkrankungen des Pferdes, wurden die Pferdebesitzer am Ende des Fragebogens auch aufgefordert regelmäßige, gegebenenfalls **dauerhafte Medikamentengaben**, im freien Text anzugeben. Auf die Frage vermerkten 18 (15,8 %) der Pferdebesitzer ( $n_{ges}=114$ ) eine regelmäßige Medikamentengabe, wobei fünfmal Prascend® (Pergolidmesilat), viermal Omeprazol und dreimal nichtsteroidale Antiphlogistika, letztere teilweise auch nur bei Bedarf, als Antwort im freien Text genannt wurden. Weitere Angaben zu Medikamentengaben, die seltener als einmal genannt wurden, finden sich im Tabellenband (Tabelle 68).

#### 4.1.2.2.8 Diagnostik

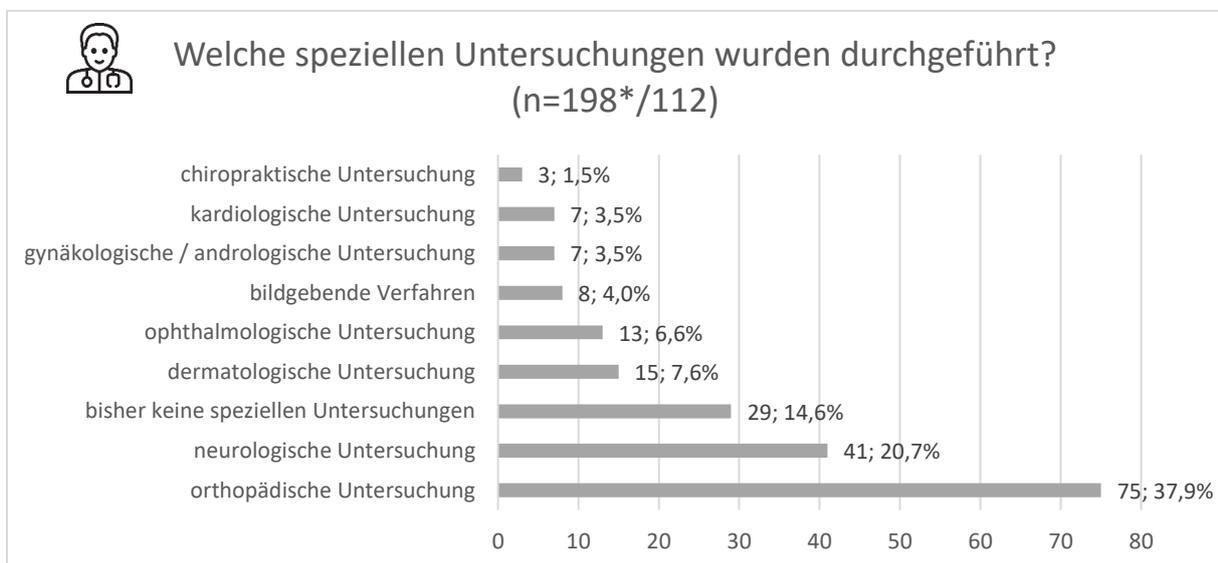
Auf die Frage an die Pferdebesitzer, weshalb Sie annähernd, Ihr Pferd könnte unter LB leiden beziehungsweise wer oder was der ausschlaggebende Faktor für den LB-Verdacht gewesen sei, antwortete mehr als die Hälfte (54 %), dass der Tierarzt sie auf die Erkrankung

aufmerksam gemacht hatte, gefolgt von Recherchen im Internet (25 %), anderen Personen (11 %), Fachliteratur (6 %) und Tierheilpraktikern (4 %) (Abbildung 29).

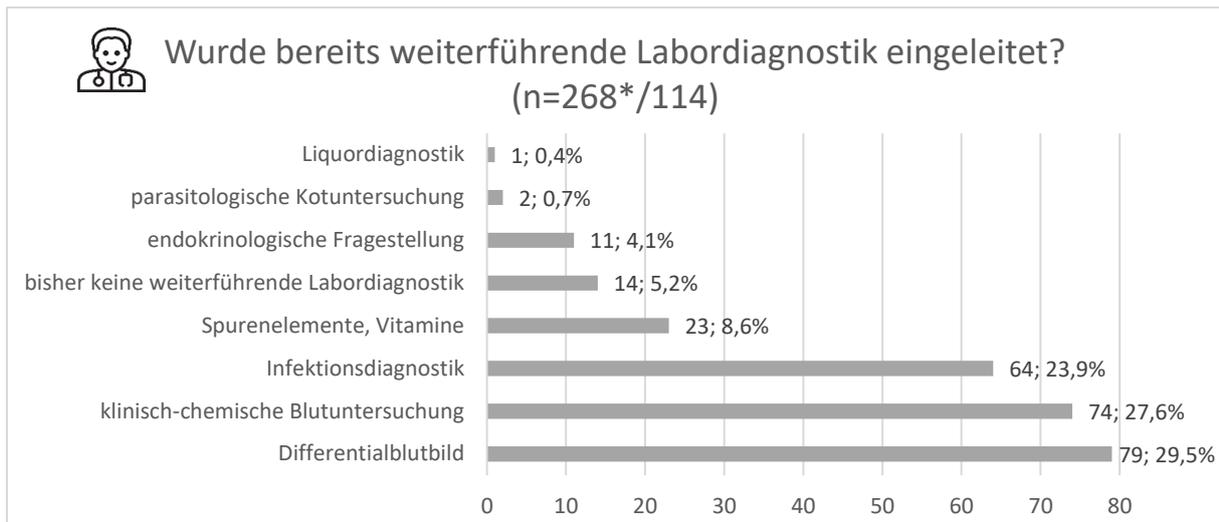


**Abbildung 29:** Ursprung der Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“ (PB)

Mit dem Ziel, einen Eindruck über den Umfang der im Vorfeld stattgefundenen Diagnostik zu erlangen, wurden die betreuenden Tierärzte darüber befragt, was über die allgemeine Untersuchung des Patienten hinaus bereits untersucht worden war. Bei 75 Patienten (70,0 %) war bereits eine eingehende orthopädische Untersuchung durchgeführt worden, bei 41 (36,6 %) eine neurologische Untersuchung und 15 Patienten (13,4 %) hatten eine dermatologische Untersuchung erfahren. Bislang keine speziellen klinischen Untersuchungen waren bei 29 Patienten (25,9 %) durchgeführt worden (Abbildung 30).

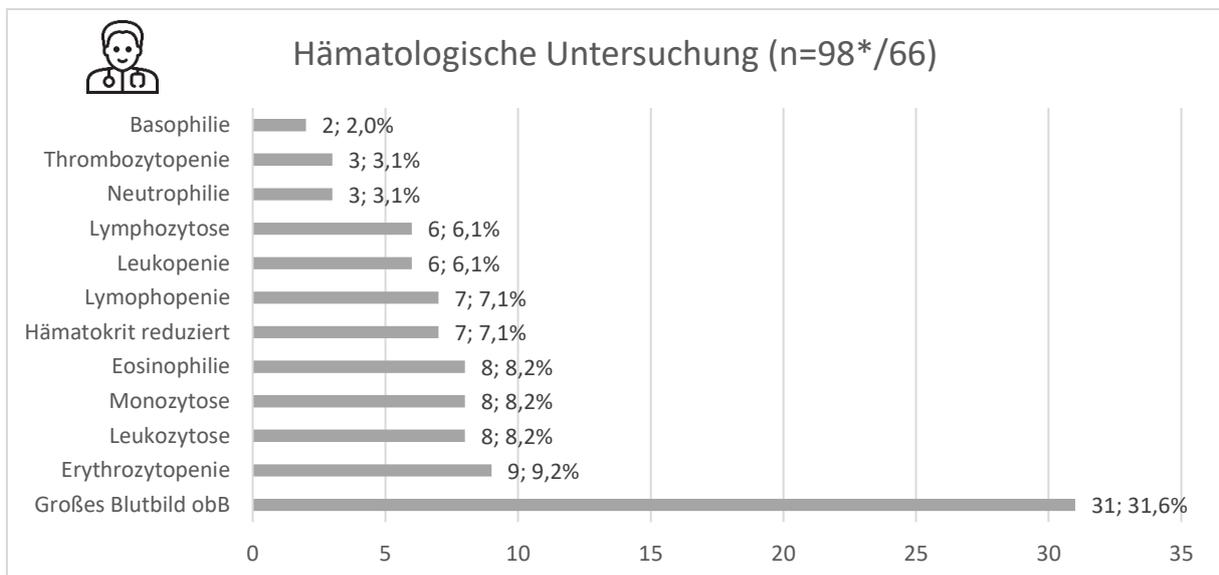


**Abbildung 30:** Vorangegangene spezielle Untersuchungsgänge (TA), Mehrfachnennungen möglich (\*) Weiterführende Labordiagnostik war in 100 Fällen (87,7 %) erfolgt, wobei bei 79 Pferden (69,3 %) ein Differentialblutbild angefertigt worden war und bei 74 Pferden (64,9 %) eine umfassende klinisch-chemische Blutuntersuchung. Bei 64 Pferden (56,1 %) waren auch schon Untersuchungen aus dem Bereich der Infektionsdiagnostik durchgeführt worden (Abbildung 31).



**Abbildung 31:** Vorangegangene Labordiagnostik (TA) , Mehrfachnennungen möglich (\*)

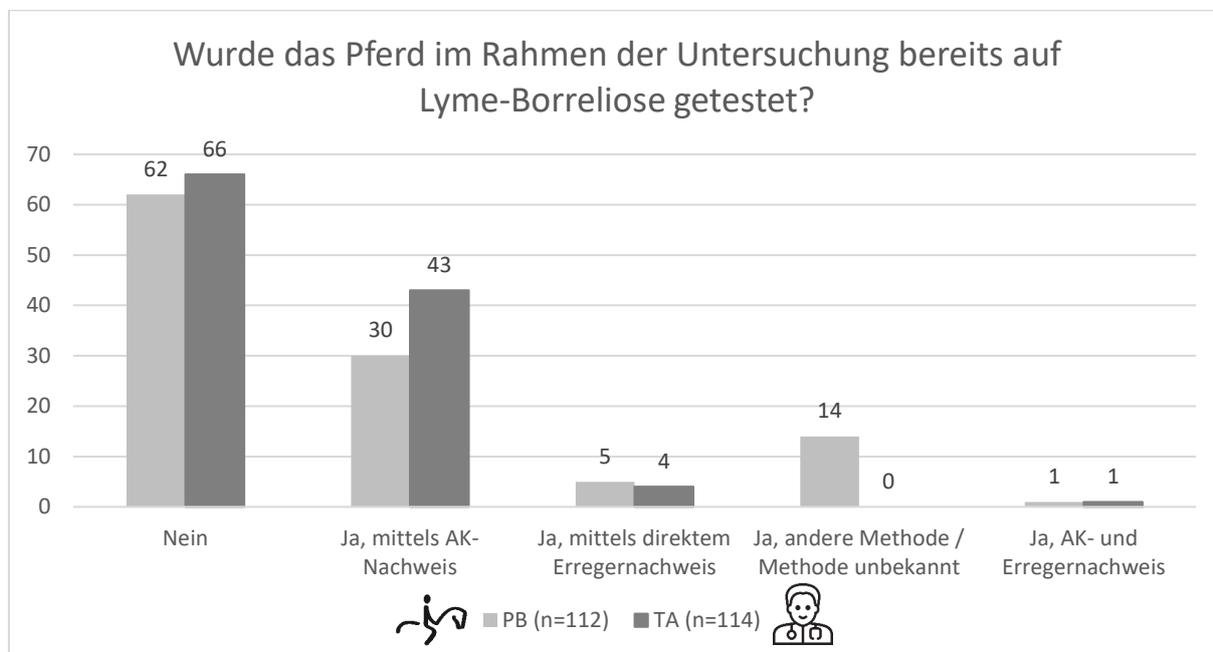
Von 66 der 79 Patienten, bei denen bereits ein Differentialblutbild angefertigt worden war, lagen den Einsendungen auch die Befunde der Untersuchung bei bzw. wurden diese von den Tierärzten im freien Text festgehalten. Bei 31 Pferden (47,0 %) war hierbei das große Blutbild ohne besonderen Befund. Eine Erythrozytopenie war bei 9 Pferden (13,6 %) aufgefallen, eine Leukozytose, Monozytose und/oder Eosinophilie bei 8 Pferden (12,1 %) (Abbildung 32).



**Abbildung 32:** Ergebnisse vorangegangenes Differentialblutbild (TA) , Mehrfachnennungen möglich (\*)

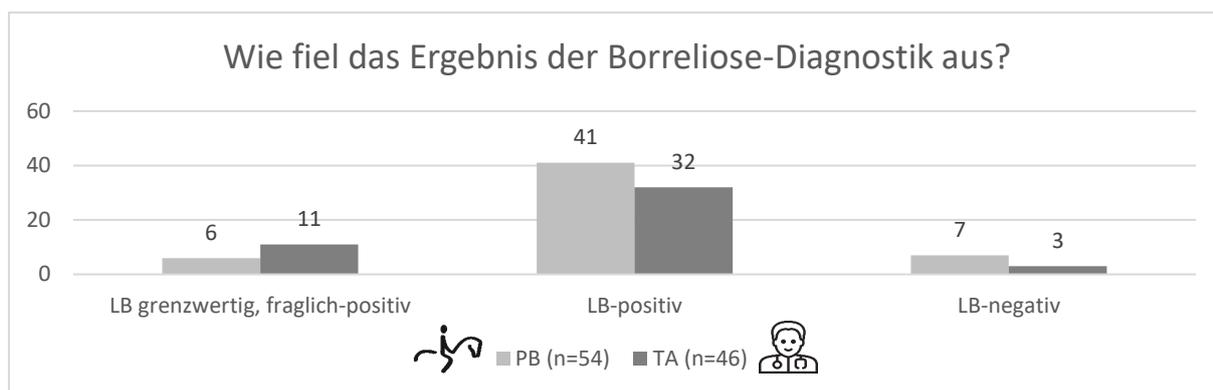
Fragen nach der Durchführung einer diagnostischer Untersuchungen im Hinblick auf die LB, wurden wieder sowohl im Tierärzte- als auch Pferdebesitzer-Fragebogen gestellt, da hier oftmals die Pferdebesitzer von länger zurückliegenden Untersuchungen mehr Informationen zur Verfügung stellen konnten als erst kürzlich zum Fall hinzugezogene Tierärzte. Etwas weniger als die Hälfte der an der Studie teilnehmenden Probanden (PB: 62, 55,9 %; TA: 66, 57,9 %) waren bislang keiner Diagnostik im Hinblick auf Erkrankungen durch Erreger des *Bbsl*-Komplexes unterzogen worden und der Rest wurde primär mittels indirektem Erregernachweis

untersucht (PB: 30, 26,8 %; TA: 43, 37,7 %) und nur zu einem geringen Teil mittels direktem Erregernachweis (PB: 5, 4,5 %; TA: 4, 3,5 %). Bei einem Patienten waren sowohl der Antikörper-, als auch der direkte Erregernachweis zum Einsatz gekommen (PB/TA: 0,9 %). 14 Pferdebesitzer (12,5 %) wussten nicht über die verwendete Methode Bescheid (Abbildung 33).



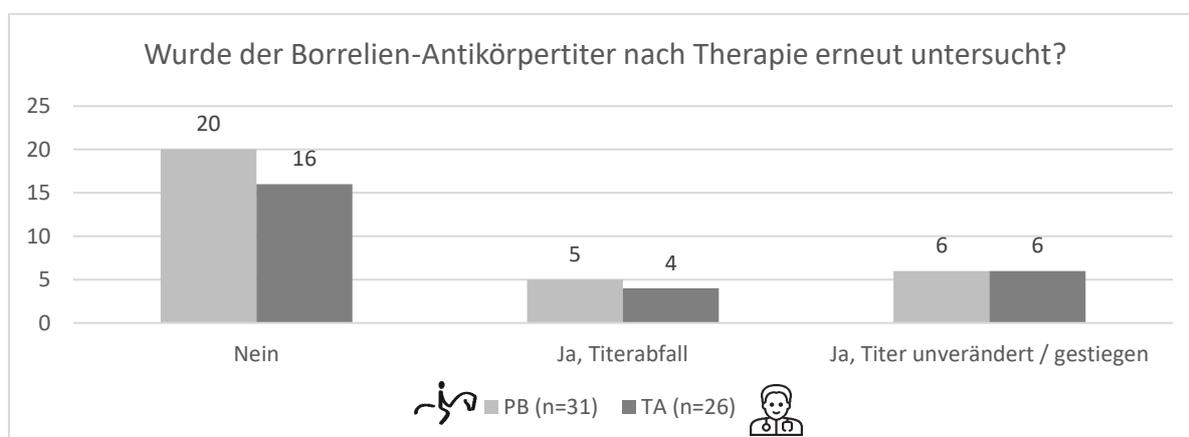
**Abbildung 33:** Durchgeführte LB-Vorabdiagnostik (PB & TA)

Bei zwei Tierärzten fehlten die Angaben zum Ergebnis der durchgeführten Borreliose-Diagnostik. Bei den Pferdebesitzer lagen dagegen zwei Antworten mehr auf diese Frage vor, als aufgrund der vorangegangenen Frage eigentlich vorliegen dürften (62-mal „es wurde keine Testung auf Lyme-Borreliose durchgeführt“). Laut Pferdebesitzern waren 41 Pferde (75,9 %) positiv, 6 Pferde (11,1 %) grenzwertig und 7 Pferde (12,9 %) negativ auf Borreliose getestet worden. Laut Tierärzten fielen die Ergebnisse 32-mal positiv (69,5 %), 11-mal grenzwertig (23,9 %) und 3-mal (6,5 %) negativ aus (Abbildung 34). In 11 Fällen waren die Angaben von Tierärzten und Pferdebesitzern nicht übereinstimmend, davon war 10-mal die Angabe „positiv“ im Gegensatz zu „grenzwertig“ gemacht worden und einmal die Angabe „positiv“ im Gegensatz zu „negativ“. Teilweise wurden die Pferde vorab schon mehrfach auf LB getestet, allerdings bei maximal zwei verschiedenen Laboren. Eine genaue Auflistung der konsultierten Labore findet sich im Tabellenband (Abbildung 60).



**Abbildung 34:** Befunde Vorabdiagnostik LB (PB & TA)

In 31 (Pferdebesitzer), respektive 26 (Tierärzte) Fällen wurde auch die Frage nach der Durchführung einer *Bb*-Titer-Verlaufskontrolle nach durchgeführter Therapie beantwortet. Dabei gaben 65 % der Pferdebesitzer (n=20) und 62 % der Tierärzte (n=16) an, dass keine erneute Untersuchung der *Bb*-Antikörpertiter stattgefunden hatte. Einen Titerabfall konnte, laut Besitzern bei 5 Pferden (16 %) und laut Tierärzten bei 4 Pferden (15 %) beobachtet werden und ein persistierend hoher Titer bzw. Titeranstieg bei 6 Pferden (PB:19 %/TA:23 %) (Abbildung 35). Angaben zum zeitlichen Intervall zwischen den Untersuchungen wurden nicht erhoben.



**Abbildung 35:** *Bb*-Antikörpertiterkontrolle nach durchgeführter Therapie (TA & PB)

Bis zu fünf verschiedene bzw. aufeinanderfolgende diagnostische Tests wurden eingesetzt, um die LB zu diagnostizieren. Diese sind in Tabelle 37 in Abhängigkeit vom verwendeten Labor („Labor 1“ → „Methode 1.1-3“ und „Labor 2“ → „Methode 2.1-2“) angeführt (Tabelle 37).

**Tabelle 37:** Angewandte Methoden der LB-Diagnostik (TA)

Methodik	1.1 (n=48)	1.2 (n=15)	1.3 (n=3)	2.1 (n=5)	2.2 (n=1)	GESAMT
IgG ELISA	16 (26)			2 (3)		18 (29)
IgG Immunoblot / recomBlot	3 (3)	6 (6)	2 (3)	1 (1)	1 (1)	13 (14)
C6 qualitativ	4 (4)	5 (5)				9 (9)
IFAT	6 (6)	2 (2)				8 (8)

IgM/IgG Immuno- blot / recomBlot	3 (4)	1 (2)				4 (6)
Hautstanze PCR	2 (2)		1 (1)			3 (3)
Hautstanze Kultur	1 (7)	1 (1)				2 (8)
ELISPOT				1 (1)		1 (1)
k.A.	13 (13)			1 (1)		14 (14)

Anzahl bzw. Wiederholungen der durchgeführten Untersuchungen in Klammern; PCR = Polymerase Chain Reaction, IFAT = Immunfluorescence Antibody Test, ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay, k.A. = keine Angabe; „Methode 1.1/2/3“ und „Methode 2.1/2“ bezieht sich auf Pferde mit Mehrfachtestung in der Vorabdiagnostik

Bei 18 Patienten, und damit am häufigsten, wurden IgG-ELISAs, insbesondere als Screeningtests, eingesetzt. Bei sechs Patienten wurden die Untersuchungen, im Sinne einer Titerkontrolle, wiederholt, wodurch sich eine Gesamtzahl von 29 durchgeführten Tests ergibt (Tabelle 37). Die vorliegenden ELISA-*Bb*-Titer in Virotech Einheiten (Labore IDEXX und Böse) und ELISA Absorption Units (Labor Synlab) sind in Abbildung 61 im Tabellenanhang zu finden.

IgG-Immunooblots fanden ebenfalls sehr regelmäßig Anwendung (n=13), wobei diese häufiger als Bestätigungstests dienten (n=9). Die vorliegenden Befunde ergaben acht positive *Bb*-IgG-AK-Tests, einen negativen und sechs grenzwertige, wobei ein Patient zweimal untersucht wurde. Die in acht Fällen vorliegenden Ergebnisse der einzelnen im Immuno-/recomBlot getesteten Antigene finden sich in Abbildung 63 im Tabellenband.

Ein *Bb*-IgM-recomBlot wurde, in Kombination mit einem *Bb*-IgG-recomBlot, bei vier Patienten durchgeführt, bei zweien sogar noch einmal wiederholt (Tabelle 37). Die Untersuchung fiel in allen, d.h. den insgesamt sechs Untersuchungsgängen, negativ aus.

Qualitative C6-Antikörpernachweise wurden in 9 Fällen angewandt, sowohl als Primär- (n=4), als auch als Sekundärtests (n=5) (Tabelle 37). In 8 Fällen (88,9 %) war er positiv, in einem Fall (11,1 %) fiel er negativ aus.

Auch Immunfluoreszenz-Antikörper-Tests (IFATs) wurden noch häufig eingesetzt (n=8), in vielen Fällen als erste Screeningmethode (n=6) und seltener zur Bestätigung (n=2) (Tabelle 37). Der IFAT fiel bei allen acht Patienten laut Besitzer- bzw. Tierärzteangaben positiv aus, bei 7 Pferden lagen die Ergebnisse des IgG-IFATs auf Antikörper gegen *Bb* vor, mit Titern von 1:64 bis 1:256 (Tabelle 38).

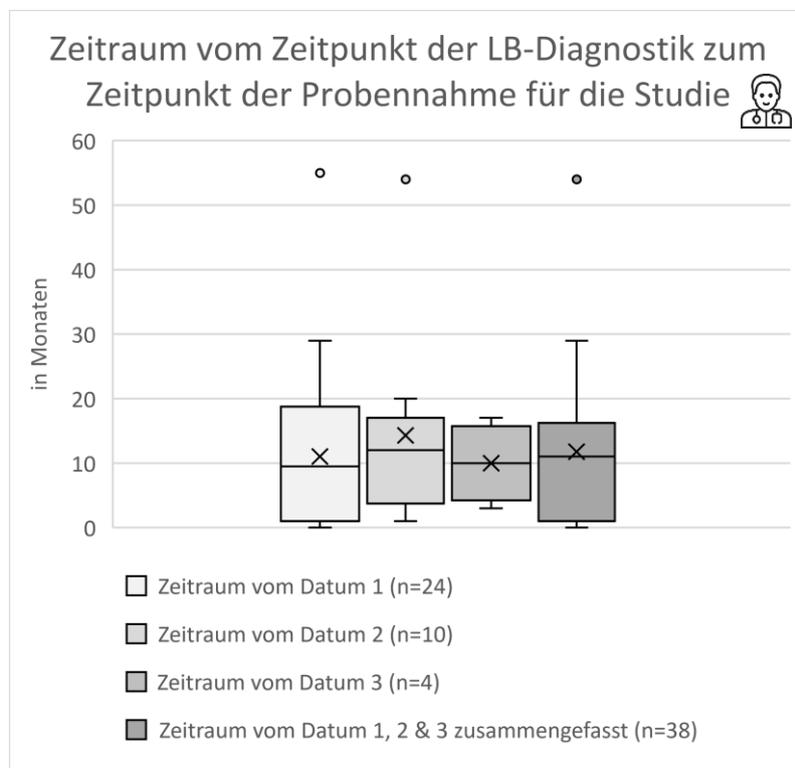
**Tabelle 38:** *Bb*-IgG-IFAT-Titer

IgG-IFAT-Titer	n (%; % von n <sub>ges</sub> =114)
1:256	3 (42,9 %; 2,6 %)
1:128	2 (28,6 %; 1,8 %)
> 1:512	1 (14,3 %; 0,9 %)
1:64	1 (14,3 %; 0,9 %)

Daneben wurden PCR-Tests (n=3), kulturelle Nachweisverfahren (n=2) und der ELISPOT (n=1) verwendet (Tabelle 37). In den drei Fällen, in denen aus der Hautbiopsie eine PCR-

Untersuchung auf Borrelien eingeleitet wurde, fiel sie bei zwei Patienten positiv und bei einem negativ aus. In einem Fall lag das Ergebnis einer Hautbiopsie mit Bakterienkultur und positivem Borrelien-Befund vor, einmal fehlte der Befund. Der Befund des ELISPOT war positiv, ebenso eine weitere PCR-Untersuchung, diesmal auf *Bb*-Antigene aus einer Zecke direkt.

Wie lange die Untersuchungen zur LB-Diagnostik zurücklagen, wurde im Rahmen der Abfrage nach den angewandten Methoden ebenfalls geprüft. Das Datum der zurückliegenden „Datum 1“ (Abbildung 36) entspricht dem frühesten Datum, „Datum 3“ dem Datum der letzten Untersuchung im Vorfeld der Probennahme für die Studie. Im Durchschnitt lag der Zeitpunkt der LB-Diagnostik  $11,8 \pm 11,3$  (0-55) Monate zurück (Datum 1:  $11,0 \pm 12,8$ , Datum 2:  $14,3 \pm 15,2$ , Datum 3:  $10,0 \pm 5,9$ ).



**Abbildung 36:** Zeitraum vom Zeitpunkt der Vorab-LB-Diagnostik bis zum Zeitpunkt der Probennahme, in Monaten (TA)

Die Tierärzte wurden anschließend gefragt, ob auch schon auf EGA getestet wurde (n=114). Dies wurde in 101 Fällen verneint (88,6 %). Die Pferde, die nach Tierärzteangabe bereits getestet worden waren, waren in sieben Fällen negativ (6,1 %) und in sechs Fällen positiv auf EGA getestet worden (5,3 %). In 15 Fällen lagen Befunde der EGA-Diagnostik vor, die von Tierärzten oder Pferdebesitzern eingeschickt worden waren: acht Mal positiv (53,3 %), sieben Mal negativ (46,7 %). Für die EGA-Diagnostik fanden als Untersuchungsmethoden Immunfluoreszenztests (IFTs) und PCR-Untersuchungen Anwendung (Tabelle 39).

**Tabelle 39:** EGA-Diagnostik Methode, gegliedert nach Ergebnis (TA)

EGA-Diagnostik Ergebnis	Methode (und Ergebnis)	n (% von n <sub>ges</sub> =114)
positiv (n=8; 7,0 %)	Methode unbekannt	5 (4,4 %)
	Ap-AK IFT 1:200	1 (0,9 %)
	Ap PCR	1 (0,9 %)
negativ (n=7; 6,1 %)	Methode unbekannt	6 (5,3 %)
	Ap-AK IFT < 1:50	1 (0,9 %)

Sechs Pferde wurden zusätzlich auf Borna-Virus-Antikörper getestet, wobei drei positiv, zwei negativ und ein Pferd grenzwertig positiv getestet wurde mit Titern < 1:10 (entsprechend einem negativen Befund), < 1:40 (entsprechend einem grenzwertig positiven Befund), einmal > 1:600 und zweimal 1:160 (entsprechend einem positiven Befund). Bei zwei Pferden wurde eine Untersuchung auf Babesiose und Piroplasmose eingeleitet, in einem Fall positiv und in einem Fall negativ.

### 4.1.3 Blutbefunde im Rahmen der Studie von Verdachts- und Kontrolltieren

#### 4.1.3.1 Hämatologische Befunde der Verdachts- und Kontrolltiere

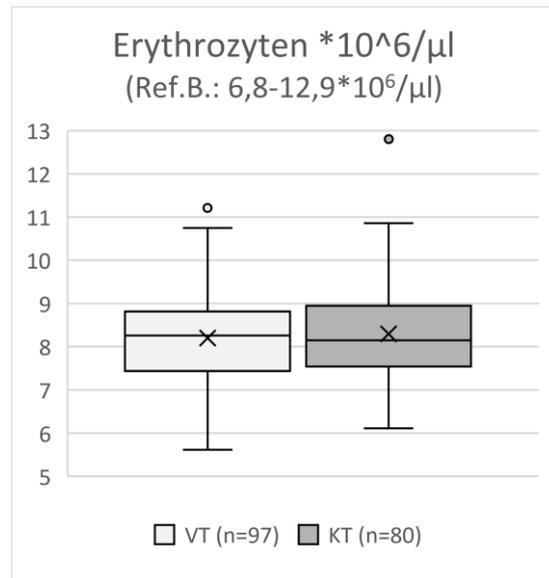
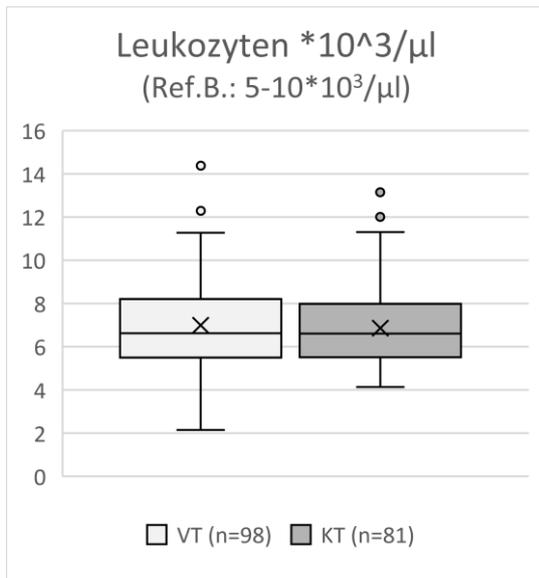
Aufgrund von verschiedenartigen Problemen mit dem Versand und den Transportzeiten der Blutproben und unsachgemäßer Kühlung, konnten 24 (19,5 % von n<sub>ges\_VT</sub>=123) Blutproben bei den Verdachtstieren und 21 (18,6 % von n<sub>ges\_KT</sub>=123) Blutproben bei den Kontrolltieren nicht ausgewertet werden, da sie stark hämolytisch waren. Bei den Verdachtstieren fehlte eine (0,8 %) und bei den Kontrolltieren drei (2,7 %) EDTA-Proben gänzlich.

Die vorhandenen **Blutausstriche** waren bei sämtlichen Tieren, bei denen sie auswertbar waren (n<sub>VT</sub>=98 und n<sub>KT</sub>=89), ohne besonderen Befund: Es konnten insbesondere bei keinem Patienten Morulae als Einschlusskörperchen in den Granulozyten nachgewiesen werden.

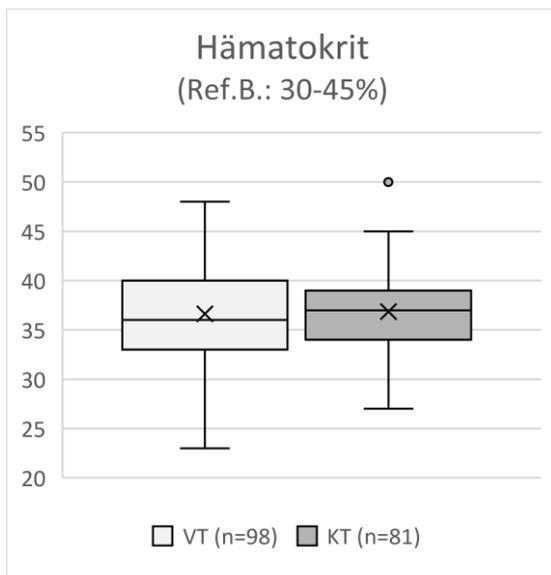
Die Messung der **Leukozyten** ergab durchschnittliche Werte von  $7,0 \pm 2,1 \cdot 10^3/\mu\text{l}$  für die Verdachtstiere und  $6,9 \pm 1,7 \cdot 10^3/\mu\text{l}$  für die Kontrolltiere (Referenzbereich:  $5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ ). Die Messung der **Erythrozyten** ergab durchschnittliche Werte von  $8,2 \pm 1,1 \cdot 10^6/\mu\text{l}$  für die Verdachtstiere und  $8,3 \pm 1,2 \cdot 10^6/\mu\text{l}$  für die Kontrolltiere (Referenzbereich:  $6,8 \cdot 10^6/\mu\text{l}$  bis  $12,9 \cdot 10^6/\mu\text{l}$ ). Der durchschnittlich gemessene **Hämatokrit** lag bei den Verdachtstieren bei  $36,6 \pm 4,9 \%$  und bei den Kontrolltieren bei  $36,9 \pm 4,0 \%$  (Referenzbereich: 30-45 %) (Tabelle 40). In die folgenden Boxplots der vergleichenden Blutbild-Befunde sind keine Daten von doppelten Kontrolltieren (n=8) eingeflossen (Abbildung 37 bis Abbildung 39).

**Tabelle 40:** Deskriptive Statistik der hämatologischen Befunde

	VT (n=98)			KT (n=89)		
	n	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\tilde{x}$ (min, max)	n	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\tilde{x}$ (min, max)
Leukozyten *10 <sup>3</sup> /μl	98	$7,0 \pm 2,1$	6,6 (2,2-14,4)	89	$6,9 \pm 1,7$	6,9 (4,1-13,2)
Erythrozyten *10 <sup>6</sup> /μl	97	$8,2 \pm 1,1$	8,3 (5,6-11,2)	88	$8,3 \pm 1,2$	8,3 (6,1-12,8)
Hämatokrit	98	$36,6 \pm 4,9$	36,0 (23,0-48,0)	89	$36,9 \pm 4,0$	37,0 (27,0-50,0)



**Abbildung 37:** Messung der Leukozyten(\*10<sup>3</sup>/μl) **Abbildung 38:** Messung der Erythrozyten(\*10<sup>6</sup>/μl)

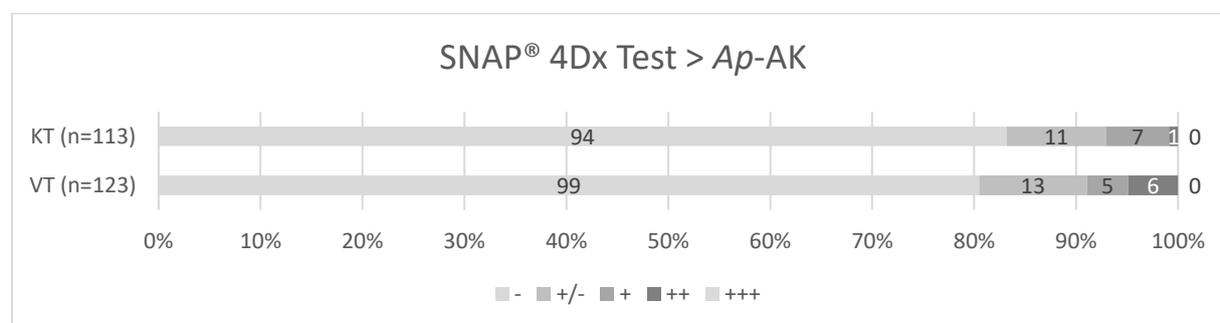


**Abbildung 39:** Messung des Hämatokrits (%)

### 4.1.3.2 Serologische Befunde der Verdachts- und Kontrolltiere

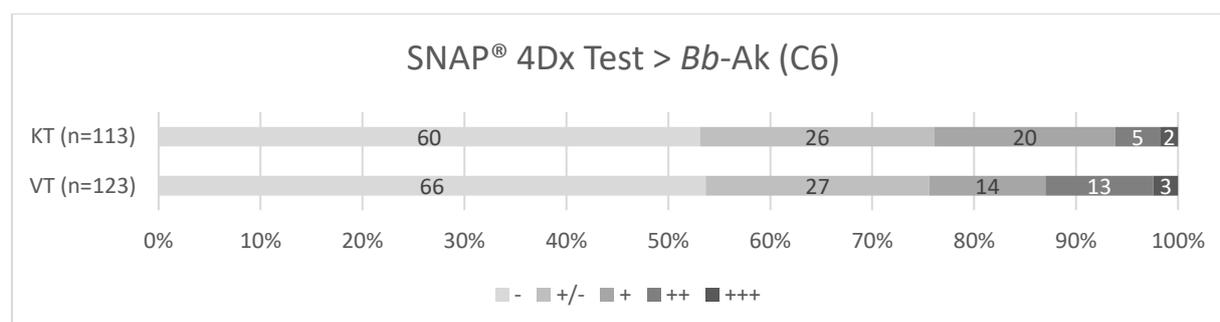
#### 4.1.3.2.1 SNAP® 4Dx Test

Der SNAP® 4Dx Plus® Schnelltest wurde bei den Pferden in der Studie zum semiquantitativen Nachweis von Immunreaktionen gegenüber *Ap* und *Bb* verwendet.



**Abbildung 40:** Snap® 4Dx Test *Ap*-AK (VT & KT), Reaktionsintensität „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“

Ein positiver ***Ap*-AK-Nachweis** lag bei 19,5 % der VT und 16,8 % der KT vor (Abbildung 40).



**Abbildung 41:** Snap® 4Dx Test *Bb*-AK (VT & KT), Reaktionsintensität „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“

Ein positiver C6(*Bb*)-AK-Nachweis lag bei 46,3 % der VT und 46,9 % der KT vor (Abbildung 41).

#### 4.1.3.2.2 Kinetischer ELISA (KELA)

Der verwendete *Borrelia burgdorferi*-IgG-KELA lieferte als Ergebnis KELA-Einheiten für Verdachts- und Kontrolltiere. Diese KELA-Einheiten ergeben sich aus einer computergestützten Umrechnung der optischen Dichte von der Extinktionsmessung, die beim kinetischen ELISA zum Einsatz kommt. Der Mittelwert der KELA-Einheit lag bei den Verdachtstieren bei  $259,2 \pm 154,2$  und bei den Kontrolltieren bei  $254,8 \pm 136,9$  (Tabelle 41).

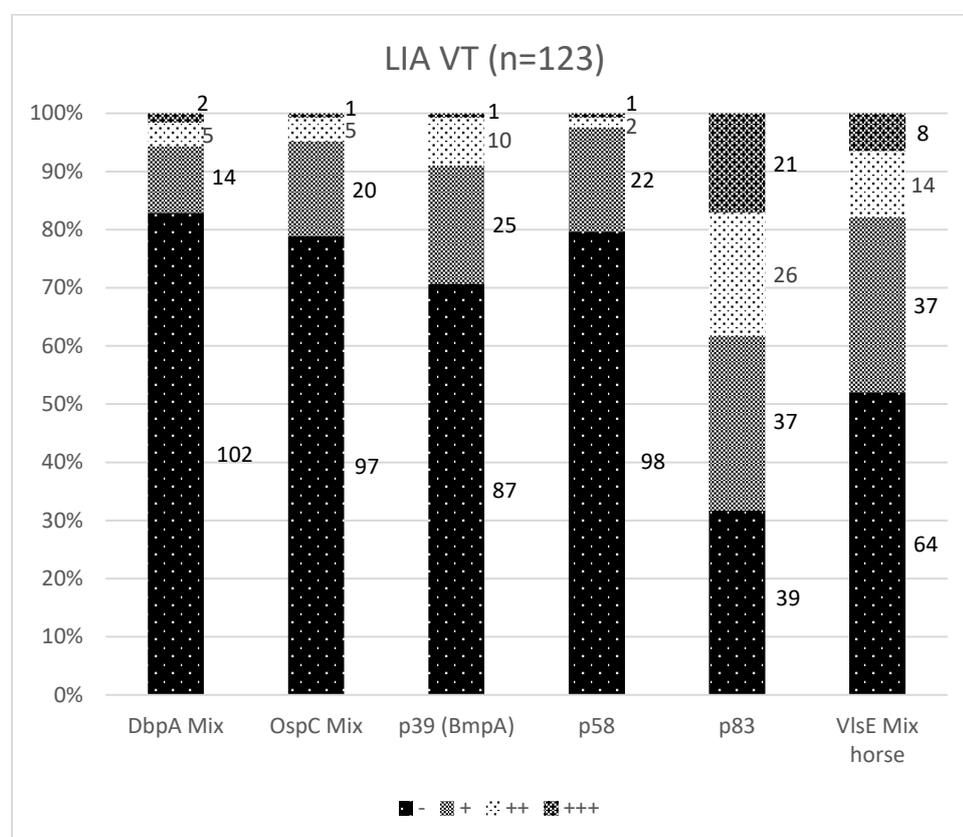
**Tabelle 41:** Deskriptive Statistik KELA-Ergebnisse (VT & KT)

	VT (n=123)		KT (n=113)	
	$\bar{x} \pm SD$	$\tilde{x}$ (min, max)	$\bar{x} \pm SD$	$\tilde{x}$ (min, max)
KELA-Einheit	$259,2 \pm 154,2$	227,6 (17,6-821,7)	$254,8 \pm 136,9$	234,4 (5,5-646,3)

#### 4.1.3.2.3 Line Immunoassay (LIA)

Der in der Studie eingesetzte „*Borrelia* Veterinär plus OspA Line Immunoblot“ wertet Immunreaktionen gegen die rekombinanten Antigene p83, p58, p39 (BmpA), OspA, DbpA-Mix, OspC-Mix und VlsE-Mix horse aus. Die Ergebnisse für die einzelnen Bandenmuster der beprobten Pferdepopulation finden sich in Abbildung 42 (VT) und Abbildung 43 (KT).

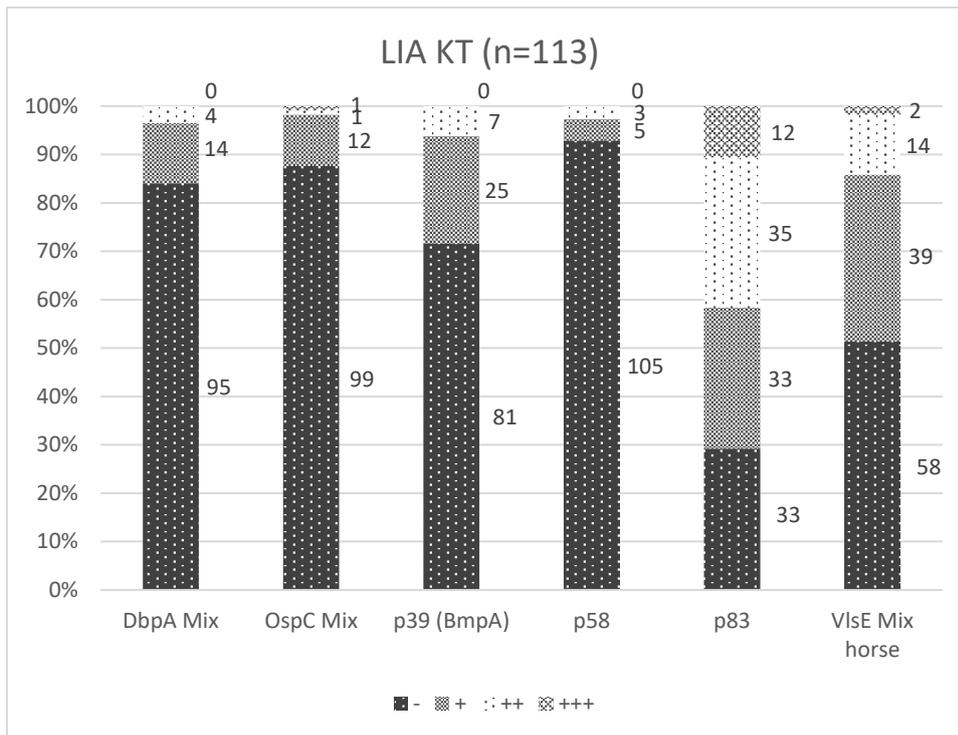
Bei den Verdachtstieren ( $n_{\text{ges}}=123$ ) ergaben sich folgende serologische Befunde: DbpA Mix 83 % ( $n=102$ ) Ag-AK-Reaktion negativ und 17 % ( $n=21$ ) positiv, OspC Mix 79 % negativ ( $n=97$ ) und 21 % positiv ( $n=26$ ), p39 71 % ( $n=87$ ) negativ und 29 % ( $n=36$ ) positiv, p58 80 % ( $n=98$ ) negativ und 20 % ( $n=25$ ) positiv, p83 32 % ( $n=39$ ) negativ und 68 % ( $n=84$ ) positiv, VlsE Mix horse 52 % ( $n=64$ ) negativ und 48 % ( $n=59$ ) positiv (Abbildung 42).



**Abbildung 42:** LIA-Ergebnisse VT, Bandenintensität: „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“

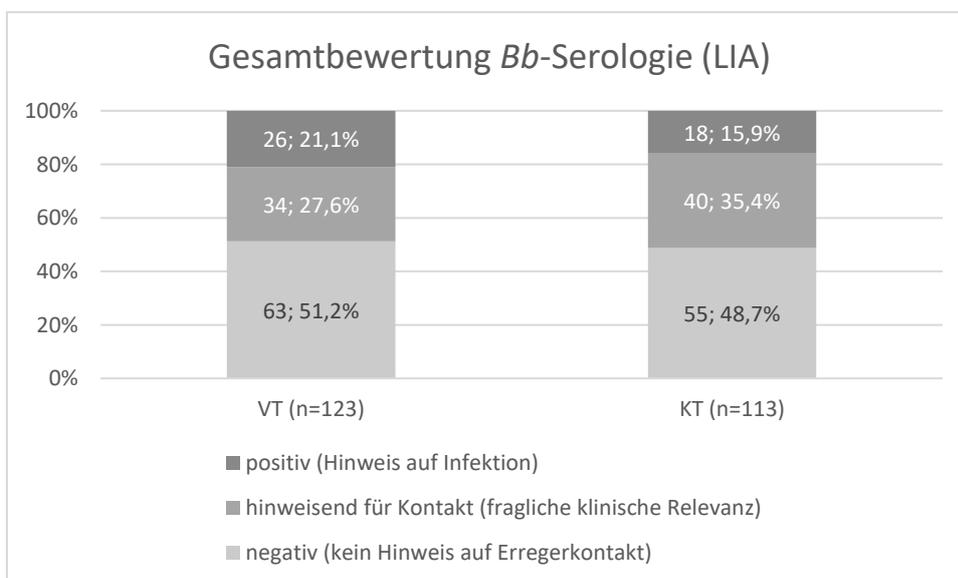
Bei den Kontrolltieren ( $n_{\text{ges}}=113$ ) ergaben sich folgende serologische Befunde: DbpA Mix 84 % ( $n=95$ ) Ag-AK-Reaktion negativ und 16 % ( $n=18$ ) positiv, OspC Mix 88 % negativ ( $n=99$ ) und 12 % positiv ( $n=14$ ), p39 72 % ( $n=81$ ) negativ und 28 % ( $n=32$ ) positiv, p58 93 % ( $n=105$ ) negativ und 7 % ( $n=8$ ) positiv, p83 29 % ( $n=33$ ) negativ und 71 % ( $n=80$ ) positiv, VlsE Mix horse 51 % ( $n=58$ ) negativ und 49 % ( $n=55$ ) positiv (Abbildung 43).

35 der 123 Verdachts- und 32 der 113 Kontrolltieren wurden auf **OspA-Antikörper** im LIA untersucht. Dabei gab es zwei „+++“-Bewertungen bei den VT (5,7 %) und zwei „+“-Bewertungen bei den KT (6,3 %). Diese Tiere waren allesamt gegen *Bb* geimpft.



**Abbildung 43:** LIA-Ergebnisse KT, Bandenintensität: „-“, = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“

Auf Basis des LIA wurde eine **Gesamtbewertung** des serologischen *Bb*-Ergebnisses erstellt. 118 (50 %, von  $n_{\text{ges}}=236$ ) der gesamten untersuchten Blutproben (VT & KT) wurden mit dem Befund „kein Hinweis auf Erregerkontakt“ (negativ) bewertet, 74 (31,4 %) mit dem Befund „hinweisend auf Erregerkontakt“ (grenzwertig) und 44 (18,6 %) mit dem Befund „Hinweis auf Infektion“ (positiv). Aufgeteilt nach Verdachts- und Kontrolltieren zeigte sich folgendes Ergebnis: 51 % ( $n=63$ ) der VT und 49 % ( $n=55$ ) der KT wurden negativ, 28 % ( $n=34$ ) der VT und 35 % ( $n=40$ ) der KT wurden grenzwertig und 21 % ( $n=26$ ) der VT und 16 % ( $n=18$ ) der KT wurden positiv auf *Bbsl*-AK getestet (Abbildung 44).



**Abbildung 44:** Gesamtbewertung *Bb*-Serologie (VT & KT)

#### 4.1.3.2.4 Koinfektionen

Ein Hinweis auf Koinfektion mit *Bb* und *Ap* lag bei sieben (5,7 %) der VT (n=123) und zwei (1,8 %) der KT (n=113) vor.

#### 4.1.3.2.5 Topografische Einordnung der Befunde der *Bb*-Serologie

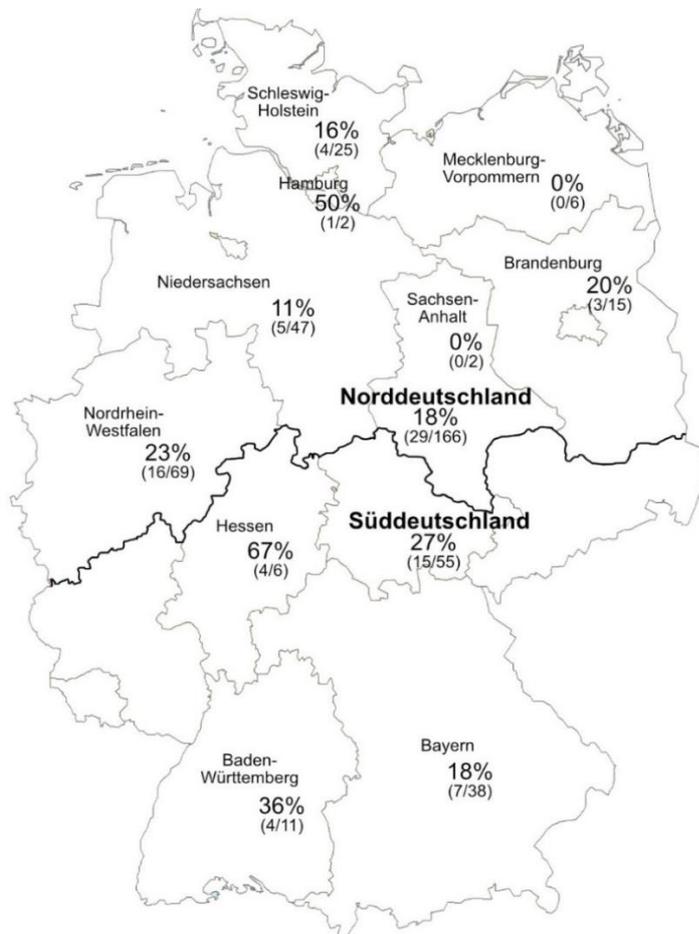
Ausgehend von den Besitzerangaben zum Standort des Stalles der beprobten Pferde, wurden die Befunde der *Bb*-Serodiagnostik in Tabelle 42 aufgelistet mit dem Ziel, die im Rahmen der Studie ermittelten *Bb*-Seroprävalenzen für die einzelnen Bundesländer und Regionen (Nord- und Süddeutschland) zu präsentieren. Die *Bb*-Seroprävalenz der Verdachtstiergruppe ( $n_{\text{ges}}=114$ ) aus Süddeutschland lag bei 39 % (n=11) und der Kontrolltiergruppe ( $n_{\text{ges}}=107$ ) bei 15 % (n=4 *Bb*-AK-positive Tiere). In Norddeutschland lag die *Bb*-Seroprävalenz der Verdachtstiere bei 17 % (n=15) und der Kontrolltiere bei 18 % (n=14) (Tabelle 42).

**Tabelle 42:** Topografische Einordnung der Befunde der *Bb*-Serodiagnostik (VT + KT)

Region	Bundesland	VT (n=114)			KT (n=107)		
		negativ	fraglich	positiv	negativ	fraglich	positiv
Süd- deutsch- land	BW	2 (33,3)	1 (16,7)	3 (50,0)	4 (80,0)	0 (0,0)	1 (20,0)
	BY	8 (42,1)	5 (26,3)	6 (31,6)	8 (42,1)	10 (52,6)	1 (5,3)
	HE	1 (33,3)	0 (0,0)	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0,0)	2 (66,7)
	<b>Gesamt</b>	<b>11 (39,3)</b>	<b>6 (21,4)</b>	<b>11 (39,3)</b>	<b>13 (48,1)</b>	<b>10 (37,0)</b>	<b>4 (14,8)</b>
Nord- deutsch- land	BB	4 (50,0)	3 (37,5)	1 (12,5)	2 (28,6)	3 (42,9)	2 (28,6)
	HH	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	MV	1 (33,3)	2 (66,7)	0 (0,0)	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0,0)
	NI	17 (70,8)	3 (12,5)	4 (16,7)	10 (43,5)	12 (52,2)	1 (4,3)
	NRW	14 (38,9)	15 (41,7)	7 (19,4)	18 (54,5)	6 (18,2)	9 (27,3)
	SH	8 (61,5)	3 (23,1)	2 (15,4)	5 (41,7)	5 (41,7)	2 (16,7)
	ST	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
<b>Gesamt</b>	<b>45 (52,3)</b>	<b>26 (30,2)</b>	<b>15 (17,4)</b>	<b>38 (47,5)</b>	<b>28 (35,0)</b>	<b>14 (17,5)</b>	

BW = Baden-Württemberg, BY = Bayern, HE = Hessen, BB = Brandenburg, HH = Hamburg, MV = Mecklenburg-Vorpommern, NI = Niedersachsen, NRW = Nordrhein-Westfalen, SH = Schleswig-Holstein, ST = Sachsen-Anhalt  
(Prozentwerte in Klammern)

Fasst man die Befunde der gesamten teilnehmenden Pferdepopulation mit Angaben zum Standort des Stalles zusammen ( $n_{\text{ges}}=221$ ), so lässt sich eine *Bb*-Seroprävalenz von 27 % (n=15 von  $n_{\text{Süd}}=55$ ) für Süddeutschland und von 18 % (n=29 von  $n_{\text{Nord}}=166$ ) für Norddeutschland ableiten. Die Bundesländer mit den höchsten *Bb*-Seroprävalenzen waren Hessen (67 %), Hamburg (50 %) und Baden-Württemberg (36 %) und die Bundesländer mit den niedrigsten *Bb*-Seroprävalenzen Mecklenburg-Vorpommern (0 %), Sachsen-Anhalt (0 %) und Niedersachsen (11 %) (Abbildung 45).



**Abbildung 45:** Prozentualer Anteil (%) seropositiver Fälle unserer Studie mit Anzahl der positiv beprobten Probanden und Gesamtanzahl der im Bundesland beprobten Pferde (n/n), VT + KT (n=221)

## 4.2 Explorative Statistik

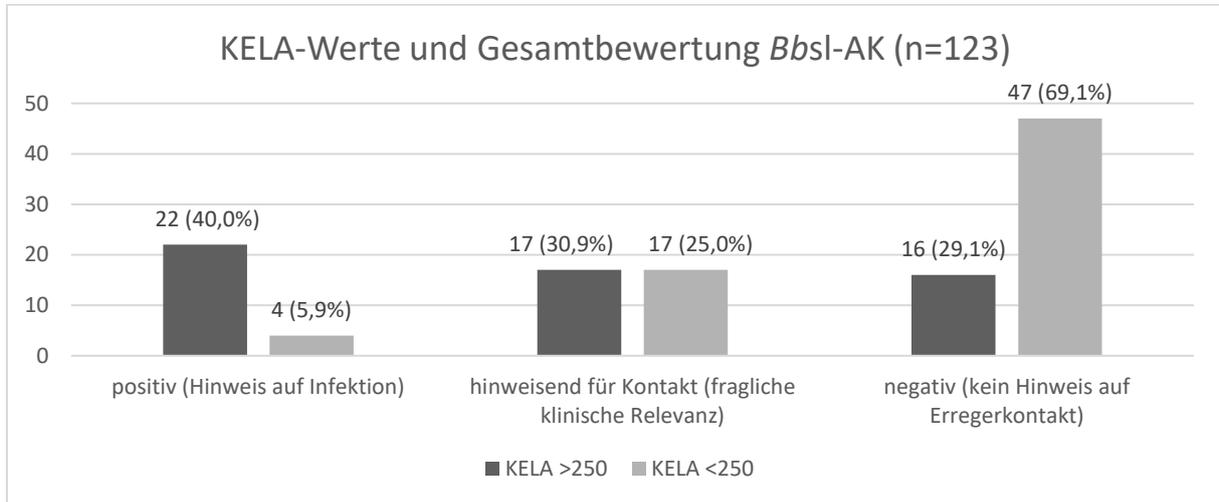
### 4.2.1 Validität der eingesetzten serologischen Untersuchungsmethoden

Zur internen Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse fand bei drei der teilnehmenden Patienten eine zweite Untersuchung der Blutproben statt. Diese bestätigten die Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchungen. Darüber hinaus wurden verschiedene statistische Tests zur Überprüfung der Validität und besseren Einschätzbarkeit der serologischen Untersuchungsmethoden durchgeführt.

Während sich die Gesamtbewertung der *Bbsl*-Serologie vor allem an den Befunden des LIA orientiert, der primär qualitative oder maximal semiquantitative Ergebnisse liefert, bietet der KELA eine indirekte Möglichkeit zur Quantifizierung vorhandener Antikörper. Für das Pferd ist kein Cut-off-Wert festgelegt.

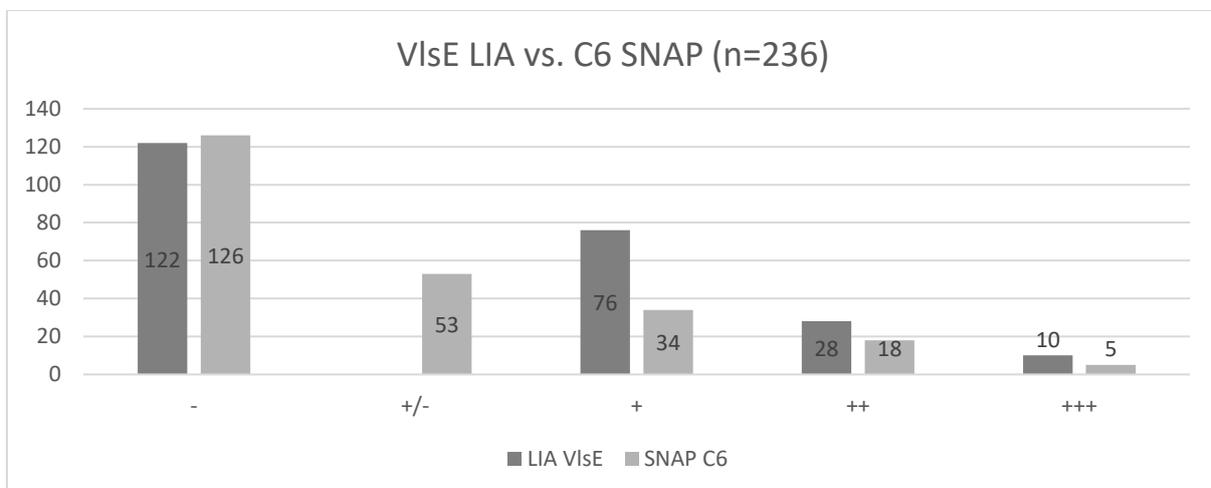
Deshalb wurde ein etwa durchschnittlicher KELA-Wert von 250 zur Unterteilung der Gruppen verwendet, um eine Überprüfung der KELA-Testergebnisse vorzunehmen. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Bewertungsgruppen „positiv“, „grenzwertig“ und

„negativ“ konnte festgestellt werden ( $p=0,000$ ) und es wurden höhere KELA-Werte ( $> 250$ ) in der Gruppe der *Bb*-seropositiven (40,0 % hatten KELA-Werte  $> 250$ ) als in der Gruppe der grenzwertig *Bb*-AK-positiven (30,9 % KELA  $> 250$ ) und wiederum der Gruppe der *Bb*-seronegativen (29,1 % KELA  $> 250$ ) detektiert (Abbildung 46).



**Abbildung 46:** KELA-Werte eingeteilt in zwei Gruppen (KELA  $\geq 250$  vs. KELA  $< 250$ ) und Gesamtbewertung Serologie *Bbsl* (VT) (Prozentwerte für Verteilung innerhalb der beiden Gruppen in Klammern)

Das im SNAP® 4Dx verwendete C6-Peptid ist ein Teil des VlsE-Antigens, das im LIA verwendet wird. Zur Überprüfung der Übereinstimmung der Ergebnisse (Plausibilitätsprüfung) wurden die Studienbefunde dieser beiden Einzelantigene gegenübergestellt. Hierfür wurden alle in die Studie eingegangenen Proben herangezogen ( $n_{\text{ges}}=236$ ). Eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse konnte dargestellt werden: 52 % ( $n=122$ ) wurden im LIA negativ auf VlsE-AK gescreent und 53 % ( $n=126$ ) im SNAP® 4Dx und bei den positiven Befunden waren sogar die semiquantitativen Abstufungen relativ gut vergleichbar (Abbildung 47).



**Abbildung 47:** Vergleich der Befunde des VlsE im LIA und C6 im Snap® 4Dx Test

Vergleicht man die Ergebnisse des SNAP® 4Dx mit der Gesamtbewertung der serologischen Befunde ausgehend vom LIA, so sieht man, dass der Schnelltest 23 richtig- und 34 falsch-positive Ergebnisse lieferte. Das heißt, die Sensitivität lag bei 88,5 %, wobei nur 40 % der Positiven auch in der Gesamtbewertung *Bb*-seropositiv waren (Tabelle 43).

**Tabelle 43:** Ergebnisse des SNAP® 4Dx im Vergleich mit den Ergebnissen des LIA bei der VT-Population

SNAP® 4Dx	<i>Bbsl</i> -AK-Gesamtbewertung		GESAMT
	grenzwertig/negativ	positiv	
negativ	63 (64,9 %)	3 (11,5 %)	66 (53,7 %)
positiv	34 (35,1 %)	23 (88,5 %)	57 (46,3 %)
GESAMT	97 (100 %)	26 (100 %)	123 (100 %)

#### 4.2.2 Vergleich der serologischen Befunde der Verdachts- und Kontrolltiere

Pferde, die mit Antibiose vorbehandelt wurden ( $n=45$  von  $n_{\text{ges}}=111$ ), wurden isoliert als eigene Gruppe vor der weiteren Analyse betrachtet (Tabelle 44). Da kein statistisch signifikanter Gruppenunterschied zwischen der vorbehandelten Gruppe und der nicht vorbehandelten Gruppe gefunden wurde ( $p=0,797$ ), wurde die Gruppe der vorbehandelten Tiere im Weiteren nicht separat betrachtet.

**Tabelle 44:** Antibiotische Vorbehandlung und beobachtete serologische Befunde (*Bb*)

Behandlung Antibiotika ↓	$n_{\text{ges}} = 111$	<i>Bb</i> -	<i>Bb</i> +/-	<i>Bb</i> +
Nein	66	31 (27,9 %)	18 (16,2 %)	17 (15,3 %)
Ja	45	23 (20,7 %)	13 (11,7 %)	9 (8,1 %)

Vergleicht man die serologischen Befunde bei der Gruppe der Verdachts- und der Kontrolltiere, so können keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden, das heißt die Kontrolltiere hatten einen von den Fällen kaum zu unterscheidenden Serostatus. Fall-Kontrolltier-Kombinationen, bei denen Kontrolltiere zum zweiten Mal verwendet wurden („doppelte Kontrolltiere“) sind, wie eingangs aufgeschlüsselt, ausgenommen, wodurch sich eine Gesamtanzahl an 107 Fall-Kontrolltier-Paaren ergibt (Tabelle 45).

Fast die Hälfte der Tiere war *Bb*-seronegativ (VT: 49,1 %,  $n=56$ ; KT: 47,7 %,  $n=51$ ), bei den Verdachtstieren waren allerdings 22,8 % ( $n=26$ ) *Bb*-seropositiv, während es bei den Kontrolltieren nur 16,8 % ( $n=18$ ) waren. Beim Rest wurden lediglich Hinweise auf Erregerkontakt gefunden, deren klinische Relevanz fraglich ist (VT: 28,1 %,  $n=32$ ; KT: 35,5 %,  $n=38$ ). Die Zahl der *Ap*-seropositiven Tiere (VT: 20,2 %,  $n=32$ ; KT: 15,9 %,  $n=17$ ) und der Tiere mit Hinweis auf Koinfektion (VT: 6,1 %,  $n=7$ ; KT: 1,9 %,  $n=2$ ) war in der Verdachtstierpopulation ebenfalls höher als in der Kontrolltierpopulation, wenn auch nicht in dem Maße, dass statistisch signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden konnten (Tabelle 45).

**Tabelle 45:** Serologische Befunde (*Bb*, *Ap*, Koinfektion) bei VT & KT im Vergleich

	<i>Bb</i>			<i>p</i> ( <i>Chi2</i> )
	-	+/-	+	
VT (n = 114)	56 (49,1 %)	32 (28,1 %)	26 (22,8 %)	0,371
KT (n = 107)	51 (47,7 %)	38 (35,5 %)	18 (16,8 %)	

	<i>Ap</i>		<i>p</i> ( <i>Chi2</i> )	Koinfektion		<i>p</i> ( <i>Chi2</i> )
	-	+		-	+	
VT (n = 114)	91 (79,8 %)	23 (20,2 %)	0,408	107 (93,9 %)	7 (6,1 %)	0,108
KT (n = 107)	90 (84,1 %)	17 (15,9 %)		105 (98,1 %)	2 (1,9 %)	

In Tabelle 46 sind die paarweisen Befunde gegeneinander aufgetragen. Der Serostatus der Probanden war eher vom Serostatus der Partnertiere beeinflusst als von der Fall-Kontroll-Einteilung (also der vorliegenden Symptomatik). 39,3 % (n=42) der teilnehmenden Pferde mit LB-Verdacht hatten denselben Serostatus wie die als Kontrollen dienenden Partnertiere. Die Konstellation VT positiv und KT negativ bzw. VT negativ und KT positiv kam nur in 17,8 % (n=19) der Fälle vor. Der Rest der Probanden (n=46; 43,0 %) hatte einen *Bb*-Serostatus, der nur um eine Abstufung voneinander abwich, was bedeutet, dass beispielsweise beim VT ein positiver und beim KT ein grenzwertiger *Bb*-Serostatus vorlag (Tabelle 46).

**Tabelle 46:** Serologische Befunde (*Bb*) Verdachts- & Kontrolltiere im Vergleich

<i>Bb</i> -AK-Befund*	KT (n=107)				
	+	+/-	-	Σ	
VT (n=107)	+	6	8	12	<b>26</b>
	+/-	5	11	14	<b>30</b>
	-	7	19	25	<b>51</b>
	Σ	<b>18</b>	<b>38</b>	<b>51</b>	<b>107</b>

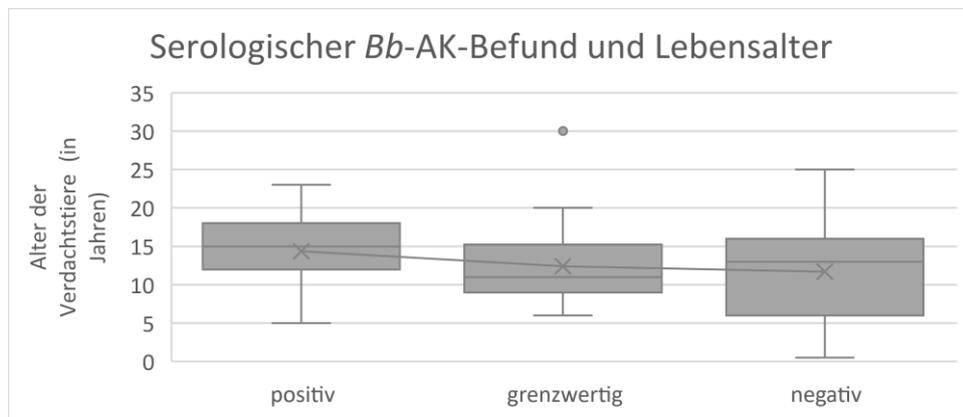
\* *Bb* + = positiver serologischer Befund, Hinweis auf Infektion;  
*Bb* +/- = grenzwertiger serologischer Befund, fragliche klinische Relevanz;  
*Bb* - = negativer serologischer Befund, kein Hinweis auf Erregerkontakt.

#### 4.2.3 Signalement und Herkunft der Verdachts- und Kontrolltiere

Die Frage, inwiefern Alter, Rasse oder Geschlecht, die Herkunft des Pferdes und die Fellfarbe eine Prädisposition für eine Infektion mit Borrelien, Anaplasmen oder gar beide Erreger darstellt, wurde mittels Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test untersucht und, sofern möglich, die Odds Ratio angegeben.

**Verdachtstiere** (Tabelle 81 im Tabellenband): Ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied wurde für die Altersklassen bei den *Bb*-Befunden in drei Klassen gefunden ( $p=0,011$ ). Die Altersverteilung der Verdachtstiere wurde deshalb genauer betrachtet (Abbildung 48). Bei negativem *Bbsl*-Befund lag das mediane Alter bei 13 Jahren (1-25 Jahre), bei grenzwertigem Befund bei 11 Jahren (6-30 Jahre) und bei positivem Befund bei 15 Jahren (5-23 Jahre). Jungpferde waren deutlich seltener *Bb*-seropositiv und deutlich häufiger *Bb*-seronegativ als der Durchschnitt der beprobten Population. Mit zunehmendem

Alter nahm die Häufigkeit positiver *Bb*-AK-Nachweise zu (Abbildung 48). Vergleichbare Beobachtungen konnten auch bei den *Ap*-AK-Nachweisen gemacht werden (Tabelle 81 im Tabellenband).



**Abbildung 48:** Serologischer *Bb*-AK-Befund und Lebensalter der Verdachtstiere (n=113) (einfaktorielle ANOVA,  $p=0,172$ )

Neben den Unterschieden in den Altersklassen konnte ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied für die Regionen Nord- und Süddeutschland für *Bb*-Befunde ( $p=0,022$ ) und Koinfektions-Befunde ( $p=0,001$ ) dargestellt werden. Die Chance für einen positiven *Bb*-AK-Nachweis ist in Süddeutschland 3,1-mal (1,195-7,848) so hoch wie in Norddeutschland und die Chance für den Nachweis von Antikörpern gegen *Bb* und *Ap* (Koinfektion) 23,2-mal (2,651-202,687) so hoch. Für Geschlecht, Altersklasse, Rassegruppe, Herkunft aus den verschiedenen Regionen und Fellfarbe wurden keine statistisch signifikante Gruppenunterschiede im Hinblick auf die serologischen Befunde gefunden (Tabelle 81 im Tabellenband).

**Kontrolltiere** (Tabelle 82 im Tabellenband): Die bei den Verdachtstieren vorliegenden statistisch signifikanten Gruppenunterschiede konnten bei der Gruppe der Kontrolltiere nicht nachgewiesen werden, wobei bei letzterer ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied für die einzelnen Bundesländer bei den *Bb*-Befunden in drei Klassen gefunden wurden ( $p=0,047$ ). Für Geschlecht, Altersklasse, Rassegruppe, Herkunft aus den verschiedenen Regionen und Fellfarbe wurden keine statistisch signifikante Gruppenunterschiede im Hinblick auf die serologischen Befunde gefunden.

#### 4.2.4 Prophylaxemaßnahmen

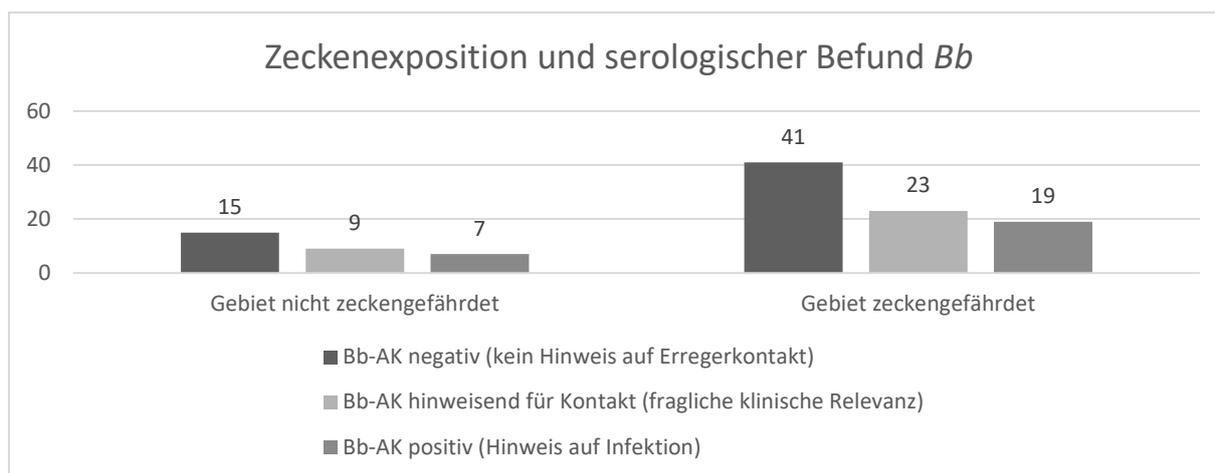
Pferde, die regelmäßig gegen Tetanus und/oder Influenza geimpft wurden, wurden eher auch gegen LB geimpft ( $p = 0,053$ ). Eine positive Korrelation zwischen einem generell guten Impf- und Entwurmungsmanagement und dem prophylaktischen Einsatz von Repellentien konnte nicht festgestellt werden ( $p = 0,093$ ).

#### 4.2.5 Zeckenexposition

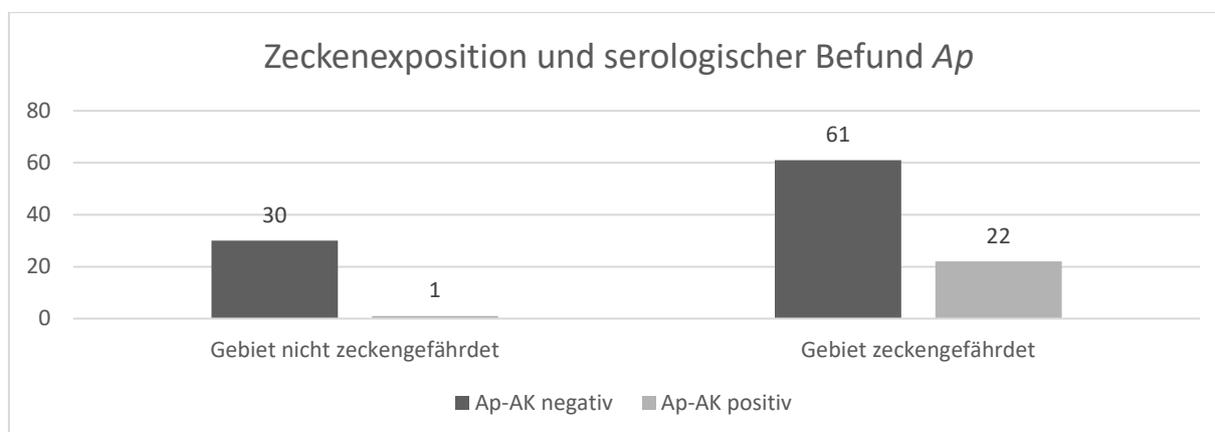
Es wurde genauer untersucht, inwiefern regionale Unterschiede beim Auftreten des Zeckenbefalls zu beobachten waren. In Süddeutschland hatten nur drei Patientenbesitzer keine Zecken bei ihren Pferden beobachtet, während es in Norddeutschland 17 Patientenbesitzer waren. Zeckenfunde gab es dagegen bei 24 Pferden in Süddeutschland und bei 61 Pferden in Norddeutschland. Aufgrund der unterschiedlichen Verteilung der Patienten über die Bundesrepublik mit 27 Pferden mit Angaben zur Zeckenexposition in Süddeutschland und 78 in Norddeutschland, kann aber von keiner regionalen Häufung gesprochen werden ( $p=0,223$ ).

In unserer Studie wurden in Norddeutschland die ersten Zecken früher entdeckt, nämlich im Januar ( $n=1$ ), während in Süddeutschland die ersten Zecken im März ( $n=2$ ) beobachtet wurden. Die letzten Zecken des Jahres sahen die Norddeutschen im Dezember ( $n=2$ ), wodurch sich eine längere, quasi ganzjährige Zeckensaison in Norddeutschland ergibt. In Süddeutschland war der letzte Zeckenfund des Jahres im Oktober ( $n=1$ ) zu verzeichnen. Die individuelle Zeitspanne der Zeckenexposition hatte ein Maximum von neun Monaten in Norddeutschland ( $n=2$ ) und sechs Monaten in Süddeutschland ( $n=2$ ).

Die Frage nach der Einschätzung des Besitzers, inwiefern das Pferd in einem zeckengefährdeten Gebiet stünde (Definition s.o.), wurde erneut aufgegriffen, um darüber das Risiko für einen positiven serologischen *Bb*- oder *Ap*-AK-Befund einzuschätzen. Die Befunde sind in Abbildung 49 und Abbildung 50 gegen die Gefahr einer Zeckenexposition aufgetragen. Hinsichtlich einer *Bb*-Exposition (Abbildung 49) konnten keine Gruppenunterschiede festgestellt werden ( $p=0,999$ ), hinsichtlich der *Ap*-Exposition (Abbildung 50) dagegen schon ( $p=0,007$ ). Bei Pferden, die in einem zeckengefährdeten Gebiet gehalten werden, war die Chance 10,8-mal so hoch einen positiven *Ap*-AK-Befund zu haben als bei Pferden, die in nicht-zeckengefährdeten Gebieten gehalten wurden (OR=10,82 (95%-KI: 1,39-84,14)).



**Abbildung 49:** Einschätzung der Haltung hinsichtlich der Zeckenexposition und Ergebnis der serologischen Untersuchung (*Bb*)



**Abbildung 50:** Einschätzung der Haltung hinsichtlich der Zeckenexposition und Ergebnis der serologischen Untersuchung (*Ap*)

Weitere mögliche Risikofaktoren für einen positiven Zeckenfund wurden statistisch untersucht. Es konnten keine statistisch signifikanten Gruppenunterschiede für die Faktoren Fellfarbe, Weidegang und Geländennutzung festgestellt werden. Bei der Fellfarbe ist auffällig, dass 100 % der Schimmel einen positiven Zeckenfund hatten, während es bei den Rappen und Schecken nur 74 % bzw. 71 % waren, dennoch waren diese Befunde ohne statistische Signifikanz (Tabelle 47).

**Tabelle 47:** Risikofaktoren für Zeckenexposition

Risikofaktor	n <sub>ges</sub>	Zeckenfund		p-Werte		
		JA	NEIN			
		n	(%)	n	(%)	
<b>Gesamt</b>	<b>114</b>	<b>94</b>	<b>(82,5)</b>	<b>20</b>	<b>(17,5)</b>	-
<b>Fellfarbe</b>	<b>112</b>					0,175
Schimmel	15	15	(13,4)	0	(0,0)	
Rappe/Dunkelbraun	23	17	(15,2)	6	(5,4)	
Brauner/Fuchs/Falbe	64	53	(47,3)	11	(9,8)	
Schecke	7	5	(4,5)	2	(1,8)	
Sonstige	3	3	(2,7)	0	(0,0)	

Weidegang	<b>112</b>				0,696
ganztags	32	28	(25,0)	4	(3,6)
halbtags	50	41	(36,6)	9	(8,0)
0-12h	28	21	(18,8)	7	(6,3)
kein Weidegang	2	2	(1,8)	0	(0,0)
Geländenutzung	<b>114</b>				0,999
Bewegung im Gelände	90	74	(64,9)	16	(17,5)
keine Ausritte	24	20	(14,0)	4	(3,5)

(p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test; OR = Odds Ratio (95% Konfidenzintervall in Klammern))

#### 4.2.6 Einschätzung der Risikofaktoren (Verdachtstiere) hinsichtlich einer Infektion mit *Bbsl*, *Ap* und Koinfektion mit beiden Erregern

Verschiedene potenzielle Risikofaktoren, wie die Nutzung des Pferdes (inklusive Geländenutzung), Weidegang des Pferdes, Jahreszeit (bei Probennahme), Zeckenfunde und Repellentieneinsatz und Einsatz der LB-Impfung wurden eingehender mittels Chi-Quadrat-Test beziehungsweise Exaktem Fisher-Test untersucht und, sofern möglich, die Odds Ratio angegeben (Tabelle 83 im Tabellenband). Die verschiedenen Nutzungsarten, inklusive der Geländenutzung, die Jahreszeit bei Probeneingang, den Weidezugang und die gefundene Zeckenzahl wurden nicht als Risikofaktoren identifiziert. Einzig der fehlende Repellentieneinsatz war mit einer höheren 2,7-mal (1,068-6,999) höheren Chance für einen positiven *Ap*-AK-Nachweis assoziiert.

#### 4.2.7 Eingeleitete diagnostische Maßnahmen vor Studienteilnahme

Der Befund der *Bbsl*-Vorabdiagnostik (n=43) wurde mit dem *Bbsl*-Studienbefund verglichen (Tabelle 48). Eine Übereinstimmung der Befunde (in der Tabelle grau hinterlegt) lag in 18,6 % der Fälle vor: Fünf Pferde, die im Vorfeld bereits positiv getestet worden waren, wurden erneut positiv befundet, 12 nur grenzwertig und 16 negativ. Bei zwei Pferden bestätigte sich der grenzwertige Befund, während zwei Pferde bei grenzwertigem Befund in der Vorabdiagnostik in unserer Studie einen positiven Befund erhielten und vier Pferde in unserer Studie negativ befundet wurden. Ein Pferd, das bereits vorab negativ getestet wurde, wurde erneut negativ getestet und eines grenzwertig.

**Tabelle 48:** Vergleich Studienbefund und Befund Vorabdiagnostik (*Bb*)

		Ergebnis in der Studie		
		positiv	grenzwertig	negativ
Ergebnis Vorabdiagnostik	positiv*	5*	12*	16*
	grenzwertig	2	2	4
	negativ	0	1	1

Bei den in der Vorabdiagnostik positiv getesteten Probanden (in Tabelle 48 mit \* markiert), wurden die KELA-Werte unserer Untersuchung für die Gruppe der in unserer Studie im Gesamtbefund seropositiv (n+=5, Gruppe 1) und grenzwertig (n=12) bzw. seronegativ (n=16)

getesteten Probanden ( $n_{+/- \text{ bzw. } -} = 28$ , Gruppe 2) untersucht, da der KELA-Wert eng mit der Höhe des vorhandenen AK-Titers korreliert. Der Median der KELA-Werte der Gruppe 1 (*Bb*-seropositiv) lag mit 362,9 deutlich höher als bei Gruppe 2 (*Bb*-seronegativ bzw. grenzwertig) mit 171,3, was bedeutet, dass die Probanden, bei denen sich der positive Testbefund der Vorabdiagnostik durch unsere Untersuchungen reproduzieren ließ, im Median auch einen höheren Antikörper-Titer hatten (Tabelle 49).

**Tabelle 49:** Vergleich der KELA-Werte vorab positiv getesteter Probanden, unterteilt nach zwei Gruppen hinsichtlich der aktuellen Studienbefunde (*Bb*)

Studienbefund→	<i>Bb</i> + (Gruppe 1; n=5)	<i>Bb</i> - & <i>Bb</i> +/- (Gruppe 2; n=28)
KELA Mittelwert	371,5	214,4
KELA Median	362,9	171,3
KELA Spannweite	424,7	708,4
KELA Minimum	199,1	21,5
KELA Maximum	623,8	729,9

In der Vorabdiagnostik wurden verschiedene Möglichkeiten des Erreger- und Infektionsnachweises zur *Bbsl*-Diagnostik eingesetzt: indirekte und direkte Erregernachweise. Angaben hierzu konnten sowohl von den Patientenbesitzern als auch den Tierärzten gemacht werden. In der folgenden Tabelle wird die Art der Vorabdiagnostik der Chronizität der Erkrankung gegenübergestellt, um näher zu beleuchten, inwiefern die Dauer der Erkrankung mit Umfang der durchgeführten Untersuchungsmethoden korrelierte (Tabelle 50). Die Chronizität der Erkrankung hatte laut unseren Erhebungen aber keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die eingesetzten Erregernachweisverfahren ( $p = 0,787$ ). Am häufigsten (84 % der Fälle) wurden Antikörper-Nachweise eingesetzt ( $n_{AK}=41$ ). In der Akutgruppe ( $n_{akut}=15$ ) wurden 87 % ( $n=13$ ) über AK-Nachweis und 13 % ( $n=2$ ) über direkten Erregernachweis abgeklärt. In der Gruppe der chronisch erkrankten Pferde ( $n_{chronisch}=34$ ) wurden 82 % ( $n=28$ ) über AK-Nachweis, 15 % ( $n=5$ ) über direkten Erregernachweis und 3 % ( $n=1$ ) über eine Kombination beider Verfahren abgeklärt.

**Tabelle 50:** Art der Vorabdiagnostik in Bezug auf die Chronizität der Erkrankung (PB / TA) ( $p = 0,787$ )

<i>Bb</i> -Vorabdiagnostik	AK-Nachweis	direkter Erregernachweis	AK- & dir. Erregernachweis
<b>Gesamt</b>	<b>41</b>	<b>7</b>	<b>1</b>
akut ( $n=15$ )	13	2	0
chronisch ( $n=34$ )	28	5	1

#### 4.2.8 Explorative Analyse der hämatologischen Befunde

In unserer Studie wurden im Rahmen der Hämatologie der Hämatokrit und die Zahl der Erythrozyten und Leukozyten erfasst. Teilweise lagen aber weitere Blutwerte der Probanden vor, die im Vorfeld der Studie erhoben worden waren. Tabelle 77 und Tabelle 78 im Tabellenband stellen diese Befunde in Bezug auf die Serologiebefunde von Vorab- und Studiendiagnostik dar. Einzig für den Befund „Lymphozytopenie“ ( $n=7$  von  $n_{ges}=65$ ) konnten

statistisch signifikante Gruppenunterschiede ( $p=0,037$ ) herausgearbeitet werden. Ein positiver *Bbsl*-AK-Nachweis in unserer Studie war bei einer in der Vorabdiagnostik nachgewiesenen Lymphozytopenie häufiger als erwartet vorhanden ( $n=4$  anstelle von  $n_{\text{erwartet}}=1,5$ ), während ein negativer ( $n=3$ ) oder grenzwertiger Befund ( $n=0$ ) seltener vorkamen als erwartet (Tabelle 78).

Die folgenden Tabellen (Tabelle 51 und Tabelle 52) liefern einen Überblick über die hämatologischen Befunde, die im Rahmen der Studie bei Fall- und Kontrolltieren erhoben wurden, und zwar gruppenweise vergleichend für die in der Studie erhobenen serologischen Befunde der *Bbsl*-Diagnostik. Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, weder für die Verdachts- noch die Kontrolltiergruppe, erhoben werden.

**Tabelle 51:** Deskriptive Statistik der hämatologischen Befunde, gruppenweiser Vergleich (VT)

Bb-Befund	VT (n=91)								
	Hämatokrit			Erythrozyten			Leukozyten		
	Median (n)	Bereich	↑/↓	Median (n)	Bereich	↑/↓	Median (n)	Bereich	↑/↓
negativ	36 (48)	28-47	3/2	8,3 (48)	5,6-11,2	0/6	6,4 (48)	3,8-11,3	5/6
grenzwertig	36 (25)	28-46	1/1	8,3 (25)	7,0-10,7	0/0	6,8 (25)	4,1-10,0	1/5
positiv	38 (18)	27-42	0/2	7,6 (18)	6,1-10,2	0/1	6,7 (18)	4,4-8,0	0/1

(Normbereiche: Hämatokrit 30-45 %, Erythrozyten  $6,8-12,9 \cdot 10^6/\mu\text{l}$ , Leukozyten  $5-10 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ ; ↑=oberhalb des Referenzbereichs, ↓=unterhalb des Referenzbereichs)

**Tabelle 52:** Deskriptive Statistik der hämatologischen Befunde, gruppenweiser Vergleich (KT)

Bb-Befund	KT (n=93)								
	Hämatokrit			Erythrozyten			Leukozyten		
	Median (n)	Bereich	↑/↓	Median (n)	Bereich	↑/↓	Median (n)	Bereich	↑/↓
negativ	37 (44)	28-50	1/2	8,3 (44)	6,5-10,5	0/1	7,0 (44)	4,7-13,2	3/5
grenzwertig	37 (33)	27-45	0/0	8,1 (33)	6,3-10,5	0/5	6,3 (33)	4,8-9,1	0/2
positiv	37 (16)	30-44	0/0	8,7 (16)	6,1-12,8	0/2	6,5 (16)	4,1-9,2	1/4

(Normbereiche: Hämatokrit 30-45 %, Erythrozyten  $6,8-12,9 \cdot 10^6/\mu\text{l}$ , Leukozyten  $5-10 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ ; ↑=oberhalb des Referenzbereichs, ↓=unterhalb des Referenzbereichs)

Bei zwölf Pferden wurde vorberichtlich Fieber beobachtet. Zwei dieser Pferde hatten eine Leukozytose, zehn Pferde zeigten trotz Fieber keine Leukozytose. Der Chi-Quadrat-Test für „Leukozytose JA/NEIN“ versus „Fieber JA/NEIN“ war statistisch nicht signifikant ( $p=0,061$ ), es konnte also keine eindeutige Korrelation des Fiebers mit einer im Blut detektierbaren Leukozytose im Rahmen der Studie festgestellt werden.

Eine Erythrozytopenie wurde bei sieben Pferden beobachtet. Davon war ein Pferd *Ap*-AK positiv, und sechs Pferde *Ap*-AK negativ. Der Chi-Quadrat-Test für „Erythrozytopenie JA/NEIN“ versus „*Ap*-AK positiv/negativ“ war statistisch nicht signifikant ( $p=0,655$ ), es konnte also zwischen der Gruppe der *Ap*-AK-positiven Pferde und der Gruppe der *Ap*-AK-negativen Pferde kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich des Vorkommens einer Anämie festgestellt werden.

#### 4.2.9 Therapieerfolg der vorangegangenen Behandlung

Sowohl Tierärzte als auch Patientenbesitzer waren aufgefordert bei vorbehandelten Pferden den Therapieerfolg einzuschätzen und nach dem Schema „keine Besserung“, „Besserung“ und „vollständige Genesung“ einzuordnen. In Tabelle 53 werden diese Angaben der vorangegangenen Medikation und den beobachteten klinischen Veränderungen, die ebenfalls in Gruppen (Definition s.o.) eingeteilt wurden, aufgetragen. Einzig für die Gruppe, die vorab mittels Antibiose vorbehandelt worden war ( $n_{\text{ges}}=45$ ), konnte aus Sicht der Pferdebesitzer ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied festgestellt werden ( $p = 0,039$ ). In mehr Fällen als erwartet trat eine Besserung ( $n=28$ ) oder gar Genesung ( $n=8$ ) auf, während in weniger Fällen als zu erwarten gewesen wäre, keine Besserung ( $n=9$ ) unter Therapie zu verzeichnen war. Die beobachteten klinischen Veränderungen zeigten keine Korrelation mit dem Outcome der Therapie (Tabelle 53).

**Tabelle 53:** Beurteilung des Therapieerfolgs (TA & PB) in Bezug auf die angewandte Medikation und die beobachteten klinischen Veränderungen

	PB (n=71)				TA (n=55)			
	keine Besserung	Besserung	Genesung	p-Werte	keine Besserung	Besserung	Genesung	p-Werte
<b>GESAMT</b>	20 (28,2)	42 (59,2)	9 (12,7)	-	18 (32,7)	28 (50,9)	9 (16,4)	-
<b>Medikation</b>								
Antibiotika	9 (12,7)	28 (39,4)	8 (11,3)	0,039	12 (21,8)	20 (36,4)	7 (12,7)	0,847
NSAIDs	10 (14,1)	13 (18,3)	5 (7,0)	0,302	8 (14,5)	10 (18,2)	6 (10,9)	0,332
SAIDs	2 (2,8)	6 (8,5)	0 (0,0)	0,687	2 (3,6)	6 (10,9)	0 (0,0)	0,305
Naturheilkunde	6 (8,5)	12 (16,9)	2 (2,8)	0,932	7 (12,7)	3 (5,5)	2 (3,6)	0,108
<b>Klinische Veränderungen</b>								
Unsp.	13 (18,3)	33 (46,5)	9 (12,7)	0,120	15 (27,3)	27 (49,1)	9 (16,4)	0,278
Neurol.	12 (16,9)	23 (32,4)	3 (4,2)	0,407	11 (20,0)	15 (27,3)	5 (9,1)	0,933
Orthop.	17 (23,9)	31 (43,7)	7 (9,9)	0,663	12 (21,8)	21 (38,2)	7 (12,7)	0,781
Sonst.	4 (5,6)	15 (21,1)	2 (2,8)	0,350	1 (1,8)	9 (16,4)	1 (1,8)	0,074

(Unsp.= Unspezifische klinische Veränderungen, Neurol.= Neurologische Probleme, Orthop.= Orthopädische Probleme, Sonst.= Sonstige klinische Veränderungen; Prozentangaben in Klammern; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test)

Die Einschätzung des Therapieerfolgs von Tierärzte- und Besitzerseite sollte im Folgenden gegenübergestellt werden (Tabelle 54). In 54 Fällen lagen hierzu von beiden Seiten Angaben vor. Insgesamt lässt sich eine Übereinstimmung der Angaben in 75,9 % der Fälle feststellen (in der Tabelle grau hinterlegt) und in keinem Fall wichen die Angaben von Tierarzt und Pferdebesitzer signifikant voneinander ab, also dass beispielsweise eine Seite keine Besserung beobachtete, während der/die andere von einer vollständigen Genesung sprach.

**Tabelle 54:** Therapieerfolg TA/PB vergleichend

		TA (n=54)		
		keine Besserung	Besserung	Genesung
PB (n=54)	keine Besserung	14 (25,9 %)	4 (7,4 %)	0 (0,0 %)
	Besserung	3 (5,6 %)	21 (38,9 %)	3 (5,6 %)
	Genesung	0 (0,0 %)	3 (5,6 %)	6 (11,1 %)

Da die Pferde zum Teil schon eine längere Krankengeschichte hatten, wurden bei jedem Patienten, bei dem bereits ein *Bbsl*-Serologie-Ergebnis aus der Vorabdiagnostik vorlag, die Einschätzung des Therapieerfolgs der Therapie, die ja auch im Vorfeld der Studie bereits durchgeführt worden war, in Bezug auf diese Ergebnisse statistisch erfasst (Tabelle 55). Es konnte kein statistisch signifikanter Gruppenunterschied festgestellt werden.

**Tabelle 55:** Therapieerfolg in Bezug auf Befunde der *Bbsl*-Vorabdiagnostik

	<b><i>Bbsl</i>-Serologie Vorabdiagnostik</b>					
	PB (n=40)			TA (n=34)		
	negativ	grenzwertig	positiv	negativ	grenzwertig	positiv
Gesamt	5	2	33	8	6	20
<b>Therapieerfolg</b>						
p-Werte	0,710			0,744		
keine Besserung	2	0	8	0	1	7
Besserung	3	1	21	1	5	9
Genesung	0	1	4	7	0	4

(p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test)

#### 4.2.10 Untersuchungsbefunde und Krankheitsbild

In Tabelle 56 sind klinische Aspekte der Verdachtstiere, die im Rahmen der allgemeinen Untersuchung vom behandelnden Tierarzt erhoben wurden gegen die serologischen Befunde der *Bbsl*-Antikörperdiagnostik aufgetragen. Es konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede für die Beurteilung von Allgemein-, Ernährungs- und Pflegezustand im Hinblick auf den Outcome der serologischen Untersuchung auf *Bbsl*-Antikörper festgestellt werden.

**Tabelle 56:** Beurteilung von Allgemein-, Ernährungs- und Pflegezustand unter dem Aspekt der Verteilung der serologischen Befunde der *Bbsl*-AK-Diagnostik

	N	Allgemeinzustand	Ernährungszustand	Pflegezustand
		Werte 1-5*	Werte 1-5*	Werte 1-5*
<i>n</i> <sub>ges</sub>	114	114	114	114
p-Werte		0,278	0,575	0,520
<i>Bbsl</i> -	56	8 / 32 / 15 / 1 / 0	14 / 27 / 11 / 4 / 0	25 / 31 / 0 / 0 / 0
<i>Bbsl</i> +/-	32	9 / 19 / 3 / 1 / 0	9 / 17 / 5 / 0 / 1	14 / 18 / 0 / 0 / 0
<i>Bbsl</i> +	26	7 / 13 / 6 / 0 / 0	9 / 14 / 2 / 1 / 0	15 / 11 / 0 / 0 / 0

\*Werte von 1=sehr gut bis 5=sehr schlecht; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test

Da sowohl Pferdebesitzer als auch Tierärzte Angaben zu den klinischen Veränderungen des Verdachtstieres machten (je  $n_{TA/PB}=114$ ), ist ein Vergleich der Angaben in den Gruppen und eine Überprüfung der Übereinstimmung der Angaben möglich. Der Grad der Übereinstimmung (in Tabelle 57 grau hinterlegt) der Angaben lag bei der Gruppe der „Unspezifischen Allgemeinsymptome“ bei 86,0 %, bei der Gruppe der „Neurologischen Probleme“ bei 82,5 %, bei der Gruppe der „Orthopädischen Probleme“ bei 84,2 % und bei den breit gefassten „Sonstigen Problemen“ bei 78,9 % (Tabelle 57).

**Tabelle 57:** Gegenüberstellung der von Tierärzten und Pferdebesitzern angegebenen beobachteten klinischen Veränderungen

	TA - JA	TA - NEIN
<b>Unspezifische Anzeichen</b>		
PB - JA	90	2
PB - NEIN	14	8
<b>Neurologische Probleme</b>		
PB - JA	47	12
PB - NEIN	8	47
<b>Orthopädische Probleme</b>		
PB - JA	79	11
PB - NEIN	7	17
<b>Sonstige Probleme</b>		
PB - JA	16	19
PB - NEIN	5	74

Inwiefern die Nutzung mit der festgestellten Symptomatik korrelierte, wurde für einzelne Nutzungsarten näher untersucht. Bei Dressurpferden wurden die klinischen Veränderungen „mangelhafte Rittigkeit“ ( $p=0,039$ ), „Steifheit im Genick/Nackebereich“ ( $p=0,032$ ) und „Hyperästhesie“ ( $p=0,044$ ) signifikant häufiger beschrieben.

#### 4.2.11 Klinische Veränderungen (Verdachtstiere) im Hinblick auf serologische Befunde

Verschiedene potenzielle klinische Veränderungen einer LB, EGA oder einer Koinfektion mit *Ap* und *Bb*, die von den Besitzern und Tierärzten beobachtet wurden, wurden einzeln und in Gruppen (unspezifische, neurologische, orthopädische und sonstige klinische Veränderungen) im Hinblick auf die serologischen Befunde mittels Chi-Quadrat-Test beziehungsweise Exaktem Fisher-Test untersucht und, sofern möglich, die Odds Ratio angegeben.

**BbsI-AK-Nachweise** (Tabelle 84 im Tabellenband): Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten lediglich bei den Tierärzte-Angaben und hier auch nur für die Gruppe der „sonstigen klinischen Veränderungen“ ( $p=0,043$ ) mit den dermatologischen Veränderungen ( $p=0,020$ ) und Hautknötchen beziehungsweise Papeln ( $p=0,020$ ) und außerdem für die klinischen Veränderungen Lethargie ( $p=0,028$ ) und Gelenkschwellung ( $p=0,013$ ), insbesondere der Fesselgelenke ( $p=0,015$ ) gefunden werden.

Bei statistisch signifikanten Gruppeunterschieden wurden zusätzlich die Abweichungen von den erwarteten Werten angegeben. Sonstige klinische Veränderungen, insbesondere dermatologische Veränderungen wie Hautknötchen und Papeln, traten nach TA-Angaben seltener bei positiv und grenzwertig auf *Bb*-AK getesteten und häufiger als erwartet bei negativ auf *Bb*-AK getesteten Pferden auf. Eine Lethargie beobachteten die Tierärzte häufiger als erwartet sowohl bei der positiv als auch bei der negativ auf *Bb*-AK getesteten Gruppe und seltener als erwartet bei den grenzwertig auf *Bb*-AK getesteten Pferden. Gelenkschwellungen

und auch Gelenkschwellungen der Fesselgelenke im Speziellen wurden häufiger als erwartet bei den negativ auf *Bb*-AK getesteten Pferden von den Tierärzten beobachtet.

***Ap*-AK-Nachweise** (Tabelle 85 im Tabellenband): Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten für die Gruppe der „unspezifischen klinischen Veränderungen“ (PB-Angabe ( $p=0,043$ )), sowie für die klinischen Veränderungen Fieber (PB- ( $p=0,001$ ) & TA-Angabe ( $p=0,019$ )) bzw. hohes Fieber (TA-Angabe ( $p=0,012$ )), Inappetenz (TA-Angabe ( $p=0,012$ )), Hinweise auf Meningoenzephalitis (TA-Angabe ( $p=0,039$ )) und Hautrötung (TA-Angabe ( $p=0,039$ )) festgestellt werden. Außer der klinischen Veränderung „hohes Fieber“ wurde keine der auf eine EGA hinweisende klinische Veränderung bei *Ap*-AK-positiven Pferden häufiger als erwartet festgestellt.

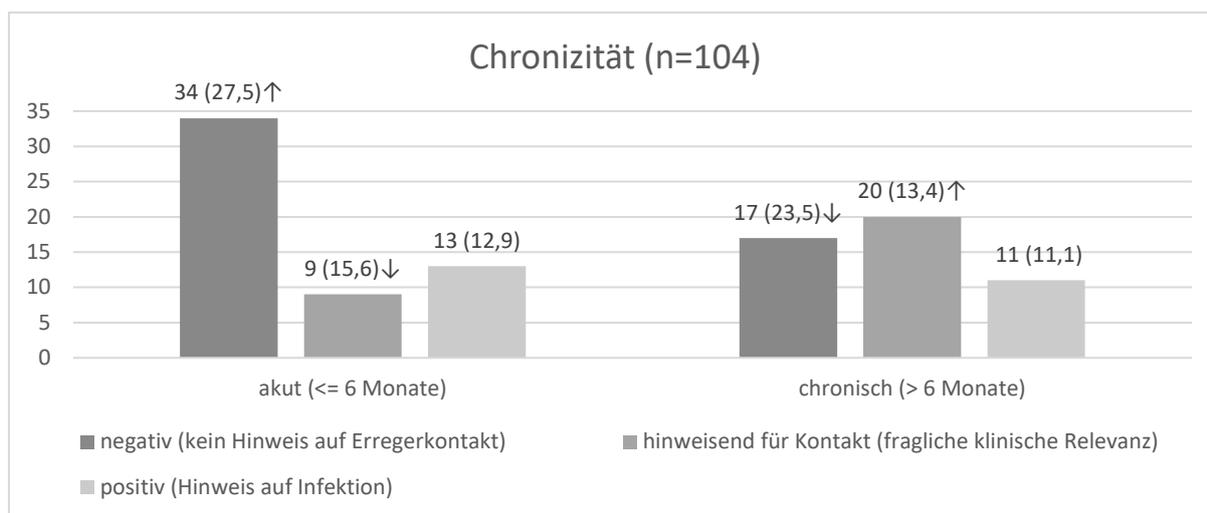
Die Chance für einen positiven *Ap*-AK-Befund bei unspezifischen Krankheitssymptomen ist 6,6-mal (0,84-51,91) höher als bei Fehlen unspezifischer klinischer Veränderungen (PB-Angaben). Insbesondere bei Fieber ist die Chance für einen positiven *Ap*-AK-Befund 7,01-mal (2,40-20,51) (PB-Angabe) bzw. 3,54-mal (1,28-9,73) (TA-Angabe) höher als wenn keine Temperaturerhöhung beobachtet wurde. Auch bei Inappetenz liegt eine 4,54 -mal (1,44-14,29) (TA-Angabe) höhere Chance für einen positiven *Ap*-AK-Nachweis vor. Hinweise auf Meningoenzephalitis (TA-Angabe) wurden häufiger als erwartet bei *Ap*-AK-positiven Tieren gefunden, ebenso Hautrötungen (TA-Angabe).

**Nachweis von Antikörpern hinweisend auf eine Koinfektion** (Tabelle 86 im Tabellenband): Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten für die klinischen Veränderungen „Kopfnervenausfälle“ (TA-Angabe ( $p=0,030$ )) und „Hinweise auf Meningoenzephalitis“ (TA-Angabe ( $p=0,003$ )) festgestellt werden. Kopfnervenausfälle und Hinweise auf Meningoenzephalitis wurden häufiger als erwartet bei koinfizierten Tieren gefunden.

#### **4.2.12 Dauer, Schweregrad und Dynamik der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde (*Bbsl*, *Ap*, Koinfektion)**

In 104 Fällen lagen von Tierärzten und/oder Patientenbesitzern übereinstimmende Informationen hinsichtlich der Erkrankungsdauer vor, davon waren 56 Pferde (53,8 %) akut und 48 (46,2 %) chronisch erkrankt. Statistisch signifikante ( $p=0,009$ ) Gruppenunterschiede konnten bei Betrachtung der serologischen Gesamtbewertung im Hinblick auf die Chronizität festgestellt werden. Akut erkrankte Pferde wurden häufiger negativ und chronisch erkrankte Pferde seltener negativ auf *Bbsl*-AK getestet als erwartet (Abbildung 51).

Im Tabellenband finden sich zwei weitere Tabellen (Tabelle 77 und Tabelle 78), in denen diese Angaben nochmal einzeln für Tierärzte ( $n=64$ ) und Patientenbesitzer ( $n=109$ ) im Hinblick auf die erhobenen serologischen Befunde (*Bb*, *Ap*, Koinfektion) aufgetragen sind.



**Abbildung 51:** Chronizität der Erkrankung und serologische Befunde (*Bb*) (beobachtete Werte und erwartete Werte in der Klammer, Abweichungen der beobachteten von den erwarteten Werten in Form von ↓/↑=weniger/mehr)

Angaben zum Schweregrad der Erkrankung und der Dynamik der Erkrankung wurden sowohl von den Tierärzten als auch den Pferdebesitzern erbeten. Auch diese wurden im Hinblick auf die serologischen Befunde mittels Chi-Quadrat-Test beziehungsweise Exaktem Fisher-Test untersucht (Tabelle 87 im Tabellenband).

Bei der Einschätzung des Schweregrads durch die Pferdebesitzer waren statistisch signifikante Gruppenunterschiede bei Unterscheidung *Bb*-seropositiver und *Bb*-grenzwertiger oder -seronegativer Fälle zu erkennen ( $p=0,036$ ). Ein geringgradiger Schweregrad wurde häufiger als zu erwarten bei *Bb*-seropositiven Pferden und ein mittelgradiger Schweregrad seltener als zu erwarten bei *Bb*-seropositiven Pferden angegeben. Die beobachteten Werte für hoch- und höchstgradige Schweregrade entsprachen etwa den zu erwartenden Werten (Tabelle 58).

**Tabelle 58:** Beurteilung des Schweregrads durch die Pferdebesitzer in Abhängigkeit von den serologischen Befunden (*Bb*)

PB Schweregrad	<i>Bb</i> +	<i>Bb</i> +/- & <i>Bb</i> -
geringgradig	9 (4,3) ↑	10 (14,7) ↓
mittelgradig	8 (12,8) ↓	48 (43,2) ↑
hochgradig	7 (6,8) ≈	23 (23,2) ≈
höchstgradig	2 (2,1) ≈	7 (6,9) ≈

(erwartete Werte in Klammern, Abweichungen der beobachteten von den erwarteten Werten in Form von ≈/↓/↑=gleich/weniger/mehr)

Inwiefern die Angaben zum Schweregrad von Pferdebesitzer und Tierarzt übereinstimmten, zeigt Tabelle 59. Eine Gesamtübereinstimmung der Angaben von 56 % (grau hinterlegt) wurde ermittelt. Nur 22 % der von den Pferdebesitzern als höchstgradig eingestuft Pferde wurden auch vom Tierarzt als höchstgradig erkrankt eingestuft und lediglich 34 % der von den Tierärzten als geringgradig erkrankt eingestuft Pferde wurden auch von ihren Besitzern als geringgradig erkrankt klassifiziert.

**Tabelle 59:** Vergleich Einschätzung des Schweregrad der Erkrankung durch PB & TA

		Schweregrad TA (n=114)				Übereinstimmung (%)
		ggr.	mgr.	hgr.	högr.	
Schweregrad PB (n=114)	ggr.	13	6	0	0	ggr.: 68,4
	mgr.	16	35	5	0	mgr.: 62,5
	hgr.	7	12	11	0	hgr.: 36,7
	högr.	2	3	2	2	högr.: 22,2
Übereinstimmung (%)		ggr.: 34,2	mgr.: 62,5	hgr.: 61,1	högr.: 100,0	GESAMT: Ø <b>56,0</b>

(ggr. = geringgradig, mgr. = mittelgradig, hgr. = hochgradig, högr. = höchstgradig)

Analog zur Untersuchung des Schweregrads im Hinblick auf die serologischen Befunde, erfolgte dies auch für die Dynamik der Erkrankung (permanent beobachtete Symptome, schubweiser Verlauf; erstmalig aufgetretene Symptomatik) und die Befunde können der Tabelle 88 im Tabellenanhang entnommen werden. Es wurden keine statistisch signifikanten Gruppenunterschiede für die unterschiedlichen serologischen Befunde gefunden.

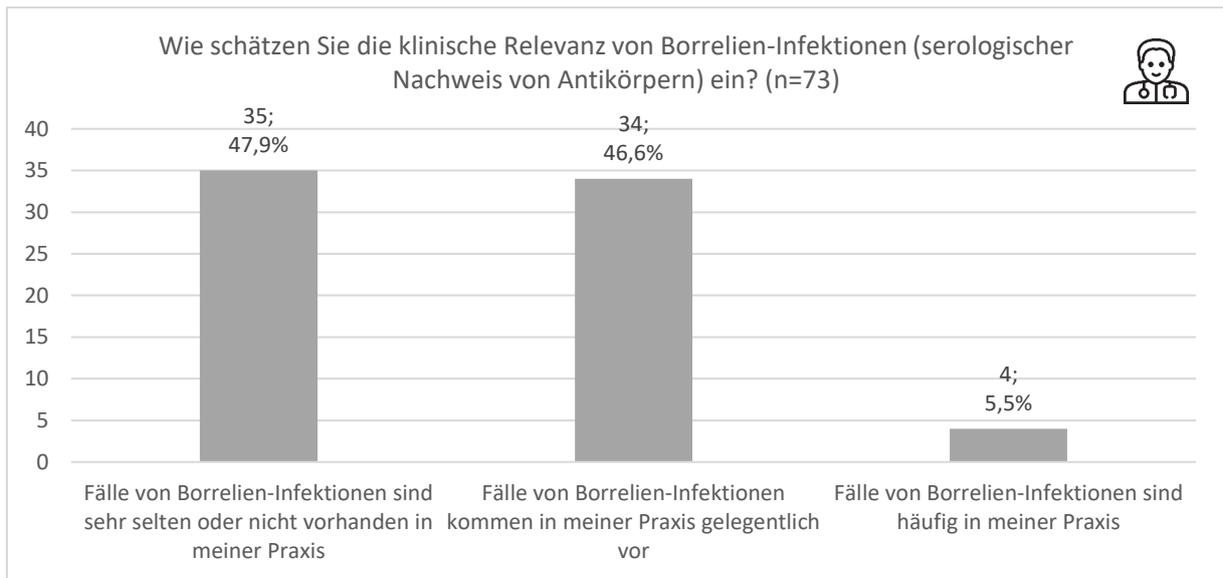
#### 4.3 Befundbogen-Anhang: Meinungsbild der Tierärzte zur Lyme-Borreliose

In 52 Fällen (45,6 %) lagen Mehrfacheinsendungen von Tierärzten vor, d.h. dass diese Praxen oder Kliniken mehr als eine Blutprobe von Verdachtstieren einsendeten. In diesem Fall wurde der Fragebogenteil zum Meinungsbild kein zweites Mal ausgefüllt bzw. ausgewertet.

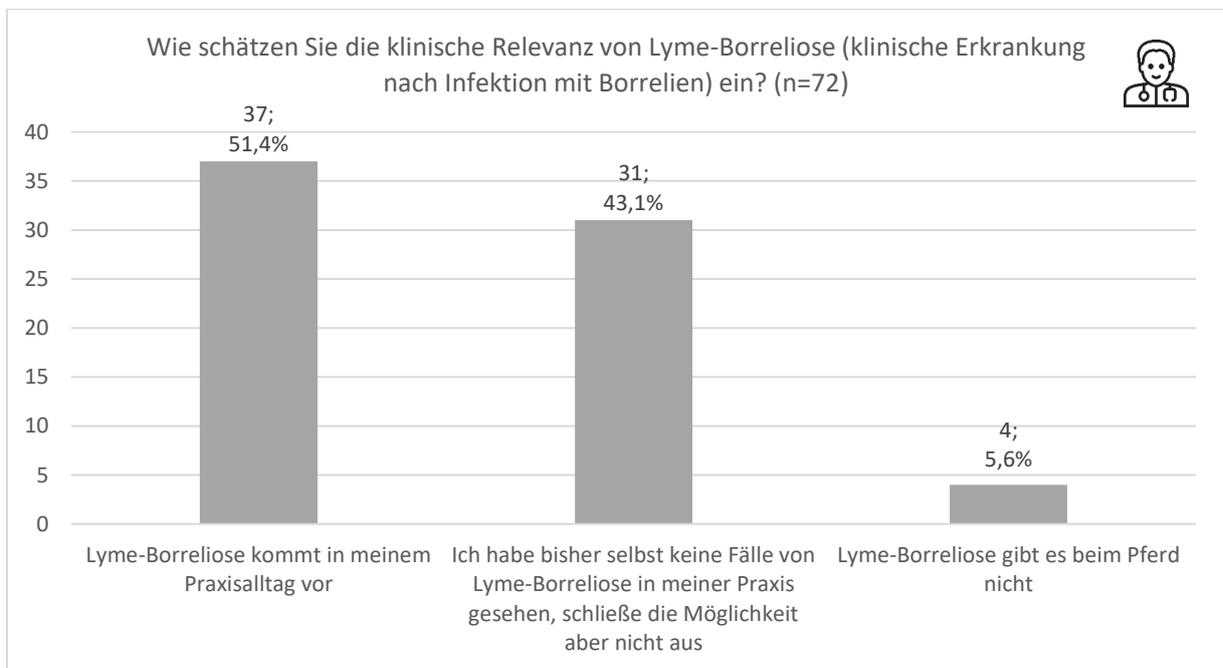
Die Tierärzte waren im Fragebogenteil „Meinungsbild“ zunächst aufgefordert eine Einschätzung darüber abzugeben, wie sie die klinische Relevanz von Borrelien-Infektionen im Sinne eines positiven serologischen Nachweises von *Bb*-Antikörpern und die klinische Relevanz der equinen LB im Sinne einer klinisch manifesten Erkrankung einschätzten. Die Ergebnisse finden sich in Abbildung 52 und Abbildung 53.

48 % der Tierärzte (n=35 von n<sub>ges</sub>=73) gaben an, dass sie nur sehr selten bis gar nicht Borrelien-Infektionen (serologischer Antikörper-Nachweis) bei Pferden in ihrer Praxis diagnostizieren, 47 % (n=34), dass gelegentlich mit solchen Fällen konfrontiert seien und 6 % (n=4), dass sie häufig Borrelien-Infektionen bei Pferdepatienten sähen (Abbildung 52).

51 % der Tierärzte (n=37 von n<sub>ges</sub>=72) bestätigen, dass sie klinisch manifeste Lyme-Borreliose-Erkrankungen bei Pferden in ihrer Praxis gesehen hätten, während 43 % (n=31) die Existenz dieser Erkrankung beim Pferd zwar nicht ausschlossen, aber angaben, selbst keine Fälle gesehen zu haben. 6 % (n=4) zweifeln die Existenz einer klinischen Lyme-Borreliose beim Pferd an (Abbildung 53).



**Abbildung 52:** Einschätzung der klinischen Relevanz von *Bb*-Infektionen (serologischer Nachweis von Antikörpern)

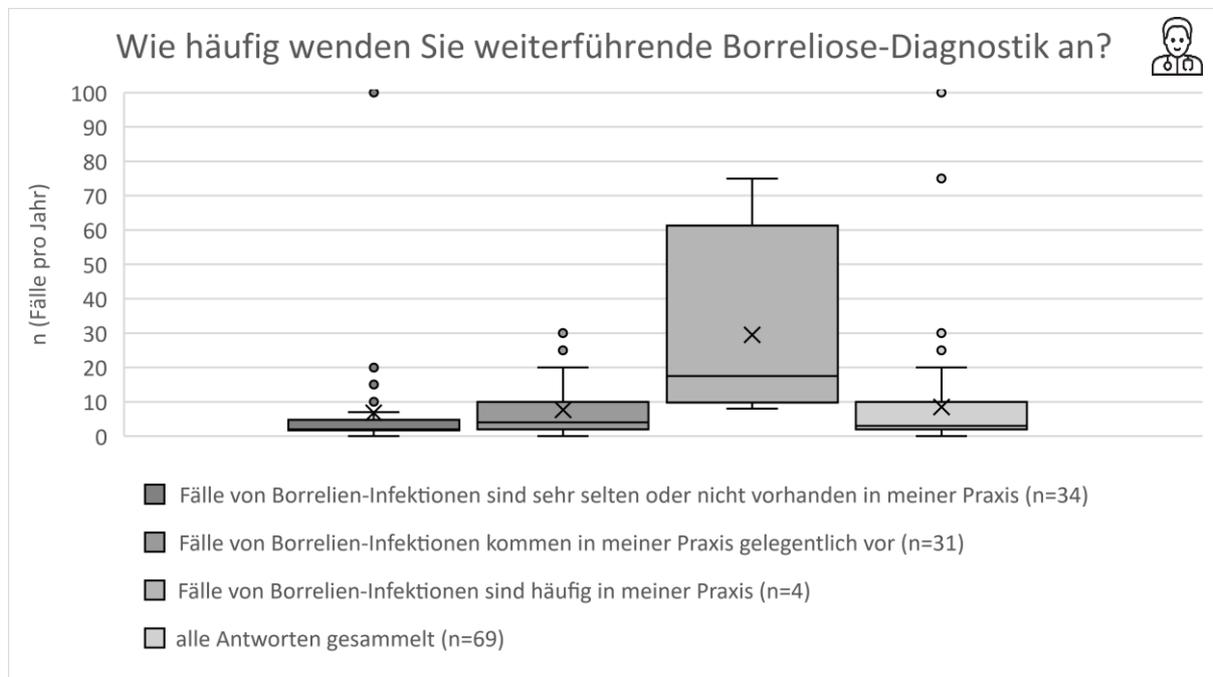


**Abbildung 53:** Einschätzung der klinischen Relevanz der LB (klinische Erkrankung nach Infektion mit Borrelien)

72 Tierärzte beantworteten sowohl die Frage zur Häufigkeit von LB-Fällen in der eigenen Praxis als auch die Frage nach der Meinung zur klinischen Relevanz dieser Infektion. Die Aussage „Lyme-Borreliose gibt es beim Pferd nicht“ unterstützten vier Tierärzte, die nur sehr selten oder eben gar nicht mit LB-Fällen bei Pferden in der eigenen Praxis zu tun haben. „Ich habe selbst bisher keine Fälle von Lyme-Borreliose in meiner Praxis gesehen, aber schließe es nicht aus, dass es solche Fälle gibt“ kreuzten 22 Tierärzte an, die nur selten oder gar nicht mit klinischen LB-Fällen und neun Tierärzte, die gelegentlich mit solchen Fällen zu tun hatten. Neun Tierärzte, die selten bis gar nicht, 24 Tierärzte, die gelegentlich und vier Tierärzte, die

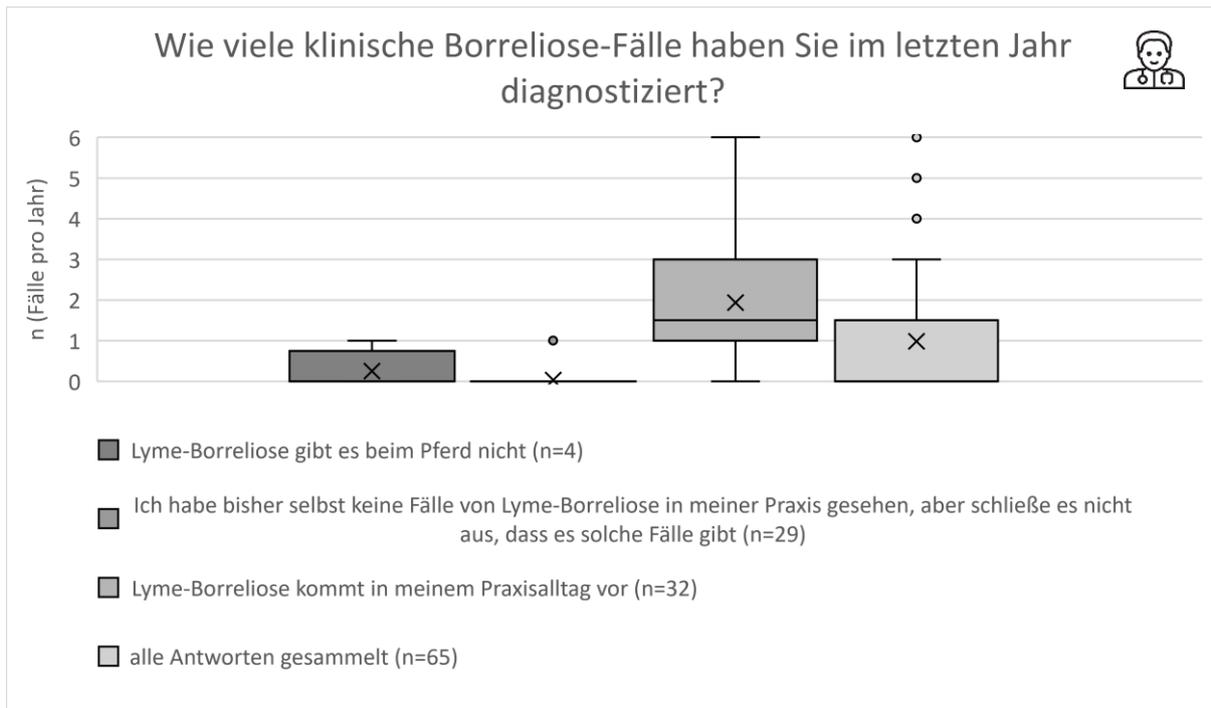
häufig LB-Fälle in der eigenen Praxis behandelten wählten die Antwortoption „Lyme-Borreliose kommt in meinem Praxisalltag vor“. Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten festgestellt werden ( $p=0,000$ ).

Im Durchschnitt wurden von den teilnehmenden Tierärzten ( $n_{\text{ges}}=69$ )  $9 \pm 15$ -mal (0-100) im Jahr weiterführende diagnostische Maßnahmen im Hinblick auf eine LB-Abklärung eingeleitet. In Abbildung 54 wird dies in Relation zu der zuvor getroffenen Einschätzung der klinischen Relevanz von Borrelien-Infektionen gesetzt, wobei deutlich wird, dass mehr Fälle durchgeführter Borreliose-Diagnostik dazu führen, dass auch häufiger Borrelien-Infektionen diagnostiziert werden. Wenn angegeben wurde, dass häufig Fälle von Borrelien-Infektionen in der Praxis diagnostiziert würden, wurden durchschnittlich 30 Untersuchungen (8-75) durchgeführt.



**Abbildung 54:** Häufigkeit des Einsatzes weiterführender Borreliose-Diagnostik

Im Durchschnitt werden von den teilnehmenden Tierärzten ( $n=65$ )  $1,0 \pm 1,4$  (0-6) Fälle von equiner LB im Jahr diagnostiziert. Auch hier erfolgt in Abbildung 55 eine gruppenweise Unterscheidung in Abhängigkeit von der zuvor getroffenen Aussage bezüglich der klinischen Relevanz der equinen LB in der eigenen Praxis. Hierbei fielen zwei widersprüchliche Aussagen auf, denn einmal wurde angegeben, dass im letzten Jahr eine klinische LB bei einem Patienten in der Praxis diagnostiziert worden war, gleichzeitig aber die LB beim Pferd infrage gestellt bzw. angegeben, dass in der Praxis selbst bislang keine Fälle bekannt geworden waren. Näherungsweise zwei klinisch relevante LB-Fälle wurden in den Praxen behandelt, in denen die equine LB als Erkrankung im Praxisalltag anerkannt wurde.



**Abbildung 55:** Häufigkeit von LB-Fällen in der Praxis

Auf die Frage: „Welche Untersuchungsmethoden verwenden Sie zur Abklärung von LB-Verdachtsfällen?“ antworteten 68,2 % der Tierärzte (n=45 von  $n_{\text{ges}}=66$ ) mit dem indirekten Erregernachweis. 27,3 % (n=18) der Tierärzte gaben an sowohl den direkten als auch den indirekten Erregernachweis für die Diagnostik heranzuziehen und die restlichen 4,5 % (n=3) verwenden ausschließlich den direkten Erregernachweis.

Von den 21 Tierärzten, die den direkten Erregernachweis als alleinige oder zusätzliche Untersuchungsmethode angegeben hatten, wählten 18 (85,7 %) die PCR und fünf (23,8 %) die Flüssigkultur, wobei zweimal beide Methoden ausgewählt wurden. Die Angaben zum verwendeten Probenmaterial finden sich in Tabelle 60. Am häufigsten wurden Blut (n=8), Hautstanzen (n=6) und Synovia (n=4), seltener Liquor (n=3) als Probenmaterial zum direkten Erregernachweis eingesandt.

**Tabelle 60:** Verwendetes Probenmaterial für den direkten Erregernachweis von *Bb*, Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =16)	Antworten		
	n	Prozent	Prozent der Fälle
Blut	8	38,1 %	50,0 %
Hautstanze	6	28,6 %	37,5 %
Synovia	4	19,0 %	25,0 %
Liquor	3	14,3 %	18,8 %
<b>Gesamt</b>	<b>21</b>	<b>100 %</b>	<b>131,3 %</b>

Die Frage nach den verwendeten Methoden beim indirekten Erregernachweis, beantworteten 60 Tierärzte, wobei drei Tierärzte, die zuvor angegeben hatten, den indirekten Erregernachweis zu verwenden, auf diese Frage keine Antwort gaben. Mehrfachantworten

waren möglich. Am häufigsten würden Zweistufentests aus ELISA und Immunoblot verwendet (n=30), gefolgt von ELISA (n=25) und Westernblots (n=23) als Einzeltestverfahren. Auch Schnelltests würden zum Teil angewandt (n=3), ebenso wie IFATs (n=2). Den Line-Immunoassay und Lyma Multiplex Assay verwendete keine Praxis (Tabelle 61).

**Tabelle 61:** Eingesetzte Methoden beim indirekten Erregernachweis von *Bb*, Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =60)	Antworten		
	n	Prozent	Prozent der Fälle
Zweistufentest: ELISA + Immunoblot	30	36,1 %	50,0 %
Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	25	30,1 %	41,7 %
Westernblot (z.B. recomBlot IgM/IgG)	23	27,7 %	38,8 %
Schnelltest (z.B. SNAP® 4Dx® Plus, IDEXX)	3	3,6 %	5,0 %
Immunfluoreszenz-Antikörpertest (IFAT)	2	2,4 %	3,3 %
Line-Immunoassay (LIA)	0	0,0 %	0,0 %
Lyme Multiplex Assay	0	0,0 %	0,0 %
<b>Gesamt</b>	<b>83</b>	<b>100 %</b>	<b>138,3 %</b>

Bei den Untersuchungen mit Angabe eines genauen *Bb*-Antikörpertiters, gaben 53,1 % (n=26 von n<sub>ges</sub>=49) der Tierärzte an, dass Sie die Befunde nur dann als positiv werteten, wenn es zu einem Titeranstieg, nachgewiesen durch zwei aufeinanderfolgende Untersuchungen, gekommen war. 40,8 % (n=20) gaben an, einen einzelnen positiven Antikörpertiter hinreichend für die Diagnose zu finden. Und drei Tierärzte (6,1 %) wählten einen alternativen Ansatz, den Sie im freien Text näher erläuterten:

1. Ein Antikörpertiter werde dann als positiver Befund gewertet, wenn sowohl ein positiver Titer, als auch gleichzeitig ein positives ELISPOT-Ergebnis bestünde. (n=1)
2. Ein positiver Titer zusammen mit der passenden klinischen Symptomatik und dem Besitzerwunsch, das Tier zu therapieren, würde als positiver Befund gewertet. (n=1)
3. Ein positiver Titer wäre nur in Kombination mit einem positiven Befund aus dem direkten Erregernachweis mittels Hautstanze als positiver Befund zu werten. (n=1)

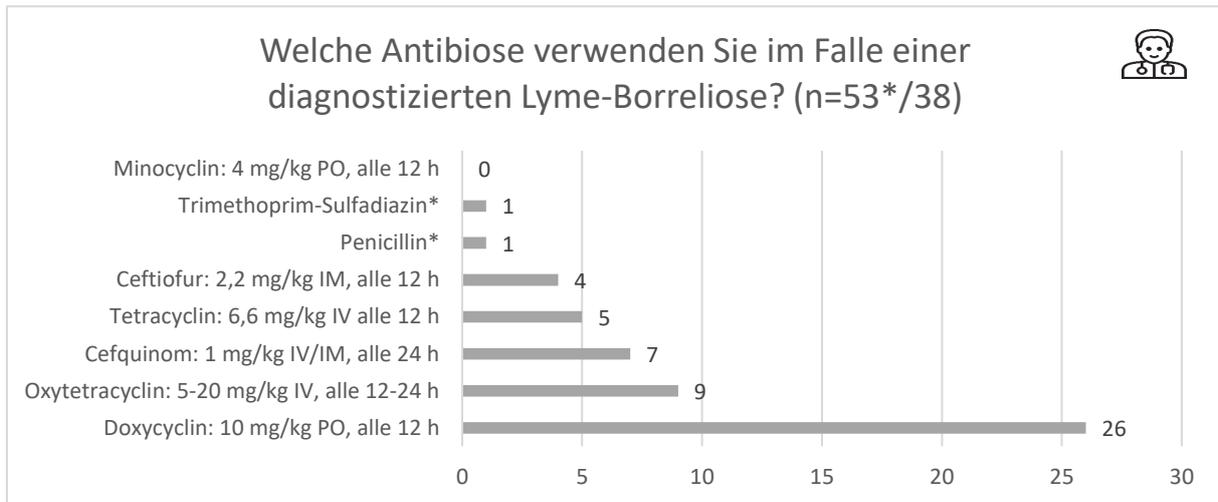
Die Frage „Wie behandeln Sie Pferde mit positivem Borreliose-Befund und klinischer Symptomatik?“ beantworteten 93 % der Tierärzte (n=38) mit Antibiotika und 7 % (n=3) mit Homöopathie (Tabelle 62).

**Tabelle 62:** Medikamentöse Behandlung von LB-Verdachtsfällen, Mehrfachnennungen möglich

(n <sub>Fälle</sub> =39)	Antworten		
	n	Prozent	Prozent der Fälle
Antibiotische Behandlung	38	92,7 %	97,4 %
Homöopathische Behandlung	3	7,3 %	7,7 %
<b>Gesamt</b>	<b>41</b>	<b>100 %</b>	<b>105,1 %</b>

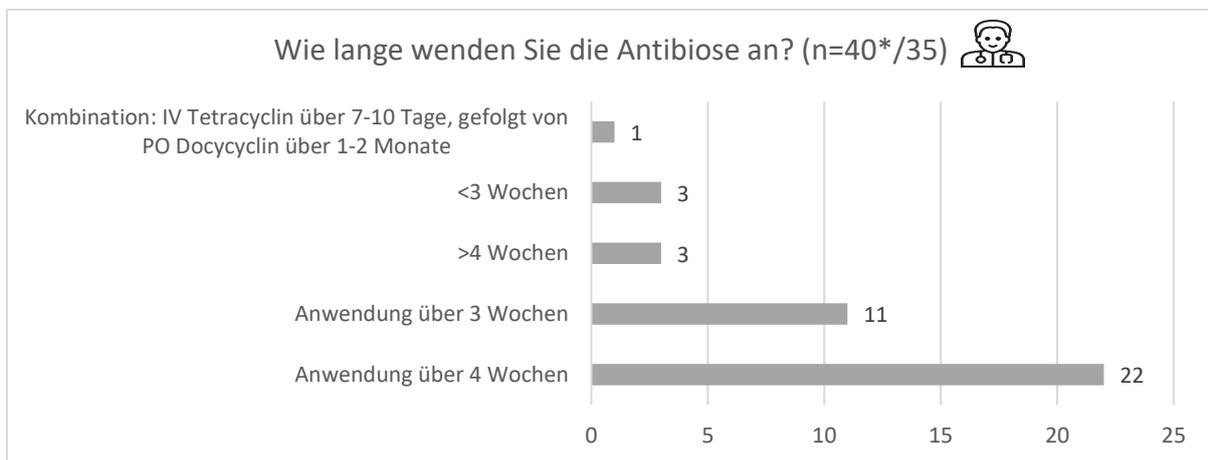
Am häufigsten würde Doxycyclin (n=26 von n<sub>ges</sub>=38) eingesetzt. Oxytetracyclin setzten neun, Cefquinom sieben, Tetracyclin fünf, Ceftiofur vier und Penicillin und Trimethoprim-Sulfadiazin

je eine Praxis ein. Minocyclin käme in den teilnehmenden Praxen nicht zum Einsatz (Abbildung 56).



**Abbildung 56:** Eingesetzte Antibiose bei LB-Verdachtsfällen, Mehrfachnennungen möglich (\*)

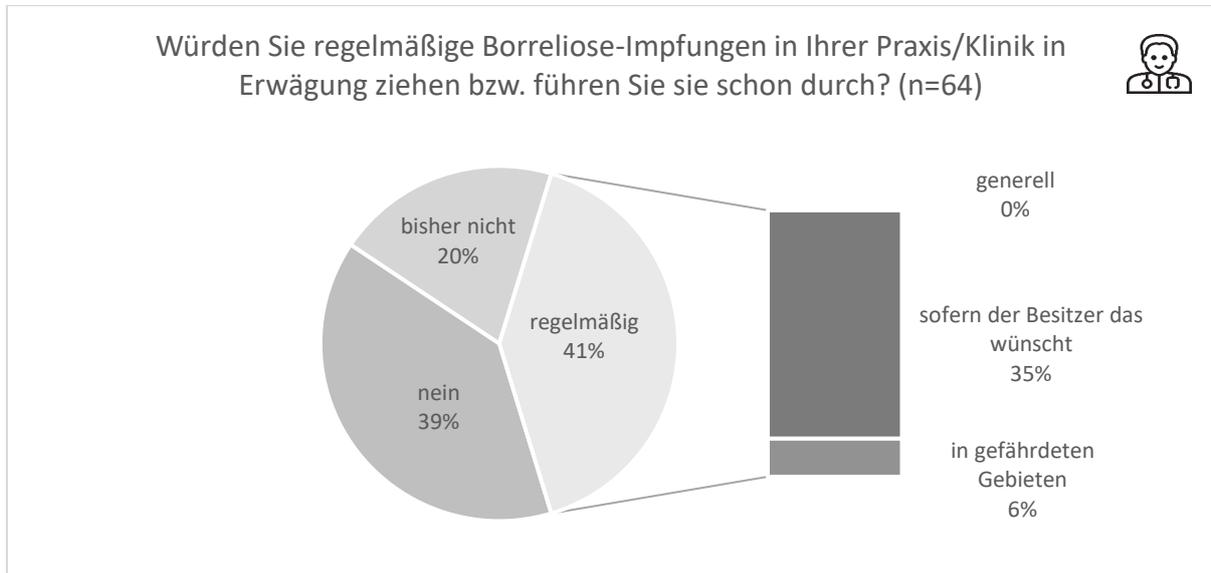
Dabei erfolgte die antibiotische Behandlung über einen Zeitraum von in der Regel drei (n=11 von  $n_{\text{ges}}=35$ ) bis vier (n=22) Wochen. Je drei Tierärzte gaben an die equine LB mehr als vier Wochen beziehungsweise weniger als drei Wochen antibiotisch zu behandeln und eine Praxis wendete ein Behandlungsschema mit einer Kombination einer intravenösen Tetrazyklin-Behandlung über sieben bis zehn Tage gefolgt von einer *per os* Gabe von Doxycyclin über ein bis zwei Monate an (Abbildung 57).



**Abbildung 57:** Dauer der Anwendung der Antibiose bei LB-Verdachtsfällen, Mehrfachnennungen möglich (\*)

Im Anschluss wurden die Tierärzte auch noch zu ihrer Meinung bezüglich der Borreliose-Impfung beim Pferd befragt und inwiefern diese Impfung Einzug in Ihren Praxisalltag genommen hatte. 39 % der Tierärzte (n=25) gaben an keine Borreliose-Impfung in ihrer Praxis in Erwägung zu ziehen, bei 20 % (n=13) wurde sie noch nicht eingesetzt, aber auch nicht kategorisch abgelehnt und 41 % (n=26) führten schon regelmäßig Borreliose-Impfungen in

ihrer Praxis durch (Abbildung 58). 86,4 % (n=57 von n<sub>ges</sub>=66) gaben an sich an den Impfempfehlungen der StIKo Vet (Ständige Impfkommision Veterinär) zu orientieren, 13,6 % (n=9) dagegen nicht.



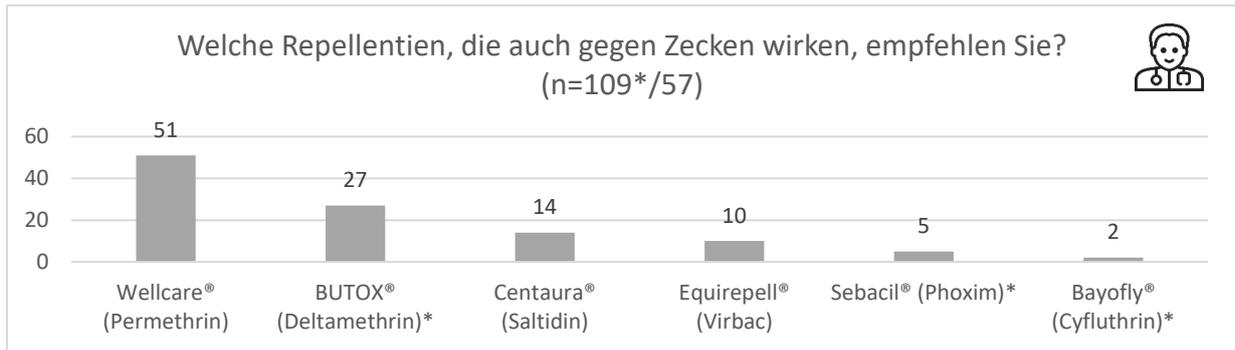
**Abbildung 58:** Einsatz der Borreliose-Impfung in der Praxis

Als Gründe für den Nicht-Einsatz der Impfung gaben drei Tierärzte im freien Text folgendes an:

1. „Die Borreliose-Impfung wurde wegen mangelnder Nachfrage/ Impfbereitschaft eingestellt.“ (n=1)
2. „Laut Vertreter ist eine Impfung nur sinnvoll bei Beginn im Absetz-/ Jungpferdealter.“ (n=1)
3. „Die Akzeptanz der Besitzer bei der Borreliose-Impfung ist sehr schlecht.“ (n=1)

54,2 % (n=39 von n<sub>ges</sub>=72) der Tierärzte empfehlen generell die Verwendung einer Zeckenprophylaxe, 29,2 % (n=21) in seltenen Fällen und 16,7 % (n=12) empfehlen keine Zeckenprophylaxe. Als Grund wurden im freien Text folgendes berichtet: „Die Wirkung der für Pferde zugelassenen Präparate ist vor allem bei Offenstallhaltung nicht zufriedenstellend, ebenso verhält es sich mit der Dauer der Wirkung.“ (n=1)

Wenn Repellentien empfohlen wurden, dann folgende Präparate: Wellcare® (n=51), BUTOX® (n=27), Centaura® (n=14), Equirepell® (n=10), Sebacil® (n=5) und Bayofly® (n=2). Insgesamt gaben 57 Tierärzte 109 Antworten auf diese Frage (Abbildung 59).



**Abbildung 59:** In der Praxis von den TÄ empfohlene Repellentien gegen Zecken  
\*=nicht zugelassen fürs Pferd; Mehrfachnennungen möglich(\*)

## **5 DISKUSSION**

### **5.1 Methodendiskussion**

#### **5.1.1 Diskussion des Studiendesigns**

Mittels der durchgeführten Studie mit einer Kombination aus Blutuntersuchungen und beigefügten Fragebögen konnten Daten zur Ermittlung der Seroprävalenz der equinen LB und EGA in Deutschland und darüber hinaus zahlreiche begleitende Daten zum Krankheitsverlauf, möglichen Risikofaktoren, eingesetzten Prophylaxemaßnahmen und zur topografischen Einordnung erhoben werden.

Die Notwendigkeit zur Teilnahme an der Studie zwei ausführliche Fragebögen auszufüllen und darüber hinaus Blut eines weiteren Pferdes aus demselben Stall einzuschicken, war in manchen Fällen Grund für die Nichtteilnahme an der Studie, wodurch im gewählten Zeitraum eine etwas geringere Anzahl an Probanden generiert werden konnte als ursprünglich angedacht. In der Studienplanung wurde von einer erwarteten maximalen LB-Seroprävalenz von 15 % ausgegangen und damit eine zu beprobende Pferdeanzahl von 215 Tieren für die Angabe eines 95%-Konfidenzintervalls mit einer Genauigkeit von  $\pm 5\%$  ermittelt. Insgesamt wurden im Rahmen der Studie Daten und Blutproben von 236 Pferde untersucht, wobei 123 Fälle (bzw. Verdachtstiere) und 113 Kontrollen - im Sinne eines 1:1-Matchings - waren.

Streng genommen handelt es sich bei den erhobenen serologischen Befunden nicht um Seroprävalenzen ohne Bias. Eine Vorselektion der beprobten Population wurde vorgenommen, da die Probanden der Fallgruppe einen LB-Verdacht aufwies und auch die Gruppe der Kontrolltiere nicht zufällig gewählt war. Es war nicht nur notwendig, dass zur Teilnahme an der Studie mindestens ein Pferd im selben Stall klinische Veränderungen einer LB zeigte, die Voraussetzung für die Eignung als Kontrolltier war auch die Einschätzung als „klinisch gesund“. Für eine Annäherung an die tatsächliche Seroprävalenz ist letztere Gruppe dennoch am besten geeignet, da sie am ehesten einen Querschnitt der deutschen Pferdepopulation repräsentiert. Außerdem erlauben die erhobenen serologischen Befunde dieser Gruppe eine Einschätzung darüber abzugeben, wie positive LB-Testbefunde bei klinisch gesunden Pferden zu beurteilen sind. Unspezifisches Testen wird im Rahmen der Borreliose-Diagnostik als Beweis für eine Erkrankung als kritisch angesehen (Bartol 2013), da bei der Antikörper-Diagnostik der positive prädiktive Wert der verwendeten mikrobiologischen Verfahren umso geringer wird, je unspezifischer die vorliegende klinische Symptomatik ist (Fingerle et al. 2017).

Das Fall-Kontroll-Studiendesign ist ein effizientes, kosten- und zeitsparendes Verfahren der Probengewinnung, mit dem Ziel, den Zusammenhang von Risiko-Exposition und

Erkrankungswahrscheinlichkeit zu analysieren. Es handelt sich hierbei um Beobachtungsstudien, bei der Fälle (mit Erkrankung) und Kontrollen (ohne Erkrankung) miteinander verglichen werden.

Verschiedene Prinzipien sollten nach Wacholder et al. bei der Planung von Fall-Kontroll-Studien zur Vermeidung von Bias Berücksichtigung finden: das „Studienbasis-Prinzip“, das Prinzip des Vermeidens von Störfaktoren („Deconfounding-Prinzip“) und das Prinzip der vergleichbaren Genauigkeit (Wacholder et al. 1992a).

Das „Studienbasis-Prinzip“ besagt, dass Fälle und Kontrollen die gleichen Grundvoraussetzungen erfüllen und vergleichbare Umgebungsbedingungen vorfinden sollten, wobei die tatsächliche Exposition und nicht die Chance auf potenzielle Exposition zu berücksichtigen ist (Wacholder et al. 1992a). Durch die Herkunft zweier Blutproben von Fall- und Kontrolltier aus demselben Stall, war dieses Prinzip in unserer Studie erfüllt.

Das „Deconfounding-Prinzip“ bedeutet, dass keine nicht kalkulierbaren Störfaktoren den Effekt beeinflussen sollten. Dies kann entweder durch Erfassung von Störfaktoren geschehen oder dadurch, dass all jene Störfaktoren vermieden werden, die nicht messbar oder unbekannt sind, beziehungsweise eine große Variabilität aufweisen (Wacholder et al. 1992a). Ein unbekannter Confounder bei der Erfassung von Daten via Fragebögen ist die Persönlichkeit der die Fragebögen ausfüllenden Personen.

Um nur einige Beispiele zu nennen: Ein Pferdebesitzer, der sein Pferd täglich vor dem Reiten ausgiebig putzt, ist eventuell sehr viel aufmerksamer, wenn es um die Zahl der beobachteten Zecken geht, während ein anderer Pferdebesitzer sein auf der Weide stehendes Jungpferd möglicherweise nicht täglich nach Zecken absucht. Pferdebesitzer A schätzt den Schweregrad der Erkrankung seines Pferdes möglicherweise aus subjektiven Gründen sehr viel höher ein als Pferdebesitzer B. Die Prophylaxemaßnahmen von Pferdebesitzer A werden sorgfältiger durchgeführt als die von Pferdebesitzer B...

Die Einsendung der Proben erstreckte sich von Mitte Juni 2017 bis Ende August 2018. Die Zeckenpopulationsdichte und damit die Exposition gegenüber zeckenübertragenen Krankheitserregern unterscheiden sich in den einzelnen Jahren, wobei es „gute Zeckenjahre“ mit zahlreichen Zecken und „weniger gute Zeckenjahre“ gibt. 2018 war beispielsweise ein Jahr, für das sehr hohe Zeckenpopulationsdichten vorausgesagt wurden (Brugger et al. 2018). Inwiefern die Unterschiede bei den Zeckenpopulationsdichten beider Jahre zu einer Verzerrung der Ergebnisse geführt haben könnte, lässt sich nicht sicher sagen, da zahlreiche andere Faktoren, wie vor allem auch die geografische Lage, Haltungsbedingungen und Zeckenprophylaxe, eine bedeutende Rolle in der Zeckenexposition spielen.

Das Prinzip der vergleichbaren Genauigkeit kann dadurch erfüllt werden, dass das Maß an Genauigkeit bei der Erfassung der untersuchten Risikofaktoren hinsichtlich der Exposition bei Fällen und Kontrollen äquivalent oder das Abweichen von der Äquivalenz messbar ist. Zusammengefasst heißt das, dass Differenzen in der Genauigkeit der erfassten Informationen von Fällen und Kontrollen, ebenso wie nicht erfasste Störfaktoren, vermieden werden und Fälle und Kontrollen aus einer vergleichbaren Basispopulation stammen sollten (Wacholder et al. 1992a).

Dies war aufgrund fehlender Erfassung von geeigneten Daten für die Kontrolltiere aus Gründen der Kurzfassung der Fragebögen nicht sicher einzuschätzen. In unserer Studie sind Fälle und Kontrollen anhand ihrer gemeinsamen Herkunft aus demselben Stall „gematched“ und entspringen zum Teil auch derselben Altersklasse. Bei der Kontrollgruppe wurde ansonsten allerdings nur Rasse, Alter und Geschlecht erfasst. Risikofaktoren wie Haltung, Nutzung und Zeckenprophylaxe können für diese Gruppe anhand der erfassten Daten nicht beurteilt werden.

Eine Schwierigkeit bei Fall-Kontroll-Studien stellt die Rekrutierung der Probanden dar, da eine Stichprobenverzerrung zu vermeiden ist, um die Repräsentativität der Fälle und Kontrollen zu gewährleisten (Kleinbaum et al. 1981; Kopec und Esdaile 1990; Morabia 1997). Das Matching von Fällen und Kontrollen kann helfen, wenn Störfaktoren unterschiedlichen Ausmaßes und Einflusses in der Fall- und Kontrollgruppe nicht sicher ausgeschlossen werden können. Außerdem verbessert Matching die Power der Studie, indem sichergestellt wird, dass genügend Kontrollen vorhanden sind, um interagierende Effekte in einer bestimmten Subgruppe zu identifizieren. Auch die zeitliche Vergleichbarkeit und die Durchführbarkeit werden hierdurch verbessert, da direkt für jeden Fall eine Kontrolle untersucht wird. Nachteile sind höhere Kosten, Ausschluss von Fällen, für die keine Kontrollen gefunden werden konnten, eine mögliche längere Dauer der Datenerhebung und eine reduzierte Flexibilität in der statistischen Analyse der Daten. Variablen, die nicht mit einem höheren oder geringeren Risiko für eine Erkrankung assoziiert sind, sollten nicht die Basis des Matchings bilden (Wacholder et al. 1992b).

### **5.1.2 Resonanz auf die Fragebogenaktion, Akzeptanz und Verständlichkeit der Fragebögen**

Die Resonanz auf die Fragebogenaktion war gut, wobei sie zu Beginn der Studie am besten war und dann im Laufe der Zeit nachließ. Werbemaßnahmen zur Bekanntmachung der Studie funktionierten gut, insbesondere die Verbreitung der Fragebögen über die Homepage der Pferdezeitschrift „Cavallo“ fand große Resonanz. Die kostenlose Untersuchung der Blutproben im Rahmen der Studie war sicherlich ein Anreiz, der insbesondere die Pferdebesitzer dazu brachte mit ihren Tieren an der Studie teilzunehmen. Auch wenn nicht erfasst wurde, von wem

die Initiative an der Studie teilzunehmen, ausging, war der subjektive Eindruck, dass in einer Mehrheit der Fälle hier der Pferdebesitzer das „Zünglein an der Waage“ war.

Der Onlinefragebogen wurde in etwas geringerem Maße genutzt wie Einsendungen des PDF-Fragebogens per Post, die dann zusammen mit den Proben erfolgten. Rückmeldungen hinsichtlich Problemen mit der Verständlichkeit des Fragebogens blieben aus, was auf eine gute Verständlichkeit des Fragebogens, auch für tiermedizinische Laien, schließen lässt. Bei Unklarheiten in Zusammenhang mit der Versendung der Proben wurde die eigens für die Studie eingerichtete E-Mail-Adresse gerne sowohl von Tierärzten als auch Pferdebesitzern genutzt, wobei sich stets um eine rasche Beantwortung der eingegangenen E-Mails bemüht wurde.

Mitteldeutschland (insbesondere Sachsen, Thüringen, Rheinland-Pfalz und das Saarland) war in der Studie unterrepräsentiert. Als Gründe kommen epidemiologische Ursachen wie geringere Zecken- und Borrelien-Exposition und regional höhere Pferdedichte, aber auch eine mangelnde Werbung in diesen Regionen infrage. Die Tierärztekammern von Sachsen, Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Thüringen, Westfalen-Lippe und Berlin hatten bei der Verbreitung von Informationen zur Studie beigetragen, während dies zum Beispiel in Rheinland-Pfalz und dem Saarland nicht geschah.

Die Patientenpopulation deckte mit 55 verschiedenen Pferderassen ein breites Spektrum ab und es lag eine vergleichbare Altersklassenverteilung bei den Verdachts- und Kontrolltieren vor, wie sie im Rahmen des Studiendesigns auch vorgesehen war. Auch die Geschlechterverteilung innerhalb der beiden Gruppen war sehr ähnlich.

### **5.1.3 Inhaltliche Gestaltung der Frage- und Befundbögen**

Die Verwendung der erarbeiteten Frage- und Befundbögen bot die Chance, eine ausführliche individuelle Anamneseerhebung sowohl von Besitzer- als auch Tierärzteseite zu gewährleisten. Neben den allgemeinen Fragen zu Signalement, Herkunft der Tiere und medizinischer Vorgeschichte, konnten Risikofaktoren erfasst und das Krankheitsbild klar eingegrenzt werden. Außerdem boten die Fragen, die beiden Seiten gestellt wurden, die Möglichkeit die Einschätzung von Pferdebesitzern und Tierärzten hinsichtlich verschiedener Aspekte der Erkrankung des Patienten zu vergleichen. Auch wenn es im Rahmen dieser Studie keine Möglichkeiten gab, die Einschätzung des Krankheitsbildes, zum Beispiel mittels persönlicher Begutachtung der Patienten, zu objektivieren, bot die Doppelung bestimmter Fragen und die Überprüfung der Übereinstimmung der gegebenen Antworten, eine Möglichkeit Sachverhalte von subjektiven Faktoren zu lösen.

Bei der Festlegung der für die Studie relevanten Fragen wurden aktuelle Publikationen zur Lyme-Borreliose beim Pferd (Divers 2013; Liebisch et al. 1990; van der Kolk, J. H. 2016) sowie weitere, in Deutschland bereits durchgeführte Studien zum Thema berücksichtigt (Fritz 2018; Palm 2016; Schönert 2004). Der Teil zur Einschätzung der Wahrnehmung der klinischen Relevanz der equinen LB unter Tierärzten orientierte sich an Umfragen von Gall und Pfister sowie DeVilbiss et al. (Gall und Pfister 2006b; DeVilbiss et al. 2009).

Während die meisten Studien bezüglich der equinen LB und EGA lediglich der Ermittlung von Seroprävalenzen ohne zusätzliche Informationen zu den beprobten Tieren, abgesehen von knappen Angaben zum Signalement und Gesundheitszustand (symptomatisch bzw. asymptomatisch), dienten (Štefančíková et al. 2008; Schwartz et al. 2015b; Salinas-Meléndez et al. 2001; Müller et al. 2002; Metcalf et al. 2008; Meersschaert et al. 2016; Marcus et al. 1985; Lee et al. 2016; Laus et al. 2013; Kiss et al. 2011; Hansen et al. 2010; Funk et al. 2016; Ebani et al. 2012; Durrani et al. 2011; Doby et al. 1987; Cohen et al. 1992; Bhide et al. 2008; Carter et al. 1994; Bernard et al. 1990; Bae 2018), gibt es nur wenige, die darüber hinaus Daten zum Krankheitsbild und Risikofaktoren erfasst haben (Egenvall et al. 2001; Štefančíková et al. 2000; Socoloski et al. 2017; Palm 2016; Manion et al. 2001) oder gar als Fall-Kontroll-Studie konzipiert waren (Magnarelli et al. 2000).

Grundsätzlich ist es bei jedweder Form der Befragung über eine Vorgeschichte möglich, dass Falschaussagen aufgrund mangelnder Erinnerung oder persönlicher Voreingenommenheit auftreten können. Pferdebesitzer sind insbesondere bei langer, teilweise schwerer Krankheitsgeschichte des Pferdes ohne eindeutige Diagnose stark emotional betroffen (Finka et al. 2019). Bei Pferden, die bereits im Vorfeld positiv getestet wurden, könnte eine verzerrte Einschätzung des Krankheitsbildes auftreten.

Allerdings zeigten Studien auch, dass Pferdebesitzer durchaus in der Lage sind den Gesundheitszustand ihres Pferdes und das Ansprechen auf eine durchgeführte Therapie korrekt zu bewerten, teilweise sogar besser als der Tierarzt. Die Zeit, die der Pferdebesitzer mit seinem Pferd verbringt und die Aufmerksamkeit für bestimmte, teils auch kleinere, unspezifische Veränderungen, sind hinsichtlich der Bewertung von klinischen Zeichen gegenüber einer auf einer einzelnen Untersuchung basierenden Einschätzung des Tierarztes ein Vorteil. Gerber und Kollegen zeigten in einer Studie mit Pferden mit RAO (Recurrent Airway Obstruction), dass Pferdebesitzer durch ihre subjektive Einschätzung im Gegensatz zur klinischen Untersuchung durch Tierärzte den Effekt einer Dexamethason-Behandlung im Gegensatz zur Placebo-Gabe eindeutig unterscheiden konnten (Gerber et al. 2011).

In unserer Studie lag eine gute Übereinstimmung der von Tierärzten und Pferdebesitzern angegebenen klinischen Veränderungen von 78,9 % bis 86,0 % für die Erkrankungskategorien

„Unspezifische Allgemeinsymptome“, „Orthopädische Probleme“, „Neurologische Probleme“ und „Sonstige Probleme“ vor.

Da die Ermittlung der lokalen Seroprävalenz eine wesentliche Rolle in der Studie spielte, wurden im Rahmen der Fragebögen genaue Angaben zum Standort des Stalles und möglichen Stallwechseln im letzten halben Jahr erfragt. Was dabei allerdings außer Acht gelassen wurde, war die Möglichkeit, dass die Pferde im Rahmen einer nationalen Turnierteilnahme oder eines Urlaubs beziehungsweise Wanderritts oder anderer Umstände, ebenfalls gereist sein könnten und ein positiver Antikörpertiter sich auch aufgrund einer Infektion im Rahmen des „Reiseverkehrs“ mit Wechsel des Bundeslandes entstanden sein könnte. So war es zum Beispiel bei einem Verdachtstier, für das diese Informationen vorlagen, voraussichtlich vor dem Standortwechsel von Süddeutschland nach Norddeutschland zu dem Kontakt mit Borrelien gekommen, mit der Folge persistierend hoher Antikörperspiegel (Mursic et al. 1990).

Darüber hinaus waren die Fragebögen bereits sehr umfangreich und ein Mehr an Fragen hätte sicherlich den ein oder anderen Tierarzt oder Pferdebesitzer eher von der Teilnahme an der Studie abgeschreckt, weshalb es geboten war, gewisse Grenzen einzuhalten (Jepson et al. 2005).

### **5.1.4 Diskussion der angewendeten labordiagnostischen Verfahren**

Der Einsatz des KELA und SNAP® 4Dx als hochsensitive Diagnostika in der Borreliendiagnostik in Kombination mit dem hochspezifischen LIA, entspricht dem aktuellen Goldstandard der Diagnostik der equinen LB im Sinne eines Zweistufentests (Divers 2013). Um den Ansprüchen einer guten Diagnostik zu genügen, sollten indirekte Erregernachweismethoden die wichtigen Detektionsantigene VlsE oder C6 enthalten (Chandrashekar et al. 2008). Dies war sowohl durch den LIA als auch die zusätzliche Auswertung des SNAP® 4Dx gegeben. Letzterer liefert darüber hinaus verlässliche Ergebnisse für die Ap-AK-Diagnostik (Chandrashekar et al. 2010).

Es wurden also gut etablierte und validierte Testverfahren eingesetzt, wobei der KELA (ein Lysat-ELISA ohne VlsE) vor allem als Screening-Test geeignet ist, auf einfachem Wege seronegative Pferde zu detektieren. Bei den im KELA detektierten Antikörpern kann es sich um unspezifische Antikörper handeln (z.B. AK gegen p41 oder Flagellin), also kreuzreaktive Antikörper, die aufgrund der vielgestaltigen Darmflora des Pflanzenfressers Pferd auch aus anderen Gründen vorhanden sein können. Nichtsdestotrotz konnte im Rahmen der Studie gezeigt werden, dass hohe KELA-Werte ( $> 250$ ) häufiger bei den in der Gesamtbewertung als seropositiv eingestuftten Pferden und niedrige KELA-Werte ( $< 250$ ) häufiger bei den in der Gesamtbewertung als seronegativ eingestuftten Pferden vorhanden waren ( $p = 0,000$ ).

Das im SNAP® 4Dx verwendete C6-Antigen als Anteil des im LIA verwendeten VlsE ist nicht nur sensitiv, sondern auch hochspezifisch. Die Befunde aus dem SNAP® 4Dx und der VlsE-Befund aus dem LIA sollten gut (zu ca. 95 %; Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, persönliche Kommunikation, 21.10.2020) korrelieren. Sehr selten lagen in unserer Studie Antikörper gegen VlsE (n = 114) vor, aber nicht gegen C6 (n = 110), was dadurch zu erklären ist, dass bei diesen Tieren eine Antikörperbildung gegen VlsE stattgefunden hat, aber eben nicht gegen den C6-Anteil des VlsE. Eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse konnte somit bestätigt werden.

In unserer Studie wurde für den SNAP® 4Dx eine Sensitivität in der LB-Diagnostik von 88,5 % ermittelt, wobei nur 40 % (23 von 57) der positiv getesteten Pferde auch im LIA eindeutig seropositiv getestet wurden. Das ist auch der Grund, ELISAs als Screening-Tests einzusetzen, aber positive Screening-Befunde durch einen Immunoblot zu überprüfen (Cerri et al. 2017; Divers et al. 2018), wie hier auch geschehen.

Im SNAP® 4Dx werden neben Antikörpern gegen das C6-Antigen auch Antikörper gegen *Ap* nachgewiesen. Der im Rahmen der Studie als „Koinfektion“ angesprochene Nachweis von Antikörpern sowohl gegen *Bb* als auch *Ap* muss aber nicht auf eine simultane Infektion mit beiden Erregern hinweisen, sondern könnte auch durch einen unabhängig voneinander stattgefundenen und gegebenenfalls bereits etwas zurückliegenden Kontakt mit beiden Erregern entstanden sein, da Antikörper gegen *Ap* als auch *Bb* länger nachweisbar bleiben (Zöller et al. 1989; Mursic et al. 1990; van Andel et al. 1998; Nyindo et al. 1978) bzw. die Erreger zum Teil persistieren können (Franzén et al. 2009; Barthold et al. 1991).

## 5.2 Ergebnisdiskussion

### 5.2.1 Betrachtung der serologischen Ergebnisse

Die labordiagnostische Aufarbeitung von *Bb*-Infektionen beim Pferd wurde bislang nicht standardisiert. Es werden unterschiedliche Borrelienspezies und Serumverdünnungen eingesetzt und noch dazu unterschiedliche Titergrenzwerte bzw. Bewertungskriterien definiert. Daher können die Befunde von Test zu Test und von Labor zu Labor stark variieren (Schönert et al. 2002; Müller et al. 2002). Beim indirekten Erregernachweis kommt der Bestimmung hochspezifischer AK in einem speziesspezifischen Immunoblot große Bedeutung zu. Als spezifische Infektionsmarker equiner Immunreaktionen im Immunoblot gelten VlsE und Proteine mit einem Molekulargewicht von ca. 30-31, 39, 43 sowie 58 kDa. Im LIA werden Proteinbandenkombinationen von VlsE, DbpA und p83 als infektionsspezifische Marker beurteilt (Krupka et al. 2012).

Als *Bbsl*-seropositiv wurden in unserer Studie Probanden eingestuft, bei denen sich aufgrund der ausgewerteten Immunreaktionen ein Verdacht auf das Vorhandensein einer aktiven *Bb*-

Infektion ergeben hatte. Einen positiven *Bb*-Serobefund hatten, nach dieser Definition, 26 Pferde (21 %) aus der Verdachtstier- und 18 Pferde (16 %) aus der Kontrolltier-Gruppe. 51 % (n=63) der Verdachtstiere und 49 % (n=55) der Kontrolltiere wurden ferner negativ und 28 % (n=34) der Verdachtstiere und 35 % (n=40) der Kontrolltiere wurden grenzwertig auf *Bbsl*-AK getestet.

Die Kontrolltiere hatten damit einen von den Fällen kaum zu unterscheidenden Serostatus ( $p=0,887$ ), was aufgrund der vergleichbaren Erregerexposition auch zu erwarten war und zeigt, dass ein positiver AK-Nachweis keineswegs zur Diagnosestellung genügt (Divers et al. 2018). Aus den erhobenen serologischen Befunden ergibt sich außerdem, dass bei den Verdachtstieren eine deutlich geringere Rate infektionsspezifischer AK, die ein aktives Krankheitsgeschehen vermuten lassen, nachgewiesen werden konnte, als von den Einsendern erwartet wurde und zum anderen, ein verhältnismäßig hoher Anteil der klinisch gesunden Kontrolltiere ebenfalls Hinweise auf eine aktive Auseinandersetzung ihres Immunsystems mit Erregern des *Bbsl*-Komplexes zeigte und zwar ohne dass letztere klinische Veränderungen entwickelt hätten. Subklinische Infektionen werden bei Borrelien-Infektionen bei Pferden regelmäßig beobachtet (Burgess und Gendron-Fitzpatrick 1990; Chang et al. 2000b; Chang et al. 2005).

Auch in der Humanmedizin ist bekannt, dass klinisch gesunde Personen, die, wie Waldarbeiter zum Beispiel, eine hohe Erregerexposition aufweisen, in einem hohen Prozentsatz deutlich positive Serotiter gegen *Bb* aufweisen (Fahrer et al. 1989). Die Prävalenz der beschwerdefreien Infektionen ist also hoch. Der alleinige Nachweis eines erhöhten Antikörpertiters hat damit beim Menschen keine klinische Bedeutung (Corpuz et al. 1991) und die Diagnose „Lyme-Borreliose“ wird erst dann gestellt, wenn typische klinische Veränderungen beobachtet wurden und eine antiinfektiöse Chemotherapie die Symptome deutlich vermindert (Fahrer et al. 1989; Satz 1992).

Manion und Kollegen, die ebenfalls eine gesunde Kontrolltiergruppe und eine kranke Verdachtstiergruppe aus einem Endemiegebiet untersucht hatten, fanden in der Verdachtstiergruppe höhere ELISA-Titer, eine höhere Anzahl positiv befundeter Western-Blots und sogar regelmäßig Spirochätämien (VT: 53 %, KT: 5 %) und Spirochäturien (VT: 20 %, KT: 0 %) mittels PCR-Nachweis von *Bb*-AG (Manion et al. 2001). Die Untersuchungsergebnisse lassen sich insofern anzweifeln, als dass eine Ausbreitung von Borrelien über Blut und Urin auszuschließen ist (Liang et al. 2020).

Ein positiver *Ap*-AK-Nachweis lag bei 19,5 % der Verdachts- und 16,8 % der Kontrolltiere vor. Ein Hinweis auf eine Koinfektion mit *Bb* und *Ap* konnte bei sieben (5,7 %) der Verdachtstiere (n=123) und zwei (1,8 %) der Kontrolltiere (n=113) gefunden werden. Bei einer

seroepidemiologischen Studie aus Schweden an 2018 Pferden wurden mögliche Assoziationen zwischen einer Seropositivität gegenüber *Bbsl* und *Ap* und Wirtsfaktoren wie Geschlecht, Alter, Rasse, Nutzung, Zeckenexposition und beobachteten klinischen Veränderungen untersucht. Dabei wurde eine signifikante Korrelation zwischen positiven Serumantikörpertitern gegenüber *Bb* und positiven Serumantikörpertitern gegenüber *Ap* festgestellt (Egenvall et al. 2001). Dass vorangegangene oder Koinfektionen mit *Ap* zu einer Immunsuppression führen und damit eine *Bb*-Infektion begünstigen können, wurde sowohl in der Human- (Nyarko et al. 2006) als auch in der Veterinärmedizin (Beall et al. 2008) bereits gezeigt. Damit könnte die *Ap*-Diagnostik neben der *Bbsl*-Diagnostik ein wichtiger Aspekt in der labordiagnostischen Abklärung von LB-Verdachtsfällen sein.

Die zuvor bereits zitierte seroepidemiologische schwedische Studie, die sich auch mit Signalement und weiteren Risikofaktoren für eine Borrelien- und Anaplasmen-Infektion bei Pferden auseinandersetzte, fand eine etwas höhere *Bb*-Seroprävalenz bei Stuten im Vergleich zu Hengsten und Wallachen, wobei Hengste ja z.B. auch seltener auf der Koppel gehalten werden (Egenvall et al. 2001). Die Anzahl der *Bb*-positiven Tiere bei Stuten lag in unserer Studie mit 23,4 % etwas höher als die der Wallache mit 21,9 %. Nur drei Hengste nahmen an unserer Studie teil, wobei einer davon (33,3 %) *Bb*-seropositiv war. Die Gruppenunterschiede waren allerdings nicht statistisch signifikant. Andere Studien fanden ebenfalls keinen statistisch signifikanten Zusammenhang von Geschlecht und Ergebnis der serologischen Untersuchung (Socoloski et al. 2017).

In der Studie von Egenvall und Kollegen wurden darüber hinaus etwas höhere *Bb*-Seroprävalenzen bei jüngeren Pferden (0-2 Jahre) gefunden, wohingegen *Ap*-Seroprävalenzen mit zunehmendem Alter stiegen (Egenvall et al. 2001). Im Rahmen unserer Studie wurde ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied für die Altersklassen bei den *Bbsl*-AK-Befunden gefunden ( $p=0,011$ ). Bei negativem *Bbsl*-AK-Befund lag das mediane Alter bei 13 Jahren (1-25 Jahre) und bei positivem Befund bei 15 Jahren (5-23 Jahre). Da *Bbsl*-AK über einen längeren Zeitraum persistieren (Zöller et al. 1989), ist ein höheres Durchschnittsalter bei positivem Befund dadurch zu erklären, dass ältere Pferde eine höhere Wahrscheinlichkeit für einen vorangegangenen Erregerkontakt haben. Die *Ap*-Seroprävalenz lag in unserer Studie bei Jungpferden bei 11,1 %, bei adulten Tieren bei 18,3 % und bei Senioren bei 28,6 %; ein Ansteigen auch der *Ap*-Prävalenz bei höherem Lebensalter konnte also, wie in Schweden, beobachtet werden.

Für Rassegruppe und Fellfarbe wurden in unserer Studie keinerlei statistisch signifikante Gruppenunterschiede im Hinblick auf die serologischen Befunde gefunden.

## 5.2.2 Topografische Einordnung der Probanden und Seroprävalenzen

Vergleicht man die in der Literatur beschriebenen landestypischen Seroprävalenzen, so findet man zahlreiche Studien unterschiedlichen Umfangs mit sehr unterschiedlicher Anzahl an untersuchten Pferden, verschiedenen labordiagnostischen Methoden, teils direkten und teils indirekten Erregernachweisverfahren, unterschiedlichen Graden an Erregerexposition in Nicht-Endemie- und Endemiegebieten und allein aus diesen Gründen auch die unterschiedlichsten Seroprävalenzen (Bae 2018; Bernard et al. 1990; Bhide et al. 2008; Carter et al. 1994; Cerri et al. 2017; Cohen et al. 1988; Cohen et al. 1992; Doby et al. 1987; Durrani et al. 2011; Ebani et al. 2012; Egenvall et al. 2001; Fritz 2018; Funk et al. 2016; Gerhards und Wollanke 1996; Hansen et al. 2010; Käsbohrer und Schönberg 1990; Kiss et al. 2011; Laus et al. 2013; Lee et al. 2016; Magnarelli et al. 1988; Magnarelli et al. 2000; Maloney und Lindenmayer 1992; Manion et al. 2001; Marcus et al. 1985; Meersschaert et al. 2016; Metcalf et al. 2008; Müller et al. 2002; Palm 2016; Salinas-Meléndez et al. 2001; Schwartz et al. 2015b; Socoloski et al. 2017; Štefančíková et al. 2008; Štefančíková et al. 2000; Tasai et al. 1993). Dadurch ist eine Vergleichbarkeit kaum gegeben.

Der sehr häufig eingesetzte IFAT hat im Vergleich zum ELISA eine höhere Wahrscheinlichkeit eine LB-Infektion nachzuweisen, allerdings auch wesentlich höhere Raten falsch-positiver Befunde (Dzierzecka und Kita 2002a). Der IFAT wird inzwischen aufgrund der mangelnden Vergleichbarkeit der Ergebnisse (Craft et al. 1984b; Straubinger 2015b) und seiner Unfähigkeit zwischen geimpften Individuen und Feldinfektionen zu unterscheiden (Littman et al. 2006) als ungeeignetes Diagnostikum angesehen. Die unspezifische serologische Testung von Pferden in Endemiegebieten wird außerdem generell in der klinischen Diagnostik als kritisch angesehen, da sie zur Überdiagnose der equinen LB führen könnte (Bartol 2013).

Studien zu *Bb*-Seroprävalenzen bei Pferden in Deutschland liegen vor, allerdings häufig regional beschränkt (Käsbohrer und Schönberg 1990; Palm 2016) oder ohne Erfassung der genauen Herkunft der Tiere (Wollanke 1995; Gerhards und Wollanke 1996; Liebisch et al. 1999; Schönert et al. 2002). In diesen Studien aus Deutschland wurden *Bb*-Seroprävalenzen von 0 % (IFAT) bzw. 16 % (ELISA), je nach Methodik (Käsbohrer und Schönberg 1990), bis 48 % (IFAT) (Liebisch et al. 1999) ermittelt.

Eine deutsche Studie im Rahmen einer Dissertation, bei der mit unserer Studie vergleichbare diagnostische Methoden Anwendung fanden, ermittelte eine *Bb*-Seroprävalenz für Gesamtdeutschland von 13,1 % ( $n_{\text{pos}}=150$  von  $n_{\text{ges}}=1146$ ), also etwa vergleichbare Werte mit denen unserer Kontrolltiergruppe. In dieser Dissertation wurde auch die regionale Verteilung der Seroprävalenzen, aufgegliedert nach Postleitzonen präsentiert. Dabei wurde für

Süddeutschland (PLZ 6-9) eine *Bb*-Seroprävalenz von 8,3 % ( $n_{\text{pos}}=10$  von  $n_{\text{ges}}=121$ ) und für Norddeutschland (PLZ 0-5) von 13,7 % ( $n_{\text{pos}}=140$  von  $n_{\text{ges}}=1025$ ) ermittelt (Fritz 2018).

Ein 1:1-Vergleich ist aufgrund der unterschiedlichen regionalen Einteilung, einmal nach Postleitzonen (Fritz 2018) und in unserer Studie nach Landkreisen und Bundesländern leider nicht möglich. In einigen Bundesländern wurde außerdem im Rahmen unserer Studie nur eine geringe Anzahl an Equiden beprobt, was zu einer Fehleinschätzung des Vorkommens von Borrelioseninfektionen in einzelnen Bundesländern führen könnte. Für Bundesländer, in denen unter zehn Fall-Kontrolltier-Paare teilgenommen hatten, ist also maximal eine vorsichtige Interpretation der Befunde möglich, allerdings gab es in unserer Studie auch Bundesländer wie Bayern, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen und Schleswig-Holstein, in denen zum Teil deutlich mehr als zehn Paare rekrutiert werden konnten. Für Bayern ergab sich eine *Bb*-Seroprävalenz in der Verdachtstiergruppe von 31,6 %, in Niedersachsen von 16,7 %, in Nordrhein-Westfalen von 19,4 % und in Schleswig-Holstein von 15,4 %. Dagegen lagen die *Bb*-Seroprävalenzen in der Kontrolltiergruppe in Bayern bei 5,3 %, in Niedersachsen bei 4,3 %, also niedriger als bei den Verdachtstieren, und in Nordrhein-Westfalen bei 27,3 % und in Schleswig-Holstein bei 16,7 % und somit dagegen etwas höher als bei den Verdachtstieren.

Die Postleitzonen 8 und 9 (etwa dem Bundesland Bayern entsprechend) hatten in der Dissertationsschrift von Fritz eine durchschnittliche *Bb*-Seroprävalenz von 2,4 % ( $n=3$  von  $n_{\text{ges}}=70$ ), die Postleitzonen 3 und 4 (etwa dem Bundesland Niedersachsen entsprechend) von 8,9 % ( $n=23$  von  $n_{\text{ges}}=257$ ), die Postleitzone 5 (etwa dem Bundesland Nordrhein-Westfalen entsprechend) von 22,3 % ( $n=55$  von  $n_{\text{ges}}=247$ ) und die Postleitzone 2 (etwa dem Bundesland Schleswig-Holstein entsprechend) von 12,3 % ( $n=52$  von  $n_{\text{ges}}=423$ ) (Fritz 2018).

Bei den Verdachtstieren unserer Studie konnte ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied für die Regionen Nord- und Süddeutschland für *Bb*-Befunde ( $p=0,022$ ) und Koinfektions-Befunde ( $p=0,001$ ) dargestellt werden. Die Chance für einen positiven *Bb*-AK-Nachweis ist in Süddeutschland 3,1-mal (1,195-7,848) so hoch wie in Norddeutschland und die Chance für den Nachweis von Antikörpern gegen *Bb* und *Ap* (Koinfektion) 23,2-mal (2,651-202,687) so hoch. Die bei den Verdachtstieren vorliegenden statistisch signifikanten Gruppenunterschiede konnten bei der Gruppe der Kontrolltiere nicht nachgewiesen werden.

### 5.2.3 Analyse der Umwelt- und Risikofaktoren

Das Pferd als Pflanzenfresser, das in der Regel Weidegang genießt, hat *per se* ein Expositionsrisiko für Zecken und da der Stich einer einzelnen Zecke ausreicht, dass es zu einer *Bbsl*- und/oder *Ap*-Infektion kommt, ist es stets auch einem Risiko für eine zeckenübertragene Krankheit ausgesetzt ist. Bei der LB handelt es sich um eine persistierende Infektion mit mehr oder weniger permanentem IgG-Antikörper-Stimulus (Barthold et al. 1991;

Zöller et al. 1989). Nichtsdestotrotz ist die Exposition gegenüber Zecken, Borrelien oder Anaplasmen, nicht zwingend mit der Entwicklung einer klinisch manifesten Erkrankung assoziiert (Post et al. 1987; Cohen et al. 1992; Manion et al. 1998b; Divers 2013; Madigan und Gribble 1987).

Laut Besitzerangaben hatten die große Mehrheit der an der Studie teilnehmenden Probanden, unabhängig von der Haltungsform (52,6 % Boxenhaltung, 26,3 % Offenstallhaltung, 15,8 % Weidehaltung, 3,5 % Laufstallhaltung und 1,8 % Sonstige), regelmäßigen Weidegang (98,2 %) während der Weidesaison. 78,9 % der Pferde wurden auch regelmäßig im Gelände bewegt. Es konnten aber keine statistisch signifikanten Gruppenunterschiede für die Faktoren Fellfarbe, Weidegang und Geländenutzung im Hinblick auf die Zeckenexposition gefunden werden. Die Haltung in einem, *per definitionem* „zeckengefährdeten Gebiet“, stellt aber einen Risikofaktor für positiven *Ap*-AK-Befund dar (OR=10,82 (95 %-KI: 1,39-84,14). In Brasilien konnten Socoloski und Kollegen herausfinden, dass bei 89 % der Farmen mit mindestens einem positiven *Bb*-AK-Nachweis bei einem der dort untergebrachten Pferde Weiden vorhanden waren, die an einen Wald grenzten (Socoloski et al. 2017), ebenfalls ein bekannter Risikofaktor für eine erhöhte Zeckenexposition (Deplazes et al. 2012). 72 % dieser Farmen konnten auch regelmäßigen Zeckenbefall bei den Pferden beobachten und bei ebenso vielen wurden auch Prophylaxemaßnahmen gegen Zeckenbefall eingesetzt (Socoloski et al. 2017).

Egenvall et al. hatten für die Pferdepopulation in Schweden eine Assoziation von Weidegang und serologischem Status gefunden. Außerdem waren in Schweden von Juli bis September signifikant höhere *Bb*-Titer und von April-September niedrigere *Ap*-Seroprävalenzen beobachtet worden (Egenvall et al. 2001). Gerhards und Wollanke hatten in Deutschland bei an ERU-erkrankten Pferden die höchsten *Bb*-AK-Titer von Mai bis November beobachtet, wobei zu beachten ist, dass hier der veraltete IFAT als diagnostisches Mittel zum Einsatz gekommen war (Gerhards und Wollanke 1996). Derartige Assoziationen konnten wir bei unserer Probandenpopulation nicht nachweisen.

#### **5.2.4 Analyse der klinischen Befunde**

Pferde werden mit einer Vielzahl relativ unspezifischer klinischer Veränderungen wie diffusen oder wechselnden Lahmheiten, Abgeschlagenheit, Arthritiden, Hufproblemen, Widersetzlichkeit beim Reiten etc., auf Antikörper gegen *Bbsl* und *Ap* getestet und im Falle einer positiven Testung wird allzu gerne angenommen, die klinischen Veränderungen rührten von einer Infektion mit einem dieser Bakterien her (Straubinger 2017). Außerdem hält sich unter einigen Veterinären und Pferdebesitzern die Annahme, dass persistierende Titer auf chronische Stadien einer LB oder EGA hinwiesen (Egenvall et al. 2001). Inwiefern klinische

Veränderungen einem positiven Titer vorangegangen waren, lässt sich im Nachhinein aufgrund der langen Titer-Persistenz aber nicht feststellen (Zöller et al. 1989).

Werden einzig Probleme des muskuloskeletalen Systems beobachtet, ist eine weitergehende differentialdiagnostische Aufarbeitung sinnvoll (Divers et al. 2018; Reed et al. 2017). Vor allem bei Pferden mittleren bis höheren Alters können, in Abhängigkeit der Nutzung und Rasse, vermehrt Verschleißerscheinungen am Bewegungsapparat auftreten, die keine infektiöse Ursache als Auslöser haben (Brosnahan und Paradis 2003; Straubinger 2017). Das Auftreten einer Kombination unspezifischer Veränderungen kann ebenso nicht als verlässliches Merkmal für einen Hinweis auf eine *Bbsl*-Infektion herangezogen werden (Divers 2013). Ein Großteil der Literatur beschriebenen beobachteten klinischen Veränderungen ist aufgrund der geringen Validität der verwendeten Testverfahren (v.a. des IFAT) als unsicher und unspezifisch zu betrachten (Venner und Deegen 1996).

Eine Fragebogenaktion zur equinen LB für praktische Tierärzte wurde in den Jahren 2003 bis 2005 vom Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU München durchgeführt. Gall und Pfister fanden in Ihrer Umfrage heraus, dass chronischer Leistungsabfall der häufigste Vorstellungsgrund war, der zur Verdachtsdiagnose LB führte, gefolgt von chronisch intermittierender, teils umspringender Lahmheit mit Beteiligung eines oder mehrerer Beine und daneben auch neurologische Störungen, Haut-, Augen- und Herzmanifestationen und selten Reproduktionsstörungen waren (Gall und Pfister 2006b). In der zuvor bereits zitierten Studie von Manion und Kollegen waren die häufigsten Vorstellungsgründe der klinisch kranken Patienten zur LB-Diagnostik wechselnde Lahmheiten und Verhaltensänderungen, insbesondere Unwilligkeit beim Reiten. Der Großteil dieser Pferde (86 %) zeigte mehr als eine klinische Auffälligkeit (Manion et al. 2001).

In unserer Studie waren die drei häufigsten Vorstellungsgründe beim Tierarzt Lahmheit (36 Fälle), Leistungsschwäche oder -abfall (19 Fälle) und/oder Apathie bzw. Mattigkeit (12 Fälle). Drei Tierärzte wurden als Zweitmeinung zum Fall hinzugezogen. Insgesamt handelt es sich bei den Vorstellungsgründen ebenfalls sehr häufig um unspezifische Erkrankungszeichen, denn auch ein steifer, klammer Gang, Fieber, Gewichtsverlust, Muskelabbau oder Rittigkeitsprobleme können vielfältige Ursachen haben (Brosnahan und Paradis 2003; Straubinger 2017; Reed et al. 2017). 42,1 % der teilnehmenden Probanden hatten zusätzlich eine oder mehrere chronische Vorerkrankung wie Cushing, Equines Asthma, Arthrose, Hufrehe, Magengeschwüre, Sehnenprobleme, EMND und PSSM, die zum Teil eher als eine LB-Infektion, ursächlich für die beobachteten klinischen Veränderungen waren und oft auch dauerhafte Medikamentengaben erforderten. Die exakte Aufarbeitung der Ätiologie einzelner

klinischer Zeichen multimorbider Patienten erfordert viel Erfahrung und ist teilweise auch nicht möglich (Ballou et al. 2020; Welsh et al. 2016).

42,9 % der an unserer Studie teilnehmenden Pferde zeigten die LB-verdächtigen klinischen Veränderungen zum Zeitpunkt der Studienteilnahme schon seit über sechs Monaten, waren also, nach unserer Definition, chronisch erkrankt. Im Mittel waren es ein Jahr und vier Monate. Die Angaben der Tierärzte zur Krankheitsdauer waren tendenziell niedriger als die der Pferdebesitzer, was daran liegen mag, dass die Tierärzte im Mittel die Pferde erst seit etwa drei Jahren in Behandlung hatten und dadurch nicht die gesamte Krankengeschichte nachverfolgen konnten (Welsh et al. 2016). Manion und Kollegen hatten in ihrer epidemiologischen Fall-Kontroll-Studie zur LB eine Krankheitsdauer der Verdachtstiere vor Untersuchung von unter sechs Monaten bei 86 % (19/22) und über 6 Monaten bei 14 % (3/22) der Pferde genannt bekommen (Manion et al. 2001), also mehr akut erkrankte Patienten in ihrer Studie untersucht. Ein weiterer Grund, warum die Untersuchungsergebnisse so großen Schwankungen unterliegen und die Vergleichbarkeit verschiedener Studien zum Thema so schwierig ist.

Es konnten Gruppenunterschiede bei Betrachtung der *Bbsl*-AK-Befunde im Hinblick auf die Chronizität festgestellt werden ( $p = 0,009$ ). Akut erkrankte Pferde wurden häufiger negativ und chronisch erkrankte Pferde seltener negativ auf *Bbsl*-AK getestet als erwartet. Bei den nach Besitzerangaben chronisch erkrankten Patienten wurden grenzwertige Befunde häufiger als erwartet beobachtet ( $p = 0,002$ ). Akut erkrankte Pferde könnten gegebenenfalls auch schlichtweg zu früh untersucht worden sein, also in einem Stadium, in dem noch keine AK-Bildung stattgefunden hatte (Craft et al. 1984a; Frey und Rao 1995).

Den Borrelioseverdacht äußerten in unserer Studie in 54 % der Fälle der Tierarzt, teils war aber auch eine Internetrecherche (25 %) oder andere Personen (11 %) der Grund, das Pferd mit Verdacht auf LB beim Tierarzt vorzustellen und weitere Diagnostik zu wünschen. Gall und Pfister hatten ebenfalls herausgefunden, dass es oft die Pferdebesitzer waren, die den Tierarzt auf den LB-Verdacht aufmerksam machten (77 %) und der ausdrückliche Untersuchungswunsch der Pferdebesitzer keine Seltenheit war. Einige Tierärzte kommentierten, dass die Diagnose „Lyme-Borreliose“ zu oft missbräuchlich gestellt werde, während andere das Vorkommen der Erkrankung für sehr viel häufiger als allgemein eingeschätzt hielten (Gall und Pfister 2006a).

Die Kategorie „Unspezifische Symptome“ (PB: 80,7 %, TA: 92,0 % der VT) war in unserer Studie die am stärksten repräsentierte Kategorie bei der Frage, welche klinischen Veränderungen zur klinischen Verdachtsdiagnose LB geführt hatten (Mehrfachnennungen waren möglich). Darauf folgten „Orthopädische Probleme“ (PB: 78,9 %, TA: 76,1 % der VT)

und „Neurologische Probleme“ (PB: 51,8 %, TA: 48,7 % der VT). „Sonstige Probleme“ (PB: 30,7 %, TA: 18,6 % der VT) waren am seltensten der Grund für die Verdachtsdiagnose. Dies passt zu den weiter oben genannten häufigsten Vorstellungsgründen, auf die, nach Ausschluss anderer Differentialdiagnosen, eine LB-Diagnostik eingeleitet werden kann (Gall und Pfister 2006a; Manion et al. 2001).

Innerhalb der Kategorie „Unspezifische Symptome“ waren die drei am häufigsten gewählten klinischen Veränderungen (Mehrfachnennungen waren möglich) Leistungsabfall (PB: 67,4 %, TA: 76,9 %), mangelhafte Rittigkeit (PB: 64,1 %, TA: 55,8 %) und Lethargie (PB: 50,0 %, TA: 59,6 %). Unspezifische Veränderungen des Allgemeinbefindens waren zuvor in zahlreichen Publikationen im Zusammenhang mit der equinen LB beschrieben worden (Burgess et al. 1986a; Magnarelli et al. 1988; Hahn et al. 1996; Magnarelli et al. 1997; Passamonti et al. 2015).

Innerhalb der Kategorie „Orthopädische Probleme“ waren die zwei am häufigsten gewählten klinischen Veränderungen (Mehrfachnennungen waren möglich) allgemeine Muskelsteifheit (PB: 68,9 %, TA: 61,6 %) und Lahmheit (PB: 66,7 %, TA: 68,6 %). Lahmheiten traten in 70,4 % der Fälle an mehreren Gliedmaßen auf und fielen hier insbesondere durch ihr intermittierendes Auftreten (in 78,2 % der Fälle). Die Lahmheiten waren häufig (70,7 %) geringgradig (Grad 1 bis 2) und zeigten sich auf den Vorder- (47,7 %) als auch Hintergliedmaßen (52,3 %) etwa gleichermaßen.

Manifestationen der equinen LB am Bewegungsapparat waren zuvor auch schon in zahlreichen Publikationen dargestellt worden (Browning et al. 1993; Passamonti et al. 2015; Burgess et al. 1986b; Sommerauer et al. 2018), wobei experimentell nie Lahmheiten oder Gelenkschwellungen reproduziert werden konnten (Burgess und Gendron-Fitzpatrick 1990; Chang et al. 2005; Chang et al. 2000b). Lahmheiten und insbesondere Hufgelenksarthritiden wurden auf der anderen Seite aber bei positiven *Bb*-Serobefund im Rahmen der schwedischen Studie von Egenvall und Mitarbeitern statistisch signifikant häufiger gefunden. Eine Verbindung zu anderen Formen von Lahmheit, Arthritis oder sonstigen, im Rahmen der Studie erfassten, klinischen Veränderungen konnte auch hier nicht hergestellt werden (Egenvall et al. 2001).

Innerhalb der Kategorie „Neurologische Probleme“ waren die zwei am häufigsten gewählten klinischen Veränderungen (Mehrfachnennungen waren möglich) Hyperästhesie (PB: 61,0 %, TA: 36,4 %) und Ataxie (PB: 50,8 %, TA: 36,4 %). Bei der Ataxie handelte es sich vornehmlich um eine sensorische Ataxie (75 %) und seltener um eine zerebelläre Ataxie (25 %). In der Literatur wurden im Zusammenhang mit der equinen LB Hinweise auf Zusammenhänge mit Störungen im ZNS gefunden und zum Teil auch beim Pferd von einer Neuroborreliose berichtet

(Burgess und Mattison 1987; Schönert et al. 2008; James et al. 2010; Imai et al. 2011; Wagner et al. 2011b; Hahn et al. 1996; Johnstone et al. 2016; Sommerauer et al. 2018).

Eine Neuroborreliose beim Pferd wird äußerst selten diagnostiziert (Imai et al. 2011; Johnstone et al. 2016; Wagner et al. 2011b). Bei Fällen mit Stupor oder anderen, eher unspezifischen, neurologischen Veränderungen ist es besonders wichtig, andere Differentialdiagnosen (u.a. Borna oder West Nile) in Betracht zu ziehen (Richt et al. 2000; Ostlund et al. 2000). Vorberichtlich waren sechs Pferde, die an unserer Studie teilnahmen, bereits auf Borna-Virus-Infektionen getestet worden, davon zwei Pferde positiv. Bei experimentell infizierten Hunden konnte histologisch zwar eine Perineuritis beobachtet werden, die Hunde waren neurologisch aber nicht auffällig (Straubinger et al. 1997a). Auch das Bannwarth-Syndrom des Menschen ist vollständig reversibel bei Behandlung (Preac-Mursic et al. 1984).

Innerhalb der Kategorie „Sonstige Probleme“ waren die zwei an den häufigsten gewählten klinischen Veränderungen (Mehrfachnennungen waren möglich) Hautveränderungen an der Zeckenstichstelle (PB: 62,9 %, TA: 33,3 %) und Augenerkrankungen (PB: 42,9 %, TA: 52,4 %). Bei 77,8 % handelte es sich bei den Hauterscheinungen um Hautknötchen oder Papeln an der Zeckenstichstelle und bei 22,2 % um Rötungen. Eine Konjunktivitis wurde bei 71,4 % der von Augenerkrankungen betroffenen Pferde diagnostiziert, während 28,6 % wegen ERU vorstellig wurden oder in Behandlung waren.

Der Zusammenhang von ERU mit *Bb*-Infektionen wurde in einigen Studien vermutet (Liebisch et al. 1999; Priest et al. 2012; Johnstone et al. 2016), allerdings wurde der Zusammenhang bislang nicht bestätigt, weder durch erhöhte *Bb*-AK-Titer noch durch *Bb*-AG-Nachweis in der Augenkammerflüssigkeit (Gerhards und Wollanke 1996; Wollanke et al. 2017). Andere Augenmanifestationen in Form von Lidödem, Keratitis, Uveitis, Choroiditis und Panuveitis (Liebisch et al. 1999; Priest et al. 2012; Johnstone et al. 2016; Burgess et al. 1986a; Sommerauer et al. 2018) und dermatologische Veränderungen, die mit einer equinen Borrelieninfektion im Zusammenhang stehen könnten, wurden ebenfalls in der Literatur beschrieben (Magnarelli et al. 1988; Liebisch et al. 1999; Chang et al. 2000b; Sears et al. 2012).

Wichtig bleibt schließlich noch zu betonen, dass die oben genannten Symptome diejenigen klinischen Veränderungen waren, die zur Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“ durch den Tierarzt geführt hatten. Die Verteilung der Befunde repräsentiert nicht die tatsächlich gefundenen klinischen Befunde im Zusammenhang mit positiven *Bbsl*- und/oder *Ap*-AK-Nachweisen, worauf später noch näher eingegangen werden soll.

45 der an der Studie teilnehmenden Verdachtstiere (39,4 %) zeigten neben den LB-verdächtigen klinischen Veränderungen auch für die EGA typische Krankheitsanzeichen, insbesondere Ödeme im unteren Extremitätenbereich (61,8 % dieser Pferde) und hohes Fieber (44,1 % dieser Pferde). Egenvall und Mitarbeiter fanden einen Zusammenhang von Gewichtsverlust ( $p=0,015$ ) und Arthrose ( $p=0,015$ ) mit einer positiven *Ap*-Seroprävalenz. Hufgelenksarthrosen wurden besonders oft bei vorliegenden Koinfektionen beobachtet ( $p=0,020$ ). Dagegen war kein Zusammenhang erkennbar für eine positive *Bb*- oder *Ap*-Seroprävalenz und Lahmheit, Abgeschlagenheit und Unwilligkeit beim Reiten (Egenvall et al. 2001). Inwiefern Koinfektionen mit beiden Erregern zur Variabilität des klinischen Bildes der equinen LB beitragen, kann aufgrund der geringen Anzahl der in unserer Studie festgestellten Koinfektionen nicht abschließend beurteilt werden.

25,8 % der als Verdachtstiere teilnehmenden Pferde wurden im Reitsport eingesetzt. Bei Dressurpferden wurden die klinischen Veränderungen „mangelhafte Rittigkeit“ ( $p=0,039$ ), „Steifheit im Genick/Nackebereich“ ( $p=0,032$ ) und „Hyperästhesie“ ( $p=0,044$ ) signifikant häufiger beschrieben. Auch Divers beschrieb, dass die Diagnose equine LB im Sportpferdebereich häufiger gestellt zu werden schien und vermutete, dass dies damit zusammenhängen könnte, dass subtile Änderungen wie Steifheit und Hyperästhesie bei diesen Pferden schneller und leichter bemerkt würden (Divers 2013). Eine Studie aus Brasilien hatte Sport- und/oder Freizeitnutzung (im Gegensatz zu Zucht und Arbeit) als Risikofaktoren ( $p=0,033$ , OR=3,16) für einen positiven *Bb*-AK-Nachweis gefunden (Socoloski et al. 2017).

Den Schweregrad der Erkrankung der im Rahmen unserer Studie beprobten Verdachtstiere schätzten 53,3 % der Tierärzte und Pferdebesitzer als gleich hoch ein. Im Falle einer Abweichung der Einschätzung waren es häufiger die Pferdebesitzer (36,8 %), die ihre Pferde höher einstufte. Nur 22 % der von den Pferdebesitzern als höchstgradig eingestuften Pferde wurden auch vom Tierarzt als höchstgradig erkrankt eingestuft und lediglich 34 % der von den Tierärzten als geringgradig erkrankt eingestuften Pferde wurden auch von ihren Besitzern als geringgradig erkrankt klassifiziert. Inwiefern die Pferdebesitzer aufgrund des hohen Leidensdruckes im Falle eines chronisch kranken Pferdes, für dessen Klinik bislang keine Ursache gefunden werden konnte, den Schweregrad möglicherweise über- oder die Tierärzte aufgrund des fehlenden Alltagseindrucks vom Patienten diesen unterschätzten, kann nur gemutmaßt werden, entbehrt aber der einer eindeutig mess- und nachweisbaren Grundlage (Ballou et al. 2020).

Ein Großteil der Probanden zeigt schubweise klinische Veränderungen (PB: 59,6 %, TA: 64,0 %), gefolgt von permanent bestehenden klinischen Veränderungen (PB: 28,9 %, TA: 31,6 %) und nur selten waren die Befunde erstmalig aufgetreten (PB: 11,4 %, TA: 4,4 %). Auch

dies könnte die Einschätzung des Schweregrads durch den Tierarzt, der den Patienten an Tag X in einem vergleichsweise guten Zustand vorfindet, erschweren (Ballou et al. 2020), während der Pferdebesitzer durch den täglichen Kontakt hier Vorteile hat (Gerber et al. 2011). Bei der Einschätzung des Schweregrads durch die Pferdebesitzer waren statistisch signifikante Gruppenunterschiede bei Unterscheidung *Bb*-seropositiver und grenzwertiger oder seronegativer Fälle zu erkennen ( $p=0,036$ ). Ein geringgradiger Schweregrad wurde häufiger als zu erwarten bei *Bb*-seropositiven Pferden und ein mittelgradiger Schweregrad seltener als zu erwarten bei *Bb*-seropositiven Pferden angegeben. Dies deckt sich mit der Annahme, dass die Mehrheit der *Bb*-Infektionen beim Pferd symptomlos verläuft (Venner und Deegen 1996).

#### 5.2.4.1 Klinische Befunde und *Bbsl*-AK-Nachweise

Statistisch signifikante Gruppenunterschiede bei den beobachteten klinischen Befunden im Zusammenhang mit einem positiven *Bbsl*-AK-Nachweis konnten lediglich bei den von den Tierärzten mitgeteilten Befunden und hier auch nur für die Gruppe der „sonstigen klinischen Veränderungen“ ( $p=0,043$ ) bei den Punkten „dermatologische Veränderungen“ ( $p=0,020$ ) und „Hautknötchen beziehungsweise Papeln“ ( $p=0,020$ ) und außerdem für die klinischen Veränderungen „Lethargie“ ( $p=0,028$ ) und „Gelenkschwellung“ ( $p=0,013$ ), insbesondere der Fesselgelenke ( $p=0,015$ ) gefunden werden.

Sonstige klinische Veränderungen, insbesondere dermatologische Veränderungen wie Hautknötchen und Papeln, traten nach TA-Angaben seltener bei positiv und grenzwertig auf *Bb*-AK getesteten und häufiger als erwartet bei negativ auf *Bb*-AK getesteten Pferden auf. Es wurde also allenfalls eine negative Korrelation festgestellt. Es wurde in keinem Fall von einem Borrelien-assoziierten Pseudolymphom der Haut im Zusammenhang mit positivem *Bbsl*-AK-Nachweis berichtet, wie es von Sears und Mitarbeitern gefunden worden war (Sears et al. 2012).

Eine Lethargie beobachteten die Tierärzte häufiger als erwartet sowohl bei der positiv als auch bei der negativ auf *Bb*-AK getesteten Gruppe und seltener als erwartet bei den grenzwertig auf *Bb*-AK getesteten Pferden, was die Relevanz dieser statistischen Beobachtung für den Praktiker einschränkt, wobei es sich ja ohnehin aufgrund zahlreicher anderer infrage kommender Ursachen nicht als Leitsymptom geeignet hätte (Reed et al. 2017).

Gelenkschwellungen und auch Gelenkschwellungen der Fesselgelenke im Speziellen wurden häufiger als erwartet bei den negativ auf *Bb*-AK getesteten Pferden von den Tierärzten beobachtet. Auch hier kann lediglich für die Praxis geschlussfolgert werden, dass bei Gelenkschwellungen eher nach anderen Ursachen gesucht werden und die LB weiter hinten auf der Differentialdiagnosen-Liste zu stehen kommen sollte, aber auch nicht völlig außer Acht

gelassen sollte. Es existieren durchaus auch Fallbeschreibungen im Zusammenhang mit klinisch manifesten LB-Erkrankungen beim Pferd, die mit Gelenkschwellungen einhergingen (Burgess et al. 1986b; Hahn et al. 1996; Sommerauer et al. 2019).

Ein positiver *Bbsl*-AK-Nachweis war bei einer Lymphozytopenie in der Vorabdiagnostik (mitgeteilte Befunde) häufiger als erwartet zu finden, wobei sich die Lymphozytopenie im Rahmen der hämatologischen Untersuchungen in der Studie nicht nachvollziehen ließ. Es bleibt also unklar, wie diese Korrelation zu erklären sein könnte oder ob es sich hierbei um eine Nonsens-Korrelation handelt. Bei wenigen Pferden konnten im Zusammenhang mit einer *Bb*-Infektion eine milden Anämie und Leukozytose in anderen Studien festgestellt werden (Burgess et al. 1986b; Parker und White 1992), während andere Studien keine Blutbildveränderungen bei den betroffenen Pferden fanden (Manion et al. 2001).

#### **5.2.4.2 Klinische Befunde und *Ap*-AK-Nachweise**

Statistisch signifikante Gruppenunterschiede bei den beobachteten klinischen Befunden im Zusammenhang mit einem positiven *Ap*-AK-Nachweis konnten für die Gruppe der „unspezifischen klinischen Veränderungen“ (PB:  $p=0,043$ ), sowie für die klinischen Veränderungen „Fieber“ (PB:  $p=0,001$ , TA:  $p=0,019$ ) bzw. „hohes Fieber“ (TA:  $p=0,012$ ), Inappetenz (TA:  $p=0,012$ ), „Hinweise auf Meningoenzephalitis“ (TA:  $p=0,039$ ) und „Hautrötung“ (TA:  $p=0,039$ ) festgestellt werden. Außer der klinischen Veränderung „hohes Fieber“ wurde keine der auf eine EGA hinweisende klinische Veränderung bei *Ap*-AK-positiven Pferden häufiger als erwartet festgestellt.

Die Chance für einen positiven *Ap*-AK-Befund bei unspezifischen Krankheitsanzeichen ist 6,6-mal (0,84-51,91) höher als bei Fehlen unspezifischer klinischer Veränderungen (PB-Angaben). Insbesondere bei Fieber ist die Chance für einen positiven *Ap*-AK-Befund 7,01-mal (2,40-20,51) (PB-Angabe) bzw. 3,54-mal (1,28-9,73) (TA-Angabe) höher als wenn keine Temperaturerhöhung beobachtet wurde. Auch bei Inappetenz liegt eine 4,54 -mal (1,44-14,29) (TA-Angabe) höhere Chance für einen positiven *Ap*-AK-Nachweis vor. Hinweise auf Meningoenzephalitis (TA-Angabe) wurden häufiger als erwartet bei *Ap*-AK-positiven Tieren gefunden, ebenso Hautrötungen (TA-Angabe).

Fieber ist eine typische klinische Manifestation der EGA. Es geht häufig mit Inappetenz einher (Gribble 1969; Madigan und Pusterla 2000; Schusser et al. 2007). Eine Art epileptiformes Anfallsgeschehen mit akuter Paralyse wurde bei EGA beschrieben (Nolen-Walston et al. 2004), ebenso wie breitbeiniger Stand und Ataxie (Pusterla und Madigan 2014). Ein Zusammenhang mit dermatologischen Veränderungen wurde allerdings bislang in der Literatur nicht beschrieben und aufgrund der geringen Fallzahl ist dieser auch in unserer Studie als höchst fraglich einzustufen.

#### **5.2.4.3 Klinische Befunde und Nachweis von Antikörpern hinweisend auf eine Koinfektion**

Statistisch signifikante Gruppenunterschiede bei den beobachteten klinischen Befunden im Zusammenhang mit positiven AK-Nachweisen gegen beide Erreger konnten für die klinischen Veränderungen „Kopfnervenausfälle“ (TA:  $p=0,030$ ) und „Hinweise auf Meningoenzephalitis“ (TA:  $p=0,003$ ) festgestellt werden. Kopfnervenausfälle und Hinweise auf Meningoenzephalitis wurden häufiger als erwartet bei koinfizierten Tieren gefunden, allerdings jeweils nur bei zwei Tieren, weswegen die Relevanz dieser Auffälligkeit unklar bleibt.

Bei den in der Literatur beschriebenen Fällen von Enzephalitiden (Burgess und Mattison 1987; Johnstone et al. 2016; Imai et al. 2011) und Gesichtsnervenausfällen infolge einer Neuroborreliose beim Pferd wurde nach Wissen der Autorin nicht auf Koinfektionen hin untersucht. Dies wäre interessant durch weitere Studien näher zu untersuchen.

#### **5.2.5 Diskussion der von den Tierärzten durchgeführten Diagnostik und Therapie**

Die Diagnosestellung der equinen LB stellt sich als diffizil dar, da Vorberichte oft unvollständig, Krankheitsverläufe unspezifisch und Prophylaxemaßnahmen ungenügend sind (Bartol 2013). Serologische Nachweisverfahren, die in der Lage sind, aktive Infektionen mit hochspezifischen Markern zuverlässig zu erfassen und deren klinische Relevanz einzuordnen, kommt große Bedeutung zu (Krupka et al. 2012).

Bei 25,9 % der an der Studie teilnehmenden Pferde war bislang keine spezielle Untersuchung einzelner Organsysteme erfolgt und bei 12,3 % auch keine Labordiagnostik eingeleitet worden. Die am häufigsten eingesetzte spezielle Untersuchung war eine orthopädische Untersuchung, die bei 70,0 % der Probanden durchgeführt wurde. Bei 69,3 % war bereits ein Differentialblutbild erstellt worden, bei 64,9 % eine eingehende klinisch-chemische Blutuntersuchung und bei 56,1 % weiterführende Infektionsdiagnostik.

Von 47,4 % der Pferde lag also bereits ein (oder mehrere) Befund(e) aus der LB-Diagnostik vor. Dabei wurden die Tests teilweise auch schon wiederholt und bei 35,5 % eine Titer-Verlaufskontrolle durchgeführt. Positive IgG-Immunoblot-Ergebnisse waren oft gegen unspezifische Antigene wie p41 (Flagellin), p53, p83/100, gerichtet und nur teilweise gegen spezifische Antigene wie VlsE, DbpA, p39 (BmpA) und C6. Die Validität der eingesetzten Untersuchungsverfahren war hierbei zum Teil als gering zu beurteilen (Zöller et al. 1991).

Nur in wenigen Fällen (18,6 %) konnten die *Bb*-Serobefunde der Vorabdiagnostik mittels der in unserer Studie eingesetzten Testverfahren 1:1 reproduziert werden, also dass sich beispielsweise ein grenzwertiger Befund erneut als grenzwertiger Befund nachweisen ließ, was aber auch an der zum Teil zeitlich schon länger zurückliegenden Vorabdiagnostik liegen

könnte. Bei den in der Vorabdiagnostik positiv getesteten, aber in unserer Studie grenzwertig oder negativ getesteten Probanden, handelte es sich vermutlich vornehmlich um Pferde, bei denen der Erregerkontakt schon länger zurücklag oder keine ausgeprägte Antikörperbildung stattgefunden hatte, was sich in relativ niedrigen KELA-Werten in unserer Studie widerspiegelte.

Bei Probanden, die zuvor bereits positiv auf *Bbsl*-AK getestet worden waren, könnte eine Verzerrung der Wahrnehmung („perception bias“) aktueller und vorangegangener klinischer Veränderungen auftreten und die Informationen hinsichtlich der Risikoexposition verzerrt sein („information bias“) (Wacholder et al. 1992b). Diese wurde im Rahmen der Studie nicht weiter untersucht, kann aber nicht ausgeschlossen werden.

Bei vier Patienten wurde ein *Bb*-IgM-Immunoblot durchgeführt. Letzterer eignet sich in der Theorie zur Detektion früher Infektionen. In der Regel ist davon auszugehen, dass der Zeitpunkt, zu dem ein Pferd nach Infektion mit Borrelien symptomatisch wird und damit die Diagnostik eingeleitet wird, im Infektionsverlauf deutlich später ist (Butler et al. 2005).

62,3 % der an der Studie teilnehmenden Pferde war bereits vorbehandelt. Innerhalb der Gruppe der vorbehandelten Pferde hatten 68,2 % der Pferde eine Antibiose erhalten, allen voran Doxycyclin (37,0 % der mit Antibiose behandelten Pferde) und dies im Mittelwert über 21 Tage. Auch nichtsteroidale Antiphlogistika waren in einigen Fällen (42,4 %) schon eingesetzt worden, am häufigsten Flunixin-Meglumin (41,7 % der mit NSAIDs behandelten Pferde). Bei 30,3 % der vorbehandelten Probanden waren komplementärmedizinische Therapiemethoden eingesetzt worden, wie Homöopathie (37,0 %) und Phytotherapie (25,9 % der naturheilkundlich vorbehandelten Pferde). Für das Pferd ist derzeit in Deutschland weder ein zugelassenes Doxycyclin zur oralen Anwendung noch Oxytetracyclin zur intravenösen Anwendung auf dem Markt. Um diese Antibiotika beim Pferd zu verwenden, muss ein Präparat, das für andere Tiere zugelassen wurde, gemäß der Umwidnungskaskade (§ 56a Abs. 2 AMG) eingesetzt werden. Nichtsdestotrotz entspricht eine Doxycyclingabe den aktuellen Therapieempfehlungen bei equiner LB (Divers 2013).

Bei der Mehrheit der vorbehandelten Pferde war auch eine Besserung unter der Therapie (PB: 59 %, TA: 51 %) eingetreten, bei einigen sogar die vollständige Genesung (PB: 13 %, TA: 16 %), wobei die Angaben bezüglich des eingetretenen Therapieerfolgs von Pferdebesitzern und Tierärzten mit 75,9 % eine relativ gute Übereinstimmung zeigten. Dabei waren einzig für die Gruppe der Patienten, die vorab mittels Antibiose vorbehandelt worden waren, aus Sicht der Pferdebesitzer ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied hinsichtlich des Therapieerfolgs zu verzeichnen ( $p = 0,039$ ). In mehr als den zu erwartenden Fällen trat eine Besserung oder gar Genesung auf. Ob es sich hierbei um den Erfolg der antibakteriellen

Chemotherapie oder um die, beim Doxycyclin ebenso beschriebene, entzündungshemmende Wirkung handelt (Yu, Jr. et al. 1992; Davis et al. 2006), kann nicht beurteilt werden.

Der alleinige Nachweis eines *Bb*-Antikörper-Titers genügt nicht als Rechtfertigung für eine Therapie. Die Devise lautet beim Pferd: Langsames Herantasten und ständiges Beobachten! Spricht das Pferd gut innerhalb weniger Tage auf die Antibiose an, kann diese fortgeführt werden. Tritt keine Besserung ein, sollte die Diagnose überdacht werden (Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, persönliche Kommunikation, 21.10.2020).

### **5.2.6 Diskussion der durchgeführten Prophylaxemaßnahmen**

90,4 % der an der Studie teilnehmenden Pferde wurde regelmäßig geimpft, wobei nur 4,4 % auch gegen LB geimpft wurden. Pferde, die regelmäßig gegen andere Infektionskrankheiten, entsprechend den Empfehlungen der StIKo Vet. geimpft wurden, wurden eher auch gegen LB geimpft ( $p=0,053$ ). Die LB-Impfung wurde auf Rückfrage allerdings von 67,9 % der Pferdebesitzer in Betracht gezogen. Gründe für das bisherige Nichtimpfen waren vor allem der Wunsch, sein Pferd grundsätzlich so wenig wie nötig zu impfen (33,9 %) und die fehlende Aufklärung bzw. das fehlende Wissen um eine Impfung (25,7 %). Laut StIKO Vet. zählt die LB-Impfung beim Pferd zu den Non-Core Impfungen. Eine Impfung infizierter Pferde sei derzeit nicht zu empfehlen. Pferde, von denen anzunehmen ist, dass sie Kontakt zu Zecken hatten, sollten vor der Impfung mittels AK-Nachweis auf eine eventuelle Infektion hin untersucht werden, ansonsten sollte die Impfung nach Risiko-Nutzen-Abwägung erfolgen (Ständige Impfkommission Veterinärmedizin 2019). Die Impfung zeigte in einer experimentellen Studie einen guten Schutz vor der Infektion (Chang et al. 2000c).

Die Anzahl der beobachteten Zecken in der letzten Weidesaison schwankte regional stark: während 17,5 % der Pferdebesitzer bei ihren Tieren gar keine Zecken beobachtet hatten, gaben 3,4 % an, mehr als eine Zecke pro Tag, also über 100 Zecken gerechnet auf die komplette Weidesaison, auf ihren Pferden gefunden zu haben. Tendenziell wurden in Norddeutschland mehr Zecken detektiert als in Süddeutschland und dies auch über einen längeren Zeitraum des Jahres. Da zahlreiche Faktoren die lokale und temporäre Zeckenpopulationsdichte beeinflussen, gibt es keine fixen Zahlen zur Zeckenanzahl verschiedener Regionen oder gar Bundesländer in Deutschland (Boehnke et al. 2015), wobei inzwischen Modelle entwickelt wurden, um Zeckenpopulationsdichten einzuschätzen (Brugger et al. 2016). Brugger und Mitarbeiter berechneten geringe Zeckenpopulationsdichten im Alpenvorland und Norddeutschen Tiefland, geringe bis mittlere Zeckenpopulationsdichten in urbanen Regionen wie Berlin, München und Hamburg und hohe Zeckenpopulationsdichten in großen Teilen der Bundesländer Bayern, Baden-Württemberg, Saarland, Rheinland-Pfalz und Hessen, aber auch Nord-Brandenburg, West-Niedersachsen und dem westlichen Nordrhein-Westfalen (Brugger et al. 2016).

In der Regel waren die Zecken bei Fund bereits angeheftet (77,6 %) und hatten damit Gelegenheit, Krankheitserreger zu übertragen (Piesman et al. 1987). Die Monate Mai bis Juli waren die Monate mit den meisten Zeckenfunden, wobei sich die Funde über das ganze Jahr (von Januar bis Dezember) erstreckten. Wurden Zecken auf den Pferden gefunden, wurden diese in der Mehrheit der Fälle (56 %) fachgerecht, entsprechend der vom Kleintier übertragbaren ESCAAP-Empfehlungen (ESCCAP 2011), mittels Zeckenzange oder Pinzette entfernt.

Prophylaxemaßnahmen sollten an die regionale „Hauptzeckensaison“ angepasst geplant werden (Butler et al. 2005; Pusterla und Madigan 2013; Blagburn et al. 2004). 58,4 % der Pferdebesitzer versuchten einen Zeckenbefall prophylaktisch durch Einsatz von Repellentien zu verhindern. Abhängig vom Präparat, wurde dieses täglich (36,4 %), bedarfsangepasst, also z.B. vor dem Ausritt oder Weidegang (28,8 %) oder nach Anwendungsempfehlung (6,1 %) verwendet. Mehrheitlich handelt es sich bei den eingesetzten Repellentien um Präparate aus dem Reitsportfachhandel (60 %), wobei auch Präparate vom Tierarzt (22,7 %) zum Einsatz kamen. Gall und Pfister hatten in ihrer Fragebogenstudie festgestellt, dass 46,5 % der Pferdebesitzer selten und 30 % der Pferdebesitzer regelmäßig Repellentien einsetzten, also mehr als in unserer Studie. Dabei kamen besonders häufig die vom Tierarzt verordnete Wellcare® Emulsion (32 %), gefolgt von weiteren Permethrin-haltigen Produkten (10 %) zum Einsatz (Gall und Pfister 2006b).

Ein fehlender Repellentieneinsatz war in unserer Studie mit einer höheren 2,7-mal (1,07-7,00) höheren Chance für einen positiven *Ap*-AK-Nachweis assoziiert. Der prophylaktische Repellentieneinsatz könnte also durchaus vor Infektionen mit zeckenübertragenen Erregern schützen.

### **5.2.7 Diskussion des Meinungsbildes der Tierärzte**

DeVilbiss und Mitarbeiter hatten in einer Umfrage unter Tierärzten zur Wahrnehmung des Auftretens ausgewählter neurologischer Erkrankungen bei Pferden festgestellt, dass *Bbsl*-Infektionen in vielen Praxen nur selten oder gar nicht diagnostiziert wurden (45,1 %), in einigen dagegen schon (27,5 %), wobei die klinische Manifestation einer LB beim Pferd nur selten regelmäßig in den Praxen gesehen wurde (7,8 %) und die Existenz einer klinisch manifesten equinen LB zum Teil auch gänzlich ausgeschlossen wurde (2,0 %) (DeVilbiss et al. 2009). In unserer Studie zweifelten 6 % der teilnehmenden Tierärzte die Existenz einer klinisch manifesten LB-Erkrankung beim Pferd an, während sich der Rest entweder mit der LB beim Pferd im Praxisalltag konfrontiert sah (51 %) oder die Möglichkeit einer LB-Infektion beim Pferd zumindest nicht kategorisch ausschloss (43 %). Im Rahmen der Fragebogenaktion zur equinen LB von Gall und Pfister gaben wiederum von den 118 teilnehmenden Tierärzten 66

(56 %) an, dass Pferde an Monoinfektionen mit *Bb* erkranken können, während 19 (16 %) annahmen, dass es zusätzlicher pathogener Faktoren zur Ausprägung einer klinisch manifesten Erkrankung bedarf. Gegen eine Erkrankungsmöglichkeit von Pferden an LB sprachen sich in dieser Studie 21 Tierärzte (18 %) aus (Gall und Pfister 2006a).

Lediglich 11 Fälle von equiner LB wurden an der Cornell University in den Jahren 1997 bis 2007 diagnostiziert. Davon waren fünf Patienten wegen Lahmheit vorstellig, ein Patient wegen Steifheit, einer wegen Ataxie und einer wegen Uveitis. Ein weiterer Patient zeigte Uveitis und Lahmheit, einer Ataxie und Fazialisparese und einer Lahmheit, Gelenkschwellung, Hyperästhesie und Muskelschwund (DeVilbiss et al. 2009). Die jährlichen Fallzahlen in den teilnehmenden Praxen in der Studie von Gall und Pfister bewegten sich überwiegend zwischen einem und über zehn erkrankten Pferden. Tierärzte, die Pferde als empfänglich für *Bb*-Infektionen einstufen, diagnostizierten die meisten Fälle (Gall und Pfister 2006a). In unserer Studie wurden in den teilnehmenden Praxen pro Jahr zwischen null und sechs Fälle equiner LB diagnostiziert, wobei auch ein Tierarzt einer Praxis, der die Existenz der LB beim Pferd infrage stellte, in seiner Praxis einen Fall einer Borrelien-Infektion beim Pferd behandelte. Die Häufigkeit von LB-Fällen in der eigenen Praxis korreliert deutlich mit der Einschätzung der klinischen Relevanz der LB ( $p=0,000$ ).

In der Studie von Gall und Pfister gaben die Praxen an, Verdachtsdiagnosen meist durch indirekte Erregernachweise in Form serologischer Untersuchungen zu stützen (41 %), wobei einige zusätzlich direkte Erregernachweisverfahren wie Kultur oder PCR (47 %) einsetzten. Folgeuntersuchungen wurden von etwa der Hälfte der Tierärzte (44 %) nicht eingesetzt (Gall und Pfister 2006a). Auch in unserer Studie fielen die Antworten mehrheitlich für den indirekten Erregernachweis aus (68,2 %), wobei auch hier teilweise zusätzlich direkte Erregernachweise (27,3 %) verwendet wurden und 4,5 % der Praxen ausschließlich direkte Erregernachweise einsetzten. Beim indirekten Erregernachweis wurden am häufigsten Zweistufentests aus ELISA und Immunoblot (36,1 %) eingesetzt. Folgeuntersuchungen zur Kontrolle des *Bb*-Antikörpertiters oder zur Absicherung der Diagnose auf andere Art und Weise wurden, laut unserer Erhebungen, von 53 % der Tierärzte eingesetzt.

Gall und Pfister fanden heraus, dass die Behandlung der equinen LB vor allem auf dem Einsatz von Antibiotika (29 %), teilweise kombiniert mit Antiphlogistika (26 %), basierte. Einige wenige Tierärzte wandten auch Homöopathie (4 %) und andere naturheilkundliche Verfahren (2 %) an. Die am häufigsten eingesetzten Wirkstoffe gehörten zur Gruppe der Tetracykline, Penicilline oder Cephalosporine mit einer Behandlungsdauer zwischen zwei bis maximal sechs Wochen (Gall und Pfister 2006a).

Dies konnten wir in unserer Umfrage ebenso belegen. Mehrheitlich wurden bei LB-Verdacht Antibiotika (92,7 %) eingesetzt, teils auch Homöopathika (7,3 %). Das am häufigsten eingesetzte Antibiotikum war Doxycyclin in einer Dosis von 10 mg/kg alle 12 Stunden *per os*. Auch Oxytetracyclin, Cefquinom, Tetracyclin und Ceftiofur wurden im Rahmen der LB-Behandlung in den befragten Tierarztpraxen verwendet. Die Dauer der Antibiose belief sich üblicherweise auf drei oder vier Wochen.

In der Meinungsumfrage von Gall und Pfister konnte ferner gezeigt werden, dass Tierarztpraxen, in deren Praxisalltag die equine LB präsent war, ihrem Kundenkreis auch häufiger prophylaktische Repellentien gegen Ektoparasiten empfahlen. Bei den angewandten Wirkstoffen stand Permethrin an erster Stelle, weniger häufig auch Deltamethrin, Fipronil, Phoxim, Hydroxyethyl-Isobutyl (Autan®), Ivermectin, Doramectin sowie Knoblauch und andere pflanzliche Präparate (Gall und Pfister 2006a). Permethrin, gefolgt von Deltamethrin empfahlen auch die an unserer Studie teilnehmenden Tierärzte am häufigsten. Nur 54 % empfahlen allerdings überhaupt die generelle Verwendung einer Zeckenprophylaxe.

Die LB-Impfung fürs Pferd wurde bislang in 41 % der teilnehmenden Praxen regelmäßig eingesetzt, vor allem auf Besitzerwunsch. In den anderen Praxen dürfte die fehlende Akzeptanz und Nachfrage der Besitzer wohl ein limitierender Faktor sein.

### **5.3 Schlussfolgerungen und Ausblick**

Eine stattgefundene Borrelien-Exposition eines Pferdes lässt sich in den meisten Fällen mit einem serologischen Test nachweisen. Der Versuch zu bestimmen, ob die Exposition auch auf eine Infektion und klinische Erkrankung hindeutet, ist jedoch bei Pferden nicht einfach möglich (Bartol 2013). Die Bandbreite der klinischen Veränderungen, die im Rahmen der LB beim Pferd auftreten, ist unbekannt, aber aus experimentellen Studien ist bekannt, dass bei Infektion mit Erregern des *Bbsl*-Komplexes Pathologien bei den betroffenen Pferden auftreten können (Divers et al. 2003).

Die Erkenntnisse aus der Humanmedizin zum Krankheitsbild der LB lassen sich nur in einem sehr beschränkten Umfang auf das Pferd übertragen. Weder ist das beim Menschen pathognomonische Erythema migrans beim Pferd beschrieben, noch durchlaufen Pferde ein dreiphasiges Krankheitsbild wie es beim Menschen üblich ist (Straubinger 2017). Einzig die Erkenntnis, dass Borrelien langanhaltende Infektionen auslösen können, in deren Verlauf Antikörper gebildet werden, die in ihrer Spezifität denen anderer Wirte entsprechen, lässt sich übertragen (Chang et al. 2000b; Krupka et al. 2012).

Bis klinische Anzeichen experimentell reproduziert werden können, bleibt der Zusammenhang zwischen Infektion und klinischer Erkrankung bei Pferden spekulativ (Divers 2013) und so wird die Existenz einer klinischen LB beim Pferd von Tierärzten zum Teil gänzlich angezweifelt (Gall

und Pfister 2006b; DeVilbiss et al. 2009) und gleichzeitig vor einer Überdiagnose gewarnt (Bartol 2013).

Die antibiotische Behandlung beim Pferd allein aufgrund erhöhter *Bbsl*-Serumtiter entbehrt jeder klinischen Grundlage. Auch das Zusammentreffen bislang ungeklärter Lahmheiten oder anderer unspezifischer klinischer Veränderungen mit erhöhten *Bbsl*-Titern stellt keine Indikation für eine antibiotische Behandlung dar und sollte vielmehr Anlass für eine differenzierte Diagnostik sein (Venner und Deegen 1996).

Ziel unserer Studie war es unter anderem, mögliche Assoziationen zwischen klinischen Veränderungen und Serumantikörpern zu finden. Das Vorhandensein von Antikörpern gegen *Bbsl* oder *Ap* ist aber nicht generell mit klinischen Veränderungen verknüpft. Ein eindeutiges Krankheitsbild konnte auch im Rahmen unserer Studie nicht herausgearbeitet werden. Unsere Hoffnung ist es, dass diese Information zu einem kritischeren Umgang mit positiven Antikörperbefunden bei diesen Bakterien führen möge.

Die im Rahmen der Studie erhobenen Ergebnisse sind als bedingt vorläufig, offen für Kritik und spätere Korrekturen zu sehen. Es ist nicht auszuschließen, dass künftige Untersuchungen mit zunehmendem Wissen um die Erkrankung, Beprobung einer größeren Pferdepopulation, effektiveren Prophylaxemaßnahmen und anderer Erregerexposition zu abweichenden Ergebnissen kommen. Interessant wären vor allem weitere Studien zur Relevanz von Koinfektionen mit *Bb* und *Ap* und die Klärung spezifischer Fragestellungen nach Validierung der eingesetzten Testverfahren.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

### Klinische Relevanz der Lyme-Borreliose und der Equinen Granulozytären Anaplasrose bei Pferden in Deutschland

Unspezifische klinische Veränderungen, oftmals chronische Krankheitsverläufe, verzweifelte Pferdebesitzer und fehlendes Wissen um eine Erkrankung, die sich experimentell bislang nicht reproduzieren ließ, führen zu Unsicherheit in der Borreliendiagnostik bei Pferden. Das Fehlen eines einheitlichen Krankheitsbildes oder pathognomonischer klinischer Veränderungen wie in der Humanmedizin und auch die mangelnde Standardisierung der Untersuchungsmethoden tragen ihr Übriges zur Verunsicherung bei.

Ziele dieser Arbeit waren es, Einblicke in die Seroprävalenzen von *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*Bbsl*) und *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) Infektionen bei Pferden in Deutschland zu erlangen, Risikofaktoren für eine Infektion zu ermitteln, das Krankheitsbild der equinen Lyme-Borreliose besser einzugrenzen und die klinische Relevanz sowohl der equinen Lyme-Borreliose (LB) als auch der Equinen Granulozytären Anaplasrose besser einschätzen zu können. Hierzu sollte eine kranke Fallgruppe mit klinischem LB-Verdacht mit einer gesunden Kontrolltiergruppe verglichen werden, wobei für die Untersuchung jedes Verdachtstieres ein Kontrolltier aus demselben Stall, im Sinne eines 1:1-Matchings, Voraussetzung war.

Im Rahmen dieser Studie wurden Blutproben von Pferden aus ganz Deutschland mittels ELISA und Immunoblot auf *Bbsl*- und mittels eines validierten Snap-Tests (SNAP® 4Dx Plus® ELISA) auf *Ap*-Antikörper untersucht. Die eingesetzten serologischen Untersuchungsmethoden entsprachen dem aktuellen Goldstandard der equinen LB-Diagnostik im Sinne eines Zweistufenverfahrens mit sensitivem Screeningtest und spezifischem Bestätigungstest. Umfangreiche Fragebögen für Pferdebesitzer<sub>(PB)</sub> betroffener Patienten und behandelnde Tierärzte<sub>(TA)</sub> dienten der Erhebung begleitender Daten zum Signalement, Krankheitsbild, medizinischer Vorgeschichte und der Erhebung von Risikofaktoren für die Erregerexposition.

Bei 114 Fall-Kontrolltier-Paaren lagen alle Unterlagen und die notwendigen Blutproben vor. Insgesamt wurden 236 Pferde in die Studie eingeschlossen, davon 123 kranke Fall- bzw. Verdachtstiere und 113 gesunde Kontrolltiere. Die Probenerhebung fand von Mai 2017 bis August 2018 statt. Die häufigsten Vorstellungsgründe, die zur Teilnahme an der Studie geführt hatten, waren Lahmheit (n=36 von n<sub>ges</sub>=79; 45,6 %), Leistungsschwäche (n=19; 24,1 %) und Apathie (n=12; 15,2 %). Bei fast der Hälfte der Patienten wurden die klinischen Veränderungen bereits seit über sechs Monaten beobachtet (n=48 von n<sub>ges</sub>=112; 42,9 %). Zahlreiche Tiere zeigten mehrere, oftmals unspezifische klinische Veränderungen (n=104 von n<sub>ges</sub>=114;

92,2 %) und/oder litten zusätzlich unter einer chronischen Erkrankung (n=48 von n<sub>ges</sub>=114; 42,5 %).

Oft war der ausdrückliche Untersuchungswunsch der Pferdebesitzer (n=53 von n<sub>ges</sub>=114; 46,5 %) Grund für die Studienteilnahme. Obwohl in vielen Fällen schon eine weiterführende Infektionsdiagnostik (n=64 von n<sub>ges</sub>=114; 56,1 %) durchgeführt worden war, wurden einige Pferde bislang noch nicht weitergehend labordiagnostisch untersucht (n=14 von n<sub>ges</sub>=114; 12,3 %) und bei 15 % der Probanden (n=29 von n<sub>ges</sub>=112) war bislang noch keine eingehende Untersuchung einzelner Organsysteme erfolgt.

Die hohe Zahl klinisch inapparenter Verläufe von Infektionen mit *Bbsl* konnte durch die hohe nachgewiesene Zahl seropositiver Probanden (n=18 von n<sub>ges</sub>=113; 15,9 %) in der gesunden Kontrolltiergruppe bestätigt werden. In der Verdachtstiergruppe mit klinischem Borrelioseverdacht wurden nur bei geringgradig mehr Pferden infektionsspezifische Antikörper nachgewiesen, welche das Vorhandensein einer aktiven Borrelieninfektion nahelegen (n=26 von n<sub>ges</sub>=123; 21,1 %). Insgesamt ergab sich ein kaum unterscheidbarer Serostatus von Verdachtstier- und Kontrolltiergruppe ( $p=0,887$ ). Regionale Unterschiede in der Seroprävalenz konnten festgestellt werden: In Süddeutschland (n=15 von n<sub>ges</sub>=55; 27,3 %) wurden häufiger als in Norddeutschland (n=29 von n<sub>ges</sub>=166; 17,5 %) Nachweise von *Bbsl*-Antikörpern ( $p=0,022$ ) erbracht. Auch die Chance für den Nachweis von Antikörpern, die auf Koinfektion mit *Ap* hindeuteten, ist in Süddeutschland höher (OR=3,1 (1,195-7,848)).

Für die equine LB charakteristische klinische Veränderungen, anhand derer sich diese eindeutig identifizieren ließe, konnten mit dem gewonnenen Datenmaterial nicht herausgearbeitet werden. Es konnte weder das gehäufte Auftreten unspezifischer Störungen des Allgemeinbefindens ( $p_{PB}=0,183$ ;  $p_{TA}=0,043$ ), noch Lahmheiten ( $p_{PB}=0,711$ ;  $p_{TA}=0,782$ ) oder Gelenkschwellungen ( $p_{PB}=0,682$ ;  $p_{TA}=0,013$ ) im Zusammenhang mit positiven *Bb*-Serobefunden beobachtet werden. Die Chance für einen positiven *Ap*-Befund war, wie zu erwarten, bei Fieber (OR<sub>PB</sub>=7,01 (2,40-20,51), OR<sub>TA</sub>=3,54 (1,28-9,73)) und Inappetenz (OR<sub>TA</sub>=4,54 (1,44-14,29)) erhöht. Bei Koinfektionen wurden auffallend häufig neurologische Manifestationen, wie Kopfnervenausfälle ( $p_{PB}=0,408$ ;  $p_{TA}=0,030$ ) und Hinweise auf Meningoenzephalitis ( $p_{PB}=0,061$ ;  $p_{TA}=0,003$ ) diagnostiziert, wobei letztere Korrelation aufgrund der geringen Anzahl an betroffenen Patienten mit einer gewissen Unsicherheit hinsichtlich der Relevanz für die Praxis behaftet ist.

Die Tierärzteschaft zeigte sich gespalten, was ihre Einschätzung der klinischen Relevanz der LB beim Pferd generell betrifft: 51,4 % der Tierärzte (n=37 von n<sub>ges</sub>=72) gaben an eine klinisch manifeste Lyme-Borreliose Erkrankung beim Pferd in der Praxis gesehen zu haben, während der Rest (n=35 von n<sub>ges</sub>=72; 48,6 %) die Existenz ausschloss oder selbst noch keine Fälle gesehen hatte.

Der serologische Nachweis infektionsspezifischer Antikörper mittels Zweistufentest und ergänzendem C6-Peptid-Schnelltest liefert einen wichtigen Hinweis auf *Bbsl*- und *Ap*-Infektionen, kann und darf jedoch eine eingehende Diagnostik nicht ersetzen. Die verknüpfte Untersuchung verschiedener zeckenübertragener Erkrankungen, vor allem von Borrelien- und Anaplasmen-Infektionen kann durchaus Sinn machen, um hinsichtlich der Therapie eine fundierte Entscheidung treffen zu können. Zur Bestätigung von *Ap*-Infektionen nach positivem Antikörper-Nachweis stehen PCR-Untersuchungen zur Verfügung.

Serologische Befunde müssen stets im Kontext mit den beobachteten klinischen Veränderungen sowie vorberichtlicher Zeckenexposition interpretiert werden. Die Diagnosestellung sollte zudem nur nach Ausschluss anderer Differentialdiagnosen erfolgen und kann durch die Besserung klinischer Erscheinungen spätestens innerhalb einer Woche nach eingeleiteter Antibiose mit Tetracyclinen oder  $\beta$ -Lactam-Antibiotika gestützt werden. Ohne konkreten Verdacht muss derzeit von einer unspezifischen Testung auf Antikörper gegen *Bbsl* oder *Ap* abgeraten werden. Inwiefern die Borreliose-Diagnostik zum Ausschluss der Diagnose im Akutfall geeignet ist, bleibt Gegenstand weiterer Forschungsarbeiten. Vorhandene Prophylaxemaßnahmen sollten nach Risikoabwägung sinnvoll eingesetzt werden. Das tägliche Absuchen des Weidetieres auf Zecken sollte Standard sein. Eine allgemeingültige Richtlinie hinsichtlich Therapie- und Diagnostikempfehlungen für Deutschland wäre erstrebenswert, um der Unsicherheit in der Tierärzteschaft entgegenzuwirken.

## 7 SUMMARY

### Clinical relevance of Lyme Disease and Equine Granulocytic Anaplasmosis in horses in Germany

Unspecific clinical changes with often chronic courses of the disease, desperate horse owners and lack of knowledge about a disease that could not be reproduced experimentally so far, lead to uncertainty in the diagnosis of Lyme Disease (LD) in horses. The lack of a uniform clinical picture or pathognomonic clinical changes as in human medicine, and the lack of standardization of examination methods contribute to the uncertainty.

The objectives of this study were to gain insight into the seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*Bbsl*) and *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) infections in horses in Germany, and to identify risk factors for infection, to better delineate the clinical picture of equine LD, and to better assess the clinical relevance of both equine LD and equine granulocytic anaplasmosis. For this purpose, a sick case group with clinical suspicion of LD was to be compared with a healthy control animal group, whereby a control animal from the same stable, in the sense of a 1:1 matching, was a prerequisite for the examination of each suspect animal.

In this study, blood samples from horses all over Germany were tested for *Bbsl*-antibodies by ELISA and immunoblot and for *Ap*-antibodies by a validated snap test (SNAP® 4Dx Plus® ELISA). The serological test methods used were in accordance with the current gold standard of equine LD diagnostics in terms of a two-step procedure with a sensitive screening test and a specific confirmatory test. Extensive questionnaires for the owners<sub>(own)</sub> of the affected equine patients and the treating veterinarians<sub>(vet)</sub> were used to collect accompanying data on signaling, clinical picture, medical history, and risk factors for pathogen exposure.

All records and required blood samples were available for 114 case-control animal pairs. A total of 236 horses were included in the study, of which 123 were sick case animals and 113 healthy control animals. Sample collection took place from May 2017 to August 2018. The most common reasons for presentation that had led to participation in the study were lameness (n=36 of n<sub>sum</sub>=79; 45.6 %), poor performance (n=19; 24.1 %), and apathy (n=12; 15.2 %). Clinical changes had been observed for more than six months in almost half of the patients (n=48 of n<sub>sum</sub> =112; 42.9 %). Numerous animals showed multiple, often nonspecific clinical changes (n=104 of n<sub>sum</sub>=114; 92.2 %) and/or additionally suffered from chronic disease (n=48 of n<sub>sum</sub>=114; 42.5 %).

Often, the horse owners' explicit request for examination (n=53 of n<sub>sum</sub>=114; 46.5 %) was the reason for study participation. Although in many cases extensive infection diagnostics (n=64 of n<sub>sum</sub>=114; 56.1 %) had already been performed, some horses had not yet undergone further

laboratory diagnostics at all (n=14 of n<sub>sum</sub>=114; 12.3 %) and in 15 % of the cases (n=29 of n<sub>sum</sub>=112) no detailed examination of individual organ systems had yet been performed.

The high number of clinically inapparent courses of infection with *Bbsl* was confirmed by the high detected number of *Bbsl*-seropositive subjects in the healthy control animal group (n=18 of n<sub>sum</sub>=113; 15.9 %). In the suspect animal group with clinical suspicion of LD, infection-specific antibodies suggesting the presence of active *Bbsl*-infection were detected in only a few more horses (n=26 of n<sub>sum</sub>=123; 21.1 %). Overall, the serostatus of suspect and control animal groups was barely distinguishable ( $p=0.887$ ). Regional differences in seroprevalence could be detected: Southern Germany (n=15 of n<sub>sum</sub>=55; 27.3 %) had more frequent detections of *Bbsl*-antibodies than Northern Germany (n=29 of n<sub>sum</sub>=166; 17.5 %) ( $p=0.022$ ). The chance for detection of antibodies suggestive of coinfection with *Ap* was also higher in Southern Germany (OR=3.1 (1.195-7.848)).

Clinical changes characteristic for equine LD, by which it could be clearly identified, have not been found with the data material obtained. Neither the frequent occurrence of unspecific disturbances of the general condition ( $p_{own}=0.183$ ;  $p_{vet}=0.043$ ), nor lameness ( $p_{own}=0.711$ ;  $p_{vet}=0.782$ ) or joint swelling ( $p_{own}=0.682$ ;  $p_{vet}=0.013$ ) could be observed in connection with positive *Bbsl*-antibody findings. The chance for a positive *Ap* finding was increased in fever (OR<sub>own</sub>=7.01 (2.40-20.51), OR<sub>vet</sub>=3.54 (1.28-9.73)) and inappetence (OR<sub>vet</sub>=4.54 (1.44-14.29)), as expected. Coinfections were frequently diagnosed in cases with neurological manifestations, such as cephalic nerve deficits ( $p_{own}=0.408$ ;  $p_{vet}=0.030$ ) and evidence of meningoencephalitis ( $p_{own}=0.061$ ;  $p_{vet}=0.003$ ), although the latter correlation is subject to some uncertainty regarding relevance to practice due to the small number of affected patients.

The veterinary community was divided in their assessment of the clinical relevance of LD in horses in general: 51.4 % of veterinarians (n=37 of n<sub>sum</sub>=72) reported having seen clinically manifest LD in horses in practice, while the remainder (n=35 of n<sub>sum</sub>=72; 48.6 %) ruled out its existence or had not seen any cases themselves.

Serologic detection of infection-specific antibodies using a two-step test and supplemental rapid C6 peptide test provides an important clue to *Bbsl*- and *Ap*-infections but cannot and should not replace a thorough diagnostic workup. The combined examination of different tick-borne diseases, especially *Bbsl*- and *Ap*-infections, can make sense to make a well-founded decision regarding therapy. For confirmation of *Ap*-infections after positive antibody detection, PCR tests are available.

Serological findings must always be interpreted in the context of the observed clinical changes as well as pre-reported tick exposure. Furthermore, the diagnosis should only be made after exclusion of other differential diagnoses and can be supported by the improvement of clinical

manifestations within one week at the latest after the initiation of antibiotics with tetracyclines or  $\beta$ -lactam antibiotics. Without concrete suspicion, non-specific testing for antibodies against *Bbsl* or *Ap* must currently be discouraged. The extent to which LD diagnostics are suitable for excluding the diagnosis in acute cases remains the subject of further research. Existing prophylactic measures should be used judiciously after risk assessment: Daily scanning of grazing animals for ticks should be standard practice. A generally applicable guideline regarding therapy and diagnostic recommendations for Germany would be desirable to counteract the uncertainty in the veterinary community.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

- Aberer, E.; Brunner, C.; Suchanek, G.; Klade, H.; Barbour, A.; Stanek, G.; Lassmann, H. (1989): Molecular mimicry and Lyme Borreliosis: A shared antigenic determinant between *Borrelia burgdorferi* and human tissue. In: *Ann Neurol* 26, S. 732–737.
- Adaszek, Ł.; Winiarczyk, S. (2011): Identification of *Anaplasma* spp. *rickettsia* isolated from horses from clinical disease cases in Poland. In: *Zoonoses Public Health* 58 (7), S. 514–518.
- Adaszek, Ł.; Winiarczyk, S.; Łukaszewska, J. (2009): A first case of ehrlichiosis in a horse in Poland. In: *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 116 (9), S. 330–334.
- Adeolu, M.; Gupta, R. S. (2014): A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera. The emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). In: *Antonie van Leeuwenhoek* 105 (6), S. 1049–1072.
- Aeschlimann, A. (1976): Biologie et écologie des tiques (*Ixodoidea*) de Côte d'Ivoire. In: *Acta Tropica* 24, S. 281–405.
- Afzelius, A. (1910): Verhandlungen der Dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm, 28 Oct 1909. In: *Arch Dermatol Syph* 101, S. 404.
- Akin, E.; McHugh, G. L.; Flavell, R. A.; Fikrig, E.; Steere, A. C. (1999): The immunoglobulin (IgG) antibody response to OspA and OspB correlates with severe and prolonged Lyme arthritis and the IgG response to P35 correlates with mild and brief arthritis. In: *Infect Immun* 67 (1), S. 173–181.
- Alberti, A.; Addis, M. F.; Sparagano, O.; Zobba, R.; Chessa, B.; Cubeddu, T. et al. (2005): *Anaplasma phagocytophilum*, Sardinia, Italy. In: *Emerging Infect Dis* 11 (8), S. 1322.
- Amusategui, I.; Sainz, A.; Tesouro, M. A. (2006): Serological evaluation of *Anaplasma phagocytophilum* infection in livestock in northwestern Spain. In: *Ann NY Acad Sci* 1078, S. 487–490.
- Anderson, J. F. (1989): Epizootiology of *Borrelia* in *Ixodes* tick vectors and reservoir hosts. In: *Clin Infect Dis* 11 (Supplement 6), 1451-1459.
- Ang, C. W.; Notermans, D. W.; Hommes, M.; Simoons-Smit, A. M.; Herremans, T. (2011): Large differences between test strategies for the detection of anti-*Borrelia* antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 30 (8), S. 1027–1032.
- Appel, M. J. (1990): Lyme disease in dogs and cats. In: *Comp Contin Educ Vet* 12, S. 617–626.
- Appel, M. J.; Allan, S.; Jacobson, R. H.; Lauderdale, T. L.; Chang, Y.-F.; Shin, S. J. et al. (1993): Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection. In: *J Infect Dis* 167 (3), S. 651–654.
- Arvikar, S. L.; Steere, A. C. (2015): Diagnosis and treatment of Lyme arthritis. In: *Infect Dis Clin North Am* 29 (2), S. 269–280.

- Asch, E. S.; Bujak, D. I.; Weiss, M.; Peterson, M. G.; Weinstein, A. (1994): Lyme disease: an infectious and postinfectious syndrome. In: *J Rheumatol* 21 (3), S. 454–461.
- Aspöck, H.; Auer, H.; Walochnik, J. (2002): Parasiten und parasitäre Erkrankungen des Menschen in Mitteleuropa im Überblick. Amöben, Bandwürmer, Zecken. 1. Aufl. Linz.
- Ates, L.; Hanssen-Hübner, C.; Norris, D. E.; Richter, D.; Kraiczy, P.; Hunfeld, K.-P. (2010): Comparison of in vitro activities of tigecycline, doxycycline, and tetracycline against the spirochete *Borrelia burgdorferi*. In: *Ticks Tick Borne Dis* 1 (1), S. 30–34.
- Azuma, Y.; Kawamura, K.; Isogai, H.; Isogai, E. (1993): Neurologic abnormalities in two dogs suspected Lyme disease. In: *Microbiol Immunol* 37 (4), S. 325–329.
- Bacon, R. M.; Kugeler, K. J.; Mead, P. S. (2008): Surveillance for Lyme disease United States 1992-2006. In: *MMWR Surveill Summ* 57, S. 1–9.
- Bae, J.-M. (2018): Horses as a potential reservoir of Lyme Borreliosis in Jeju-do, Korea. In: *J Prev Med Public Health* 51 (4), S. 213–214.
- Baehr, V. von; Liebenthal, C.; Gaida, B.; Schmidt, F.-P.; Baehr, R. von; Volk, H.-D. (2007): Untersuchungen zur diagnostischen Wertigkeit des Lymphozytentransformationstestes bei Patienten mit Borreliose / Evaluation of the diagnostic significance of the lymphocyte proliferation test in patients with Lyme borreliosis. In: *J Lab Med* 31 (3), S. 149–158.
- Bärfverstedt, B. (1943): Über Lymphadenosis benigna cutis. In: *Acta Derm Venereol Suppl* 11 (Suppl. zu 24), S. 1–202.
- Bakken, J. S. (1996): Clinical and laboratory characteristics of Human Granulocytic Ehrlichiosis. In: *JAMA* 275 (3), S. 199.
- Bakken, J. S.; Dumler, J. S.; Chen, S.-M.; Eckman, M. R.; van Etta, L. L.; Walker, D. H. (1994): Human granulocytic ehrlichiosis in the upper Midwest United States: a new species emerging? In: *JAMA* 272 (3), S. 212–218.
- Bakken, J. S.; Dumler, S. J. (2008): Human granulocytic anaplasmosis. In: *Infect Dis Clin North Am* 22 (3), 433-48, viii.
- Bakker, R. G.; Li, C.; Miller, M. R.; Cunningham, C.; Charon, N. W. (2007): Identification of specific chemoattractants and genetic complementation of a *Borrelia burgdorferi* chemotaxis mutant: flow cytometry-based capillary tube chemotaxis assay. In: *J Appl Environ Microbiol* 73 (4), S. 1180–1188.
- Baldrige, G. D.; Scoles, G. A.; Burkhardt, N. Y.; Schloeder, B.; Kurtti, T. J.; Munderloh, U. G. (2009): Transovarial transmission of *Francisella*-like endosymbionts and *Anaplasma phagocytophilum* variants in *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae). In: *J Med Entomol* 46 (3), S. 625–632.
- Ballou, M. E.; Mueller, M. K.; Dowling-Guyer, S. (2020): Aging equines: Understanding the experience of caring for a geriatric horse with a chronic condition. In: *J Equine Vet Sci* 90, S. 102993.
- Balmelli, T.; Piffaretti, J.-C. (1995): Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In: *Res Microbiol* 146, S. 329–340.

- Bannwarth, A. (1941): Chronische lymphocytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und „Rheumatismus“. In: Arch Psychiatr Nervenkr 113 (2), S. 284–376.
- Baradaran-Dilmaghani, R.; Stanek, G. (1996): In vitro susceptibility of thirty *Borrelia* strains from various sources against eight antimicrobial chemotherapeutics. In: Infection 24 (1), S. 60–63.
- Barandika, J. F.; Hurtado, A.; García-Sanmartín, J.; Juste, R. A.; Anda, P.; García-Pérez, A. L. (2008): Prevalence of tick-borne zoonotic bacteria in questing adult ticks from northern Spain. In: Vector Borne Zoonotic Dis 8 (6), S. 829–836.
- Baranton, G.; Postic, D.; Saint Girons, I.; Boerlin, P.; Piffaretti, J. C.; Assous, M.; Grimont, P. A. (1992): Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. In: Int J Syst Evol Microbiol 42 (3), S. 378–383.
- Barbour, A. G. (1984): Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. In: Yale J Biol Med 57 (4), S. 521.
- Barbour, A. G. (1988): Plasmid analysis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. In: J Clin Microbiol 26 (3), S. 475–478.
- Barbour, A. G.; Hayes, S. F. (1986): Biology of *Borrelia* species. In: Microbiological Reviews 50 (4), S. 381–400.
- Baril, C.; Richaud, C.; Baranton, G.; Girons, I. S. (1989): Linear chromosome of *Borrelia burgdorferi*. In: Res Microbiol 140 (7), S. 507–516.
- Barlough, J. E.; Madigan, J. E.; DeRock, E.; Bigornia, L. (1996): Nested polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia equi* genomic DNA in horses and ticks (*Ixodes pacificus*). In: Vet Parasitol 63 (3-4), S. 319–329.
- Barth, C. (2013): Prävalenz, Diagnostik und Bedeutung von *Borrelia burgdorferi* und *Anaplasma phagocytophilum* bei Hunden im Raum München. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Barth, C.; Straubinger, R. K.; Krupka, I.; Müller, E.; Sauter-Louis, C.; Hartmann, K. (2014): Comparison of different diagnostic assays for the detection of *Borrelia burgdorferi*-specific antibodies in dogs. In: Vet Clin Pathol 43 (4), S. 496–504.
- Barth, C.; Straubinger, R. K.; Sauter-Louis, C.; Hartmann, K. (2012): Prevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* and their clinical relevance in dogs in Munich, Germany. In: Berl Munch Tierärztl Wochenschr 125 (7-8), S. 337–344.
- Barthold, S. W.; Persing, D. H.; Armstrong, A. L.; Peeples, R. A. (1991): Kinetics of *Borrelia burgdorferi* dissemination and evolution of disease after intradermal inoculation of mice. In: Am J Pathol 139 (2), S. 263–273.
- Bartol, J. (2013): Is Lyme disease overdiagnosed in horses? In: Equine Vet J 45 (5), S. 529–530.
- Basile, R. C.; Rivera, G. G.; Del Rio, L. A.; Bonis, T. C. M., T. C. M. de; do Amaral, G. P. D.; Giangrecco, E. et al. (2015): Anaphylactoid reaction caused by sodium ceftriaxone in two horses experimentally infected by *Borrelia burgdorferi*. In: BMC Veterinary Research 11, S. 197.

- Basile, R. C.; Yoshinari, N. H.; Mantovani, E.; Bonoldi, V. N.; Macoris, D. d. G.; Queiroz-Neto, A. de (2017): Brazilian borreliosis with special emphasis on humans and horses. In: *Braz J Microbiol* 48 (1), S. 167–172.
- Baumgarten, B. U.; Röllinghoff, M.; Bogdan, C. (1999): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and Granulocytic and Monocytic *Ehrlichiae* in *Ixodes ricinus* ticks from southern Germany. In: *J Clin Microbiol* 37 (11), S. 3448–3451.
- Beall, M. J.; Chandrashekar, R.; Eberts, M. D.; Cyr, K. E.; Diniz, P. P. V. P.; Mainville, C. et al. (2008): Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. In: *Vector Borne Zoonotic Dis* 8 (4), S. 455–464.
- Beck, S.; Schreiber, C.; Schein, E.; Krücken, J.; Baldermann, C.; Pachnicke, S. et al. (2014): Tick infestation and prophylaxis of dogs in northeastern Germany: a prospective study. In: *Ticks Tick Borne Dis* 5 (3), S. 336–342.
- Behar, S. M.; Porcelli, S. A. (1995): Mechanisms of autoimmune disease induction. In: *Arthritis & Rheumatism* 38 (4), S. 458–476.
- Beichel, E.; Petney, T. N.; Hassler, D.; Brückner, M.; Maiwald, M. (1996): Tick infestation patterns and prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks collected at a veterinary clinic in Germany. In: *Vet Parasitol* 65 (1-2), S. 147–155.
- Benach, J. L.; Fleit, H. B.; Habicht, G. S.; Coleman, J. L.; Bosler, E. M.; Lane, B. P. (1984): Interactions of phagocytes with the Lyme disease spirochete: Role of the Fc receptor. In: *J Infect Dis* 150 (4), S. 497–507.
- Berger, B. W.; Johnson, R. C.; Kodner, C.; Coleman, L. (1992): Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from erythema migrans lesions and perilesional skin. In: *J Clin Microbiol* 30 (2), S. 359–361.
- Berglund, J.; Eitrem, R.; Ornstein, K.; Lindberg, A.; Ringnér, Å.; Elmrud, H. et al. (1995): An epidemiologic study of Lyme Disease in Southern Sweden. In: *N Engl J Med* 333 (20), S. 1319–1324.
- Bernard, W. V.; Cohen, D.; Bosler, E.; Zamos, D. (1990): Serologic survey for *Borrelia burgdorferi* antibody in horses referred to a mid-Atlantic veterinary teaching hospital. In: *J Am Vet Med Assoc* 196 (8), S. 1255–1258.
- Bernardino, A. L. F.; Kaushal, D.; Philipp, M. T. (2009): The antibiotics doxycycline and minocycline inhibit the inflammatory responses to the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. In: *J Infect Dis* 199 (9), S. 1379–1388.
- Berrington, A.; Moats, R.; Lester, S. (1996): A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia. In: *Can Vet J* 37 (3), S. 174–175.
- Bhide, M.; Yilmaz, Z.; Golcu, E.; Torun, S.; Mikula, I. (2008): Seroprevalence of anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs and horses in Turkey. In: *Ann Agric Environ Med* 15 (1), S. 85–90.
- Bjöersdorff, A.; Svendenius, L.; Owens, J. H.; Massung, R. F. (1999): Feline granulocytic ehrlichiosis - a report of a new clinical entity and characterisation of the infectious agent. In: *J Small Anim Pract* 40 (1), S. 20–24.

- Blagburn, B. L.; Spencer, J. A.; Billeter, S. A.; Drazenovich, N. L.; Butler, J. M.; Land, T. M. et al. (2004): Use of imidacloprid-permethrin to prevent transmission of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected *Ixodes scapularis* ticks to dogs. In: *Vet Ther* 5 (3), S. 212–217.
- Blowey, R. W.; Carter, S. D.; White, A. G.; Barnes, A. (1994): *Borrelia burgdorferi* infections in UK cattle: a possible association with digital dermatitis. In: *Vet Rec* 135 (24), S. 577–578.
- Boden, K.; Lobenstein, S.; Hermann, B.; Margos, G.; Fingerle, V. (2016): *Borrelia miyamotoi*-associated neuroborreliosis in immunocompromised person. In: *Emerging Infect Dis* 22 (9), S. 1617.
- Boehnke, D.; Brugger, K.; Pfäffle, M.; Sebastian, P.; Norra, S.; Petney, T. et al. (2015): Estimating *Ixodes ricinus* densities on the landscape scale. In: *Int J Health Geogr* 14, S. 23.
- Boerner, J. (1994): Empfindlichkeitsprüfung von *Borrelia burgdorferi* gegen Antibiotika und Chemotherapeutika in vitro, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Germany.
- Borg, R.; Dotevall, L.; Hagberg, L.; Maraspin, V.; Lotric-Furlan, S.; Cimperman, J.; Strle, F. (2005): Intravenous ceftriaxone compared with oral doxycycline for the treatment of Lyme neuroborreliosis. In: *Scand J Infect Dis* 37 (6-7), S. 449–454.
- Bosler, E. M.; Cohen, D. P.; Schulze, T. L.; Olsen, C.; Bernard, W.; Lissman, B. (1988): Host responses to *Borrelia burgdorferi* in dogs and horses. In: *Ann NY Acad Sci* 539 (1), S. 221–234.
- Branger, S.; Rolain, J. M.; Raoult, D. (2004): Evaluation of antibiotic susceptibilities of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* by real-time PCR. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (12), S. 4822–4828.
- Brewer, B. D.; Harvey, J. W.; Mayhew, I. G.; Simpson, C. F. (1984): Ehrlichiosis in a Florida horse. In: *J Am Vet Med Assoc* 185 (4), S. 446.
- Brorson, Ø.; Brorson, S. H. (1997): Transformation of cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to normal, mobile spirochetes. In: *Infection* 25 (4), S. 240–246.
- Brorson, Ø.; Brorson, S. H. (2004): An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to tinidazole. In: *International Microbiology* 7 (2), S. 139–142.
- Brosnahan, M. M.; Paradis, M. R. (2003): Demographic and clinical characteristics of geriatric horses: 467 cases (1989-1999). In: *J Am Vet Med Assoc* 223 (1), S. 93–98.
- Browning, A.; Carter, S. D.; Barnes, A.; May, C.; Bennett, D. (1993): Lameness associated with *Borrelia burgdorferi* infection in the horse. In: *Vet Rec* 132, S. 610–611.
- Bruckbauer, H. R.; Preac-Mursic, V.; Fuchs, R.; Wilske, B. (1992): Cross-reactive proteins of *Borrelia burgdorferi*. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 11 (3), S. 224–232.
- Brugger, K.; Boehnke, D.; Petnex, T.; Dobler, G.; Pfeffer, M.; Silaghi, C. et al. (2016): A density map of the tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis vector *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) for Germany. In: *J Med Entomol* 53 (6), S. 1292–1302.
- Brugger, K.; Walter, M.; Chitimia-Dobler, L.; Dobler, G.; Rubel, F. (2017): Seasonal cycles of the TBE and Lyme borreliosis vector *Ixodes ricinus* modelled with time-lagged and interval-averaged predictors. In: *Exp Appl Acarol* 73 (3-4), S. 439–450.

- Brugger, K.; Walter, M.; Chitimia-Dobler, L.; Dobler, G.; Rubel, F. (2018): Forecasting next season's *Ixodes ricinus* nymphal density: the example of southern Germany 2018. In: *Exp Appl Acarol* 75 (3), S. 281–288.
- Bryant, J. E.; Brown, M. P.; Gronwall, R. R.; Merritt, K. A. (2000): Study of intragastric administration of doxycycline: pharmacokinetics including body fluid, endometrial and minimum inhibitory concentrations. In: *Equine Vet J* 32 (3), S. 233–238.
- Buchwald, A. (1883): Ein Fall von diffuser idiopathischer Haut-Atrophie. In: *Vierteljahresschrift für Dermatologie und Syphilis* 10 (1), S. 553–556.
- Burgdorfer, W. (1984): Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. In: *Yale J Biol Med* 57, S. 515–520.
- Burgdorfer, W.; Barbour, A. G.; Hayes, S. F.; Benach, J. L.; Grunwaldt, E.; Davis, J. P. (1982): Lyme disease - a tick-borne spirochetosis? In: *Science* 216 (4552), S. 1317–1319.
- Burgess, B. (1988a): Lyme disease in horses. British Columbia. In: *Can Vet J* 29 (4), S. 393.
- Burgess, E.; Gendron-Fitzpatrick, A. (Hg.) (1990): Experimental infection of equines with *Borrelia burgdorferi*. Lyme Borreliosis 1990, Stockholm (Sweden), 18-21 Jun 1990.
- Burgess, E. C. (1986): Experimental inoculation of dogs with *Borrelia burgdorferi*. In: *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 263 (1-2), S. 49–54.
- Burgess, E. C. (1988b): *Borrelia burgdorferi* infection in Wisconsin Horses and Cows. In: *Ann NY Acad Sci*, S. 235–243.
- Burgess, E. C. (1992): Experimentally induced infection of cats with *Borrelia burgdorferi*. In: *Am J Vet Res* 53 (9), S. 1507–1511.
- Burgess, E. C.; Amundson, T. E.; Davis, J. P.; Kaslow, R. A.; Edelman, R. (1986a): Experimental inoculation of *Peromyscus* spp. with *Borrelia burgdorferi*: evidence of contact transmission. In: *Am J Trop Med Hyg* 35 (2), S. 355–359.
- Burgess, E. C.; Gendron-Fitzpatrick, A.; Mattison, M. (1988): Foal mortality associated with natural infection of pregnant mares with *Borrelia burgdorferi*. In: *Equine Infectious Diseases V. Proceedings of the Fifth International Conference*. University Press of Kentucky, Lexington, S. 217–220.
- Burgess, E. C.; Gillette, D.; Pickett, J. P. (1986b): Arthritis and panuveitis as manifestations of *Borrelia burgdorferi* infection in a Wisconsin pony. In: *J Am Vet Med Assoc* 189 (10), S. 1340–1342.
- Burgess, E. C.; Mattison, M. (1987): Encephalitis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. In: *J Am Vet Med Assoc* 191 (11), 1457-1458.
- Burgess, H.; Chilton, N. B.; Krakowetz, C. N.; Williams, C.; Lohmann, K. L. (2012): Granulocytic anaplasmosis in a horse from Saskatchewan. Brief Communication. In: *Can Vet J* 53, S. 886–888.
- Burkot, T. R.; Mullen, G. R.; Anderson, R.; Schneider, B. S.; Happ, C. M.; Zeidner, N. S. (2001): *Borrelia lonestari* DNA in adult *Amblyomma americanum* ticks, Alabama. In: *Emerging Infect Dis* 7 (3), S. 471.

- Büscher, G.; Gandras, R.; Apel, G.; Friedhoff, K. T. (1984): Der erste Fall von Ehrlichiosis beim Pferd in Deutschland. In: Dtsch Tierärztl Wochenschr 91, S. 408–409.
- Bushmich, S. L. (1999): Lyme disease in horses. AAEP online education Lexington. Kentucky, 1999.
- Butler, C. M.; Houwers, D. J.; Jongejan, F.; van der Kolk, J. H. (2005): *Borrelia burgdorferi* infections with special reference to horses. A review. In: Vet Q 27 (4), S. 146–156.
- Butler, C. M.; Nijhof, A. M.; Jongejan, F.; van der Kolk, J. H. (2008): *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. In: Vet Rec 162 (7), S. 216–217.
- Bykowski, T.; Babb, K.; Lackum, K. von; Riley, S. P.; Norris, S. J.; Stevenson, B. (2006): Transcriptional regulation of the *Borrelia burgdorferi* antigenically variable VlsE surface protein. In: J Bacteriol 188 (13), S. 4879–4889.
- Cadavid, D.; Auwaerter, P. G.; Rumbaugh, J.; Gelderblom, H. (2016): Antibiotics for the neurological complications of Lyme disease. In: Cochrane Database Syst Rev 12, CD006978.
- Cameron, D. J. (2010): Proof that chronic lyme disease exists. In: Interdiscip Perspect Infect Dis, S. 876450.
- Canica, M. M.; Nato, F.; Merle, L. D.; Mazie, J. C.; Baranton, G.; Postic, D. (1993): Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. In: Scand J Infect Dis 25 (4), S. 441–448.
- Cao, W.-C.; Zhan, L.; He, J.; Foley, J. E.; Vlas, S. J. de; Wu, X.-M. et al. (2006): Natural *Anaplasma phagocytophilum* infection of ticks and rodents from a forest area of Jilin Province, China. In: Am J Trop Med Hyg 75 (4), S. 664–668.
- Caol, S.; Divers, T. J.; Crisman, M.; Chang, Y.-F. (2017): In vitro susceptibility of *Borrelia burgdorferi* isolates to three antibiotics commonly used for treating equine Lyme disease. In: BMC Veterinary Research 13 (1), S. 293.
- Carlyon, J. A.; Abdel-Latif, D.; Pypaert, M.; Lacy, P.; Fikrig, E. (2004): *Anaplasma phagocytophilum* utilizes multiple host evasion mechanisms to thwart NADPH oxidase-mediated killing during neutrophil infection. In: Infect Immun 72 (8), S. 4772–4783.
- Carlyon, J. A.; Fikrig, E. (2003): Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. In: Cellular Microbiology 5 (11), S. 743–754.
- Carris, N. W.; Pardo, J.; Montero, J.; Shaeer, K. M. (2015): Minocycline as a substitute for doxycycline in targeted scenarios: a systematic review. In: Open Forum Infect Dis 2 (4), ofv178.
- Carter, S. D.; May, C.; Barnes, A.; Bennett, D. (1994): *Borrelia burgdorferi* infection in UK horses. In: Equine Vet J 26 (3), S. 187–190.
- Cartwright, M. J.; Martin, S. E.; Donta, S. T. (1999): A novel neurotoxin (Bbtox 1) *Borrelia burgdorferi*. In: Meeting of the American Society for Microbiology, S. 377.
- Casjens, S.; Palmer, N.; van Vugt, R.; Huang, W. M.; Stevenson, B.; Rosa, P. et al. (2000): A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. In: Mol Microbiol 35 (3), S. 490–516.

- Casjens, S. R.; Fraser-Liggett, C. M.; Mongodin, E. F.; Qiu, W.-G.; Dunn, J. J.; Luft, B. J.; Schutzer, S. E. (2011): Whole genome sequence of an unusual *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolate. In: J Bacteriol 193 (6), S. 1489–1490.
- Caturegli, P.; Asanovich, K. M.; Walls, J. J.; Bakken, J. S.; Madigan, J. E.; Popov, V. L.; Dumler, J. S. (2000): ankA: an *Ehrlichia phagocytophila* group gene encoding a cytoplasmic protein antigen with ankyrin repeats. In: Infect Immun 68 (9), S. 5277–5283.
- Cerar, D.; Cerar, T.; Ruzić-Sabljić, E.; Wormser, G. P.; Strle, F. (2010): Subjective symptoms after treatment of early Lyme disease. In: Am J Med 123 (1), S. 79–86.
- Cerri, D.; Farina, R.; Andreani, E.; Nuvoloni, R.; Pedrini, A.; Cardini, G. (1994): Experimental infection of dogs with *Borrelia burgdorferi*. In: Res Vet Sci 57 (2), S. 256–258.
- Cerri, S.; Meersschaert, C.; Houben, R.; Pitel, P. H.; Amory, H. (2017): Diagnostic value of serologic tests and seroprevalence of Borreliosis in horses living in southern Belgium. European College of Equine Internal Medicine Congress 2016 Abstracts. In: J Vet Intern Med 31 (2), S. 604–618.
- Chae, J.-S.; Foley, J. E.; Dumler, J. S.; Madigan, J. E. (2000): Comparison of nucleotide sequences of 16S rRNA 444 Ep-ank, and groES/heat shock operon genes in naturally occurring *Ehrlichia equi* and human granulocytic ehrlichiosis agent isolated from northern California. In: J Clin Microbiol 38 (4), S. 1364–1369.
- Champion, C. I.; Blanco, D. R.; Skare, J. T.; Haake, D. A.; Giladi, M.; Foley, D. et al. (1994): A 9.0-kilobase-pair circular plasmid of *Borrelia burgdorferi* encodes an exported protein: evidence for expression only during infection. In: Infect Immun 62 (7), S. 2653–2661.
- Chandrashekar, R.; Beall, M. J.; Thatcher, B.; Saucier, J. M.; Tyrrell, P.; Lappin, M. R. (2017): Serologic responses to peptides of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in dogs infested with wild-caught *Ixodes scapularis*. In: Vet J 226, S. 6–11.
- Chandrashekar, R.; Daniluk, D.; Moffitt, S.; Lorentzen, L.; Williams, J. (2008): Serologic diagnosis of equine borreliosis: Evaluation of an in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay (SNAP 4Dx). In: Int J Appl Res Vet Med 6 (3), S. 145–150.
- Chandrashekar, R.; Mainville, C. A.; Beall, M. J.; O'Connor, T.; Eberts, M. D.; Alleman, A. R. et al. (2010): Performance of a commercially available in-clinic ELISA for the detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. In: Am J Vet Res 71 (12), S. 1443–1450.
- Chang, Y.-F.; Appel, M. J.; Jacobson, R. H.; Shin, S. J.; Harpending, P.; Straubinger, R. K. et al. (1995): Recombinant OspA protects dogs against infection and disease caused by *Borrelia burgdorferi*. In: Infect Immun 63 (9), S. 3543–3549.
- Chang, Y.-F.; Ku, Y.-W.; Chang, C.-F.; McDonough, S. P.; Divers, T. J.; Pough, M.; Torres, A. (2005): Antibiotic treatment of experimentally *Borrelia burgdorferi*-infected ponies. In: Vet Microbiol 107 (3-4), S. 285–294.
- Chang, Y.-F.; McDonough, S. P.; Chang, C.-F.; Shin, K.-S.; Yen, W.; Divers, T. J. (2000a): Human Granulocytic Ehrlichiosis agent infection in a pony vaccinated with a *Borrelia burgdorferi* recombinant OspA vaccine and challenged by exposure to naturally infected ticks. In: Clin Vaccine Immunol 7 (1), S. 68–71.

- Chang, Y.-F.; Novosel, V.; Summers, B. A.; Ma, D. P.; Chiang, Y. W.; Acree, W. M. et al. (2001): Experimental induction of chronic borreliosis in adult dogs exposed to *Borrelia burgdorferi*-infected ticks and treated with dexamethasone. In: Am J Vet Res 62 (7), S. 1104–1112.
- Chang, Y.-F.; Novosol, V.; McDonough, S. P.; Chang, C.-F.; Jacobson, R. H.; Divers, T. J. et al. (2000b): Experimental infection of ponies with *Borrelia burgdorferi* by exposure to Ixodid ticks. In: Vet Pathol 37 (1), S. 68–76.
- Chang, Y.-F.; Novosol, V.; McDonough, S. P.; Chang, C.-F.; Jacobson, R. H.; Divers, T. J. et al. (2000c): Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A (rOspA) in horses. In: Vaccine 18, S. 540–548.
- Charon, N. W.; Goldstein, S. F. (2002): Genetics of motility and chemotaxis of a fascinating group of bacteria: the spirochetes. In: Annu Rev Genet 36, S. 47–73.
- Chen, S.-M.; Dumler, J. S.; Bakken, J. S.; Walker, D. H. (1994): Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. In: J Clin Microbiol 32 (3), S. 589–595.
- Chitimia-Dobler, L.; Schaper, S.; Rieß, R.; Bitterwolf, K.; Frangoulidis, D.; Bestehorn, M. et al. (2019): Imported *Hyalomma* ticks in Germany in 2018. In: Parasit Vectors 12 (1), S. 134.
- Choi, K.-S.; Grab, D. J.; Dumler, J. S. (2004): *Anaplasma phagocytophilum* infection induces protracted neutrophil degranulation. In: Infect Immun 72 (6), S. 3680–3683.
- Choi, K.-S.; Park, J. T.; Dumler, J. S. (2005): *Anaplasma phagocytophilum* delay of neutrophil apoptosis through the p38 mitogen-activated protein kinase signal pathway. In: Infect Immun 73 (12), S. 8209–8218.
- Christen, H. J.; Hanefeld, F.; Eiffert, H.; Thomssen, R. (1993): Epidemiology and clinical manifestations of Lyme Borreliosis in childhood. A prospective multicentre study with special regard to neuroborreliosis. In: Acta Paediatr Suppl 82 (386), S. 1–76.
- Chu, C.-Y.; Liu, W.; Jiang, B.-G.; Wang, D.-M.; Jiang, W.-J.; Zhao, Q.-M. et al. (2008): Novel genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from rodents and ticks in southwestern China. In: J Clin Microbiol 46 (9), S. 3130–3133.
- Clarissou, J.; Song, A.; Bernede, C.; Guillemot, D.; Dinh, A.; Ader, F. et al. (2009): Efficacy of a long-term antibiotic treatment in patients with a chronic Tick Associated Poly-organic Syndrome (TAPOS). In: Med Mal Infect 39 (2), S. 108–115.
- Coburn, J.; Leong, J. M.; Erban, J. K. (1993): Integrin alpha IIb beta 3 mediates binding of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi* to human platelets. In: Proceedings of the National Academy of Sciences 90 (15), S. 7059–7063.
- Cohen, D.; Bosler, E. M.; Bernard, W.; Meirs II., D.; Eisner, R.; Schulze, T. L. (1988): Epidemiologic studies of Lyme disease in horses and their public health significance. In: Ann NY Acad Sci 539, S. 244–257.
- Cohen, N. D.; Heck, F. C.; Heim, B.; Flad, D. M.; Bosler, E. M.; Cohen, D. (1992): Seroprevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in a population of horses in central Texas. In: J Am Vet Med Assoc 201 (7), S. 1030–1034.

- Cohn, L. A. (2003): Ehrlichiosis and related infections. In: *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33 (4), S. 863–884.
- Collard, W. T.; Cox, S. R.; Lesman, S. P.; Grover, G. S.; Boucher, J. F.; Hallberg, J. W. et al. (2011): Pharmacokinetics of ceftiofur crystalline-free acid sterile suspension in the equine. In: *J Vet Pharmacol Ther* 34 (5), S. 476–481.
- Comstedt, P.; Hanner, M.; Schöler, W.; Meinke, A.; Lundberg, U. (2014): Design and development of a novel vaccine for protection against Lyme borreliosis. Valneva Austria GmbH, Vienna, Austria. In: *PLoS ONE* 9 (11), e113294.
- Comstock, L. E.; Thomas, D. D. (1991): Characterization of *Borrelia burgdorferi* invasion of cultured endothelial cells. In: *Microb Pathog* 10 (2), S. 137–148.
- Corpuz, M.; Hilton, E.; Lardis, M. P.; Singer, C.; Zolan, J. (1991): Problems in the use of serologic tests for the diagnosis of Lyme disease. In: *Arch Intern Med* 151 (9), S. 1837.
- Coutte, L.; Botkin, D. J.; Gao, L.; Norris, S. J. (2009): Detailed analysis of sequence changes occurring during VlsE antigenic variation in the mouse model of *Borrelia burgdorferi* infection. In: *PLoS Pathog* 5 (2), 1–14.
- Craft, J. E.; Fischer, D. K.; Shimamoto, G. T.; Steere, A. C. (1986): Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness. In: *J Clin Invest* 78 (4), S. 934–939.
- Craft, J. E.; Grodzicki, R. L.; Shrestha, M.; Fischer, D. K.; Garcia-Blanco, M.; Steere, A. C. (1984a): The antibody response in Lyme disease. In: *Yale J Biol Med* 57 (4), S. 561–565.
- Craft, J. E.; Grodzicki, R. L.; Steere, A. C. (1984b): Antibody response in Lyme disease: evaluation of diagnostic tests. In: *J Infect Dis* 149 (5), S. 789–795.
- Crossland, N. A.; Alvarez, X.; Embers, M. E. (2018): Late disseminated Lyme disease: Associated pathology and spirochete persistence posttreatment in Rhesus macaques. In: *Am J Pathol* 188 (3), S. 672–682.
- Crother, T. R.; Champion, C. I.; Whitelegge, J. P.; Aguilera, R.; Wu, X.-Y.; Blanco, D. R. et al. (2004): Temporal analysis of the antigenic composition of *Borrelia burgdorferi* during infection in rabbit skin. In: *Infect Immun* 72 (9), S. 5063–5072.
- Crother, T. R.; Champion, C. I.; Wu, X.-Y.; Blanco, D. R.; Miller, J. N.; Lovett, M. A. (2003): Antigenic composition of *Borrelia burgdorferi* during infection of SCID mice. In: *Infect Immun* 71 (6), S. 3419–3428.
- Cullen, P. A.; Haake, D. A.; Adler, B. (2004): Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. In: *FEMS Microbiol Rev* 28 (3), S. 291–318.
- Cutler, S. J.; Ruzic-Sabljić, E.; Potkonjak, A. (2017): Emerging *Borreliæ* - Expanding beyond Lyme borreliosis. In: *Mol Cell Probes* 31, S. 22–27.
- Czerkinsky, C.; Andersson, G.; Ekre, H.-P.; Nilsson, L.-Å.; Klareskog, L.; Ouchterlony, Ö. (1988): Reverse ELISPOT assay for clonal analysis of cytokine production I. Enumeration of gamma-interferon-secreting cells. In: *J Immunol Methods* 110 (1), S. 29–36.

- Dambach, D. M.; Smith, C. A.; Lewis, R. M.; van Winkle, T. J. (1996): Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of a distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection. 49 Cases (1987-1992). In: Vet Pathol 34, S. 85–96.
- Dark, M. J.; Al-Khedery, B.; Barbet, A. F. (2011): Multistrain genome analysis identifies candidate vaccine antigens of *Anaplasma marginale*. In: Vaccine 29 (31), S. 4923–4932.
- Dattwyler, R. J.; Luft, B. J.; Kunkel, M. J.; Finkel, M. F.; Wormser, G. P.; Rush, T. J. et al. (1997): Ceftriaxone compared with doxycycline for the treatment of acute disseminated Lyme disease. In: N Engl J Med 337 (5), S. 289–294.
- Dattwyler, R. J.; Volkman, D. J.; Luft, B. J. (1989): Immunologic aspects of Lyme borreliosis. In: Clin Infect Dis 11 (Supplement 6), 1494-1498.
- Dattwyler, R. J.; Volkman, D. J.; Luft, B. J.; Halperin, J. J.; Thomas, J.; Golightly, M. G. (1988): Seronegative Lyme disease. In: N Engl J Med 319, S. 1441–1446.
- Dautel, H.; Dippel, C.; Kämmer, D.; Werkhausen, A.; Kahl, O. (2008): Winter activity of *Ixodes ricinus* in a Berlin forest. In: Int J Med Microbiol 298, S. 50–54.
- Davis, J. L.; Salmon, J. H.; Papich, M. G. (2006): Pharmacokinetics and tissue distribution of doxycycline after oral administration of single and multiple doses in horses. In: Am J Vet Res 67 (2), S. 310–316.
- Dawson, J. E.; Abeygunawardena, I.; Holland, C. J.; Buese, M. M.; Ristic, M. (1988): Susceptibility of cats to infection with *Ehrlichia risticii*, causative agent of equine monocytic ehrlichiosis. In: Am J Vet Res 49 (12), S. 2096–2100.
- Dennehy, P. H. (2001): Active Immunization in the United States: Developments over the Past Decade. In: Clin Microbiol Rev 14 (4), S. 872–908.
- Deplazes, P.; Eckert, J.; Samson-Himmelstjerna, G. von; Zahner, H. (Hg.) (2012): Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Stamm *Arthropoda* (Gliederfüßer). 3. Aufl. Stuttgart, Germany: Enke Verlag.
- Dersch, R.; Freitag, M. H.; Schmidt, S.; Sommer, H.; Rauer, S.; Meerpohl, J. J. (2015): Efficacy and safety of pharmacological treatments for acute Lyme neuroborreliosis - a systematic review. In: Eur J Neurol 22 (9), S. 1249–1259.
- Des Vignes, F.; Piesman, J.; Heffernan, R.; Schulze, T. L.; Stafford III, K. C.; Fish, D. (2001): Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. In: J Infect Dis 183, S. 773–778.
- Detmer, S. E.; Bouljihad, M.; Hayden, D. W.; Schefers, J. M.; Armien, A.; Wünschmann, A. (2016): Fatal pyogranulomatous myocarditis in 10 Boxer puppies. In: J Vet Diagn Invest 28 (2), S. 144–149.
- Deutsche Borreliose-Gesellschaft e. V. (2011): Diagnostik und Therapie der Lyme-Borreliose. Leitlinien.
- DeVilbiss, B. A.; Mohammed, H. O.; Divers, T. J. (2009): Perception of equine practitioners regarding the occurrence of selected equine neurologic diseases in the Northeast over a 10-year period. In: J Equine Vet Sci 29 (4), S. 237–246.

- Divers, T. J. (2013): Equine Lyme disease. In: J Equine Vet Sci 33 (7), S. 488–492.
- Divers, T. J.; Chang, Y.-F.; Jacobson, R. H.; McDonough, S. P. (2001): Lyme disease in horses. In: Comp Contin Educ Vet 23, S. 375–382.
- Divers, T. J.; Chang, Y.-F.; McDonough, S. P. (2003): Equine Lyme disease: a review of experimental disease production, treatment efficacy and vaccine protection. In: 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners.
- Divers, T. J.; Gardner, R. B.; Madigan, J. E.; Witonsky, S. G.; Bertone, J. J.; Swinebroad, E. L. et al. (2018): *Borrelia burgdorferi* infection and Lyme Disease in North American horses: a consensus statement. In: J Vet Intern Med 32 (2), S. 617–632.
- Divers, T. J.; Grice, A.; Hussni, M.; Glaser, A.; Wagner, B. (2012): Changes in *Borrelia burgdorferi* ELISA antibody over time in both antibiotic treated and untreated horses. In: Acta Vet Hung 60 (4), S. 421–429.
- Doby, J. M.; Chevrier, S.; Couatarmanac'h, A. (1987): Spirochétose à tiques par *Borrelia burgdorferi* chez le cheval en Bretagne. Résultats d'une enquête sérologique portant sur 400 chevaux. In: Bull Soc Fr Parasitol 5 (2), S. 285–295.
- Donta, S. T.; Cartwright, M. J. (2003): Prevention, diagnosis and treatment of Lyme disease: Google Patents.
- Dorward, D. W.; Fischer, E. R.; Brooks, D. M. (1997): Invasion and cytopathic killing of human lymphocytes by spirochetes causing Lyme disease. In: Clin Infect Dis 25 (Suppl. 1), S. 2–8.
- Drazenovich, N.; Foley, J.; Brown, R. N. (2006): Use of real-time quantitative PCR targeting the msp2 protein gene to identify cryptic *Anaplasma phagocytophilum* infections in wildlife and domestic animals. In: Vector Borne Zoonotic Dis 6 (1), S. 83–90.
- Dumler, J. S.; Barbet, A. F.; Bekker, C. P. J.; Dasch, G. A.; Palmer, G. H.; Ray, S. C. et al. (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*. In: Int J Syst Evol Microbiol 51, S. 2145–2165.
- Dumler, J. S.; Choi, K.-S.; Garcia-Garcia, J. C.; Barat, N. S.; Scorpio, D. G.; Garyu, J. W. A. et al. (2005): Human Granulocytic Anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. In: Emerging Infect Dis 11 (12), S. 1828–1834.
- Durrani, A. Z.; Goyal, S. M.; Kamal, N. (2011): Retrospective study on seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* antibodies in horses in Minnesota. In: J Equine Vet Sci 31 (8), S. 427–429.
- Dzięgiel, B.; Adaszek, Ł.; Kalinowski, M.; Winiarczyk, S. (2013): Equine granulocytic anaplasmosis. In: Res Vet Sci 95 (2), S. 316–320.
- Dzierzecka, M.; Kita, J. (2002a): The use of chosen serological diagnostic methods in Lyme disease in horses. Part I. Indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In: Pol J Vet Sci 5 (2), S. 71–77.
- Dzierzecka, M.; Kita, J. (2002b): The use of chosen serological diagnostic methods in Lyme disease in horses. Part II. Western blot. In: Pol J Vet Sci 5 (2), S. 79–84.

- Ebani, V. V.; Bertelloni, F.; Pinzauti, P.; Cerri, D. (2012): Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. In: *Ann Agric Environ Med* 19 (2), S. 237–240.
- Egenvall, A.; Franzén, P.; Gunnarsson, A.; Engvall, E. O.; Vågsholm, I.; Wikström, U.-B.; Artursson, K. (2001): Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* sensu lato and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. In: *Prev Vet Med* 49 (3-4), S. 191–208.
- Egenvall, A. E.; Hedhammar, A. A.; Bjöersdorff, A. (1997): Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. In: *Vet Rec* 140 (9), S. 222–226.
- Eicken, C.; Sharma, V.; Klabunde, T.; Lawrenz, M. B.; Hardham, J. M.; Norris, S. J.; Sacchettini, J. C. (2002): Crystal structure of Lyme disease variable surface antigen VlsE of *Borrelia burgdorferi*. In: *J Biol Chem* 277 (24), S. 21691–21696.
- Eisner, R.; Meirs, D.; Ralston, S. (1994): Lack of correlation between exposure to Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) and pregnancy loss in mares. In: *J Equine Vet Sci* 14, S. 102–105.
- Embers, M. E.; Barhold, S. W.; Borda, J. T.; Bowers, L.; Doyle, L.; Hodzic, E. et al. (2012): Persistence of *Borrelia burgdorferi* in rhesus macaques following antibiotic treatment of disseminated infection. In: *PLoS ONE* 7 (1), e29914.
- Embers, M. E.; Hasenkampf, N. R.; Jacobs, M. B.; Tardo, A. C.; Doyle-Meyers, L. A.; Philipp, M. T.; Hodzic, E. (2017): Variable manifestations, diverse seroreactivity and post-treatment persistence in non-human primates exposed to *Borrelia burgdorferi* by tick feeding. In: *PLoS ONE* 12 (12), e0189071.
- Embers, M. E.; Liang, F. T.; Howell, J. K.; Jacobs, M. B.; Purcell, J. E.; Norris, S. J. et al. (2007): Antigenicity and recombination of VlsE, the antigenic variation protein of *Borrelia burgdorferi*, in rabbits, a host putatively resistant to long-term infection with this spirochete. In: *FEMS Immunol Med Microbiol* 50 (3), S. 421–429.
- Embers, M. E.; Ramamoorthy, R.; Philipp, M. T. (2004): Survival strategies of *Borrelia burgdorferi*, the etiologic agent of Lyme disease. In: *Microbes Infect* 6 (3), S. 312–318.
- Eng, T. R.; Harkess, J. R.; Fishbein, D. B.; Dawson, J. E.; Greene, C. N.; Redus, M. A.; Satalowich, F. T. (1990): Epidemiologic, clinical, and laboratory findings of Human Ehrlichiosis in the United States, 1988. In: *JAMA* 264 (17), S. 2251–2258.
- Engvall, E.; Perlmann, P. (1972): Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA: III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. In: *J Immunol* 109 (1), S. 129–135.
- Engvall, E. O.; Pettersson, B.; Persson, M.; Artursson, K.; Johansson, K. E. (1996): A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle. In: *J Clin Microbiol* 34 (9), S. 2170–2174.
- Enkelmann, J.; Böhmer, M.; Fingerle, V.; Siffczyk, C.; Werber, D.; Littmann, M. et al. (2018): Incidence of notified Lyme borreliosis in Germany, 2013-2017. In: *Sci Rep* 8 (1), S. 14976.
- ESCCAP (2011): Bekämpfung von durch Vektoren übertragenen Krankheiten bei Hunden und Katzen. Deutsche Adaptation der ESCAAP-Empfehlung Nr. 5.

ESCCAP (2018): Bekämpfung von Ektoparasiten (Flöhe, Zecken, Läuse, Haarlinge, Sand- und Stechmücken) bei Hunden und Katzen.

Evison, J.; Aebi, C.; Francioli, P.; Péter, O.; Bassetti, S.; Gervaixe, A. et al. (2005): Abklärung und Therapie der Lyme-Borreliose bei Erwachsenen und Kindern. Empfehlungen der Schweizerischen Gesellschaft für Infektiologie. Teil 1: Epidemiologie und Diagnostik. In: Schweizerische Ärztezeitung 86 (41), S. 2332–2428.

Fahrer, H.; v. der Linden, S.; Sauvain, M.-J.; Gern, L.; Zhioua, E.; Aeschlimann, A. (1989): A positive "Lyme-Serology" – What does it mean clinically? Preliminary results of a Swiss prospective study. In: Lyme Borreliosis II, Zbl. Bakt. (Suppl. 18), S. 329–333.

Feder, H. M.; Johnson, B. J. B.; O'Connell, S.; Shapiro, E. D.; Steere, A. C.; Wormser, G. P. et al. (2007): A critical appraisal of "chronic Lyme disease". In: N Engl J Med 357 (14), S. 1422–1430.

Feige, K.; Müller, J. M. V. (2007): Equine granulozytäre Anaplasmosen. In: Pferdespiegel 3, S. 114–116.

Feng, J.; Leone, J.; Schweig, S.; Zhang, Y. (2020): Evaluation of natural and botanical medicines for activity against growing and non-growing forms of *B. burgdorferi*. In: Front Med 7, S. 487.

Fikrig, E.; Chen, M.; Barthold, S. W.; Anguita, J.; Feng, W.; Telford, S. R.; Flavell, R. A. (1999): *Borrelia burgdorferi* ospT expression in the arthropod vector and murine host. In: Mol Microbiol 31 (1), S. 281–290.

Fikrig, E.; Narasimhan, S. (2006): *Borrelia burgdorferi*-travelling incognito? In: Microbes Infect 8 (5), S. 1390–1399.

Fikrig, E.; Telford, S. R.; Barthold, S. W.; Kantor, F. S.; Spielman, A.; Flavell, R. A. (1992): Elimination of *Borrelia burgdorferi* from vector ticks feeding on OspA-immunized mice. In: Proceedings of the National Academy of Sciences 89 (12), S. 5418–5421.

Fingerle, V. (2008): Epidemiologie der Lyme-Borreliose. In: Nationales Referenzzentrum Borrelien, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

Fingerle, V.; Eiffert, H.; Gessner, A.; Göbel, U. B.; Hofmann, H.; Hunfeld, K.-P. et al. (2017): MIQ 12: Lyme-Borreliose. Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. 2. Aufl.: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.

Fingerle, V.; Goettner, G.; Gern, L.; Wilske, B.; Schulte-Spechtel, U. C. (2007): Complementation of a *Borrelia afzelii* OspC mutant highlights the crucial role of OspC for dissemination of *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus*. In: Int J Med Microbiol 297 (2), S. 97–107.

Fingerle, V.; Goodman, J. L.; Johnson, R. C.; Kurtti, T. J.; Munderloh, U. G.; Wilske, B. (1997): Human granulocytic ehrlichiosis in southern Germany: increased seroprevalence in high-risk groups. In: J Clin Microbiol 35 (12), S. 3244–3247.

Fingerle, V.; Hauser, U.; Liegl, G.; Petko, B.; Preac-Mursic, V.; Wilske, B. (1995): Expression of Outer Surface Proteins A and C of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus*. In: J Clin Microbiol 33 (7), S. 1867–1869.

- Fingerle, V.; Munderloh, U. G.; Liegl, G.; Wilske, B. (1999): Coexistence of *ehrlichiae* of the *phagocytophila* group with *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* from Southern Germany. In: Med Microbiol Immunol 188 (3), S. 145–149.
- Fingerle, V.; Schulte-Spechtel, U. C.; Ruzic-Sabljić, E.; Leonhard, S.; Hofmann, H.; Weber, K. et al. (2008): Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. In: Int J Med Microbiol 298 (3-4), S. 279–290.
- Finka, L. R.; Ward, J.; Farnworth, M. J.; Mills, D. S. (2019): Owner personality and the wellbeing of their cats share parallels with the parent-child relationship. In: PLoS ONE 14 (2), 1-26.
- Fischer, J. R.; Parveen, N.; Magoun, L.; Leong, J. M. (2003): Decorin-Binding Proteins A and B confer distinct mammalian cell type-specific attachment by *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 100 (12), S. 7307–7312.
- Fleming, R. V.; Marques, A. R.; Klempner, M. S.; Schmid, C. H.; Dally, L. G.; Martin, D. S.; Philipp, M. T. (2004): Pre-treatment and post-treatment assessment of the C6 test in patients with persistent symptoms and a history of Lyme borreliosis. In: Eur J Clin Microbiol Infect Dis 23 (8), S. 615–618.
- Foggie, A. (1951): Studies on the infectious agent of tick-borne fever in sheep. In: J Pathol Bacteriol 63 (1), S. 1–15.
- Fortier, L. A.; Motta, T.; Greenwald, R. A.; Divers, T. J.; Mayr, K. G. (2010): Synoviocytes are more sensitive than cartilage to the effects of minocycline and doxycycline on IL-1 $\alpha$  and MMP-13-induced catabolic gene responses. In: J Orthop Res 28 (4), S. 522–528.
- Franzén, P.; Aspan, A.; Egenvall, A.; Gunnarsson, A.; Åberg, L.; Pringle, J. (2005): Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. In: J Vet Intern Med 19 (2), S. 232.
- Franzén, P.; Aspan, A.; Egenvall, A.; Gunnarsson, A.; Karlstam, E.; Pringle, J. (2009): Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. In: J Vet Intern Med 23 (3), S. 636–642.
- Franzén, P.; Berg, A-L; Aspan, A.; Gunnarsson, A.; Pringle, J. (2007): Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. In: Vet Rec 160 (4), S. 122–125.
- Fraser, C. M.; Casjens, S.; Huang, W. M.; Sutton, G. G.; Clayton, R.; Lathigra, R. et al. (1997): Genomic sequence of a Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. In: Nature 390 (6660), S. 580–586.
- Frey, A. B.; Rao, T. D. (1995): Single exposure of mice to *Borrelia burgdorferi* elicits Immunoglobulin G antibodies characteristic of secondary immune response without production of Interleukin-4 by immune T cells. In: Infect Immun 63 (7), S. 2596–2603.
- Fritz, C. (2018): Retrospektive Betrachtung serologischer Ergebnisse verschiedener Borrelien-Antikörper-Nachweisverfahren unter dem Aspekt einer möglichen Kategorisierung klinischer Befunde bei Equiden. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.

- Fritz, C. L.; Kjemtrup, A. M. (2003): Lyme borreliosis. In: J Am Vet Med Assoc 223 (9), S. 1261–1270.
- Fukunaga, M.; Hamase, A.; Okada, K.; Nakao, M. (1996): *Borrelia tanukii* sp nov and *Borrelia turdae* sp nov found from ixodid ticks in Japan: rapid species identification by 16S rRNA gene targeted PCR analysis. In: Microbiol Immunol 40 (11), S. 877–881.
- Fülöp, B. (2011): Infektionsepidemiologische Untersuchung der Lyme-Borreliose in den östlichen Bundesländern von 1994 bis 2006 sowie im Bundesland Brandenburg von 2001 bis 2006. FU Berlin, Berlin. Charité - Universitätsmedizin Berlin.
- Funk, R. A.; Pleasant, R. S.; Witonsky, S. G.; Reeder, D. S.; Werre, S. R.; Hodgson, D. R. (2016): Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in horses presented for Coggins testing in Southwest Virginia and change in positive test results approximately 1 year later. In: J Vet Intern Med 30 (4), S. 1300–1304.
- Gall, Y.; Pfister, K. (2004): Fragen zur Lyme-Borreliose beim Pferd. In: Prakt Tierarzt 85. Jahrgang (9), S. 654–656.
- Gall, Y.; Pfister, K. (2006a): Antworten zur Lyme-Borreliose beim Pferd. In: Prakt Tierarzt 87. Jahrgang (3), S. 188–197.
- Gall, Y.; Pfister, K. (2006b): Survey on the subject of equine Lyme borreliosis. In: Int J Med Microbiol 296 (Suppl 40), S. 274–279.
- Garyu, J. W. A.; Choi, K.-S.; Grab, D., J.; Dumler, J. S. (2005): Defective phagocytosis in *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils. In: Infect Immun 73 (2), S. 1187–1190.
- Ge, Y.; Rikihisa, Y. (2006): *Anaplasma phagocytophilum* delays spontaneous human neutrophil apoptosis by modulation of multiple apoptotic pathways. In: Cellular Microbiology 8 (9), S. 1406–1416.
- Gerber, B.; Eichenberger, S.; Wittenbrink, M. M.; Reusch, C. E. (2007): Increased prevalence of *Borrelia burgdorferi* infections in Bernese Mountain Dogs. A possible breed predisposition. In: BMC Veterinary Research 3 (15).
- Gerber, M. A.; Shapiro, E. D.; Burke, G. S.; Parcells, V. J.; Bell, G. L. (1996): Lyme Disease in children in southeastern Connecticut. In: N Engl J Med 335 (17), S. 1270–1274.
- Gerber, V.; Schott II, H. C.; Robinson, N. E. (2011): Owner assessment in judging the efficacy of airway disease treatment. In: Equine Vet J 43 (2), S. 153–158.
- Gerhards, H.; Wollanke, B. (1996): Antibody titers against *Borrelia* in horses in serum and in eyes and occurrence of equine recurrent uveitis. In: Berl Munch Tierärztl Wochenschr 109 (8), S. 273–278.
- Gern, L.; Estrada-Peña, A.; Frandsen, F.; Gray, J. S.; Jaenson, T.G.T.; Jongejan, F. et al. (1998): European Reservoir Hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In: Zentralbl Bakteriol 287 (3), S. 196–204.
- Gern, L.; Hu, C. M.; Voet, P.; Hauser, P.; Lobet, Y. (1997): Immunization with a polyvalent OspA vaccine protects mice against *Ixodes ricinus* tick bites infected by *Borrelia burgdorferi* ss, *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii*. In: Vaccine 15 (14), S. 1551–1557.

- Gibson, M. D.; Omran, M. T.; Young, C. R. (1995): Experimental feline Lyme borreliosis as a model for testing *Borrelia burgdorferi* vaccines. In: M. Z. Atassi und G. S. Bixler (Hg.): Immunobiology of Proteins and Peptides VIII. New York, USA: Springer, S. 73–82.
- Gilmour, M. A.; Clarke, C. R.; Macallister, C. G.; Dedeo, J. M.; Caudell, D. L.; Morton, R. J.; Pugh, M. (2005): Ocular penetration of oral doxycycline in the horse. In: Vet Ophthalmol 8 (5), S. 331–335.
- Gipson, C. L.; Silva, A. M. de (2005): Interactions of OspA monoclonal antibody C3.78 with *Borrelia burgdorferi* within ticks. In: Infect Immun 73 (3), S. 1644–1647.
- Girschick, H. J.; Huppertz, H. I.; Rüssmann, H.; Krenn, V.; Karch, H. (1996): Intracellular persistence of *Borrelia burgdorferi* in human synovial cells. In: Rheumatol Int 16 (3), S. 125–132.
- Glatz, M.; Fingerle, V.; Wilske, B.; Ambros-Rudolph, C.; Kerl, H.; Müllegger, R. R. (2008): Immunoblot analysis of the seroreactivity to recombinant *Borrelia burgdorferi* sensu lato antigens, including VlsE, in the long-term course of treated patients with erythema migrans. In: Dermatology 216 (2), S. 93–103.
- Goc, A.; Niedzwiecki, A.; Rath, M. (2015): In vitro evaluation of antibacterial activity of phytochemicals and micronutrients against *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia garinii*. In: J Appl Microbiol 119 (6), S. 1561–1572.
- Goc, A.; Niedzwiecki, A.; Rath, M. (2017): Reciprocal cooperation of phytochemicals and micronutrients against typical and atypical forms of *Borrelia* sp. In: J Appl Microbiol 123 (3), S. 637–650.
- Goettner, G.; Schulte-Spechtel, U. C.; Hillermann, R.; Liegl, G.; Wilske, B.; Fingerle, V. (2005): Improvement of Lyme borreliosis serodiagnosis by a newly developed recombinant immunoglobulin G (IgG) and IgM line immunoblot assay and addition of VlsE and DbpA homologues. In: J Clin Microbiol 43 (8), S. 3602–3609.
- Goldstein, S. F.; Buttle, K. F.; Charon, N. W. (1996): Structural analysis of the Leptospiraceae and *Borrelia burgdorferi* by high-voltage electron microscopy. In: J Bacteriol 178 (22), S. 6539–6545.
- Goldstein, S. F.; Charon, N. W.; Kreiling, J. A. (1994): *Borrelia burgdorferi* swims with a planar waveform similar to that of eukaryotic flagella. In: Proceedings of the National Academy of Sciences 91 (8), S. 3433–3437.
- Goodman, J. L.; Nelson, C.; Vitale, B.; Madigan, J. E.; Dumler, J. S.; Kurtti, T. J.; Munderloh, U. G. (1996): Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. In: Transfus Med Rev 10 (3), S. 241–242.
- Gordon, W. S.; Brownlee, A.; Wilson, D. R.; MacLeod, J. (1932): Tick-Borne Fever. In: J Comp Pathol Ther 45, S. 301–307.
- Grab, D. J.; Nyarko, E.; Barat, N. C.; Nikolskaia, O. V.; Dumler, J. S. (2007): *Anaplasma phagocytophilum*-*Borrelia burgdorferi* coinfection enhances chemokine, cytokine, and matrix metalloprotease expression by human brain microvascular endothelial cells. In: Clin Vaccine Immunol 14 (11), S. 1420–1424.

- Granquist, E. G.; Aleksandersen, M.; Bergström, K.; Dumler, S. J.; Torsteinbø, W. O.; Stuenkel, S. (2010): A morphological and molecular study of *Anaplasma phagocytophilum* transmission events at the time of *Ixodes ricinus* tick bite. In: *Acta Vet Scand* 52, S. 43.
- Grauer, G. F.; Burgess, E. C.; Cooley, A. J.; Hagee, J. H. (1988): Renal lesions associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a dog. In: *J Am Vet Med Assoc* 193 (2), S. 237–239.
- Gray, J. S. (1991): The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis. In: *Rev Med Vet Entomol* 79 (6), S. 323–333.
- Gray, J. S. (2002): Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. In: *Wien Klin Wochenschr* 114 (13-14), S. 473–478.
- Gray, J. S.; Dautel, H.; Estrada-Peña, A.; Kahl, O.; Lindgren, E. (2009): Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. In: *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2009, S. 1–12.
- Greene, C. E. (Hg.) (2012): *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4. Aufl. Philadelphia, USA: Saunders.
- Gribble, D. H. (1969): Equine ehrlichiosis. In: *J Am Vet Med Assoc* 155 (2), S. 462–469.
- Grimm, D.; Tilly, K.; Byram, R.; Stewart, P. E.; Krum, J. G.; Bueschel, D. M. et al. (2004): Outer-surface protein C of the Lyme disease spirochete: A protein induced in ticks for infection of mammals. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (9), S. 3142–3147.
- Grosenbaugh, D. A.; Rissi, D. R.; Krimer, P. M. (2016): Demonstration of the ability of a canine Lyme vaccine to reduce the incidence of histological synovial lesions following experimentally-induced canine Lyme borreliosis. In: *Vet Immunol Immunopathol* 180, S. 29–33.
- Güner, E. S.; Watanabe, M.; Hashimoto, N.; Kadosaka, T.; Kawamura, Y.; Ezaki, T. et al. (2004): *Borrelia turcica* sp. nov., isolated from the hard tick *Hyalomma aegyptium* in Turkey. In: *Int J Syst Evol Microbiol* 54 (5), S. 1649–1652.
- Gupta, Radhey S. (2019): Distinction between *Borrelia* and *Borrelia* is more robustly supported by molecular and phenotypic characteristics than all other neighbouring prokaryotic genera: Response to Margos' et al. "The genus *Borrelia* reloaded" (PLoS ONE 13(12): e0208432). In: *PLoS ONE* 14 (8), e0221397.
- Gustafson, J. M.; Burgess, E. C.; Wachal, M. D.; Steinberg, H. (1993): Intrauterine transmission of *Borrelia burgdorferi* in dogs. In: *Am J Vet Res* 54 (6), S. 882–890.
- Gylfe, Å.; Wahlgren, M.; Fahlén, L.; Bergström, S. (2002): Activation of latent Lyme borreliosis concurrent with a Herpes simplex virus type 1 infection. In: *Scand J Infect Dis* 34 (12), S. 922–924.
- Haas, L.; Beer, M. (2015): Indirekter Erregernachweis. In: H.-J. Selbitz, U. Truyen und P. Valentin-Weigand (Hg.): *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 10. Aufl. Stuttgart, Germany: Enke Verlag.
- Hahn, C. N.; Mayhew, I. G.; Whitwell, K. E.; Smith, K. C.; Carey, D.; Carter, S. D.; Read, R. A. (1996): A possible case of Lyme borreliosis in a horse in the UK. In: *Equine Vet J* 28 (1), S. 84–88.

- Halperin, J. J. (1989): Abnormalities of the nervous system in Lyme disease: response to antimicrobial therapy. In: *Rev Infect Dis* 11 (Suppl. 6), S. 1499–1504.
- Hansen, K.; Bangsborg, J. M.; Fjordvang, H.; Pedersen, N. S.; Hindersson, P. (1988): Immunochemical characterization of and isolation of the gene for a *Borrelia burgdorferi* immunodominant 60-Kilodalton antigen common to a wide range of bacteria. In: *Infect Immun* 56 (8), S. 2047–2053.
- Hansen, M. G. B.; Christoffersen, M.; Thuesen, L. R.; Petersen, M. R.; Bojesen, A. M. (2010): Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. In: *Acta Vet Scand* 52, S. 3.
- Hård, S. (1966): Erythema chronicum migrans (Afzelii) associated with mosquito bite. In: *Acta Derm Venereol* 46 (6), S. 473–476.
- Hartelt, K.; Oehme, R.; Frank, H.; Brockmann, S. O.; Hassler, D.; Kimmig, P. (2004): Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. In: *Int J Med Microbiol* 293 (Suppl. 37), S. 86–92.
- Hassler, D. (1997): Langzeitbeobachtungen zum Krankheitsbild der Lyme-Borreliose in einem Endemiegebiet: Daten zur Vektorökologie, Epidemiologie, Serologie und Klinik, Therapie und Therapiekontrolle. Habilitationsschrift. Universität Erlangen.
- Hauser, U.; Lehnert, G.; Lobentanzer, R.; Wilske, B. (1997): Interpretation criteria for standardized Western blots for three European species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In: *J Clin Microbiol* 35 (6), S. 1433–1444.
- Hauser, U.; Lehnert, G.; Wilske, B. (1998): Diagnostic value of proteins of three *Borrelia* species (*Borrelia burgdorferi* sensu lato) and implications for development and use of recombinant antigens for serodiagnosis of Lyme borreliosis in Europe. In: *Clin Diagn Lab Immunol* 5 (4), S. 456–462.
- Hauser, U.; Lehnert, G.; Wilske, B. (1999): Validity of interpretation criteria for standardized Western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. In: *J Clin Microbiol* 37 (7), S. 2241–2247.
- Hechemy, K. E.; Samsonoff, W. A.; Harris, H. L.; McKee, M. (1992): Adherence and entry of *Borrelia burgdorferi* in Vero cells. In: *J Med Microbiol* 36 (4), S. 229–238.
- Hefty, P. S.; Jolliff, S. E.; Caimano, M. J.; Wikel, S. K.; Akins, D. R. (2002): Changes in temporal and spatial patterns of outer surface lipoprotein expression generate population heterogeneity and antigenic diversity in the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. In: *Infect Immun* 70 (7), S. 3468–3478.
- Heid, C. A.; Stevens, J.; Livak, K. J.; Williams, P. M. (1996): Real time quantitative PCR. In: *Genome research* 6 (10), S. 986–994.
- Heikkilä, H. M.; Bondarenko, A.; Mihalkov, A.; Pfister, K.; Spillmann, T. (2010): *Anaplasma phagocytophilum* infection in a domestic cat in Finland: Case report. In: *Acta Vet Scand* 52 (1), S. 62.
- Heine, S.; Thiet, W.; Liebisch, G. (2007): Anaplasmose beim Hund - Fallbericht. In: *Prakt Tierarzt* 88, S. 20–27.

- Hellerström, S. (1930): Erythema chronicum migrans Afzelii. In: Acta Derm Venereol (Stockh) 11, S. 315–321.
- Henniger, T.; Henniger, P.; Grossmann, T.; Distl, O.; Ganter, M.; Loewenich, F. D. von (2013): Congenital infection with *Anaplasma phagocytophilum* in a calf in northern Germany. In: Acta Vet Scand 55, S. 38.
- Hermann, M.; Baumann, D.; Lutz, H.; Wild, P. (1985): Erster diagnostizierter Fall von equiner Ehrlichiose in der Schweiz. In: Pferdeheilkunde - Equine Medicine 1, S. 247–250.
- Herron, M. J.; Ericson, M. E.; Kurtti, T. J.; Munderloh, U. G. (2005): The interactions of *Anaplasma phagocytophilum*, endothelial cells, and human neutrophils. In: Ann NY Acad Sci 1063, S. 374–382.
- Herron, M. J.; Nelson, C. M.; Larson, J.; Snapp, K. R.; Kansas, G. S.; Goodman, J. L. (2000): Intracellular parasitism by the human granulocytic ehrlichiosis bacterium through the P-selectin ligand, PSGL-1. In: Science 288 (5471), S. 1653–1656.
- Herxheimer, K.; Hartmann, K. (1902): Ueber Acrodermatitis chronica atrophicans. Aus der dermatologischen Abtheilung des städtischen Krankenhauses zu Frankfurt a/M. In: Arch Dermatol Syph 61 (2-3), S. 255–300.
- Hiepe, T.; Aspöck, H. (2006): Allgemeine Parasitologie: mit den Grundzügen der Immunbiologie, Diagnostik und Bekämpfung. Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag.
- Hildebrandt, A.; Pauliks, K.; Sachse, S.; Straube, E. (2010): Coexistence of *Borrelia* spp. and *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* ticks in Middle Germany. In: Vector Borne Zoonotic Dis 10 (9), S. 831–837.
- Hillyard, P. D. (1996): Ticks of north-west Europe: Field Studies Council.
- Hilton, H.; Madigan, J. E.; Aleman, M. (2008): Rhabdomyolysis associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse. In: J Vet Intern Med 22 (4), S. 1061–1064.
- Hirschfeld, M.; Kirschning, C. J.; Schwandner, R.; Wesche, H.; Weis, J. H.; Wooten, R. M.; Weis, J. J. (1999): Cutting edge: Inflammatory signaling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by Toll-like receptor 2. In: J Immunol 163 (5), S. 2382–2386.
- Holden, K.; Boothby, J. T.; Anand, S.; Massung, R. F. (2003): Detection of *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in ticks (Acari: Ixodidae) from a coastal region of California. In: J Med Entomol 40 (4), S. 534–539.
- Hovind-Hougen, K. (1984): Ultrastructure of spirochetes isolated from *Ixodes ricinus* and *Ixodes dammini*. In: Yale J Biol Med 57 (4), S. 543–548.
- Hovius, K. E.; Stark, L. A.; Bleumink-Pluym, N. M.; van de Pol, I.; Verbeek-de Kruif, N.; Rijpkema, S. G. et al. (1999): Presence and distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in internal organs and skin of naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs, as detected by polymerase chain reaction. In: Vet Q 21 (2), S. 54–58.
- Hovmark, A.; Åsbrink, E.; Schwan, O.; Hederstedt, B.; Christensson, D. (1986): Antibodies to *Borrelia* spirochetes in sera from Swedish cattle and sheep. In: Acta Vet Scand 27 (4), S. 479–485.

- Hu, L. T.; Klempner, M. S. (1997): Host-pathogen interactions in the immunopathogenesis of Lyme disease. In: *J Clin Immunol* 17 (5), S. 354–365.
- Hubálek, Z.; Halouzka, J. (1997): Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. In: *Eur J Epidemiol* 13, S. 951–957.
- Huegli, D.; Hu, C. M.; Humair, P.-F.; Wilske, B.; Gern, L. (2002): *Apodemus* species mice are reservoir hosts of *Borrelia garinii* OspA serotype 4 in Switzerland. In: *J Clin Microbiol* 40 (12), S. 4735–4737.
- Humair, P.-F. (2002): Birds and *Borrelia*. In: *Int J Med Microbiol* 291, S. 70–74.
- Hunfeld, K.-P. (2004): Contributions to seroepidemiology, diagnosis, and antimicrobial susceptibility of *Borrelia*, *Ehrlichia*, and *Babesia* as indigenous tick-conducted pathogens. Aachen, 2004.
- Hunfeld, K.-P.; Brade, V. (2006): Antimicrobial susceptibility of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. What we know, what we don't know, and what we need to know. In: *Wien Klin Wochenschr* 118 (21-22), S. 659–668.
- Huppertz, H. I.; Böhme, M.; Standaert, S. M.; Karch, H.; Plotkin, S. A. (1999): Incidence of Lyme borreliosis in the Würzburg region of Germany. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18 (10), S. 697–703.
- Hutton, T. A.; Goldstein, R. E.; Njaa, B. L.; Atwater, D. Z.; Chang, Y.-F.; Simpson, K. W. (2008): Search for *Borrelia burgdorferi* in kidneys of dogs with suspected "Lyme nephritis". In: *J Vet Intern Med* 22 (4), S. 860–865.
- Hyde, F. W.; Johnson, R. C. (1988): Characterization of a circular plasmid from *Borrelia burgdorferi*, etiologic agent of Lyme disease. In: *J Clin Microbiol* 26 (10), S. 2203–2205.
- Ijdo, J. W.; Sun, W.; Zhang, Y.; Magnarelli, L. A.; Fikrig, E. (1998): Cloning of the gene encoding the 44-kilodalton antigen of the Agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis and characterization of the humoral response. In: *Infect Immun* 66 (7), S. 3264–3269.
- Imai, D. M.; Barr, B. C.; Daft, B.; Bertone, J. J.; Feng, S.; Hodzic, E. et al. (2011): Lyme neuroborreliosis in 2 horses. In: *Vet Pathol* 48 (6), S. 1151–1157.
- Indest, K. J.; Howell, J. K.; Jacobs, M. B.; Scholl-Meeker, D.; Norris, S. J.; Philipp, M. T. (2001): Analysis of *Borrelia burgdorferi* VlsE gene expression and recombination in the tick vector. In: *Infect Immun* 69 (11), S. 7083–7090.
- Ivanova, L. B.; Tomova, A.; González-Acuña, D.; Murúa, R.; Moreno, C. X.; Hernández, C. et al. (2014): *Borrelia chilensis*, a new member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex that extends the range of this genospecies in the Southern Hemisphere. In: *Environmental Microbiology* 16 (4), S. 1069–1080.
- Jacobson, R. H.; Chang, Y.-F.; Shin, S. J. (1996): Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. In: *Semin Vet Med Surg Small Anim* 11 (3), S. 172–182.
- James, F. M.; Engiles, J. B.; Beech, J. (2010): Meningitis, cranial neuritis, and radiculoneuritis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. In: *J Am Vet Med Assoc* 237 (10), S. 1180–1185.

- Janda, J. M. (2015): Taxonomic update on proposed nomenclature and classification changes for bacteria of medical importance, 2013–2014. In: *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 83 (1), S. 82–88.
- Janeway, C. A.; Travers, P.; Walport, M.; Shlomchick, M. J. (Hg.) (2001): *Immunology*. Appendix I. Immunologist's Toolbox. Immunization. New York, USA: Garland Publishing (750).
- Jauris-Heipke, S.; Liegl, G.; Preac-Mursic, V.; Rössler, D.; Schwab, E.; Soutschek, E. et al. (1995): Molecular analysis of genes encoding outer surface protein C (OspC) of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: relationship to OspA genotype and evidence of lateral gene exchange of OspC. In: *J Clin Microbiol* 33 (7), S. 1860–1866.
- Jauris-Heipke, S.; Rößle, B.; Wanner, G.; Habermann, C.; Rössler, D.; Fingerle, V. et al. (1999): Osp17, a novel immunodominant outer surface protein of *Borrelia afzelii*. Recombinant expression in *Escherichia coli* and its use as a diagnostic antigen for serodiagnosis of Lyme borreliosis. In: *Med Microbiol Immunol* 187 (4), S. 213–219.
- Jenkins, A.; Kristiansen, B. E.; Allum, A. G.; Aakre, R. K.; Strand, L.; Kleveland, E. J. et al. (2001): *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from southern Norway. In: *J Clin Microbiol* 39 (10), S. 3666–3671.
- Jepson, C.; Asch, D. A.; Hershey, J. C.; Ubel, P. A. (2005): In a mailed physician survey, questionnaire length had a threshold effect on response rate. In: *J Clin Epidemiol* 58 (1), S. 103–105.
- Jin, C.; Roen, D. R.; Lehmann, P. V.; Kellermann, G. H. (2013): An enhanced ELISPOT assay for sensitive detection of antigen-specific T cell responses to *Borrelia burgdorferi*. In: *Cells* 2 (3), S. 607–620.
- Johnson, A. L.; Divers, T. J.; Chang, Y.-F. (2008): Validation of an in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay kit for diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infection in horses. In: *J Vet Diagn Invest* (20), S. 321–324.
- Johnson, A. L.; Johnstone, L. K.; Stefanovski, D. (2018): Cerebrospinal fluid Lyme multiplex assay results are not diagnostic in horses with neuroborreliosis. In: *J Vet Intern Med*, S. 1–7.
- Johnson, B. J. B. (2011): Laboratory diagnostic testing for *Borrelia burgdorferi* infection. Lyme Disease: an evidence-based approach. In: CAB International.
- Johnson, R. C. (1989): Isolation techniques for spirochetes and their sensitivity to antibiotics in vitro and in vivo. In: *Rev Infect Dis* 11 (Suppl. 6), 1505-1510.
- Johnson, R. C.; Kodner, C.; Russell, M. (1987): In vitro and in vivo susceptibility of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, to four antimicrobial agents. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 31 (2), S. 164–167.
- Johnson, R. C.; Kodner, C.; Russell, M.; Duray, P. H. (1988): Experimental infection of the hamster with *Borrelia burgdorferi*. In: *Ann NY Acad Sci* 539 (1), S. 258–263.
- Johnson, R. C.; Kodner, C. B.; Jurkovich, P. J.; Collins, J. J. (1990): Comparative in vitro and in vivo susceptibilities of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* to cefuroxime and other antimicrobial agents. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34 (11), S. 2133–2136.

- Johnson, R. C.; Schmid, G. P.; Hyde, F. W.; Steigerwalt, A. G.; Brenner, D. J. (1984a): *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. In: Int J Syst Evol Microbiol 34 (4), S. 496–497.
- Johnson, S. E.; Klein, G. C.; Schmid, G. P.; Feeley, J. C. (1984b): Susceptibility of the Lyme disease spirochete to seven antimicrobial agents. In: Yale J Biol Med 57 (4), S. 549–553.
- Johnstone, L. K.; Engiles, J. B.; Aceto, H.; Buechner-Maxwell, V.; Divers, T. J.; Gardner, R. B. et al. (2016): Retrospective evaluation of horses diagnosed with neuroborreliosis on postmortem examination: 16 Cases (2004-2015). In: J Vet Intern Med 30 (4), S. 1305–1312.
- Jongejan, F.; Ringenier, M.; Putting, M.; Berger, L.; Burgers, S.; Kortekaas, R. et al. (2015): Novel foci of *Dermacentor reticulatus* ticks infected with *Babesia canis* and *Babesia caballi* in the Netherlands and in Belgium. In: Parasit Vectors 8, S. 232.
- Jonsson, M.; Noppa, L.; Barbour, A. G.; Bergström, S. (1992): Heterogeneity of outer membrane proteins in *Borrelia burgdorferi*: Comparison of Osp operons of three isolates of different geographic origins. In: Infect Immun 60 (5), S. 1845–1853.
- Jurke, A.; Bannert, N.; Brehm, K.; Fingerle, V.; Kempf, V. A. J.; Kömpf, D. et al. (2015): Serological survey of *Bartonella* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Leptospira* spp., *Echinococcus*, Hanta-, TBE- and XMR-virus infection in employees of two forestry enterprises in North Rhine-Westphalia, Germany, 2011-2013. In: Int J Med Microbiol 305 (7), S. 652–662.
- Kalish, R. A.; Leong, J. M.; Steere, A. C. (1993): Association of treatment-resistant chronic Lyme arthritis with HLA-DR4 and antibody reactivity to OspA and OspB of *Borrelia burgdorferi*. In: Infect Immun 61 (7), S. 2774–2779.
- Kampen, H.; Rotzel, D. C.; Kurtenbach, K.; Maier, W. A.; Seitz, H. M. (2004): Substantial rise in the prevalence of Lyme borreliosis spirochetes in a region of Western Germany over a 10-year period. In: J Appl Environ Microbiol 70 (3), S. 1576–1582.
- Karlsson, M.; Hovind-Hougen, K.; Svenugsson, B.; Stiernstedt, G. (1990): Cultivation and characterization of spirochetes from cerebrospinal fluid of patients with Lyme borreliosis. In: J Clin Microbiol 28 (3), S. 473–479.
- Käsbohrer, A. M.; Schönberg, A. (1990): Serologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Borrelia burgdorferi* bei Haustieren in Berlin (West). In: Berl Munch Tierärztl Wochenschr 103, S. 374–378.
- Kawabata, H.; Masuzawa, T.; Yanagihara, Y. (1993): Genomic analysis of *Borrelia japonica* sp. nov. isolated from *Ixodes ovatus* in Japan 37 (11), S. 843–848.
- Kersten, A.; Poitschek, C.; Rauch, S.; Aberer, E. (1995): Effects of penicillin, ceftriaxone, and doxycycline on morphology of *Borrelia burgdorferi*. In: Antimicrobial Agents and Chemotherapy 39 (5), S. 1127–1133.
- Kimsey, R. B.; Spielman, A. (1990): Motility of Lyme disease spirochetes in fluids as viscous as the extracellular matrix. In: J Infect Dis 162 (5), S. 1205–1208.
- Kiss, T.; Cadar, D.; Krupaci, A. F.; Bordeanu, A.; Brudașcă, F. G.; Milhalca, A. D. et al. (2011): Serological reactivity to *Borrelia burgdorferi* sensu lato in dogs and horses from distinct areas in Romania. In: Vector Borne Zoonotic Dis 11 (9), S. 1259–1262.

- Klein, M. B.; Miller, J. S.; Nelson, C. M.; Goodman, J. L. (1997): Primary bone marrow progenitors of both granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. In: *J Infect Dis* 176 (5), S. 1405–1409.
- Kleinbaum, D. G.; Morgenstern, H.; Kupper, L. L. (1981): Selection bias in epidemiologic studies. In: *Am J Epidemiol* 113 (4), S. 452–463.
- Klempner, M. S.; Hu, L. T.; Evans, J.; Schmid, C. H.; Johnson, G. M.; Trevino, R. P. et al. (2001): Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. In: *N Engl J Med* 345 (2), S. 85–92.
- Klempner, M. S.; Noring, R.; Rogers, R. A. (1993): Invasion of human skin fibroblasts by the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. In: *J Infect Dis* 167, S. 1074–1081.
- Knödseder, J. M.; Fell, S. F.; Straubinger, R. K. (2019): A study with a commercial vaccine against Lyme borreliosis in horses using two different vaccination schedules: Characterization of the humoral immune response. In: *Vaccine*.
- Kochi, S. K.; Johnson, R. C.; Dalmasso, A. P. (1991): Complement-mediated killing of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. Role of antibody in formation of an effective membrane attack complex. In: *J Immunol* 146 (11), S. 3964–3970.
- Kohn, B.; Galke, D.; Beelitz, P.; Pfister, K. (2008): Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. In: *J Vet Intern Med* 22 (6), S. 1289–1295.
- Kohn, B.; Silaghi, C.; Galke, D.; Arndt, G.; Pfister, K. (2011): Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. In: *Res Vet Sci* 91 (1), S. 71–76.
- Kohn, M.; Krücken, J.; McKay-Demeler, J.; Pachnicke, S.; Krieger, K.; Samson-Himmelstjerna, G. von (2019): *Dermacentor reticulatus* in Berlin/Brandenburg (Germany): Activity patterns and associated pathogens. In: *Ticks Tick Borne Dis* 10 (1), S. 191–206.
- Kopec, J. A.; Esdaile, J. M. (1990): Bias in case-control studies. A review. In: *J Epidemiol Community Health* 44 (3), S. 179–186.
- Kraiczy, P.; Skerka, C.; Kirschfink, M.; Brade, V.; Zipfel, P. F. (2001): Immune evasion of *Borrelia burgdorferi* by acquisition of human complement regulators FHL-1/reconectin and Factor H. In: *Eur J Immunol* 31 (6), S. 1674–1684.
- Kramer, M. D.; Wallich, R.; Simon, M. M. (1996): The outer surface protein A (OspA) of *Borrelia burgdorferi*. A vaccine candidate and bioactive mediator. In: *Infection* 24 (2), S. 190–194.
- Krause, P. J.; Telford, S. R.; Spielman, A.; Sikand, V. K.; Ryan, R.; Christianson, D. et al. (1996): Concurrent Lyme Disease and Babesiosis. Evidence for increased severity and duration of illness. In: *JAMA* 275 (21), S. 1657–1660.
- Krupka, I. (2010): Infektionen mit *Borrelia burgdorferi* sensu lato und deren serologischer Nachweis mittels spezifischer C6-Peptide bei Hunden sowie im murinen Infektionsmodell. Inaugural-Dissertation, Universität Leipzig.
- Krupka, I.; Bechtel, M.; Loehnert-Thiel, U.; Eppendorf, R.; Straubinger, R. K. (2012): Borreliose: Möglichkeiten und Perspektiven der Diagnostik. In: *Leipziger Blaue Hefte*, S. 319.
- Krupka, I.; Knauer, J.; Lorentzen, L.; O'Connor, T. P.; Saucier, J.; Straubinger, R. K. (2009): *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in Europe induce diverse immune responses against C6 peptides in infected mice. In: *Clin Vaccine Immunol* 16 (11), S. 1546–1562.

- Krupka, I.; Pantchev, N.; Lorentzen, L.; Weise, M.; Straubinger, R. K. (2007): Durch Zecken übertragbare bakterielle Infektionen bei Hunden: Seroprävalenzen von *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato und *Ehrlichia canis* in Deutschland. In: Prakt Tierarzt 13 (10), S. 776–788.
- Krupka, I.; Straubinger, R. K. (2010): Lyme borreliosis in dogs and cats. Background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. In: Vet Clin North Am Small Anim Pract 40 (6), S. 1103–1119.
- Kumi-Diaka, J.; Harris, O. (1995): Viability of *Borrelia burgdorferi* in stored semen. In: British Veterinary Journal 151 (2), S. 221–224.
- Kurtenbach, K.; Hanincová, K.; Tsao, J. I.; Margos, G.; Fish, D.; Ogden, N. H. (2006): Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. In: Nat Rev Microbiol 4 (9), S. 660–669.
- Kurtenbach, K.; Kampen, H.; Dizij, A.; Arndt, S.; Seitz, H. M.; Schaible, U. E.; Simon, M. M. (1995): Infestation of rodents with larval *Ixodes ricinus* (Acari; Ixodidae) is an important factor in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* s.l. in German woodlands. In: J Med Entomol 32 (6), S. 807–817.
- Labandeira-Rey, M.; Seshu, J.; Skare, Jonathan T. (2003): The absence of linear plasmid 25 or 28-1 of *Borrelia burgdorferi* dramatically alters the kinetics of experimental infection via distinct mechanisms. In: Infect Immun 71 (8), S. 4608–4613.
- Lane, R. S.; Piesman, J.; Burgdorfer, W. (1991): Lyme Borreliosis: Relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. In: Annu Rev Entomol 36 (1), S. 587–609.
- Lantos, P. M. (2013): Lyme disease vaccination: are we ready to try again? In: Lancet Infect Dis 13 (8), S. 643–644.
- Lantos, P. M.; Auwaerter, P. G.; Wormser, G. P. (2014): A systematic review of *Borrelia burgdorferi* morphologic variants does not support a role in chronic Lyme disease. In: Clin Infect Dis 58 (5), S. 663–671.
- Laus, F.; Veronesi, F.; Passamonti, F.; Paggi, E.; Cerquettella, M.; Hyatt, D. et al. (2013): Prevalence of tick borne pathogens in horses from Italy. In: J Vet Med Sci 75 (6), S. 715–720.
- Le Fleche, A.; Postic, D.; Girardet, K.; Peter, O.; Baranton, G. (1997): Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. In: Int J Syst Evol Microbiol 47 (4), 921-925.
- Leblond, A.; Pradier, S.; Pitel, P. H.; Fortier, G.; Boireau, P.; Chadoeuf, J.; Sabatier, P. (2005): An epidemiological survey of equine anaplasmosis (*Anaplasma phagocytophilum*) in southern France. In: Rev Sci Tech 24 (3), S. 899–908.
- Ledue, T. B.; Collins, M. F.; Craig, W. Y. (1996): New laboratory guidelines for serologic diagnosis of Lyme disease: evaluation of the two-test protocol. In: J Clin Microbiol 34 (10), S. 2343–2350.
- Lee, S.-H.; Yun, S.-H.; Choi, E.; Park, Y.-S.; Lee, S.-E.; Cho, G.-J. et al. (2016): Serological detection of *Borrelia burgdorferi* among horses in Korea. In: Korean J Parasitol 54 (1), S. 97–101.

- Lencáková, D.; Fingerle, V.; Štefančíková, A.; Schulte-Spechtel, U. C.; Petko, B.; Schréter, I.; Wilske, B. (2008): Evaluation of recombinant line immunoblot for detection of Lyme disease in Slovakia: comparison with two other immunoassays. In: *Vector Borne Zoonotic Dis* 8 (3), S. 381–390.
- Leonhard, S. (2005): Untersuchungen zur Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* und *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* aus Bayern und Baden-Württemberg. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Lepidi, H.; Bunnell, J. E.; Martin, M. E.; Madigan, J. E.; Stuen, S.; Dumler, J. S. (2000): Comparative pathology, and immunohistology associated with clinical illness after *Ehrlichia phagocytophila*-group infections. In: *Am J Trop Med Hyg* 62 (1), S. 29–37.
- Levi, O.; Waner, T.; Baneth, G.; Keysary, A.; Bruchim, Y.; Silverman, J.; Harrus, S. (2006): Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* among healthy dogs and horses in Israel. In: *J Vet Med Zoonoses and Public Health* 53 (2), S. 78–80.
- Levy, S. A. (2002): Use of a C6 ELISA test to evaluate the efficacy of a whole-cell bacterin for the prevention of naturally transmitted canine *Borrelia burgdorferi* infection. In: *Vet Ther* 3 (4), S. 420–424.
- Levy, S. A.; Duray, P. H. (1988): Complete heart block in a dog seropositive for *Borrelia burgdorferi*: similarity to human Lyme carditis. In: *J Vet Intern Med* 2 (3), S. 138–144.
- Levy, S. A.; Magnarelli, L. A. (1992): Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. In: *J Am Vet Med Assoc* 200 (3), S. 344–347.
- Levy, S. A.; O'Connor, T. P.; Hanscom, J. L.; Shields, P. (2002): Utility of an in-office C6 ELISA test kit for determination of infection status of dogs naturally exposed to *Borrelia burgdorferi*. In: *Vet Ther* 3 (3), S. 308–315.
- Levy, S. A.; O'Connor, T. P.; Hanscom, J. L.; Shields, P. (2003): Evaluation of a canine C6 ELISA Lyme disease test for the determination of the infection status of cats naturally exposed to *Borrelia burgdorferi*. In: *Vet Ther* 4 (2), S. 172–177.
- Lewis, S. R.; Zimmerman, K.; Dascanio, J. J.; Pleasant, R. S.; Witonsky, S. G. (2009): Equine Granulocytic Anaplasmosis. A Case Report and Review. In: *J Equine Vet Sci* 29 (3), S. 160–166.
- Lewis, G. E., Jr. (1976): Equine Ehrlichiosis: A comparison between *E. equi* and other pathogenic species of *Ehrlichia*. In: *Vet Parasitol* 2, S. 61–74.
- Lewis, G. E., Jr.; Huxsoll, D. L.; Ristic, M.; Johnson, A. J. (1975): Experimentally induced infection of dogs, cats, and nonhuman primates with *Ehrlichia equi*, etiologic agent of equine ehrlichiosis. In: *Am J Vet Res* 36 (1), S. 85–88.
- Li, C.; Bakker, R. G.; Motaleb, M. A.; Sartakova, M. L.; Cabello, F. C.; Charon, N. W. (2002): Asymmetrical flagellar rotation in *Borrelia burgdorferi* nonchemotactic mutants. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (9), S. 6169–6174.
- Liang, F. T.; Aberer, E.; Cinco, M.; Gern, L.; Hu, C. M.; Lobet, Y. N. et al. (2000): Antigenic conservation of an immunodominant invariable region of the VlsE lipoprotein among European pathogenic genospecies of *Borrelia burgdorferi* SL. In: *J Infect Dis* 182 (5), S. 1455–1462.

- Liang, F. T.; Alvarez, A. L.; Gu, Y.; Nowling, J. M.; Ramamoorthy, R.; Philipp, M. T. (1999a): An immunodominant conserved region within the variable domain of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. In: J Immunol 163, S. 5566–5573.
- Liang, F. T.; Brown, E. L.; Wang, T.; Iozzo, R. V.; Fikrig, E. (2004): Protective niche for *Borrelia burgdorferi* to evade humoral immunity. In: Am J Pathol 165 (3), S. 977–985.
- Liang, F. T.; Jacobs, M. B.; Bowers, L. C.; Philipp, M. T. (2002): An immune evasion mechanism for spirochetal persistence in Lyme borreliosis. In: J Exp Med 195 (4), S. 415–422.
- Liang, F. T.; Philipp, M. T. (1999): Analysis of antibody response to invariable regions of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. In: Infect Immun 67 (12), S. 6702–6706.
- Liang, F. T.; Steere, A. C.; Marques, A. R.; Johnson, B. J.; Miller, J. N.; Philipp, M. T. (1999b): Sensitive and specific serodiagnosis of Lyme disease by enzyme-linked immunosorbent assay with a peptide based on an immunodominant conserved region of *Borrelia burgdorferi* VlsE. In: J Clin Microbiol 37 (12), S. 3990–3996.
- Liang, L.; Wang, J.; Schorter, L.; Nguyen Trong, T. P.; Fell, S.; Ulrich, S.; Straubinger, R. K. (2020): Rapid clearance of *Borrelia burgdorferi* from the blood circulation. In: Parasit Vectors 13 (1), S. 191.
- Liebisch, A.; Kopp, A.; Olbrich, S. (1990): Zeckenborreliose bei Haustieren. Teil II: Infektionen bei Pferden und Wiederkäuern. In: Sonderdruck aus VET 5 (11).
- Liebisch, A.; Liebisch, G. (1991): Biologie und Ökologie der Zecken. In: Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier. Erlangen, perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH 42.
- Liebisch, A.; Liebisch, G. (1997): Zeckenborreliose bei Haustieren. In: Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier. Balingen: Demeter-Verl. im Spitta-Verl.
- Liebisch, A.; Liebisch, G. (2001): Lyme-Borreliose beim Pferd: Standortbestimmung zur Infektion, Labordiagnose und Therapie. In: Tagungsheft zur XIV. Tagung über Pferdekrankheiten im Rahmen der EQUITANA.
- Liebisch, A.; Liebisch, G. (2003): Zeckenborreliose bei Haustieren. In: H. Horst (Hg.): Zeckenborreliose Lyme-Krankheit bei Mensch und Tier. 4. Aufl. Balingen, Germany: Spitta Verlag.
- Liebisch, G.; Assmann, G.; Liebisch, A. (1999): Infektion mit *Borrelia burgdorferi* s.l. als Krankheitsursache der Lyme-Borreliose bei Pferden in Deutschland. In: Prakt Tierarzt 80, S. 498–516.
- Liebold, T.; Straubinger, R. K.; Rauwald, H. W. (2008): Antibacterial activities of *Dipsacus sylvestris* Huds. against *Borrelia burgdorferi* s.s. in vitro. In: Planta Medica 74.
- Liebold, T.; Straubinger, R. K.; Rauwald, H. W. (2011): Growth inhibiting activity of lipophilic extracts from *Dipsacus sylvestris* Huds. roots against *Borrelia burgdorferi* s. s. in vitro. In: Pharmazie 66, S. 628–630.
- Lin, M.; Rikihisa, Y. (2003): *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. In: Infect Immun 71 (9), S. 5324–5331.

- Lindenmayer, J.; Weber, M.; Onderdonk, A. (1989): *Borrelia burgdorferi* infection in horses. In: J Am Vet Med Assoc.
- Lissman, B. A.; Bosler, E. M.; Camay, H.; Ormiston, B. G.; Benach, J. L. (1984): Spirochete-associated arthritis (Lyme disease) in a dog. In: J Am Vet Med Assoc 185 (2), S. 219.
- Littman, M. P.; Gerber, B.; Goldstein, R. E.; Labato, M. A.; Lappin, M. R.; Moore, G. E. (2018): ACVIM consensus update on Lyme borreliosis in dogs and cats. In: J Vet Intern Med 32 (3), S. 887–903.
- Littman, M. P.; Goldstein, R. E.; Labato, M. A.; Lappin, M. R.; Moore, G. E. (2006): ACVIM Small Animal Consensus Statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. Consensus Statements of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). In: J Vet Intern Med 20, S. 422–434.
- Liz, J. S.; Anderes, L.; Sumner, J. W.; Massung, R. F.; Gern, L.; Rutti, B.; Brossard, M. (2000): PCR detection of granulocytic *Ehrlichiae* in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in Western Switzerland. In: J Clin Microbiol 38 (3), S. 1002–1007.
- Loewenich, F. D. von; Stumpf, G.; Baumgarten, B. U.; Rölinghoff, M.; Dumler, J. S.; Bogdan, C. (2003): A case of Equine Granulocytic Ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic *Anaplasma phagocytophilum* (HGE Agent) in Germany. In: Eur J Clin Microbiol Infect Dis 22 (5), S. 303–305.
- Logigian, E. L.; Kaplan, R. F.; Steere, A. C. (1999): Successful treatment of Lyme encephalopathy with intravenous ceftriaxone. In: J Infect Dis 180 (2), S. 377–383.
- Loh, S.-M.; Gofton, A. W.; Lo, N.; Gillett, A.; Ryan, U. M.; Irwin, P. J.; Oskam, C. L. (2016): Novel *Borrelia* species detected in echidna ticks, *Bothriocroton concolor*, in Australia. In: Parasit Vectors 9 (1), S. 339.
- Luft, B. J.; Mudri, S.; Jiang, W.; Dattwyler, R. J.; Gorevic, P. D.; Fischer, T. et al. (1992): The 93-kilodalton protein of *Borrelia burgdorferi*: an immunodominant protoplasmic cylinder antigen. In: Infect Immun 60 (10), S. 4309–4321.
- Lukaszewska, J.; Adaszek, L.; Winiarczyk, S. (2008): Hematological changes in granulocytic anaplasmosis in dogs and horses. In: Zycie Wet 83, S. 827–831.
- Ma, B.; Christen, B.; Leung, D.; Vigo-Pelfrey, C. (1992): Serodiagnosis of Lyme borreliosis by western immunoblot: reactivity of various significant antibodies against *Borrelia burgdorferi*. In: J Clin Microbiol 30 (2), S. 370–376.
- Ma, Y.; Sturrock, A.; Weis, J. J. (1991): Intracellular localization of *Borrelia burgdorferi* within human endothelial cells. In: Infect Immun 59 (2), S. 671–678.
- MacDonald, A. B. (2006): A life cycle for *Borrelia* spirochetes? In: Med Hypotheses 67 (4), S. 810–818.
- MacLeod, J. (1962): Ticks and disease in domestic stock in Great Britain. In: Symposium of the Zoological Society of London 6, S. 29–50.
- Madigan, J. E.; Barlough, J. E.; Rikihisa, Y.; Wen, B.; Miller, P. E.; Sampson, T. J. (1997): Identification of an enzootic diarrhea (“Shasta River Crud”) in northern California as Potomac horse fever. In: J Equine Vet Sci 17 (5), S. 270–272.

- Madigan, J. E.; Gribble, D. (1987): Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). In: J Am Vet Med Assoc 190 (4), S. 445–448.
- Madigan, J. E.; Hietala, S.; Chalmers, S.; DeRock, E. (1990): Seroepidemiologic survey of antibodies to *Ehrlichia equi* in horses of northern California. In: J Am Vet Med Assoc 196 (12), S. 1962–1964.
- Madigan, J. E.; Pusterla, N. (2000): Ehrlichial diseases. In: Vet Clin North Am Equine Pract 16 (3), S. 487–499.
- Madigan, J. E.; Richter, P. J., Jr.; Kimsey, R. B.; Barlough, J. E.; Bakken, J. S.; Dumler, J. S. (1995): Transmission and passage in horses of the agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis. In: J Infect Dis 172, S. 1141–1144.
- Magnarelli, L. A.; Anderson, J. F. (1988): Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of class-specific immunoglobulins to *Borrelia burgdorferi*. In: Asian Am J Psychol 127 (4), S. 818–825.
- Magnarelli, L. A.; Anderson, J. F. (1989): Class-specific and polyvalent enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in equids. In: J Am Vet Med Assoc 195 (10), S. 1365–1368.
- Magnarelli, L. A.; Anderson, J. F.; Barbour, A. (1986): The etiologic agent of Lyme disease in deer flies, horse flies, and mosquitoes. In: J Infect Dis 154 (2), S. 355–358.
- Magnarelli, L. A.; Anderson, J. F.; Johnson, R. C. (1987): Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. In: J Infect Dis 156 (1), 183.188.
- Magnarelli, L. A.; Anderson, J. F.; Levine, H. R.; Levy, S. A. (1990): Tick parasitism and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in cats. In: J Am Vet Med Assoc 197 (1), S. 63–66.
- Magnarelli, L. A.; Anderson, J. F.; Shaw, E.; Post, J. E.; Palka, F. C. (1988): Borreliosis in equids in northeastern United States. In: Am J Vet Res 49 (3), S. 359–362.
- Magnarelli, L. A.; Flavell, R.; Padula, S.; Anderson, J. F.; Fikrig, E. (1997): Serologic diagnosis of canine and equine borreliosis: Use of recombinant antigens in enzyme-linked immunosorbent assays. In: J Clin Microbiol 35 (1), S. 169–173.
- Magnarelli, L. A.; Ijdo, J. W.; van Andel, A. E.; Wu, C.; Padula, S. J.; Fikrig, E. (2000): Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. In: J Am Vet Med Assoc 217 (7), S. 1045–1050.
- Maloney, E. M.; Lindenmayer, J. L. (1992): Seroprevalence and clinical signs of Lyme Disease in Cape Cod horses. In: Equine Practice (USA).
- Manion, T. B.; Bushmich, S. L.; Khan, M.; Dinger, J.; Werner, H.; Mittel, L. et al. (2001): Suspected clinical Lyme disease in horses: Serological and antigen testing differences between clinically ill and clinically normal horses from an endemic region. In: J Equine Vet Sci 21 (5), S. 229–234.
- Manion, T. B.; Bushmich, S. L.; Mittel, L. (1998a): Lyme disease in horses: Serological and antigen testing differences. In: Proceedings Ann Am Assoc Equine Pract Conv 44, S. 144–145.

- Manion, T. B.; Khan, M. I.; Dinger, J.; Bushmich, S. L. (1998b): Viable *Borrelia burgdorferi* in the urine of two clinically normal horses. In: J Vet Diagn Invest 10 (2), S. 196–199.
- Manning, P. G. (1989): Fulminant refractory Lyme disease. In: J Iowa Med Soc 79 (6), S. 277–280.
- Maraspin, V.; Ruzic-Sabljić, E.; Strle, F. (2006): Lyme borreliosis and *Borrelia spielmanii*. In: Emerging Infect Dis 12 (7), S. 1177.
- Marcelis, L.; Marneffe, P. de; Chaidron, E.; Bigaignon, G.; Kageruka, P.; Goubau, P. (1987): Horse reservoir for *Borrelia burgdorferi*? In: Lancet 329 (8539), S. 977.
- Marconi, R. T.; Liveris, D.; Schwartz, I. (1995): Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in *Borrelia japonica* sp. nov. and genomic group 21038 (*Borrelia andersonii* sp. nov.) isolates. In: J Clin Microbiol 33 (9), S. 2427–2434.
- Marcus, L. C.; Patterson, M. M.; Gilfillan, R. E.; Urband, P. H. (1985): Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in New England horses: serologic survey. In: Am J Vet Res 46 (12).
- Margos, G.; Gofton, A.; Wibberg, D.; Dangel, A.; Marosevic, D.; Loh, S.-M. et al. (2018): The genus *Borrelia* reloaded. In: PLoS ONE 13 (12), e0208432.
- Margos, G.; Hojgaard, A.; Lane, R. S.; Cornet, M.; Fingerle, V.; Rudenko, N. et al. (2010): Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissettii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. In: Ticks Tick Borne Dis 1 (4), S. 151–158.
- Margos, G.; Marosevic, D.; Cutler, S.; Derdakova, M.; Diuk-Wasser, M.; Emler, S. et al. (2017): There is inadequate evidence to support the division of the genus *Borrelia*. In: Int J Syst Evol Microbiol 67 (4), S. 1081–1084.
- Margos, G.; Vollmer, S. A.; Cornet, M.; Garnier, M.; Fingerle, V.; Wilske, B. et al. (2009): A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. In: J Appl Environ Microbiol 75 (16), S. 5410–5416.
- Markowicz, M.; Ladstatter, S.; Schotta, A. M.; Reiter, M.; Pomberger, G.; Stanek, G. (2015): Oligoarthritis caused by *Borrelia bavariensis*, Austria, 2014. In: Emerging Infect Dis 21 (6), S. 1052–1054.
- Marques, A. R. (2015): Laboratory diagnosis of Lyme disease. Advances and challenges. In: Infect Dis Clin North Am 29 (2), S. 295–307.
- Marshall, W. F.; Telford, S. R.; Rys, P. N.; Rutledge, B. J.; Mathiesen, D.; Malawista, S. E. et al. (1994): Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in museum specimens of *Peromyscus leucopus*. In: J Infect Dis 170 (4), S. 1027–1032.
- Massung, R. F.; Levin, M. L.; Munderloh, U. G.; Silverman, D. J.; Lynch, M. J.; Gaywee, J. K.; Kurtti, T. J. (2007): Isolation and propagation of the Ap-Variant 1 strain of *Anaplasma phagocytophilum* in a tick cell line. In: J Clin Microbiol 45 (7), S. 2138–2143.
- Massung, R. F.; Owens, J. H.; Ross, D.; Reed, K. D.; Petrovec, M.; Bjöersdorff, A. et al. (2000): Sequence analysis of the ank gene of granulocytic *Ehrlichiae*. In: J Clin Microbiol 38 (8), S. 2917–2922.

- Masuzawa, T.; Takada, N.; Kudeken, M.; Fukui, T.; Yano, Y.; Ishiguro, F. et al. (2001): *Borrelia sinica* sp. nov., a Lyme disease-related *Borrelia* species isolated in China. In: Int J Syst Evol Microbiol 51, S. 1817–1824.
- Maupin, G. O.; Fish, D.; Zultowsky, J.; Campos, E. G.; Piesman, J. (1991): Landscape ecology of Lyme disease in a residential area of Westchester County, New York. In: Asian Am J Psychol 133 (11), S. 1105–1113.
- Maurin, M.; Bakken, J. S.; Dumler, J. S. (2003): Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States. In: Antimicrobial Agents and Chemotherapy 47 (1), S. 413–415.
- Maurizi, L.; Marié, J.-L.; Courtin, C.; Gorsane, S.; Chal, D.; Davoust, B. (2009): Seroprevalence survey of equine anaplasmosis in France and in sub-Saharan Africa. In: Clin Microbiol Infect 15 (Suppl 2), S. 68–69.
- Mavin, S.; Milner, R. M.; Evans, R.; Chatterton, J. M. W.; Joss, A. W. L.; Ho-Yen, D. O. (2007): The use of local isolates in Western blots improves serological diagnosis of Lyme disease in Scotland. In: J Med Microbiol 56, S. 47–51.
- May, K.; Jordan, D.; Fingerle, V.; Strube, C. (2015): *Borrelia burgdorferi* sensu lato and co-infections with *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp. in *Ixodes ricinus* in Hamburg, Germany. In: Med Vet Entomol 29 (4), S. 425–429.
- Medlock, J. M.; Hansford, K. M.; Bormane, A.; Derdakova, M.; Estrada-Peña, A.; George, J.-C. et al. (2013): Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. In: Parasit Vectors 6 (1), S. 1–11.
- Meersschaert, C.; Cerri, S.; Pitel, P. H.; Waele, V. de; Hendrickx, G.; Amory, H. (2016): Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in horses in the southern part of Belgium: a “one health” driven study.
- Meriläinen, L.; Herranen, A.; Schwarzbach, A.; Gilbert, L. (2015): Morphological and biochemical features of *Borrelia burgdorferi* pleomorphic forms. In: Microbiology 161 (Pt 3), S. 516–527.
- Metcalf, K. B.; Lilley, C. S.; Revenaugh, M. S.; Glaser, A. L.; Metcalf, E. S. (2008): The prevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* found in horses residing in the Northwestern United States. In: J Equine Vet Sci 28 (10), S. 587–589.
- Mitchell, P. D.; Reed, K. D.; Hofkes, J. M. (1996): Immunoserologic evidence of coinfection with *Borrelia burgdorferi*, *Babesia microti*, and human granulocytic *Ehrlichia* species in residents of Wisconsin and Minnesota. In: J Clin Microbiol 34 (3), S. 724–727.
- Montgomery, R. R.; Lusitani, D.; Boisfleury Chevance, A. de; Malawista, S. E. (2002): Human phagocytic cells in the early innate immune response to *Borrelia burgdorferi*. In: J Infect Dis 185 (12), S. 1773–1779.
- Montgomery, R. R.; Nathanson, M. H.; Malawista, S. E. (1994): Fc- And Non-Fc-mediated phagocytosis of *Borrelia burgdorferi* by macrophages. In: J Infect Dis 170 (4), S. 890–893.
- Moody, K. D.; Barthold, S. W.; Terwilliger, G. A. (1990a): Lyme borreliosis in laboratory animals: Effect of host species and in vitro passage of *Borrelia burgdorferi*. In: Am J Trop Med Hyg 43 (1), S. 87–92.

- Moody, K. D.; Barthold, S. W.; Terwilliger, G. A.; Beck, D. S.; Hansen, G. M.; Jacoby, R. O. (1990b): Experimental chronic Lyme borreliosis in Lewis rats 42 (2), S. 165–174.
- Moody, K. D.; Terwilliger, G. A.; Hansen, G. M.; Barthold, S. W. (1994): Experimental *Borrelia burgdorferi* infection in *Peromyscus leucopus*. In: J Wildl Dis 30 (2), S. 155–161.
- Morabia, A. (1997): Case-control studies in clinical research: mechanism and prevention of selection bias. In: *Prev Med* 26 (5 Pt 1), S. 674–677.
- Motaleb, M. A.; Miller, M. R.; Li, Chunhao; Bakker, R. G.; Goldstein, Stuart F.; Silversmith, Ruth E. et al. (2005): CheX is a phosphorylated CheY phosphatase essential for *Borrelia burgdorferi* chemotaxis. In: J Bacteriol 187 (23), S. 7963–7969.
- Müllegger, R. R. (2004): Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. In: Eur J Dermatol 14 (5), S. 296–309.
- Müller, E. (2013): Klinische Mikrobiologie. In: A. Moritz (Hg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 7. Aufl. Stuttgart, Germany: Schattauer, S. 595–627.
- Müller, I. (1999): Immunoblot-Muster von Pferdeseren mit fünf verschiedenen Borrelien-Arten. Veterinärmedizinische Universität Wien, Wien, Austria.
- Müller, I.; Khanakah, G.; Kundi, M.; Stanek, G. (2002): Horses and *Borrelia*: Immunoblot patterns with five *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains and sera from horses of various stud farms in Austria and from the Spanish Riding School in Vienna. In: Int J Med Microbiol 291 (33), S. 80–87.
- Mullis, K. B.; Faloona, F. A. (1989): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. Selected Methods in Enzymology. In: R. Wu, L. Grossman und K. Moldave (Hg.): Recombinant DNA Methodology. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, S. 189–204.
- Munderloh, U. G.; Kurtti, T. J.; Johnson, R. C.; Ahlstrand, G. G. (1988): Colony formation by Lyme disease spirochetes. In: Ann NY Acad Sci 539 (1), S. 404–406.
- Munderloh, U. G.; Madigan, J. E.; Dumler, J. S.; Goodman, J. L.; Hayes, S. F.; Barlough, J. E. et al. (1996): Isolation of the equine granulocytic ehrlichiosis agent, *Ehrlichia equi*, in tick cell culture. In: J Clin Microbiol 34 (3), S. 664–670.
- Mursic, V. P.; Patsouris, E.; Wilske, B.; Reinhardt, S.; Gross, B.; Mehraein, P. (1990): Persistence of *Borrelia burgdorferi* and histopathological alterations in experimentally infected animals. A comparison with histopathological findings in human Lyme disease. In: Infection 18 (6), S. 332–341.
- Mygland, A.; Ljostad, U.; Fingerle, V.; Rupprecht, T. A.; Schmutzhard, E.; Steiner, I. (2010): EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. In: Eur J Neurol 17 (1), 8-16.
- Nadelman, R. B.; Sherer, C.; Mack, L.; Pavia, C. S.; Wormser, G. P. (1990): Survival of *Borrelia burgdorferi* in human blood stored under blood banking conditions. In: Transfusion 30 (4), 298-230.
- Nadelman, R. B.; Wormser, G. P. (1998): Lyme borreliosis. In: Lancet 352 (9127), S. 557–565.

- Nakayama, Y.; Spielman, A. (1989): Ingestion of Lyme disease spirochetes by ticks feeding on infected hosts. In: *J Infect Dis* 160 (1), S. 166–167.
- Nefedova, V. V.; Korenberg, E. I.; Gorelova, N. B.; Kovalevskii, Y. V. (2004): Studies on the transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the taiga tick *Ixodes persulcatus*. In: *Folia Parasitol* 51 (1), S. 67–71.
- Nicholson, W. L.; Comer, J. A.; Sumner, J. W.; Gingrich-Baker, C.; Coughlin, R. T.; Magnarelli, L. A. et al. (1997): An indirect immunofluorescence assay using a cell culture-derived antigen for detection of antibodies to the agent of human granulocytic ehrlichiosis. In: *J Clin Microbiol* 35 (6), S. 1510–1516.
- Nieder, M.; Silaghi, C.; Hamel, D.; Pfister, K.; Schmäschke, R.; Pfeffer, M. (2012): Tick-borne fever caused by *Anaplasma phagocytophilum* in Germany. First laboratory confirmed case in a dairy cattle herd. In: *Tierärztl Prax* 40 (G), S. 101–106.
- Nitschke, K. (2014): Untersuchungen zur Zeckenfauna bei Katzen in Niederbayern. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Nolen-Walston, R. D.; D'Oench, S. M.; Hanelt, L. M.; Sharkey, L. C.; Paradis, M. R. (2004): Acute recumbency associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse. In: *J Am Vet Med Assoc* 224 (12), S. 1964–1966.
- Nordberg, M.; Forsberg, P.; Nyman, D.; Skogman, B. H.; Nyberg, C.; Ernerudh, J. et al. (2012): Can ELISPOT be applied to a clinical setting as a diagnostic utility for neuroborreliosis? In: *Cells* 1 (2), S. 153–167.
- Nowling, J. M.; Philipp, M. T. (1999): Killing of *Borrelia burgdorferi* by antibody elicited by OspA vaccine is inefficient in the absence of complement. In: *Infect Immun* 67 (1), S. 443–445.
- Nübling, M.; Rieger, M. A.; Batsford, S.; Wagner, M.; Wertenschlag, E.; Hofmann, F. (2002): Seroprevalence of infection with *Borrelia burgdorferi* s. l. in two adjacent regions of eastern France and southwestern Germany. In: *Int J Med Microbiol* 291, S. 218.
- Nyarko, E.; Grab, D. J.; Dumler, J. S. (2006): *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils enhance transmigration of *Borrelia burgdorferi* across the human blood brain barrier in vitro. In: *Int J Parasitol* 36 (5), S. 601–605.
- Nyindo, M. B.; Ristic, M.; Lewis, G. E., Jr.; Huxsoll, D. L.; Stephenson, E. H. (1978): Immune response of ponies to experimental infection with *Ehrlichia equi*. In: *Am J Vet Res* 39 (1), S. 15–18.
- O'Connor, T. P.; Esty, K. J.; Hanscom, J. L.; Shields, P.; Philipp, M. T. (2004): Dogs vaccinated with common Lyme disease vaccines do not respond to IR6, the conserved immunodominant region of the VlsE surface protein of *Borrelia burgdorferi*. In: *Clin Diagn Lab Immunol* 11 (3), S. 458–462.
- Oehme, R.; Hartelt, K.; Backe, H.; Brockmann, S.; Kimmig, P. (2002): Foci of tick-borne diseases in Southwest Germany. In: *Int J Med Microbiol* 291, S. 22–29.
- Ogden, N. H.; Lindsay, L. R.; Hanincová, K.; Barker, I. K.; Bigras-Poulin, M.; Charron, D. F. et al. (2008): Role of migratory birds in introduction and range expansion of *Ixodes scapularis* ticks and of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in Canada. In: *J Appl Environ Microbiol* 74 (6), S. 1780–1790.

Ogden, N. H.; Woldehiwet, Z.; Hart, C. A. (1998): Granulocytic ehrlichiosis: an emerging or rediscovered tick-borne disease? In: *J Med Microbiol* 47 (6), 475-482.

Ohashi, N.; Zhi, N.; Lin, Q.; Rikihisa, Y. (2002): Characterization and transcriptional analysis of gene clusters for a type IV secretion machinery in human granulocytic and monocytic ehrlichiosis agents. In: *Infect Immun* 70 (4), S. 2128–2138.

Ohnishi, J.; Piesman, J.; Silva, A. M. de (2001): Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (2), S. 670–675.

Ojogun, N.; Barnstein, B.; Huang, B.; Oskeritzian, C. A.; Homeister, J. W.; Miller, D. et al. (2011): *Anaplasma phagocytophilum* infects mast cells via alpha1,3-fucosylated but not sialylated glycans and inhibits IgE-mediated cytokine production and histamine release. In: *Infect Immun* 79 (7), S. 2717–2726.

Ojogun, N.; Kahlon, A.; Ragland, S. A.; Troese, M. J.; Mastronunzio, J. E.; Walker, N. J. et al. (2012): *Anaplasma phagocytophilum* outer membrane protein A interacts with sialylated glycoproteins to promote infection of mammalian host cells. In: *Infect Immun* 80 (11), S. 3748–3760.

Olsén, B.; Jaenson, T. G. T.; Noppa, L.; Bunikis, J.; Bergström, S. (1993): A Lyme borreliosis cycle in seabirds and *Ixodes uriae* ticks. In: *Nature* 362 (6418), S. 340–342.

Ostlund, E. N.; Andresen, J. E.; Andresen, M. (2000): West Nile Encephalitis. In: *Vet Clin North Am Equine Pract* 16 (3), S. 427–441.

Owen, D. C. (2006): Is Lyme disease always poly microbial?--The jigsaw hypothesis. In: *Med Hypotheses* 67 (4), S. 860–864.

Pachner, A. R.; Delaney, E.; O'Neill, T.; Major, E. (1995): Inoculation of nonhuman primates with the N40 strain of *Borrelia burgdorferi* leads to a model of Lyme neuroborreliosis faithful to the human disease. In: *Neurology* 45 (1), S. 165–172.

Pal, U.; Li, X.; Wang, T.; Montgomery, R. R.; Ramamoorthi, N.; Silva, A. M. de et al. (2004): TROSPA, an *Ixodes scapularis* receptor for *Borrelia burgdorferi*. In: *Cell* 119 (4), S. 457–468.

Pal, U.; Montgomery, R. R.; Lusitani, D.; Voet, P.; Weynants, V.; Malawista, S. E. et al. (2001): Inhibition of *Borrelia burgdorferi*-tick interactions in vivo by outer surface protein A antibody. In: *J Immunol* 166 (12), S. 7398–7403.

Pal, U.; Wang, P.; Bao, F.; Yang, X.; Samanta, S.; Schoen, R. et al. (2008): *Borrelia burgdorferi* basic membrane proteins A and B participate in the genesis of Lyme arthritis. In: *J Exp Med* 205 (1), S. 133–141.

Palm, K. (2016): Nachweis spezifischer Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* in equinen Serumproben aus dem Bayerischen Haupt- und Landgestüt Schwaiganger unter Berücksichtigung aktueller Kriterien der Diagnostik. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.

Palmer, G. H.; Brown, W. C.; Noh, S. M.; Brayton, K. A. (2012): Genome-wide screening and identification of antigens for *rickettsial* vaccine development. In: *FEMS Immunol Med Microbiol* 64 (1), S. 115–119.

- Pantchev, N.; Fleisch, S.; Huisinga, E.; Nather, S.; Scheufelen, M.; Vrhovec, M. G. et al. (2018): Zeckenübertragene Erkrankungen beim Hund in Deutschland. Teil 1: Borreliose, Anaplasmose, Babesiose: Status quo und Überblick zur Erregerübertragung, Vorkommenshäufigkeit, Verbreitung und Prophylaxe. In: Kleintierpraxis 63 (5), S. 278–302.
- Park, J.; Choi, K.-S.; Dumler, J. S. (2003): Major surface protein 2 of *Anaplasma phagocytophilum* facilitates adherence to granulocytes. In: Infect Immun 71 (7), S. 4018–4025.
- Park, J.; Kim, K. J.; Choi, K.-S.; Grab, D. J.; Dumler, J. S. (2004): *Anaplasma phagocytophilum* AnkA binds to granulocyte DNA and nuclear proteins. In: Cellular Microbiology 6 (8), S. 743–751.
- Parker, J. L.; White, K. K. (1992): Lyme borreliosis in cattle and horses: a review of the literature. In: Cornell Vet 82 (3), S. 253–274.
- Parola, P.; Raoult, D. (2001): Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. In: Clin Infect Dis 32 (6), S. 897–928.
- Passamonti, F.; Veronesi, F.; Cappelli, K.; Capomaccio, S.; Coppola, G.; Marenzoni, M. L. et al. (2010): *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks. A preliminary survey of Central Italy. In: Comp Immunol Microbiol Infect Dis 33 (1), S. 73–83.
- Passamonti, F.; Veronesi, F.; Cappelli, K.; Capomaccio, S.; Reginato, A.; Miglio, A. et al. (2015): Polysynovitis in a horse due to *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection. Case study. In: Ann Agric Environ Med 22 (2), S. 247–250.
- Patrican, L. A. (1997): Absence of Lyme disease spirochetes in larval progeny of naturally infected *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) fed on dogs. In: J Med Entomol 34 (1), S. 52–55.
- Philipp, M. T.; Bowers, L. C.; Fawcett, P. T.; Jacobs, M. B.; Liang, F. T.; Marques, A. R. et al. (2001): Antibody response to IR6, a conserved immunodominant region of the VlsE lipoprotein, wanes rapidly after antibiotic treatment of *Borrelia burgdorferi* infection in experimental animals and in humans. In: J Infect Dis 184, S. 870–878.
- Philipp, M. T.; Johnson, B. J. B. (1994): Animal models of Lyme disease: pathogenesis and immunoprophylaxis. In: Trends Microbiol 2 (11), S. 431–437.
- Philipp, M. T.; Wormser, G. P.; Marques, A. R.; Bittker, S.; Martin, D. S.; Nowakowski, J.; Dally, L. G. (2005): A decline in C6 antibody titer occurs in successfully treated patients with culture-confirmed early localized or early disseminated Lyme Borreliosis. In: Clin Diagn Lab Immunol 12 (9), S. 1069–1074.
- Piesman, J. (1993): Dynamics of *Borrelia burgdorferi* transmission by nymphal *Ixodes dammini* ticks. In: J Infect Dis 167 (5), S. 1082–1085.
- Piesman, J. (1995): Dispersal of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* to salivary glands of feeding nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). In: J Med Entomol 32 (4), S. 519–521.
- Piesman, J.; Mather, T. N.; Sinsky, R. J.; Spielman, A. (1987): Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission. In: J Clin Microbiol 25 (3), S. 557–558.
- Piesman, J.; Oliver, J. R.; Sinsky, R. J. (1990): Growth kinetics of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) in vector ticks (*Ixodes dammini*). In: Am J Trop Med Hyg 42 (4), S. 352–357.

- Piesman, J.; Schneider, B. S.; Zeidner, N. S. (2001): Use of quantitative PCR to measure density of *Borrelia burgdorferi* in the midgut and salivary glands of feeding tick vectors. In: J Clin Microbiol 39 (11), S. 4145–4148.
- Piesman, J.; Schwan, T. G. (2010): Molecular Biology, Host Interaction, and Pathogenesis. In: D. S. Samuels und J. D. Radolf (Hg.): *Borrelia*. Norfolk, UK: Caister Academic.
- Pollack, R. J.; Telford, S. R.; Spielman, A. (1993): Standardization of medium for culturing Lyme disease spirochetes. In: J Clin Microbiol 31 (5), S. 1251–1255.
- Post, J. E.; Shaw, E. E.; Palka, F. C. (1987): Lyme disease in horses. In: Vet Clin North Am Equine Pract 32, S. 415–420.
- Postic, D.; Garnier, M.; Baranton, G. (2007): Multilocus sequence analysis of atypical *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates - description of *Borrelia californiensis* sp. nov., and genomospecies 1 and 2. In: Int J Med Microbiol 297 (4), S. 263–271.
- Postic, D.; Ras, N. M.; Lane, R. S.; Hendson, M.; Baranton, G. (1998): Expanded diversity among Californian *Borrelia* isolates and description of *Borrelia bissettii* sp. nov. (formerly *Borrelia* group DN127). In: J Clin Microbiol 36 (12), S. 3497–3504.
- Praskova, I.; Bezdekova, B.; Zeman, P.; Jahn, P. (2011): Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in horses in the Czech Republic. In: Ticks Tick Borne Dis 2 (2), S. 111–115.
- Preac-Mursic, V.; Reinhardt, S.; Wilske, B.; Busch, U.; Wanner, G.; Marget, W. (1996): Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast-L-form variants. In: Infection 24 (3), S. 218–226.
- Preac-Mursic, V.; Wilske, B.; Gross, B.; Weber, K.; Pfister, H. W.; Baumann, A.; Prokop, J. (1989): Survival of *Borrelia burgdorferi* in antibioticly treated patients with Lyme borreliosis. In: Infection 17 (6), S. 355–359.
- Preac-Mursic, V.; Wilske, B.; Reinhardt, S. (1991): Culture of *Borrelia burgdorferi* on six solid media. In: Eur J Clin Microbiol Infect Dis 10 (12), S. 1076–1079.
- Preac-Mursic, V.; Wilske, B.; Schierz, G.; Pfister, H.-W.; Einhäupl, K. (1984): Repeated isolation of spirochetes from the cerebrospinal fluid of a patient with meningoradiculitis Bannwarth. In: Eur J Clin Microbiol 3 (6), S. 564–565.
- Preyß-Jägeler, C.; Müller, E.; Straubinger, R. K.; Hartmann, K. (2016): Prevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Leptospira interrogans* serovars in Bernese Mountain Dogs. In: Tierärztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 44 (2), S. 77–85.
- Priem, S.; Krause, A. (Hg.) (1999): Lyme Borreliose. Labordiagnostik der Lyme Borreliose. Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag.
- Priest, H. L.; Irby, N. L.; Schlafer, D. H.; Divers, T. J.; Wagner, B.; Glaser, A. L. et al. (2012): Diagnosis of *Borrelia*-associated uveitis in two horses. In: Vet Ophthalmol 15 (6), S. 398–405.
- Pritt, B. S.; Mead, P. S.; Johnson, D. K. H.; Neitzel, D. F.; Respicio-Kingry, L. B.; Davis, J. P. et al. (2016): Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia. A descriptive study. In: Lancet Infect Dis 16 (5), S. 556–564.

- Puius, Y. A.; Kalish, R. A. (2008): Lyme Arthritis: Pathogenesis, clinical presentation, and management. In: *Infect Dis Clin North Am* 22 (2), S. 289–300.
- Pusterla, N.; Chae, J.-S.; Kimsey, R. B.; Berger Pusterla, J.; DeRock, E.; Dumler, J. S.; Madigan, J. E. (2002): Transmission of *Anaplasma phagocytophila* (Human Granulocytic Ehrlichiosis agent) in horses using experimentally infected ticks (*Ixodes scapularis*). In: *J Vet Med Series B* 49 (10), S. 484–488.
- Pusterla, N.; Huder, J. B.; Feige, K.; Lutz, H. (1998): Identification of a Granulocytic *Ehrlichia* strain isolated from a horse in Switzerland and comparison with other *Rickettsiae* of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup. In: *J Clin Microbiol* 36 (7), S. 2035–2037.
- Pusterla, N.; Huder, J. B.; Leutenegger, C. M.; Braun, U.; Madigan, J. E.; Lutz, H. (1999a): Quantitative real-time PCR for detection of members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup in host animals and *Ixodes ricinus* ticks. In: *J Clin Microbiol* 37 (5), S. 1329–1331.
- Pusterla, N.; Madigan, J. E. (2003): Equine Granulocytic Ehrlichiosis. In: N. E. Robinson (Hg.): *Current Therapy in Equine Medicine*. 5th Ed. Philadelphia, USA: Saunders.
- Pusterla, N.; Madigan, J. E. (2013): Equine Granulocytic Anaplasmosis. In: *J Equine Vet Sci* 33 (7), S. 493–496.
- Pusterla, N.; Madigan, J. E. (2014): *Anaplasma phagocytophilum* infection. In: D. C. Sellon und M. T. Long (Hg.): *Equine Infectious Diseases*. Philadelphia, USA: Saunders, S. 344–347.
- Pusterla, N.; Pusterla, J. B.; Braun, U.; Lutz, H. (1999b): Experimental cross-infections with *Ehrlichia phagocytophila* and human granulocytic ehrlichia-like agent in cows and horses. In: *Vet Rec* 145 (11), S. 311–314.
- Ramamoorthi, N.; Narasimhan, S.; Pal, U.; Bao, F.; Yang, X. F.; Fish, D. et al. (2005): The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. In: *Nature* 436 (7050), S. 573–577.
- Randolph, S.E.; Green, R. M.; Hoodless, A. N.; Peacey, M. F. (2002): An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. In: *Int J Parasitol* 32 (8), S. 979–989.
- Rathinavelu, S.; Broadwater, A.; Silva, A. M. de (2003): Does host complement kill *Borrelia burgdorferi* within ticks? In: *Infect Immun* 71 (2), S. 822–829.
- Rauter, C.; Hartung, T. (2005): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe. A metaanalysis. In: *J Appl Environ Microbiol* 71 (11), S. 7203–7216.
- Rauwald, H. W.; Hutschenreuther, A.; Rusch, C.; Birkemeyer, C.; Straubinger, R. K. (2008): Growth inhibiting activity of volatile terpenoids from *Cistus creticus* L. against *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (*Bbss*) in vitro. In: *Planta Medica* 74.
- Raya, A. I.; Afonso, J. C.; Perez-Ecija, R. A.; Blanco, B.; Martín-de Las Mulas, J.; Carrasco, L. et al. (2010): Orbital myositis associated with Lyme disease in a dog. In: *Vet Rec* 167 (17), S. 663–664.
- Reed, S. M.; Bayly, W. M.; Sellon, D. C. (Hg.) (2017): *Equine Internal Medicine*. 4th. Philadelphia, USA: Saunders.

- Reid, M. C.; Schoen, R. T.; Evans, J.; Rosenberg, J. C.; Horwitz, R. I. (1998): The consequences of overdiagnosis and overtreatment of Lyme disease: an observational study. In: *Ann Intern Med* 128 (5), S. 354–362.
- Reimer, B.; Erbas, B.; Lobbichler, K.; Truckenbrodt, R.; Gartner-Kothe, U.; Kapeller, N. et al. (2002): Seroprevalence of *Borrelia* infection in occupational tick-exposed people in Bavaria (Germany). In: *Int J Med Microbiol* 291, S. 215.
- Reischl, U. (1996): Application of molecular biology-based methods to the diagnosis of infectious diseases. In: *Front Biosci* 1, e72-77.
- Reubel, G. H.; Kimsey, R. B.; Barlough, J. E.; Madigan, John E. (1998): Experimental transmission of *Ehrlichia equi* to horses through naturally infected ticks (*Ixodes pacificus*) from Northern California. In: *J Clin Microbiol* 36 (7), S. 2131–2134.
- Ribeiro, J. M.; Mather, T. N.; Piesman, J.; Spielman, A. (1987): Dissemination and salivary delivery of Lyme disease spirochetes in vector ticks (Acari: *Ixodidae*). In: *J Med Entomol* 24 (2), S. 201–205.
- Richt, J. A.; Grabner, A.; Herzog, S. (2000): Borna Disease in horses. In: *Vet Clin North Am Equine Pract* 16 (3), S. 579–595.
- Richter, D.; Matuschka, F.-R. (2006a): Modulatory effect of cattle on risk for Lyme disease. In: *Emerging Infect Dis* 12 (12), S. 1919–1923.
- Richter, D.; Matuschka, F.-R. (2006b): Perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia lusitaniae* by lizards. In: *J Appl Environ Microbiol* 72 (7), S. 4627–4632.
- Richter, D.; Matuschka, F.-R. (2010): Elimination of lyme disease spirochetes from ticks feeding on domestic ruminants. In: *Appl Environ Microbiol* 76 (22), S. 7650–7652.
- Richter, D.; Postic, D.; Sertour, N.; Livey, I.; Matuschka, F.-R.; Baranton, G. (2006): Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. In: *Int J Syst Evol Microbiol* 56 (Pt 4), S. 873–881.
- Richter, P. J., Jr.; Kimsey, R. B.; Madigan, John E.; Barlough, J. E.; Dumler, J. S.; Brooks, D. L. (1996): *Ixodes pacificus* (Acari: *Ixodidae*) as a vector of *Ehrlichia equi* (Rickettsiales: *Ehrlichieae*). In: *J Med Entomol* 33 (1), S. 1–5.
- Rieger, M. A.; Nübling, M.; Heß, S.; Batsford, S.; Hofmann, F. (2002): Seroprevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* s. l. and tick-borne encephalitis virus in the Bergische Land region of Northrhine Westfalia. In: *Int J Med Microbiol* 291, S. 216–217.
- Rikihisa, Y. (1990): Ultrastructure of *Rickettsiae* with special emphasis on *Ehrlichiae*. In: Jim C. Williams und Ibulaimu Kakoma (Hg.): *Ehrlichiosis. A vector-borne disease of animals and humans*. Dordrecht: Springer Netherlands (Current Topics in Veterinary Medicine, 54), S. 22–31.
- Rikihisa, Y. (1991): The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases. In: *Clin Microbiol Rev* 4 (3), S. 286–308.
- Rikihisa, Y.; Dumler, J. S.; Dasch, G. A. (2004): Rickettsial diseases. In: S. Reed, B. Warwick und D. Sellon (Hg.): *Equine Internal Medicine*. 2. Aufl. Philadelphia, USA: Saunders.

- Rikihisa, Y.; Dumler, J. S.; Dasch, G. A. (2015): *Neorickettsia*. In: Whitman (Hg.): Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria, Bd. 30. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Inc, S. 1–12.
- Riond, J.-L.; Riviere, J. E.; Duckett, W. M.; Atkins, C. E.; Jernigan, A. D.; Rikihisa, Y.; Spurlock, S. L. (1992): Cardiovascular effects and fatalities associated with intravenous administration of doxycycline to horses and ponies. In: Equine Vet J 24 (1), S. 41–45.
- Robert Koch-Institut (RKI) (2007): Epidemiologisches Bulletin 38/2007.
- Robert Koch-Institut (RKI) (2019): Epidemiologisches Bulletin 17/2019.
- Robertson, J.; Guy, E.; Andrews, N.; Wilske, B.; Anda, P.; Granström, M. et al. (2000): A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. In: J Clin Microbiol 38 (6), S. 2097–2102.
- Robinson, N. E. (1997): Thermoregulation. In: J. G. Cunningham (Hg.): Textbook of veterinary physiology. 2. Aufl. Philadelphia, USA: Saunders, S. 643.
- Rogovskyy, A. S.; Bankhead, T. (2013): Variable VlsE is critical for host reinfection by the Lyme disease spirochete. In: PLoS ONE 8 (4), S. 1–12.
- Rosa, P. A.; Schwan, T. G. (1989): A specific and sensitive assay for the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* using the Polymerase Chain Reaction. In: J Infect Dis 160 (6), S. 1018–1029.
- Rosa, P. A.; Tilly, K.; Stewart, P. E. (2005): The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochaete. In: Nat Rev Microbiol 3 (2), S. 129–143.
- Rößle, B. (2001): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Borrelien - Ultrastruktur und Immunzytologie. Dissertation. LMU München.
- Rössler, D.; Eiffert, H.; Jauris-Heipke, S.; Lehnert, G.; Preac-Mursic, V.; Teepe, J. et al. (1995): Molecular and immunological characterization of the p83/100 protein of various *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains. In: Med Microbiol Immunol 184 (1), S. 23–32.
- Roush, J. K.; Manlex, P. A.; Dueland, R. T. (1989): Rheumatoid arthritis subsequent to *Borrelia burgdorferi* infection in two dogs. In: J Am Vet Med Assoc 195 (7), S. 951–953.
- Rubel, F.; Brugger, K.; Monazahian, M.; Habedank, B.; Dautel, H.; Leverenz, S.; Kahl, O. (2014): The first German map of georeferenced ixodid tick locations. In: Parasit Vectors 7 (477), S. 1–5.
- Rudenko, N.; Golovchenko, M.; Mokráček, A.; Piskunová, N.; Růžek, D.; Mallatová, N.; Grubhoffer, L. (2008): Detection of *Borrelia bissettii* in cardiac valve tissue of a patient with endocarditis and aortic valve stenosis in the Czech Republic. In: J Clin Microbiol 46 (10), S. 3540–3543.
- Rudenko, N.; Golovchenko, M.; Grubhoffer, L.; Oliver, J. H. (2009a): *Borrelia carolinensis* sp. nov., a new (14th) member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex from the southeastern region of the United States. In: J Clin Microbiol 47 (1), S. 134–141.
- Rudenko, N.; Golovchenko, M.; Lin, T.; Gao, L.; Grubhoffer, L.; Oliver, J. H. (2009b): Delineation of a new species of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex, *Borrelia americana* sp. nov. In: J Clin Microbiol 47 (12), S. 3875–3880.

- Rudolph, A.; Wichelmann, M.; Böckeier, W. (1992): Prävalenz von *Borellia burgdorferi*, dem Erreger der Lyme-Borreliose, bei Zecken (*Ixodidae*) und haematophagen Insekten (*Diptera*, *Siphonaptera*) in Schleswig-Holstein, BRD. In: Mitt Österr Ges Tropenmed Parasitol 14, S. 239–248.
- Rufli, T.; Mumcuoglu, Y. (1981): Dermatologische Entomologie. Teil 18: *Ixodidae* / Schildzecken. In: Schweizerische Rundschau für Medizin 70 (9), S. 362–385.
- Rupprecht, T. A.; Koedel, U.; Fingerle, V.; Pfister, H.-W. (2008): The pathogenesis of Lyme neuroborreliosis: from infection to inflammation. In: Mol Med 14 (3-4), S. 205–212.
- Sadziene, A.; Wilske, B.; Ferdows, M. S.; Barbour, A. G. (1993): The cryptic OspC Gene of *Borrelia burgdorferi* B31 is located on a circular plasmid. In: Infect Immun 61 (5), S. 2192–2195.
- Salinas-Meléndez, J. A.; Galván de la Garza, S.; Riojas-Valdés, V. M.; Wong González, A.; Ávalos-Ramírez, R. (2001): Antibody detection against *Borrelia burgdorferi* in horses located in the suburban areas of Monterrey, Nuevo León. In: Rev Latinoam Microbiol 43 (4), S. 161–164.
- Salmon, S. A.; Watts, J. L.; Yancey, R. J., Jr. (1996): In vitro activity of ceftiofur and its primary metabolite, desfuroylceftiofur, against organisms of veterinary importance. In: J Vet Diagn Invest 8, S. 332–336.
- Salvagni, C. A.; Dagnone, A. S.; Gomes, T. S.; Mota, J. S.; Andrade, G. M.; Baldani, C. D.; Machado, R. Z. (2010): Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. In: Rev Bras Parasitol Vet 19 (3), S. 135–140.
- Sapi, E.; Kaur, N.; Anyanwu, S.; Luecke, D. F.; Datar, A.; Patel, S. et al. (2011): Evaluation of in-vitro antibiotic susceptibility of different morphological forms of *Borrelia burgdorferi*. In: Infect Drug Resist 4, S. 97–113.
- Satz, N. (1992): Immunologie und diagnostische Testverfahren bei der Lyme-Borreliose. In: Schw Med Wschf (122), S. 1779–1791.
- Scharf, W.; Schauer, S.; Freyburger, F.; Petrovec, M.; Schaarschmidt-Kiener, D.; Liebisch, G. et al. (2011): Distinct host species correlate with *Anaplasma phagocytophilum* ankA gene clusters. In: J Clin Microbiol 49 (3), S. 790–796.
- Schnabel, L. V.; Papich, M. G.; Divers, T. J.; Altier, C.; Aprea, M. S.; McCarrel, T. M.; Fortier, L. A. (2012): Pharmacokinetics and distribution of minocycline in mature horses after oral administration of multiple doses and comparison with minimum inhibitory concentrations. In: Equine Vet J 44 (4), S. 453–458.
- Schnabel, L. V.; Papich, M. G.; Watts, A. E.; Fortier, L. A. (2010): Orally administered doxycycline accumulates in synovial fluid compared to plasma. In: Equine Vet J 42 (3), S. 208–212.
- Schönberg, A.; Schmidt, K.; Kässbohrer, A. (1989): Eine durch Zecken übertragene Zoonose: Lyme Borreliose. In: Bundesgesundheitsblatt 32, S. 190–193.
- Schönert, S. (2004): Untersuchungen zum direkten und indirekten Nachweis des Erregers der Lyme-Borreliose beim Pferd unter qualitätssichernden Aspekten. Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin.

- Schönert, S.; Gall, Y.; Grabner, A. (2008): Lyme-Borreliose beim Pferd - Vergleichende Diagnostik und Fallbeispiel eines Ponys mit Meningitis. In: Tierärztl Prax 36 (Suppl. 1), S49-S53.
- Schönert, S.; Grabner, A.; Heidrich, J.; Schönberg, A.; Nöckler, K.; Bahn, P. et al. (2002): Lyme-Borreliose beim Pferd? - Vergleichende Betrachtungen zum direkten und indirekten Erregernachweis. In: Prakt Tierarzt 83 (12), S. 1064–1068.
- Schorn, S.; Pfister, K.; Reulen, H.; Mahling, M.; Manitz, J.; Thiel, C.; Silaghi, C. (2011): Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. In: Ticks Tick Borne Dis 2 (4), S. 196–203.
- Schotthoefler, A. M.; Meece, J. K.; Ivacic, L. C.; Bertz, P. D.; Zhang, K.; Weiler, T. et al. (2013): Comparison of a real-time PCR method with serology and blood smear analysis for diagnosis of human anaplasmosis: importance of infection time course for optimal test utilization. In: J Clin Microbiol 51 (7), S. 2147–2153.
- Schröder, N. W. J.; Eckert, J.; Stübs, G.; Schumann, R. R. (2008): Immune responses induced by spirochetal outer membrane lipoproteins and glycolipids. In: Immunobiology 213 (3-4), S. 329–340.
- Schubert, S.; Wieser, A. (2013): Molekulare Methoden in der mikrobiologischen Diagnostik. In: BIOspektrum 19 (7), S. 743–747.
- Schuijt, T. J.; Hovius, J. W. R.; van Burgel, N. D.; Ramamoorthi, N. (2008): The tick salivary protein Salp15 inhibits the killing of serum-sensitive *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates. In: Infect Immun 76 (2888), S. 110–122.
- Schulz, M. (2013): Untersuchungen zur saisonalen Populationsdynamik von *Ixodes ricinus* (*Ixodidae*) in Süddeutschland. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, München.
- Schusser, G. F.; Grosche, A.; Kyaw, W. O.; Kölbl, M.; Recknagel, S.; Uhlig, A.; Beelitz, P. (2007): Klinik und labormedizinische Befunde bei Pferden mit equiner granulozytärer Ehrlichiose. In: Pferdeheilkunde - Equine Medicine 23 (4), S. 351–356.
- Schütt, C.; Bröker, B. (2011): In vitro-Methoden. In: C. Schütt und B. Bröker (Hg.): Grundwissen Immunologie. Heidelberg, Germany: Spektrum Akademischer Verlag.
- Schwartz, G.; Epp, T.; Burgess, H. J.; Chilton, N. B.; Lohmann, K. L. (2015a): Comparison between available serologic tests for detecting antibodies against *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in horses in Canada. In: J Vet Diagn Invest 27 (4), S. 540–546.
- Schwartz, G.; Epp, T.; Burgess, H. J.; Chilton, N. B.; Pearl, D. L.; Lohmann, K. L. (2015b): Seroprevalence of equine granulocytic anaplasmosis and Lyme borreliosis in Canada as determined by a point-of-care enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In: Can Vet J 56, S. 575–580.
- Schwan, T. G.; Piesman, J.; Golde, W. T.; Dolan, M. C.; Rosa, P. A. (1995): Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92 (7), S. 2909–2913.

- Scofield, D.; Black, J.; Wittenburg, L.; Gustafson, D.; Ferris, R.; Hatzel, J. et al. (2014): Endometrial tissue and blood plasma concentration of ceftiofur and metabolites following intramuscular administration of ceftiofur crystalline free acid to mares. In: *Equine Vet J* 46 (5), S. 606–610.
- Scorpio, D. G.; Caspersen, K.; Ogata, H.; Park, J.; Dumler, J. S. (2004): Restricted changes in major surface protein-2 (msp2) transcription after prolonged in vitro passage of *Anaplasma phagocytophilum*. In: *BMC Microbiology* 4 (1), S. 1.
- Sears, K. P.; Divers, T. J.; Neff, R. T.; Miller, W. H., Jr.; McDonough, S. P. (2012): A case of *Borrelia*-associated cutaneous pseudolymphoma in a horse. In: *Vet Dermatol* 23 (2), S. 153–156.
- Selbitz, H.-J.; Truyen, U.; Valentin-Weigand, P. (Hg.) (2015): Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 10. Aufl. Stuttgart, Germany: Enke Verlag.
- Sells, D. M.; Hildebrandt, P. K.; Lewis, G. E.; Nyindo, M. B.; Ristic, M. (1976): Ultrastructural observations on *Ehrlichia equi* organisms in equine granulocytes. In: *Infect Immun* 13 (1), S. 273–280.
- Sertour, N.; Cotté, V.; Garnier, M.; Malandrin, L.; Ferquel, E.; Choumet, V. (2018): Infection kinetics and tropism of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in mouse after natural (via ticks) or artificial (needle) infection depends on the bacterial strain. In: *Front Microbiol* 9, S. 1722.
- Shapiro, E. D.; Gerber, M. A. (2000): Lyme Disease. In: *Clin Infect Dis* 31, S. 533–542.
- Shin, S. J.; Chang, Y.-F.; Jacobson, R. H.; Shaw, E.; Lauderdale, T.-L.; Appel, M. J.; Lein, D. H. (1993): Cross-reactivity between *B. burgdorferi* and other spirochetes affects specificity of serotests for detection of antibodies to the Lyme disease agent in dogs. In: *Vet Microbiol* 36 (1-2), S. 161–174.
- Sicklinger, M.; Wienecke, R.; Neubert, U. (2003): In vitro susceptibility testing of four antibiotics against *Borrelia burgdorferi*: a comparison of results for the three genospecies *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. In: *J Clin Microbiol* 41 (4), S. 1791–1793.
- Silaghi, C.; Gilles, J.; Höhle, M.; Fingerle, V.; Just, F. T.; Pfister, K. (2008): *Anaplasma phagocytophilum* infection in *Ixodes ricinus*, Bavaria, Germany. In: *Emerging Infect Dis* 14 (6), S. 972–974.
- Silaghi, C.; Scheuerle, M. C.; Friche Passos, L. M.; Thiel, C.; Pfister, K. (2011): PCR detection of *Anaplasma phagocytophilum* in goat flocks in an area endemic for tick-borne fever in Switzerland. In: *Parasite* 18 (1), S. 57–62.
- Silva, A. M. de; Zeidner, N. S.; Zhang, Y.; Dolan, M. C.; Piesman, J.; Fikrig, E. (1999): Influence of Outer Surface Protein A antibody on *Borrelia burgdorferi* within feeding ticks. In: *Infect Immun* 67 (1), S. 30–35.
- Skerman, V. B.D.; McGowan, V.; Sneath, P. H.A. (1980): Approved list of bacterial names. In: *J System Bacteriol* 30 (225), S. 420.
- Smith, R. P., Jr.; Rand, P. W.; Lacombe, E. H.; Morris, S. R.; Holmes, D. W.; Caporale, D. A. (1996): Role of bird migration in the long-distance dispersal of *Ixodes dammini*, the vector of Lyme disease. In: *J Infect Dis* 174 (1), S. 221–224.

- Socoloski, S. N. G.; Castro, B. G. de; Cordeiro, M. D.; da Fonseca, A. H.; Cepeda, M. B.; Nicolino, R. R.; Lopes, L. B. (2017): Epidemiological investigation of *Borrelia burgdorferi* in horses in the municipality of Sinop-MT, Brazil. In: Trop Anim Health Prod.
- Sommerauer, S.; Blohm, K.-O.; Haralambus, R. M. A.; Heus, P. de; Spargser, J.; Buchner, H. H. F. (2018): Successful treatment of Equine Lyme Borreliosis causing polyarthritis, uveitis and hyperesthesia. In: Vet Surg 47, E19.
- Sommerauer, S.; Blohm, K.-O.; Spargser, J.; Buchner, H. H. F. (2019): Arthritis, panuveitis and hyperaesthesia associated with *Borrelia afzelii* infection in a warmblood gelding. In: Vet Rec Case Rep 7 (4).
- Sonenshine, D. E. (1991): Biology of ticks (vol. 1). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Sonenshine, D. E. (1993): Biology of ticks (vol. 3). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Songer, J. G.; Post, K. W. (2005): The family *Anaplasmataceae*. In: J. G. Songer und K. W. Post (Hg.): Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease. Philadelphia, USA: Saunders, S. 325–326.
- Sood, S. K.; Salzman, M. B.; Johnson, B. J. B.; Happ, C. M.; Feig, K.; Carmody, L. et al. (1997): Duration of tick attachment as a predictor of the risk of Lyme disease in an area in which Lyme disease is endemic. In: J Infect Dis 175 (4), S. 996–999.
- Sorensen, K.; Neely, D.; Grappell, P.; Read, W. (1990): Lyme disease antibodies in Thoroughbred broodmares. Correlation to Early Pregnancy Failure. In: J Equine Vet Sci 10, S. 166–168.
- Ständige Impfkommision Veterinärmedizin (2019): Leitlinie zur Impfung von Pferden, 3. Auflage, Stand 01.02.2019. Friedrich-Loeffler-Institut.
- Stanek, G.; Reiter, M. (2011): The expanding Lyme *Borrelia* complex - clinical significance of genomic species? In: Clin Microbiol Infect 17 (4), S. 487–493.
- Stanek, G.; Wormser, G. P.; Gray, J.; Strle, F. (2012): Lyme borreliosis. In: Lancet 379 (9814), S. 461–473.
- Stannard, A. A.; Gribble, D. H.; Smith, R. S. (1969): Equine ehrlichiosis: a disease with similarities to tick-borne fever and bovine petechial fever. In: Vet Rec 84 (6), S. 149–150.
- Steere, A. C. (1989): Lyme Disease. In: N J Med 321, S. 586–596.
- Steere, A. C. (1993a): Seronegative Lyme disease. In: J Am Med Assoc 270 (11), S. 1369.
- Steere, A. C. (1993b): The overdiagnosis of Lyme Disease. In: JAMA 269 (14), S. 1812.
- Steere, A. C.; Bartenhagen, N. H.; Craft, J. E.; Hutchinson, G. J.; Newman, J. H.; Pachner, A. R. et al. (1986): Clinical manifestations of Lyme disease. In: Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A 263 (1-2), S. 201–205.
- Steere, A. C.; Batsford, W. P.; Weinberg, M.; Alexander, J.; Berger, H. J.; Wolfson, S.; Malawista, S. E. (1980a): Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease. In: Ann Intern Med 93 (1), S. 8–16.

- Steere, A. C.; Broderick, T. F.; Malawista, S. E. (1978): Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: Epidemiological evidence for a tick vector. In: Asian Am J Psychol 108 (4), S. 312–321.
- Steere, A. C.; Coburn, J.; Glickstein, L. (2004): The emergence of Lyme disease. In: J Clin Invest 113 (8), S. 1093–1101.
- Steere, A. C.; Dwyer, E.; Winchester, R. (1990): Association of chronic Lyme arthritis with HLA-DR4 and HLA-DR2 Alleles. In: N Engl J Med 323 (4), S. 219–223.
- Steere, A. C.; Gross, D.; Meyer, A. L.; Huber, B. T. (2001): Autoimmune mechanisms in antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. In: J Autoimmun 16 (3), S. 263–268.
- Steere, A. C.; Malawista, S. E.; Hardin, J. A.; Ruddy S.; Askenase, P. W.; Andiman, W. A. (1977a): Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: The enlarging clinical spectrum. In: Ann Intern Med 86 (6), S. 685–698.
- Steere, A. C.; Malawista, S. E.; Newman, J. H.; Spieler, P. N.; Bartenhagen, N. H. (1980b): Antibiotic therapy in Lyme disease. In: Ann Intern Med 93 (1), S. 1–8.
- Steere, A. C.; Malawista, S. E.; Snyderman, D. R.; Shope, R. E.; Andiman, W. A.; Ross, M. R.; Steele, F. M. (1977b): Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. In: Arthritis & Rheumatism 20 (1), S. 7–17.
- Steere, A. C.; McHugh, G.; Damle, N.; Sikand, V. K. (2008): Prospective study of serologic tests for Lyme disease. In: Clin Infect Dis 47 (2), S. 188–195.
- Steere, A. C.; Strle, F.; Wormser, G. P.; Hu, L. T.; Branda, J. A.; Hovius, J. W. R. et al. (2016): Lyme borreliosis. In: Nat Rev Dis Primers 2, S. 16090.
- Štefančíková, A.; Adaszek, Ł.; Petko, B.; Winiarczyk, S.; Dudiňák, V. (2008): Serological evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. In: Ann Agric Environ Med 15, S. 37–43.
- Štefančíková, A.; Štěpánová, G.; Pet'ko, B.; Nadzamová, D.; Szestáková, E.; Škardová, I.; Leinstejn, R. (2000): Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in horses of East Slovakia. In: Vet Med (Praha) 45 (8), S. 227–231.
- Steffen; Hirsch (2005): Diagnostik der Lyme-Borreliose. In: Ther Umsch 62 (11), S. 737–744.
- Stern, C.; Kaiser, A.; Maier, W. A.; Kampen, H. (2006): Die Rolle von Amsel (*Turdus merula*), Rotdrossel (*Turdus iliacus*) und Singdrossel (*Turdus philomelos*) als Blutwirte für Zecken (Acari: Ixodidae) und Reservoirwirte für vier Genospezies des *Borrelia burgdorferi*-Artenkomplexes. In: Mitt Dtsch Ges Allg Ent 15, S. 349–356.
- Stevenson, B.; Babb, K. (2002): LuxS-mediated quorum sensing in *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete. In: Infect Immun 70 (8), S. 4099–4105.
- Straubinger, R. K. (2000): PCR-based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period. In: J Clin Microbiol 38 (6), S. 2191–2199.
- Straubinger, R. K. (2015a): *Rickettsiales* und *Coxiella burnetii*. In: H.-J. Selbitz, U. Truyen und P. Valentin-Weigand (Hg.): Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 10. Aufl. Stuttgart, Germany: Enke Verlag.

- Straubinger, R. K. (2015b): Spirochäten. In: H.-J. Selbitz, U. Truyen und P. Valentin-Weigand (Hg.): Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 10. Aufl. Stuttgart, Germany: Enke Verlag.
- Straubinger, R. K. (2017): „Nicht jede unerklärbare Lahmheit ist eine Borreliose“. ps.interview mit Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger. In: Pferdespiegel 20 (01), S. 15–17.
- Straubinger, R. K.; Blagburn, B.; Choumet, V.; Jongejan, F.; Mather, T.; Starkey, L.; Adaszek, L. (2019): Guidelyme. Neue Leitlinien zur caninen Lyme-Borreliose für den Praxisalltag. In: Ceva Santé Animale, S. 1–28.
- Straubinger, R. K.; Chang, Y.-F.; Jacobson, R. H.; Appel, M. J. (1995): Sera from OspA-vaccinated dogs, but not those from tick-infected dogs, inhibit in vitro growth of *Borrelia burgdorferi*. In: J Clin Microbiol 33 (10), S. 2745–2751.
- Straubinger, R. K.; Dharma, R. T.; Davidson, E.; Summers, B. A.; Jacobson, R. H.; Frey, A. B. (2001): Protection against tick-transmitted Lyme disease in dogs vaccinated with a multiantigenic vaccine. In: Vaccine 20 (1-2), S. 181–193.
- Straubinger, R. K.; Straubinger, A. F.; Härter, L.; Jacobson, R. H.; Chang, Y.-F.; Summers, B. A. et al. (1997a): *Borrelia burgdorferi* migrates into joint capsules and causes an up-regulation of Interleukin-8 in synovial membranes of dogs experimentally infected with ticks. In: Infect Immun 65 (4), S. 1273–1285.
- Straubinger, R. K.; Straubinger, A. F.; Summers, B. A.; Jacobson, R. H. (2000): Status of *Borrelia burgdorferi* infection after antibiotic treatment and the effects of corticosteroids: An experimental study. In: J Infect Dis 181 (3), S. 1069–1081.
- Straubinger, R. K.; Straubinger, A. F.; Summers, B. A.; Jacobson, R. H.; Erb, H. N. (1998): Clinical manifestations, pathogenesis, and effect of antibiotic treatment on Lyme borreliosis in dogs. In: Wien Klin Wochenschr 110 (24), S. 874–881.
- Straubinger, R. K.; Summers, B. A.; Chang, Y.-F.; Appel, M. J. (1997b): Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. In: J Clin Microbiol 35 (1), S. 111–116.
- Strle, F. (2004): Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. In: Int J Med Microbiol Suppl 293, S. 27–35.
- Strle, F.; Preac-Mursic, V.; Cimperman, J.; Ruzic, E.; Maraspin, V.; Jereb, M. (1993): Azithromycin versus doxycycline for treatment of erythema migrans: clinical and microbiological findings. In: Infection 21 (2), S. 83–88.
- Stromdahl, E. Y.; Williamson, P. C.; Kollars, T. M.; Evans, S. R.; Barry, R. K.; Vince, M. A.; Dobbs, N. A. (2003): Evidence of *Borrelia lonestari* DNA in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) removed from humans. In: J Clin Microbiol 41 (12), S. 5557–5562.
- Stuen, S. (2007): *Anaplasma phagocytophilum* - the most widespread tick-borne infection in animals in Europe. In: Vet Res Commun 31 (Suppl 1), S. 79–84.
- Stuen, S.; Granquist, E. G.; Silaghi, C. (2013): *Anaplasma phagocytophilum* - a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. In: Front Cell Infect Microbiol 3, S. 31.

- Suk, K.; Das, S.; Sun, W.; Jwang, B.; Barthold, S. W.; Flavell, R. A.; Fikrig, E. (1995): *Borrelia burgdorferi* genes selectively expressed in the infected host. In: Proceedings of the National Academy of Sciences 92 (10), S. 4269–4273.
- Susta, L.; Uhl, E. W.; Grosenbaugh, D. A.; Krimer, P. M. (2012): Synovial lesions in experimental canine Lyme borreliosis. In: Vet Pathol 49 (3), S. 453–461.
- Sykes, J. E.; Foley, J. E. (2014): Anaplasmosis. In: J. E. Sykes und J. E. Foley (Hg.): Canine and Feline Infectious Diseases. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Szczepanski, A.; Furie, M. B.; Benach, J. L.; Lane, B. P.; Fleit, H. B. (1990): Interaction between *Borrelia burgdorferi* and endothelium in vitro. In: J Clin Invest 85 (5), S. 1637–1647.
- Takano, A.; Koichi, G.; Une, Y.; Shimada, Y.; Fujita, H.; Shiino, T. et al. (2010): Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne *Borreliae* from imported reptiles and their associated ticks. In: Environmental Microbiology 12 (1), S. 134–146.
- Talaska, T. (1998): Diagnostische Methoden bei Borrelien Infektionen – Übersicht. In: Für die Praxis: Lyme-Borreliose. Talaska T, ed, S. 48–59.
- Tälleklint, L.; Jaenson, T. G. T. (1993): Maintenance by hares of European *Borrelia burgdorferi* in ecosystems without rodents. In: J Med Entomol 30 (1), S. 273–276.
- Tappe, J.; Jordan, D.; Janecek, E.; Fingerle, V.; Strube, C. (2014): Revisited: *Borrelia burgdorferi* sensu lato infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hanover (Germany). In: Parasit Vectors 7 (441), S. 1–10.
- Tasai, M.; Takashima, I.; Kariwa, H.; Hashimoto, N.; Kondo, T.; Sugiura, T.; Kamada, M. (1993): Serological survey of Lyme borreliosis in horses in Japan by immunofluorescent antibody test and fluorescent enzyme-linked immunosorbent assay. In: Bull Equine Res Inst 30, S. 37–42.
- Telford, S. R.; Dawson, J. E.; Katavolos, P.; Warner, C. K.; Kolbert, C. P.; Persing, D. H. (1996): Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. In: Proceedings of the National Academy of Sciences 93 (12), S. 6209–6214.
- Templeton, T. J. (2004): *Borrelia* outer membrane surface proteins and transmission through the tick. In: J Exp Med 199 (5), S. 603–606.
- Thomas, V.; Anguita, J.; Barthold, S. W.; Fikrig, E. (2001): Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis alters murine immune responses, pathogen burden, and severity of Lyme arthritis. In: Infect Immun 69 (5), S. 3359–3371.
- Tilly, K.; Bestor, A.; Rosa, P. A. (2013): Lipoprotein succession in *Borrelia burgdorferi*. Similar but distinct roles for OspC and VlsE at different stages of mammalian infection. In: Mol Microbiol 89 (2), S. 216–227.
- Tsang, V. C. W.; Wilson, B. C.; Maddison, S. E. (1980): Kinetic studies of a quantitative single-tube enzyme-linked immunosorbent assay. In: Clin Chem 26 (9), S. 1255–1260.
- Tuomi, J. (1967): Experimental studies on bovine tick-borne fever. 1. Clinical and haematological data, some properties of the causative agent, and homologous immunity. In: Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 70 (3), S. 429–445.

- Uehlinger, F. D.; Clancey, N. P.; Lofstedt, J. (2011): Granulocytic anaplasmosis in a horse from Nova Scotia caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. Case Report. In: Can Vet J 52, S. 537–540.
- van Andel, A. E.; Magnarelli, L. A.; Heimer, R.; Wilson, M. L. (1998): Development and duration of antibody response against *Ehrlichia equi* in horses. In: J Am Vet Med Assoc 212 (12), S. 1910–1914.
- van Dam, A. P.; Kuiper, H.; Vos, K.; Widjojokusumo, A.; Jongh, B. M. de; Spanjaard, L. et al. (1993): Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. In: Clin Infect Dis 17 (4), S. 708–717.
- van der Kolk, J. H. (2016): Lyme borreliosis in the horse. A mini-review. In: JEBAS 4 (Spl-4-EHIDZ), S196-S202.
- Venner, M.; Deegen, E. (1996): Interpretation von *Borrelia burgdorferi* Antikörpertitern beim Pferd unter Berücksichtigung der Kenntnisse zur Borreliose beim Menschen - eine Literaturübersicht. In: Pferdeheilkunde - Equine Medicine 12 (6), S. 865–873.
- Verma, A.; Brisette, C. A.; Bowman, A.; Stevenson, B. (2009): *Borrelia burgdorferi* BmpA is a laminin-binding protein. In: Infect Immun 77 (11), S. 4940–4946.
- Veronesi, F.; Laus, F.; Passamonti, F.; Tesei, B.; Fioretti, D. P.; Genchi, C. (2012): Occurrence of *Borrelia lusitaniae* infection in horses. In: Vet Microbiol 160 (3-4), S. 535–538.
- Veronesi, F.; Passamonti, F.; Moretti, A.; Morganti, G.; Vardi, D. M.; Laus, F. et al. (2014): Evaluation of the performance of a rapid enzyme-linked immunosorbent assay in the detection of *Anaplasma phagocytophilum* antibodies in horses. In: Vector Borne Zoonotic Dis 14 (5), S. 317–323.
- Voller, A.; Bartlett, A.; Bidwell, D. E. (1978): Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. In: J Clin Pathol 31 (6), S. 507–520.
- Wacholder, S.; McLaughlin, J. K.; Silverman, D. T.; Mandel, J. S. (1992a): Selection of controls in case-control studies. I. Principles. In: Asian Am J Psychol 135 (9), S. 1019–1028.
- Wacholder, S.; Silverman, D. T.; McLaughlin, J. K.; Mandel, J. S. (1992b): Selection of controls in case-control studies. III. Design options. In: Asian Am J Psychol 135 (9), S. 1029–1040.
- Wagner, B. (2014): Lyme disease multiplex testing for horses. Ed Center CUAHD, Ithaca, New York, USA, 2014.
- Wagner, B.; Erb, H. N. (2012): Dogs and horses with antibodies to outer-surface protein C as on-time sentinels for ticks infected with *Borrelia burgdorferi* in New York State in 2011. In: Prev Vet Med 107 (3-4), S. 275–279.
- Wagner, B.; Freer, H.; Rollins, A.; Erb, H. N.; Lu, Z.; Grohn, Y. (2011a): Development of a multiplex assay for the detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in horses and its validation using Bayesian and conventional statistical methods. In: Vet Immunol Immunopathol 144 (3-4), S. 374–381.
- Wagner, B.; Glaser, A.; Bartol, J.; Mahar, O.; Johnson, A.; Divers, T. J. (2011b): A new sensitive Lyme Multiplex Assay to confirm neuroborreliosis in horses. A Case Report. In: AAEP Proceedings 57, S. 70–75.

- Wagner, B.; Goodman, L. B.; Rollins, A.; Freer, H. S. (2013): Antibodies to OspC, OspF and C6 antigens as indicators for infection with *Borrelia burgdorferi* in horses. In: Equine Vet J 45 (5), S. 533–537.
- Wagner, B.; Johnson, J.; Garcia-Tapia, D.; Honsberger, N.; King, V.; Strietzel, C. et al. (2015): Comparison of effectiveness of cefovecin, doxycycline, and amoxicillin for the treatment of experimentally induced early Lyme borreliosis in dogs. In: BMC Veterinary Research 11, S. 163.
- Walker, D. H.; Dumler, J. S. (1996): Emergence of the ehrlichioses as human health problems. In: Emerging Infect Dis 2 (1), S. 18.
- Wang, G.; van Dam, A. P.; Le Fleche, A.; Postic, D.; Peter, O.; Baranton, G. et al. (1997): Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). In: Int J Syst Bacteriol 47 (4), S. 926–932.
- Wang, G.; van Dam, A. P.; Schwartz, I.; Dankert, J. (1999): Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. In: Clin Microbiol Rev 12 (4), S. 633–653.
- Wasmoen, T. L.; Sebring, R. W.; Blumer, B. M.; Chavez, L. G.; Chu, H. J.; Acree, W. M. (1992): Examination of Koch's postulates for *Borrelia burgdorferi* as the causative agent of limb/joint dysfunction in dogs with borreliosis. In: J Am Vet Med Assoc 201 (3), S. 412–418.
- Webster, P.; Ijdo, J. W.; Chicoine, L. M.; Fikrig, E. (1998): The agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis resides in an endosomal compartment. In: J Clin Invest 101 (9), S. 1932–1941.
- Welsh, C. E.; Duz, M.; Parkin, T. D. H.; Marshall, J. F. (2016): Prevalence, survival analysis and multimorbidity of chronic diseases in the general veterinarian-attended horse population of the UK. In: Prev Vet Med 131, S. 137–145.
- White, G.; Prior, S. D. (1982): Comparative effects of oral administration of trimethoprim/sulphadiazine or oxytetracycline on the faecal flora of horses. In: Vet Rec 111 (14), S. 316–318.
- Wilking, H.; Fingerle, V.; Klier, C.; Thamm, M.; Stark, K. (2015): Antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato among Adults, Germany, 2008-2011. In: Emerging Infect Dis 21 (1), S. 107–110.
- Wilking, H.; Stark, K. (2014): Trends in surveillance data of human Lyme borreliosis from six federal states in eastern Germany, 2009-2012. In: Ticks Tick Borne Dis 5 (3), S. 219–224.
- Wilske, B.; Barbour, A. G.; Bergström, S.; Burman, N.; Restrepo, B. I.; Rosa, P. A. et al. (1992): Antigenic variation and strain heterogeneity in *Borrelia* spp. In: Res Microbiol 143 (6), S. 583–596.
- Wilske, B.; Busch, U.; Fingerle, V.; Jauris-Heipke, S.; Preac-Mursic, V.; Rössler, D.; Will, G. (1996): Immunological and molecular variability of OspA and OspC. Implications for *Borrelia* vaccine development. In: Infection 24 (2), S. 208–212.
- Wilske, B.; Fingerle, V. (2005): Lyme-Borreliose Diagnostik. In: Mikrobiologie 15 (6), S. 209–220.
- Wilske, B.; Fingerle, V.; Schulte-Spechtel, U. C. (2007): Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. In: FEMS Immunol Med Microbiol 49 (1), S. 13–21.

- Wilske, B.; Preac-Mursic, V. (1993): Microbiological diagnosis of Lyme borreliosis. In: G. Schierz, K. Weber und W. Burgdorfer (Hg.): Aspects of Lyme Borreliosis. Berlin, Germany: Springer, S. 267–299.
- Wilske, B.; Preac-Mursic, V.; Göbel, U. B.; Graf, B.; Jauris, S.; Soutschek, E. et al. (1993): An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis. In: J Clin Microbiol 31 (2), S. 340–350.
- Wissmann, B. von; Hautmann, W.; Sing, A.; Hizo-Teufel, C.; Fingerle, V. (2015): Assessing the risk of human granulocytic anaplasmosis and Lyme borreliosis after a tick bite in Bavaria, Germany. In: Int J Med Microbiol 305 (7), S. 736–741.
- Witte, T. S.; Bergwerff, A. A.; Scherpenisse, P.; Drillich, M.; Heuwieser, W. (2010): Ceftiofur derivatives in serum and endometrial tissue after intramuscular administration in healthy mares. In: Theriogenology 74 (3), S. 466–472.
- Woldehiwet, Z. (2010): The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. In: Vet Parasitol 167 (2-4), S. 108–122.
- Woldehiwet, Z.; Ristic, M. (Hg.) (1993): Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals. Tick-borne (pasture) fever. Oxford, UK: Pergamon Press.
- Wollanke, B. (1995): Untersuchungen zur Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU). Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Wollanke, B.; Gerhards, H.; Kaufmann, S. (2017): Untersuchungen zur Beteiligung von Borrelien an der Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU). In: Pferdeheilkunde - Equine Medicine 33 (5), S. 447–451.
- Wormser, G. P.; Dattwyler, R. J.; Shapiro, E. D.; Halperin, J. J.; Steere, A. C.; Klempner, M. S. et al. (2006): The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, Human Granulocytic Anaplasmosis, and Babesiosis. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. In: Clin Infect Dis 43, S. 1089–1134.
- Wressnigg, N.; Barrett, P. N.; Pöllabauer, E.-M.; O'Rourke, M.; Portsmouth, D.; Schwendinger, M. G. et al. (2014): A novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis is safe and immunogenic in an adult population previously infected with *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In: Clin Vaccine Immunol 21 (11), S. 1490–1499.
- Wressnigg, N.; Pöllabauer, E.-M.; Aichinger, G.; Portsmouth, D.; Löw-Baselli, A.; Fritsch, S. et al. (2013): Safety and immunogenicity of a novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis in healthy adults. A double-blind, randomised, dose-escalation phase 1/2 trial. In: Lancet Infect Dis 13 (8), S. 680–689.
- Wright, D. J. M. (2009): Borrel's accidental legacy. In: Clin Microbiol Infect 15 (5), S. 397–399.
- Yang, X.; Goldberg, M. S.; Popova, T. G.; Schoeler, G. B.; Wikel, S. K.; Hagman, K. E.; Norgard, M. V. (2000): Interdependence of environmental factors influencing reciprocal patterns of gene expression in virulent *Borrelia burgdorferi*. In: Mol Microbiol 37 (6), S. 1470–1479.
- Yu, L. P., Jr.; Smith, R. P., Jr.; Brandt, K. D.; Myers, S. L.; O'Connor, B. L.; Brandt, D. A. (1992): Reduction of the severity of canine osteoarthritis by prophylactic treatment with oral doxycycline. In: Arthritis & Rheumatism 35 (10), S. 1150–1159.

- Zeidner, N. S.; Dolan, M. C.; Massung, R.; Piesman, J.; Fish, D. (2000): Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis suppresses IL-2 and IFN gamma production and promotes an IL-4 response in C3H/HeJ mice. In: *Parasite Immunol* 22 (11), S. 581–588.
- Zhang, J.-R.; Hardham, J. M.; Barbour, A. G.; Norris, S. J. (1997): Antigenic variation in Lyme disease *Borreliae* by promiscuous recombination of VMP-like sequence cassettes. In: *Cell* 89 (2), S. 275–285.
- Zhang, J.-R.; Norris, S. J. (1998): Kinetics and in vivo induction of genetic variation of vlsE in *Borrelia burgdorferi*. In: *Infect Immun* 66 (8), S. 3689–3697.
- Zhong, W.; Stehle, T.; Museteanu, C.; Siebers, A.; Gern, L.; Kramer, M. et al. (1997): Therapeutic passive vaccination against chronic Lyme disease in mice. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 (23), S. 12533–12538.
- Zöller, L.; Burkard, S.; Schäfer, H. (1991): Validity of western immunoblot band patterns in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. In: *J Clin Microbiol* 29 (1), S. 174–182.
- Zöller, L.; Cremer, J.; Faulde, M. (1993): Western blot as a tool in the diagnosis of Lyme borreliosis. In: *Electrophoresis* 14 (1), S. 937–944.
- Zöller, L.; Haude, M.; Hassler, D.; Burkard, S.; Sonntag, H. G. (1989): Spontaneous and post-treatment antibody kinetics in late Lyme borreliosis. In: *Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease* 3 (5), S. 345–353.
- Zung, J. L.; Lewengrub, S.; Rudzinska, M. A.; Spielman, A.; Telford, S. R.; Piesman, J. (1989): Fine structural evidence for the penetration of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* through the gut and salivary tissues of *Ixodes dammini*. In: *Can J Zool* 67 (7), S. 1737–1748.

## 9 ANHANG

### 9.1 Tabellenband

**Tabelle 63:** Rasseverteilung ( VT & KT)

Pferderasse	Verdachtstier (n=112)	Kontrolltier (n=101)
Hannoveraner	12 (10,7%)	8 (7,9%)
Warmblut (ohne nähere Angabe)	-	12 (11,9%)
Islandpferd	10 (8,9%)	8 (7,9%)
Westfale	10 (8,9%)	8 (7,9%)
Oldenburger	6 (5,4%)	7 (6,9%)
Dt. Reitpferd	5 (4,5%)	4 (4,0%)
P.R.E.	5 (4,5%)	4 (4,0%)
Quarter Horse	5 (4,5%)	2 (2,0%)
Dt. Reitpony	4 (3,6%)	4 (4,0%)
Rheinländer	4 (3,6%)	1 (1,0%)
Trakehner	4 (3,6%)	2 (2,0%)
Norweger	-	3 (3,0%)
Brandenburger	3 (2,7%)	1 (1,0%)
KWPN	3 (2,7%)	-
Shetland-Pony	3 (2,7%)	2 (2,0%)
Württembergisches Warmblut	3 (2,7%)	-
Haflinger-Mix	-	2 (2,0%)
Andalusier-Mix	2 (1,8%)	-
Dt. Sportpferd	2 (1,8%)	-
Haflinger	2 (1,8%)	7 (6,9%)
Quarter Horse Mix	2 (1,8%)	-
Tinker	2 (1,8%)	1 (1,0%)
Arabisches Halbblut	-	1 (1,0%)
Araber Mix	-	1 (1,0%)
Camarguepferd	-	1 (1,0%)
Comtois	-	1 (1,0%)
Lusitano	-	1 (1,0%)
Tinker-Mix	-	1 (1,0%)
Pony (ohne nähere Angabe)	-	1 (1,0%)
Tschechisches Warmblut	-	1 (1,0%)
Warmblut-Mix	-	1 (1,0%)
Welsh-Pony	-	1 (1,0%)
Andalusier	1 (0,9%)	-
Anglo-Araber	1 (0,9%)	-
Araber	1 (0,9%)	5 (5,0%)
Araber-Warmblut-Mix	1 (0,9%)	-
Bayerisches Warmblut	1 (0,9%)	-
Connemara pony	1 (0,9%)	1 (1,0%)
Curlyhorse	1 (0,9%)	1 (1,0%)
Engl. Vollblut	1 (0,9%)	-
Friese	1 (0,9%)	-
Friesen-Mix	1 (0,9%)	2 (2,0%)
Hesse	1 (0,9%)	-
Holsteiner	1 (0,9%)	5 (5,0%)
Irish Cob	1 (0,9%)	-
Kabardiner	1 (0,9%)	1 (1,0%)
Kaltblut-Mix	1 (0,9%)	-
Lettisches Warmblut	1 (0,9%)	-
Lewitzer Schecke	1 (0,9%)	-
Lipizzaner	1 (0,9%)	-
New Forest Pony	1 (0,9%)	-
Niederländisches Warmblut	1 (0,9%)	-

Paint Horse	1 (0,9%)	-
Polnisches Kaltblut	1 (0,9%)	-
Quarab	1 (0,9%)	-
Shire Horse	1 (0,9%)	-
Ungarisches Warmblut	1 (0,9%)	-

**Tabelle 64:** Überblick Landkreise der Ställe (KFZ-Kennzeichen)

Landkreis Stall (KFZ-Kennzeichen) (n=103, 11x k.A.); n (%)					
H	9 (8,7%)	DA	1 (1,0%)	NEW	1 (1,0%)
GT	5 (4,9%)	DN	1 (1,0%)	OS	1 (1,0%)
BI	4 (3,9%)	E	1 (1,0%)	PCH	1 (1,0%)
OD	4 (3,9%)	ED	1 (1,0%)	PE	1 (1,0%)
EL	3 (2,9%)	EN	1 (1,0%)	PM	1 (1,0%)
LOS	3 (2,9%)	ERB	1 (1,0%)	R	1 (1,0%)
AS	2 (1,9%)	FFB	1 (1,0%)	RD	1 (1,0%)
BS	2 (1,9%)	GAN	1 (1,0%)	RW	1 (1,0%)
COE	2 (1,9%)	GG	1 (1,0%)	SE	1 (1,0%)
DAH	2 (1,9%)	HD	1 (1,0%)	SL	1 (1,0%)
EBE	2 (1,9%)	HH	1 (1,0%)	SR	1 (1,0%)
HF	2 (1,9%)	HOL	1 (1,0%)	STA	1 (1,0%)
HN	2 (1,9%)	HX	1 (1,0%)	TF	1 (1,0%)
KLE	2 (1,9%)	HZ	1 (1,0%)	UE	1 (1,0%)
NE	2 (1,9%)	KT	1 (1,0%)	UM	1 (1,0%)
PI	2 (1,9%)	LB	1 (1,0%)	UN	1 (1,0%)
RE	2 (1,9%)	LWL	1 (1,0%)	VER	1 (1,0%)
RZ	2 (1,9%)	M	1 (1,0%)	VOH	1 (1,0%)
SU	2 (1,9%)	MH	1 (1,0%)	WES	1 (1,0%)
WL	2 (1,9%)	MI	1 (1,0%)	WN	1 (1,0%)
AÖ	1 (1,0%)	MOL	1 (1,0%)	WOB	1 (1,0%)
BAR	1 (1,0%)	MS	1 (1,0%)		
BM	1 (1,0%)	MÜR	1 (1,0%)		

**Tabelle 65:** Bodenbefestigung in Abhängigkeit von der Haltungsform

Bodenbefestigung (n=83)	n (%)	Beschreibung	n (%)
Box: Paddockbox	25 (21,9%)	befestigt	21 (18,4%)
		Naturboden	4 (3,5%)
Box: Paddockauslauf	25 (21,9%)	Naturboden	24 (21,1%)
		befestigt	1 (0,9%)
Offenstall	30 (26,3%)	teils, teils	23 (20,2%)
		Naturboden	5 (4,4%)
		befestigt	2 (1,8%)
Laufstall: Paddockauslauf	3 (2,6%)	Naturboden	2 (1,8%)
		befestigt	1 (0,9%)

### Angabe Prüfungsklassen Sportpferde

Im Schnitt wurden von 30 Pferdebesitzern 1,5 Prüfungsklassen angekreuzt, wobei 60,0% der Antworten auf Prüfungsklasse A, 30,0% auf Prüfungsklasse L, 23,3% auf Prüfungsklasse E und M und 13,3% auf Klasse S entfielen.

Zwei Pferdebesitzer gaben als „sonstige Prüfungsklassen“ EWU-Klasse 1 und 2 an.

Fünf Pferdebesitzer machten zusätzliche Angaben zum Schwierigkeitsgrad der Prüfungen innerhalb der Klassen (Ein-, Zwei- und Dreisterne-Prüfungen): viermal wurden Zweisterne- und zweimal Einstern-Prüfungen angekreuzt.

Die folgende Tabelle gibt die höchste angegebene Prüfungsklasse wieder:

**Tabelle 66:** Höchste angegebene Prüfungsklasse (Sportpferde)

<i>Prüfungsklasse (n=32)</i>	<i>n (%)</i>
E	3 (9,4%)
A	11 (34,4%)
L	9 (28,1%)
M	3 (9,4%)
S	4 (12,5%)
EWU1	1 (3,1%)
EWU3	1 (3,1%)

**Tabelle 67:** Antwort PB auf die Frage: „Leidet Ihr Pferd unter weiteren (chronischen) Krankheiten?“ (Freitext)

<i>Erkrankung (n=48)</i>	<i>n (%)</i>
Cushing	6 (12,5%)
Husten, COB, Equines Asthma	6 (12,5%)
Arthrose	4 (8,3%)
Borna(-Verdacht)	3 (6,3%)
Sommerekzem	3 (6,3%)
Hufrehe	3 (6,3%)
Magengeschwüre	3 (6,3%)
PSSM	2 (4,2%)
EOTRH	2 (4,2%)
Shivering	2 (4,2%)
EMND(-Verdacht)	2 (4,2%)
Equine Sarkoide	2 (4,2%)
Sehnenprobleme	2 (4,2%)
KPU	1 (2,1%)
Nervus-Trigeminus-Neuralgie	1 (2,1%)
Lyme-Borreliose	1 (2,1%)
Hufrollentzündung	1 (2,1%)
Stoffwechselstörung, Haarverlust	1 (2,1%)
Headshaking	1 (2,1%)
EMS	1 (2,1%)
Kotwasser	1 (2,1%)
Mauke	1 (2,1%)
Allergien	1 (2,1%)
Muskuläre Verspannung	1 (2,1%)
Hohe Kupferwerte im Blut	1 (2,1%)
Kissing Spines	1 (2,1%)
Ja, aber k.A.	2 (4,2%)

**Tabelle 68:** Antwort PB auf die Frage: „Bekommt Ihr Pferd regelmäßig Medikamente?“ (Freitext)

Medikament (n=18)	n (%)
Prascend	5 (27,8%)
Omeprazol	4 (22,2%)
NSAIDs (bei Bedarf)	3 (16,6%)
Weißdorn, essenzielle Aminosäuren	1 (5,6%)
Vit E	1 (5,6%)
Corticosal	1 (5,6%)
Equisolon	1 (5,6%)
Glucosamin, MSM, Chondroitin	1 (5,6%)
Zistrose	1 (5,6%)
Zink, P-5-P	1 (5,6%)
Amantadin	1 (5,6%)

**Tabelle 69:** TA Angaben „Warum wurde das Pferd mit dem aktuellen Problem/Krankheitsbild vorstellig?“ > Sonstige (Freitext)

Vorstellungsgrund (n=33)	n (%)
chiropraktische Problemstellung	3 (9,1%)
neurologisch auffällig	2 (6,1%)
Inappetenz	2 (6,1%)
(V.a.) Hufrehe	2 (6,1%)
Nervosität, Anämie, gastrointestinale Probleme	1 (3,0%)
Kotwasser	1 (3,0%)
Atemwegsprobleme, rezidivierend	1 (3,0%)
Ödem / derbe Verhärtung Sternum	1 (3,0%)
Aggressivität	1 (3,0%)
neurologische Symptome: kann Kopf nicht mehr richtig halten	1 (3,0%)
pigmentlose Flecken	1 (3,0%)
chronische Dacryocystitis	1 (3,0%)
kardiologisches Problem (gelegentliches Schwanken und Herzaussetzer in Ruhe)	1 (3,0%)
erhöhte Atemfrequenz	1 (3,0%)
plötzliches Zusammenbrechen	1 (3,0%)
Hautveränderungen, sekundäre Phlegmone, Husten	1 (3,0%)
Phlegmone	1 (3,0%)
hochgradige Reaktion auf Bienenstiche	1 (3,0%)
Sehnenstelzfuß, erworben	1 (3,0%)
Niederbruch, Atemwegsproblematik, Leukozytose, Lymphozytose	1 (3,0%)
V.a. Kreuzerschlag	1 (3,0%)
Verwurmung	1 (3,0%)
akute Blindheit	1 (3,0%)
Korneaödem, Headshaking	1 (3,0%)
Fellwechselprobleme	1 (3,0%)
Hyperästhesie, erhöhte Herz- und Atemfrequenz	1 (3,0%)

**Tabelle 70:** TA Angaben „Sonstige neurologische Probleme“ (Freitext)

2x	Hahnentritt
1x	rollt Kopf ein bei Versuch zu Traben/Töten
1x	gestörte Koordination, tritt sich z.T. selbst auf die Eisen und korrigiert dies nicht
1x	Shivering
1x	kann zeitweise den Kopf nicht heben, gestreckte Kopf-Hals-Haltung Richtung Boden, Sensorium ungetrückt
1x	gelegentliches Schwanken
1x	Hyperreflexie Hintergliedmaße

**Tabelle 71:** TA Angaben „Sonstige orthopädische Probleme“ (Freitext)

1x	hinten bds. stark durchtrittig, laut Besitzerin alter Fesselträger-Schaden hinten links
1x	Zehenschleifen Hinterhand
1x	Schwellung der Regio parotidei li. mit Beteiligung des Kiefergelenks
1x	minderwertige Hornqualität und Empfindlichkeit der Hufsohle, zeigt Schmerzen auf der Vorhand und wirkt insgesamt bewegungsunfreudig; teils mit Bewegungsunmut
1x	Fohlen kann seit ca. 1 Woche nicht mehr alleine aufstehen; sekundär erworbener Sehnenstelzfuß vorne bds. und seit heute auch hinten bds.
1x	Druckschmerz Fesselträger alle 4 Gldm.
1x	schlechter Muskelaufbau

**Tabelle 72:** TA Angaben „Sonstige ophthalmologische Probleme“ (Freitext)

1x	intermittierender seröser Tränenfluss links
1x	chron. Dacryocystitis therapieresistent
1x	Blindheit, im akuten Stadium orientierungslos
1x	Blindheit bds. intermittierend
1x	Blue Eye Syndrome

**Tabelle 73:** TA Angaben „Beschreibung kardiologischer Probleme“ (Freitext)

1x	Arrhythmien, AF: 20-60/min alternierend
1x	Arrhythmie
1x	Herzaussetzer in Ruhe
1x	Riss der Herzklappensehnen der Aortenklappe
1x	dritter Herzton auffällig

**Tabelle 74:** PB Angaben „Sonstige klinische Veränderungen“ (Freitext)

<b>Erkrankung (n=121)</b>	<b>n (%)</b>
Schreckhaftigkeit, Ängstlichkeit, Panik	15 (12,4%)
geschwollene, angelaufene, ödematisierte Beine	11 (9,1%)
häufiges Stolpern	8 (6,6%)
Atemprobleme, Husten	7 (5,8%)
Headshaking	6 (5,0%)
Huflederhautentzündung, Hufrehe	6 (5,0%)
Steifheit der Hinterhand	6 (5,0%)
tränenende Augen, Konjunktivitis	5 (4,1%)
Allergien	4 (3,3%)
Lahmheiten „springen“ um zwischen den Beinen	3 (2,5%)
Mauke	3 (2,5%)
Kotwasser	2 (1,7%)
Durchfall	2 (1,7%)
Immunsystem geschwächt, erhöhte Infektanfälligkeit	2 (1,7%)

## Anhang

Shivering	2 (1,7%)
Hautprobleme	2 (1,7%)
Lymphknotenschwellung	2 (1,7%)
Aggressivität	1 (0,8%)
(vorübergehende?) Blindheit	1 (0,8%)
Verhaltensauffälligkeit	1 (0,8%)
Verhaltensänderung: Kopf gegen Wand	1 (0,8%)
Anfälle in der Box wie Dummkoller	1 (0,8%)
Lichtempfindlichkeit	1 (0,8%)
unspezifische Schleimhautblutungen oberer Respirationstrakt	1 (0,8%)
Magengeschwüre	1 (0,8%)
unregelmäßige Rosse, häufiges Wasserlassen (kleine Mengen)	1 (0,8%)
Schwellungen Sternum	1 (0,8%)
Hahnentritt	1 (0,8%)
Pferd beißt regelrecht in den Erdboden, um Erde aufzunehmen	1 (0,8%)
Hautpilz (Malassezien)	1 (0,8%)
auffällige Kopf-Halshaltung	1 (0,8%)
plötzliches Auftreten weißer Fellflecken	1 (0,8%)
Hufgeschwüre	1 (0,8%)
Kolik	1 (0,8%)
Gelenkentzündung	1 (0,8%)
haselnussgroße Umfangsvermehrungen (Vorderbrust-Unterbauch)	1 (0,8%)
„Leerkauen“, vergisst manchmal (weiter) zu kauen oder frisst sehr langsam, v.a. bei Leckerlis, Heu wird meistens normal gefressen, häufiges Gähnen	1 (0,8%)
Wegknicken der Hinterbeine, in unregelmäßigen Abständen extreme „Ausraster“, Steigen, Buckeln, Hinschmeißen ohne erkennbare Auslöser	1 (0,8%)
„Krampfanfall“, im Anschluss totale Verwirrung/Panik, eventuell vorübergehende Blindheit	1 (0,8%)
Riss der Chordae tendineae der Aortenklappe	1 (0,8%)
häufiges, massives Gähnen, stumpfes, mattes Fell, kleine, kahle Stellen im Gesicht	1 (0,8%)
Hautausschläge, Ausschwitzungen, Schwellungen	1 (0,8%)
Überempfindlichkeit auf Medikamente	1 (0,8%)
Urtikaria	1 (0,8%)
Ödembildung Euter und Bauch	1 (0,8%)
Babesien, Lebersversagen	1 (0,8%)
mehrere Grützbeutel	1 (0,8%)
Lähmung Hinterhand	1 (0,8%)
Festliegen, Hinterhandschwäche, anaphylaktischer Schock	1 (0,8%)
Pilzbefall, Blue Eye Syndrome (Auge musste entfernt werden), Darmdysbiose	1 (0,8%)
Entzündung mit Verlust des Auges	1 (0,8%)
Fellwechselprobleme	1 (0,8%)

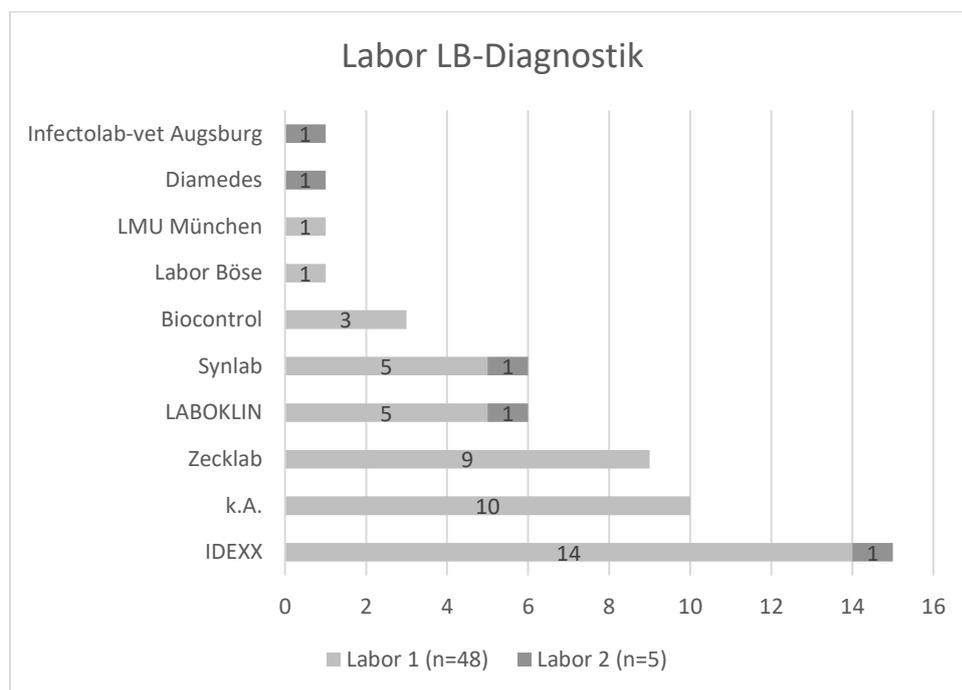
**Tabelle 75:** TA Angaben „Sonstige klinische Veränderungen“ (Freitext)

Erkrankung (n=22)	n (%)
Nervosität, Unruhe, Schreckhaftigkeit, Ängstlichkeit	6 (27,3%)
Aggressivität	3 (13,6%)
Stolpern	3 (13,6%)

Headshaking	2 (9,1%)
Dermatomykose, knotige Veränderungen Kopfbereich	1 (4,5%)
Dermatomykose, Darmdysbiose	1 (4,5%)
hgr. Reaktion auf Stiche (Schwellung, nässende Haut)	1 (4,5%)
rezidivierende Koliken aufgrund EGUS	1 (4,5%)
EGUS	1 (4,5%)
Urtikaria	1 (4,5%)
Sommerekzem	1 (4,5%)

**Tabelle 76:** TA Angaben „Sonstige Befunde im Rahmen der klinischen Allgemeinuntersuchung“ (Freitext)

3x	Lymphknotenvergrößerung
1x	mattes Fell
1x	Schleimhäute blass, ggr. ikterisch
1x	Schleimhäute ggr. ikterisch, Lunge ggr. verschärft
1x	Schmerzgesicht
1x	ggr. seromuköser Nasenausfluss
1x	sehr wenig Schweifhaar
1x	ggr. erhöhte AF
1x	hinten bds. Mauke
1x	schuppiges Haarkleid, „Kupferbrille“



**Abbildung 60:** Hinzugezogene Labore für die LB-Diagnostik („Labor 1“ und „Labor 2“ bezieht sich auf Pferde mit Mehrfachtestung in der Vorabdiagnostik)

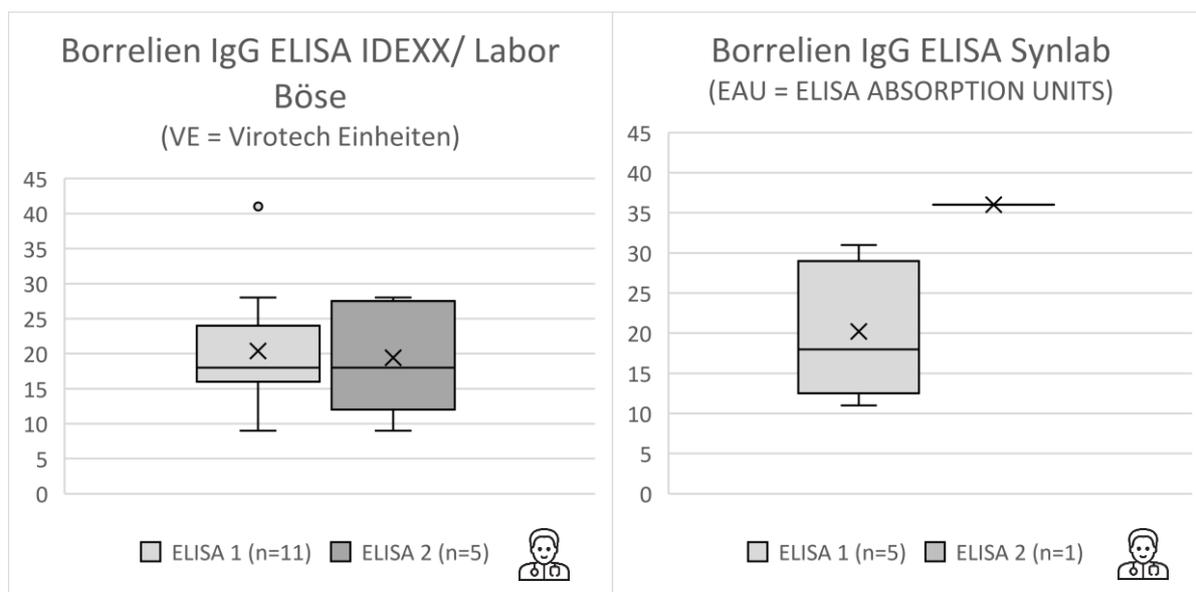


Abbildung 61: Bb-IgG ELISA IDEXX / Labor Böse

Abbildung 62: Bb-IgG ELISA Synlab

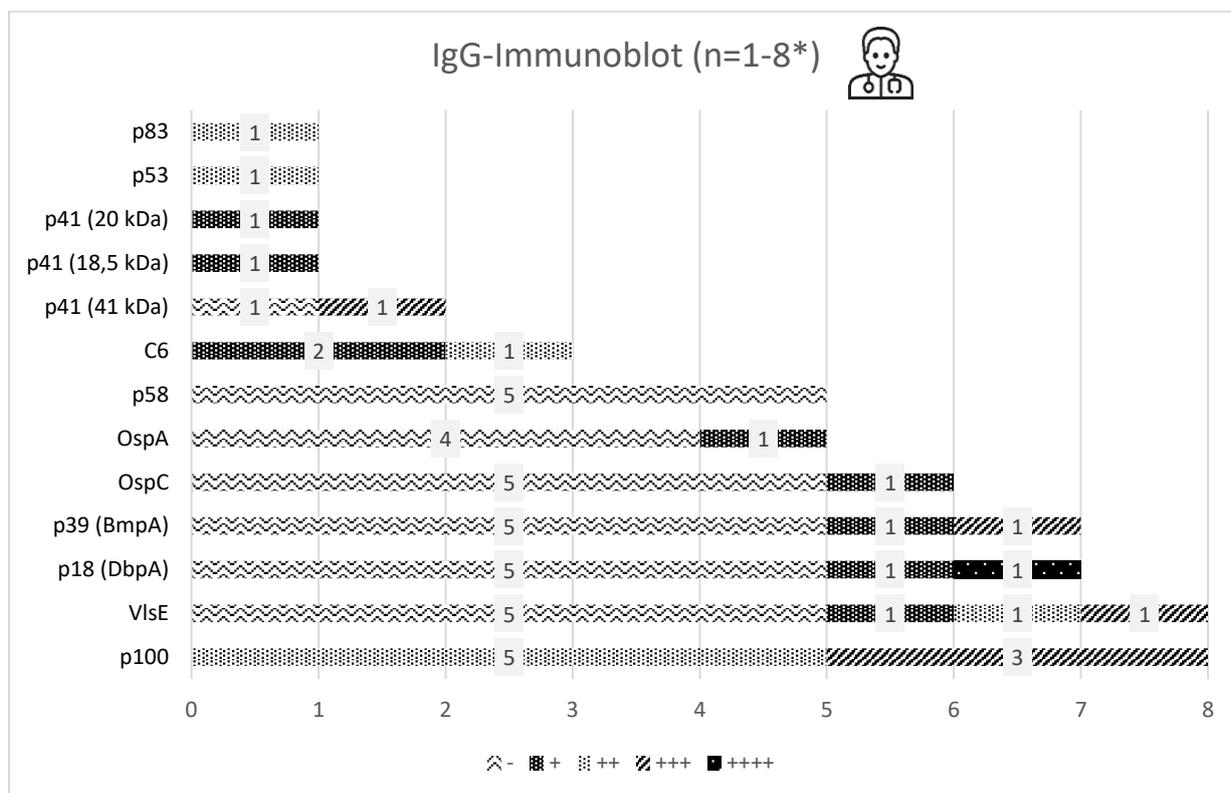


Abbildung 63: Ergebnisse der vorliegenden Bb-IgG-Immuno blots (- bis +++++)

Tabelle 77: Hämatologie Vorabdiagnostik und Bbsl-Serologie Vorabdiagnostik

Blutparameter:	n <sub>ges</sub>	n <sub>Bef</sub>	Vorabdiagnostik			p-Werte
			Bbsl -	Bbsl +/-	Bbsl +	
Großes Blutbild obB	27	11	1	2	8	0,775
RBC-	26	3	0	1	2	0,562
Hkt-	26	2	0	1	1	0,415
WBC+	25	5	0	1	4	0,999
WBC-	25	1	0	0	1	0,999
Monozyten+	25	4	0	1	3	0,999
Lymphozyten+	25	4	0	1	3	0,999

Lymphozyten-	25	0	0	0	0	-
Neutrophile+	25	1	0	0	1	0,999
Eosinophile+	25	5	0	1	4	0,999
Basophile+	25	2	0	0	2	0,999
Thrombozyten-	25	0	0	0	0	-

( $n_{\text{ges}}$  = Anzahl der Pferde, bei denen eine Angabe vorlag,  $n_{\text{Bef}}$  = Anzahl Pferde mit dem entsprechenden Befund; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test)

**Tabelle 78:** Hämatologie Vorabdiagnostik und *Bbsl*-Serologie Studie

Blutparameter:	$n_{\text{ges}}$	$n_{\text{Bef}}$	Studiendiagnostik			p-Werte
			<i>Bbsl</i> -	<i>Bbsl</i> +/-	<i>Bbsl</i> +	
Großes Blutbild obB	67	31	19	8	4	0,238
RBC-	66	9	4	1	4	0,278
Hkt-	66	7	3	1	3	0,490
WBC+	65	8	5	3	0	0,310
WBC-	65	6	3	1	2	0,725
Monozyten+	65	8	4	1	3	0,466
Lymphozyten+	65	6	4	1	1	0,999
Lymphozyten-	65	7	3 (3,8)	0 (1,7)	4 (1,5)	0,037*
Neutrophile+	65	3	1	1	1	0,591
Eosinophile+	65	8	3	3	2	0,532
Basophile+	65	2	1	1	0	0,714
Thrombozyten-	65	3	2	0	1	0,782

(in Klammern: erwartete Werte;  $n_{\text{ges}}$  = Anzahl der Pferde, bei denen eine Angabe vorlag,  $n_{\text{Bef}}$  = Anzahl Pferde mit dem entsprechenden Befund; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test)

**Tabelle 79:** Chronizität der Erkrankung nach TÄ-Angaben und serologische Befunde (*Bb*, *Ap*, Koinfektion)

TA (n=64)	akut	%	chronisch	%	SUMME	%	p-Werte
<i>Bb</i> +	10	15,6	4	6,3	14	21,9	0,774
<i>Bb</i> +/-	10	15,6	7	10,9	17	26,6	
<i>Bb</i> -	23	35,9	10	15,6	33	51,6	
<b>SUMME</b>	<b>43</b>	<b>67,2</b>	<b>21</b>	<b>32,8</b>	<b>64</b>	<b>100,0</b>	
<i>Ap</i> +	14	21,9	3	4,7	17	26,6	0,144
<i>Ap</i> -	29	45,3	18	28,1	47	73,4	
<b>SUMME</b>	<b>43</b>	<b>67,2</b>	<b>21</b>	<b>32,8</b>	<b>64</b>	<b>100</b>	
Koinfektion +	5	7,81	1	1,6	6	9,4	0,654
Koinfektion -	38	59,4	20	31,3	58	90,6	
<b>SUMME</b>	<b>43</b>	<b>67,2</b>	<b>21</b>	<b>32,8</b>	<b>64</b>	<b>100,0</b>	

**Tabelle 80:** Chronizität der Erkrankung nach PB-Angaben und serologische Befunde (*Bb*, *Ap*, Koinfektion)

PB (n=109)	akut	%	chronisch	%	SUMME	%	p-Werte
<i>Bb</i> +	13	11,9 (13,4)≈	13	11,9 (12,6)≈	26	23,9	0,002*
<i>Bb</i> +/-	8	7,3 (15,4)↓	22	20,2 (14,6)↑	30	27,5	
<i>Bb</i> -	35	32,1 (27,2)↑	18	16,5 (25,8)↓	53	48,6	
<b>SUMME</b>	<b>56</b>	<b>51,4</b>	<b>53</b>	<b>48,6</b>	<b>109</b>	<b>100,0</b>	
<i>Ap</i> +	11	10,1	11	10,1	22	20,2	0,999
<i>Ap</i> -	45	41,3	42	38,5	87	79,8	
<b>SUMME</b>	<b>56</b>	<b>51,4</b>	<b>53</b>	<b>48,6</b>	<b>109</b>	<b>100,0</b>	

## Anhang

---

Koinfektion +	4	3,67	3	2,75	7	6,4	0,999
Koinfektion -	52	47,7	50	45,9	102	93,6	
<b>SUMME</b>	<b>56</b>	<b>51,4</b>	<b>53</b>	<b>48,6</b>	<b>109</b>	<b>100,0</b>	

(beobachtete Werte und erwartete Werte in der Klammer, Abweichungen der beobachteten von den erwarteten Werten in Form von  $\approx/\downarrow/\uparrow$ =gleich/weniger/mehr; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test)

Anhang

**Tabelle 81:** Signalement und Herkunft der Verdachtstiere im Hinblick auf die serologischen Befunde (*Bb*, *Ap*, Koinfektion) (n=114)

Variable	<i>n</i> %		<i>Bb</i>				p-Werte (1)		p-Werte (2)		<i>Ap</i>				<i>Koinfektion</i>					
			+	%	+/-	%					-	%	+	%	-	%	p-Werte	+	%	-
<b>Geschlecht</b>	<b>114</b>																			
Stute	47	41,2	11	9,6	16	14,0	20	17,5	0,570	0,844	7	6,1	40	35,1	0,357	2	1,8	45	39,5	0,750
Wallach	64	56,1	14	12,3	15	13,2	35	30,7			16	14,0	48	42,1		5	4,4	59	51,8	
Hengst	3	2,6	1	0,9	1	0,9	1	0,9			0	0,0	3	2,6		0	0,0	3	2,6	
<b>Altersklasse</b>	<b>113</b>																			
Jung	18	15,9	2	1,8	1	0,9	15	13,3	0,011*	0,222	2	1,8	16	14,2	0,346	0	0,0	18	15,9	0,356
Adult	60	53,1	12	10,6	23	20,4	25	22,1			11	9,7	49	43,4		3	2,7	57	50,4	
Senior	35	31,0	11	9,7	8	7,1	16	14,2			10	8,8	25	22,1		4	3,5	31	27,4	
<b>Rassegruppe</b>	<b>112</b>																			
Warmblut	60	53,6	13	11,6	16	14,3	31	27,7	0,939	0,627	9	8,0	51	45,5	0,232	2	1,8	58	51,8	0,075
Kleinpferd	22	19,6	4	3,6	6	5,4	12	10,7			5	4,5	17	15,2		1	0,9	21	18,8	
Kaltblut	3	2,7	1	0,9	0	0,0	2	1,8			2	1,8	1	0,9		0	0,0	3	2,7	
Vollblut	4	3,6	1	0,9	1	0,9	2	1,8			1	0,9	3	2,7		0	0,0	4	3,6	
Westernpferd	9	8,0	4	3,6	2	1,8	3	2,7			3	2,7	6	5,4		3	2,7	6	5,4	
Spezialrassen	14	12,5	3	2,7	5	4,5	6	5,4			3	2,7	11	9,8		1	0,9	13	11,6	
<b>Bundesland</b>	<b>114</b>																			
Brandenburg	8	7,0	1	0,9	3	2,6	4	3,5	0,195	0,202	3	2,6	5	4,4	0,160	0	0,0	8	7,0	0,004*
Baden-Württemberg	6	5,3	3	2,6	1	0,9	2	1,8			1	0,9	5	4,4		1	0,9	5	4,4	
Bayern	19	16,7	6	5,3	5	4,4	8	7,0			4	3,5	15	13,2		3	2,6	16	14,0	
Hessen	3	2,6	2	1,8	0	0,0	1	0,9			3	2,6	0	0,0		2	1,8	1	0,9	
Hamburg	1	0,9	1	0,9	0	0,0	0	0,0			0	0,0	1	0,9		0	0,0	1	0,9	
Mecklenburg-Vorpommern	3	2,6	0	0,0	2	1,8	1	0,9			0	0,0	3	2,6		0	0,0	3	2,6	
Niedersachsen	24	21,1	4	3,5	3	2,6	17	14,9			4	3,5	20	17,5		0	0,0	24	21,1	
Nordrhein-Westfalen	36	31,6	7	6,1	15	13,2	14	12,3			6	5,3	30	26,3		0	0,0	36	31,6	
Schleswig-Holstein	13	11,4	2	1,8	3	2,6	8	7,0			2	1,8	11	9,6		1	0,9	12	10,5	

Anhang

Sachsen-Anhalt	1	0,9	0	0,0	0	0,0	1	0,9			0	0,0	1	0,9		0	0,0	1	0,9		
<b>Region</b>																					
Süd-Dtschl.	28	24,6	11	9,6	6	5,3	11	9,6	0,022* OR = 3,063 (1,195- 7,848)	0,277 OR = 1,893 (0,703- 5,101)	8	7,0	20	17,5	6	5,3	22	19,3	0,001* OR = 23,182 (2,651- 202,687)		
Nord-Dtschl.	86	75,4	15	13,2	26	22,8	45	39,5			15	13,2	71	62,3	1	0,9	85	74,6			
									0,061												
<b>Fellfarbe</b>																					
Schimmel	15	13,4	4	3,6	5	4,5	6	5,4	0,881	0,720	5	4,5	10	8,9	2	1,8	13	11,6	0,371	0,195	
Rappe / Dunkelbraun	23	20,5	3	2,7	8	7,1	12	10,7			6	5,4	17	15,2	1	0,9	22	19,6			
Braun / Fuchs / Falbe	64	57,1	15	13,4	17	15,2	32	28,6			10	8,9	54	48,2	3	2,7	61	54,5			
Schecke	7	6,3	1	0,9	1	0,9	5	4,5			1	0,9	6	5,4	0	0,0	7	6,3			
Sonstige	3	2,7	1	0,9	1	0,9	1	0,9			1	0,9	2	1,8	1	0,9	2	1,8			

\*Jung= <7 Jahre, Adult= 7-15 Jahre, Senior= >15 Jahre; Dtschl. = Deutschland; p-Werte (1)= 3 Gruppen (*Bb+* vs. *Bb+/-* vs. *Bb-*), p-Werte (2)= 2 Gruppen (*Bb+* vs. *Bb+/-* & *Bb-*); Koinfektion= *Ap+* und *Bb+*; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test, mit \* markierte p-Werte sind statistisch signifikant < 0,05; OR (xy-xy)= Odds Ratio mit Angabe des 95%-Konfidenzintervalls

Anhang

**Tabelle 82:** Signalement und Herkunft der Kontrolltiere im Hinblick auf die serologischen Befunde (*Bb*, *Ap*, Koinfektion) (n=107)

Variable			<i>Bb</i>				p-Werte		<i>Ap</i>				Koinfektion							
	<i>n</i>	%	+	%	+/-	%	-	%	p-Werte (1)	p-Werte (2)	+	%	-	%	p-Werte	+	%	-	%	p-Werte
<b>Geschlecht</b>	<b>101</b>																			
Stute	40	39,6	8	7,9	13	12,9	19	18,8	0,976	0,860	7	6,9	33	32,7	0,370	0	0,0	40	39,6	0,533
Wallach	59	58,4	10	9,9	21	20,8	28	27,7			9	8,9	50	49,5		2	2,0	57	56,4	
Hengst	2	2,0	0	0,0	1	1,0	1	1,0			1	1,0	1	1,0		0	0,0	2	2,0	
<b>Altersklasse</b>	<b>97</b>																			
Jung	9	9,3	0	0,0	2	2,1	7	7,2	0,255	0,194	2	2,1	7	7,2	0,780	0	0,0	9	9,3	0,168
Adult	57	58,8	9	9,3	23	23,7	25	25,8			9	9,3	48	49,5		0	0,0	57	58,8	
Senior	31	32,0	8	8,2	11	11,3	12	12,4			6	6,2	25	25,8		2	2,1	29	29,9	
<b>Rassegruppe</b>	<b>95</b>																			
Warmblut	48	50,5	8	8,4	16	16,8	24	25,3	0,808	0,784	6	6,3	42	44,2	0,227	1	1,1	47	49,5	0,999
Kleinpferd	26	27,4	5	5,3	11	11,6	11	11,6			7	7,4	20	21,1		1	1,1	26	27,4	
Kaltblut	1	1,1	0	0,0	1	1,1	0	0,0			1	1,1	0	0,0		0	0,0	1	1,1	
Vollblut	7	7,4	1	1,1	1	1,1	4	4,2			1	1,1	5	5,3		0	0,0	6	6,3	
Westernpferd	2	2,1	1	1,1	1	1,1	0	0,0			0	0,0	2	2,1		0	0,0	2	2,1	
Spezialrassen	11	11,6	2	2,1	3	3,2	6	6,3			1	1,1	10	10,5		0	0,0	11	11,6	
<b>Bundesland</b>	<b>107</b>																			
Brandenburg	7	6,5	2	1,9	3	2,8	2	1,9	0,047*	0,131	0	0,0	7	6,5	0,090	0	0,0	7	6,5	0,210
Baden-Württemberg	5	4,7	1	0,9	0	0,0	4	3,7			0	0,0	5	4,7		0	0,0	5	4,7	
Bayern	19	17,8	1	0,9	10	9,3	8	7,5			5	4,7	14	13,1		0	0,0	19	17,8	
Hessen	3	2,8	2	1,9	0	0,0	1	0,9			1	0,9	2	1,9		1	0,9	2	1,9	
Hamburg	1	0,9	0	0,0	0	0,0	1	0,9			1	0,9	0	0,0		0	0,0	1	0,9	
Mecklenburg-Vorpommern	3	2,8	0	0,0	1	0,9	2	1,9			2	1,9	1	0,9		0	0,0	3	2,8	
Niedersachsen	23	21,5	1	0,9	12	11,2	10	9,3			3	2,8	20	18,7		0	0,0	23	21,5	
Nordrhein-Westfalen	33	30,8	9	8,4	6	5,6	18	16,8			4	3,7	29	27,1		1	0,9	32	29,9	
Schleswig-Holstein	12	11,2	2	1,9	5	4,7	5	4,7			1	0,9	11	10,3		0	0,0	12	11,2	

Anhang

Sachsen-Anhalt	1 0,9	0 0,0	1 0,9	0 0,0			0 0,0	1 0,9		0 0,0	1 0,9	
<b>Region</b>	<b>107</b>											
Süd-Dtschl.	27 25,2	4 3,7	10 9,3	13 12,1	0,999	0,504 OR = 0,820 (0,245- 2,745)	6 5,6	21 19,6	0,226 OR = 1,792 (0,592- 5,428)	1 0,9	26 24,3	0,443 OR = 3,038 (0,183- 50,318)
Nord-Dtschl.	80 74,8	14 13,1	28 26,2	38 35,5			6 5,6	21 19,6		1 0,9	26 24,3	

\*Jung= <7 Jahre, Adult= 7-15 Jahre, Senior= >15 Jahre; Dtschl. = Deutschland; p-Werte (1)= 3 Gruppen (*Bb+* vs. *Bb+/-* vs. *Bb-*), p-Werte (2)= 2 Gruppen (*Bb+* vs. *Bb+/-* & *Bb-*); Koinfektion= *Ap+* und *Bb+*; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test, mit \* markierte p-Werte sind statistisch signifikant < 0,05; OR (xy-xy)= Odds Ratio mit Angabe des 95%-Konfidenzintervalls

Anhang

**Tabelle 83:** Einschätzung der Risikofaktoren hinsichtlich einer Infektion mit *Bbsl*, *Ap* und Koinfektion mit beiden Erregern

Risikofaktor			<i>Bb</i>						<i>Ap</i>				<i>Koinfektion</i>							
	<i>n</i>	%	+	%	+/-	%	-	%	p-Werte (1)	p-Werte (2)	+	%	-	%	p-Werte	+	%	-	%	p-Werte
<b>Nutzung</b>	<b>114</b>																			
Sport	16	14,0	4	3,5	4	3,5	8	7,0	0,463	0,371	3	2,6	13	11,4	0,714	2	1,8	14	12,3	0,834
Freizeit	61	53,5	19	16,7	17	14,9	25	21,9			12	10,5	49	43,0		4	3,5	57	50,0	
Sport + Freizeit	17	14,9	2	1,8	6	5,3	9	7,9			5	4,4	12	10,5		1	0,9	16	14,0	
Schulbetrieb	2	1,8	0	0,0	1	0,9	1	0,9			1	0,9	1	0,9		0	0,0	2	1,8	
Sport + Schulbetrieb	1	0,9	0	0,0	0	0,0	1	0,9			0	0,0	1	0,9		0	0,0	1	0,9	
Zucht-/Jungpferd	5	4,4	0	0,0	0	0,0	5	4,4			0	0,0	5	4,4		0	0,0	5	4,4	
Gnadenbrotpferd	12	10,5	1	0,9	4	3,5	7	6,1			2	1,8	10	8,8		0	0,0	12	10,5	
<b>Jahreszeit Probe</b>	<b>114</b>																			
Frühling	6	5,3	0	0,0	0	0,0	6	5,3	0,341	0,685	1	0,9	5	4,4	0,142	0	0,0	6	5,3	0,674
Sommer	74	64,9	18	15,8	23	20,2	33	28,9			12	10,5	62	54,4		4	3,5	70	61,4	
Herbst	26	22,8	6	5,3	6	5,3	14	12,3			6	5,3	20	17,5		2	1,8	24	21,1	
Winter	8	7,0	2	1,8	3	2,6	3	2,6			4	3,5	4	3,5		1	0,9	7	6,1	
<b>Weidezugang</b>	<b>109</b>																			
kein Weidezugang	2	1,8	0	0,0	0	0,0	2	1,8	0,826	0,728	1	0,9	1	0,9	0,054	0	0,0	2	1,8	0,619
1-3 Monat(e)	4	3,7	0	0,0	2	1,8	2	1,8			0	0,0	4	3,7		0	0,0	4	3,7	
> 3 Monate < ganzjährig	72	66,1	17	15,6	21	19,3	34	31,2			11	10,1	61	56,0		4	3,7	68	62,4	
ganzjährig	31	28,4	9	8,3	8	7,3	14	12,8			11	10,1	20	18,3		3	2,8	28	25,7	
<b>Haltung</b>	<b>114</b>																			
Box	60	52,6	14	12,3	16	14,0	30	26,3	0,956	0,914	12	10,5	48	42,1	0,228	4	3,5	56	49,1	0,662
Laufstall	4	3,5	0	0,0	2	1,8	2	1,8			0	0,0	4	3,5		0	0,0	4	3,5	
Offenstall	30	26,3	8	7,0	8	7,0	14	12,3			4	3,5	26	22,8		1	0,9	29	25,4	
Weide	18	15,8	4	3,5	6	5,3	8	7,0			7	6,1	11	9,6		2	1,8	16	14,0	
Sonstige	2	1,8	0	0,0	0	0,0	2	1,8			0	0,0	2	1,8		0	0,0	2	1,8	
<b>Zeckenfunde</b>	<b>78</b>								0,470	0,598					0,545					0,372

Anhang

keine Zecken	<b>20</b>	<b>25,6</b>	6	7,7	2	2,6	12	15,4			2	2,6	18	23,1		0	0,0	20	25,6
< 10 Zecken	<b>27</b>	<b>34,6</b>	5	6,4	8	10,3	14	17,9			6	7,7	21	26,9		3	3,8	24	30,8
≥ 10 Zecken	<b>31</b>	<b>39,7</b>	8	10,3	9	11,5	14	17,9			7	9,0	24	30,8		3	3,8	28	35,9
<b>Geländennutzung</b>	<b>114</b>																		
Bewegung im Gelände	<b>90</b>	<b>78,9</b>	24	21,1	29	25,4	37	32,5		0,061					0,779				
keine Ausritte	<b>24</b>	<b>21,1</b>	2	1,8	3	2,6	19	16,7	0,004	OR = 4,000 (0,874-18,308)	4	3,5	20	17,5	OR = 1,338 (0,408-4,385)	0	0,0	24	21,1
																			0,342
<b>Repellentien</b>	<b>114</b>																		
kein Einsatz	<b>47</b>	<b>41,2</b>	11	9,6	14	12,3	22	19,3		0,999					0,036*				
Einsatz	<b>67</b>	<b>58,8</b>	15	13,2	18	15,8	34	29,8	0,909	OR = 1,059 (0,436-2,570)	9	7,9	58	50,9	OR = 2,734 (1,068-6,999)	4	3,5	43	37,7
																			0,444
<b>LB-Impfung</b>	<b>114</b>																		
keine Impfung	<b>109</b>	<b>95,6</b>	25	21,9	30	26,3	54	47,4		0,999									
LB-geimpft	<b>5</b>	<b>4,4</b>	1	0,9	2	1,8	2	1,8	0,843	OR = 1,190 (0,127-11,142)	0	0,0	5	4,4	0,581	7	6,1	102	89,5
																			0,999

\*LB-Impfung= Impfung gegen Lyme-Borreliose; p-Werte (1)= 3 Gruppen (*Bb+* vs. *Bb+/-* vs. *Bb-*), p-Werte (2)= 2 Gruppen (*Bb+* vs. *Bb+/-* & *Bb-*); Koinfektion= *Ap+* und *Bb+*; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test, mit \* markierte p-Werte sind statistisch signifikant < 0,05; OR (xy-xy)= Odds Ratio mit Angabe des 95%-Konfidenzintervalls

Anhang

**Tabelle 84:** Krankheitsanzeichen im Hinblick auf serologische Befunde (*Bbsl*)

Krankheits-symptom		PB (n=114)							TA (n=114)													
		n	%	<i>Bb</i>		+/-		-	p-Werte	n	%	<i>Bb</i>		+/-		-	p-Werte					
				+	%	+	%	-	%			+	(erw.)	%	+	(erw.)	%	-	(erw.)	%		
Unspezifische	JA	<b>92</b>	<b>80,7</b>	19	16,7	24	21,1	49	43,0	0,183	<b>104</b>	<b>91,2</b>	24	21,1	26	22,8	54	47,4	0,043			
	NEIN	<b>22</b>	<b>19,3</b>	7	6,1	8	7,0	7	6,1		<b>10</b>	<b>8,8</b>	2	1,8	6	5,3	2	1,8				
Neurologische	JA	<b>59</b>	<b>51,8</b>	14	12,3	19	16,7	26	22,8	0,476	<b>55</b>	<b>48,2</b>	12	10,5	16	14,0	27	23,7	0,970			
	NEIN	<b>55</b>	<b>48,2</b>	12	10,5	13	11,4	30	26,3		<b>59</b>	<b>51,8</b>	14	12,3	16	14,0	29	25,4				
Orthopädische	JA	<b>90</b>	<b>78,9</b>	21	18,4	24	21,1	45	39,5	0,830	<b>86</b>	<b>75,4</b>	21	18,4	22	19,3	43	37,7	0,535			
	NEIN	<b>24</b>	<b>21,1</b>	5	4,4	8	7,0	11	9,6		<b>28</b>	<b>24,6</b>	5	4,4	10	8,8	13	11,4				
Sonstige	JA	<b>35</b>	<b>30,7</b>	5	4,4	10	8,8	20	17,5	0,337	<b>21</b>	<b>18,4</b>	2	(4,8)↓	1,8	3	(5,9)↓	2,6	16	(10,3)↑	14,0	0,030*
	NEIN	<b>79</b>	<b>69,3</b>	21	18,4	22	19,3	36	31,6		<b>93</b>	<b>81,6</b>	24	(21,2)↑	21,1	29	(26,1)↑	25,4	40	(45,7)↓	35,1	
Leistungsabfall, Belastungs-intoleranz	JA	<b>62</b>	<b>54,4</b>	13	11,4	18	15,8	31	27,2	0,910	<b>80</b>	<b>70,2</b>	18	15,8	20	17,5	42	36,8	0,461			
	NEIN	<b>52</b>	<b>45,6</b>	13	11,4	14	12,3	25	21,9		<b>34</b>	<b>29,8</b>	8	7,0	12	10,5	14	12,3				
mangelhafte Rittigkeit	JA	<b>59</b>	<b>51,8</b>	15	13,2	17	14,9	27	23,7	0,690	<b>58</b>	<b>50,9</b>	16	14,0	16	14,0	26	22,8	0,474			
	NEIN	<b>55</b>	<b>48,2</b>	11	9,6	15	13,2	29	25,4		<b>56</b>	<b>49,1</b>	10	8,8	16	14,0	30	26,3				
Kachexie, Gewichtsverlust	JA	<b>36</b>	<b>31,6</b>	8	7,0	7	6,1	21	18,4	0,317	<b>28</b>	<b>24,6</b>	4	3,5	7	6,1	17	14,9	0,324			
	NEIN	<b>78</b>	<b>68,4</b>	18	15,8	25	21,9	35	30,7		<b>86</b>	<b>75,4</b>	22	19,3	25	21,9	39	34,2				
Fieber	JA	<b>19</b>	<b>16,7</b>	3	2,6	3	2,6	13	11,4	0,207	<b>23</b>	<b>20,2</b>	4	3,5	3	2,6	16	14,0	0,081			
	NEIN	<b>95</b>	<b>83,3</b>	23	20,2	29	25,4	43	37,7		<b>91</b>	<b>79,8</b>	22	19,3	29	25,4	40	35,1				
Inappetenz	JA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>15</b>	<b>13,2</b>	3	2,6	3	2,6	9	7,9	0,721			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>99</b>	<b>86,8</b>	23	20,2	29	25,4	47	41,2				
Lethargie	JA	<b>46</b>	<b>40,4</b>	10	8,8	10	8,8	26	22,8	0,368	<b>62</b>	<b>54,4</b>	17	(14,1)↑	14,9	11	(17,4)↓	9,6	34	(30,5)↑	29,8	0,028*
	NEIN	<b>68</b>	<b>59,6</b>	16	14,0	22	19,3	30	26,3		<b>52</b>	<b>45,6</b>	9	(11,9)↓	7,9	21	(14,6)↑	18,4	22	(25,5)↓	19,3	
Somnolenz	JA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>28</b>	<b>24,6</b>	10	8,8	5	4,4	13	11,4	0,127			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>86</b>	<b>75,4</b>	16	14,0	27	23,7	43	37,7				
Ataxie	JA	<b>30</b>	<b>26,3</b>	6	5,3	13	11,4	11	9,6	0,090	<b>21</b>	<b>18,4</b>	4	3,5	9	7,9	8	7,0	0,292			
	NEIN	<b>84</b>	<b>73,7</b>	20	17,5	19	16,7	45	39,5		<b>93</b>	<b>81,6</b>	22	19,3	23	20,2	48	42,1				
Kopfnerven-ausfälle	JA	<b>8</b>	<b>7,0</b>	3	2,6	1	0,9	4	3,5	0,499	<b>5</b>	<b>4,4</b>	3	2,6	0	0,0	2	1,8	0,104			
	NEIN	<b>106</b>	<b>93,0</b>	23	20,2	31	27,2	52	45,6		<b>109</b>	<b>95,6</b>	23	20,2	32	28,1	54	47,4				
Störungen peripherer Nerven	JA	<b>6</b>	<b>5,3</b>	2	1,8	2	1,8	2	1,8	0,643	<b>5</b>	<b>4,4</b>	3	2,6	1	0,9	1	0,9	0,136			
	NEIN	<b>108</b>	<b>94,7</b>	24	21,1	30	26,3	54	47,4		<b>109</b>	<b>95,6</b>	23	20,2	31	27,2	55	48,2				
	JA	<b>1</b>	<b>0,9</b>	1	0,9	0	0,0	0	0,0	0,228	<b>2</b>	<b>1,8</b>	2	(0,5)↑	1,8	0	(0,6)↓	0,0	0	(1,0)↓	0,0	0,050

Anhang

Hinweise auf Meningo-enzephalitis	NEIN	<b>113</b>	<b>99,1</b>	25	21,9	32	28,1	56	49,1			(25,5)↓		(31,4)↑		(55,0)↑	
Muskelabbau, neurogene Muskelatrophie	JA	<b>47</b>	<b>41,2</b>	11	9,6	13	11,4	23	20,2								
Muskelzittern	NEIN	<b>67</b>	<b>58,8</b>	15	13,2	19	16,7	33	28,9	0,999							
Hyperästhesie	JA	<b>18</b>	<b>15,8</b>	3	2,6	7	6,1	8	7,0	0,595							
Dysphagie	NEIN	<b>96</b>	<b>84,2</b>	23	20,2	25	21,9	48	42,1	0,630							
Lahmheit	JA	<b>36</b>	<b>31,6</b>	9	7,9	8	7,0	19	16,7								
Gelenkschwellung	NEIN	<b>78</b>	<b>68,4</b>	17	14,9	24	21,1	37	32,5								
> Gelenkschwellung Karpalgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	-								
> Gelenkschwellung Knie (n=112)	NEIN	<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	1	0,9	1	0,9								
> Gelenkschwellung Tarsalgelenk(e) (n=112)	JA	<b>112</b>	<b>98,2</b>	26	22,8	31	27,2	55	48,2								
> Gelenkschwellung Fesselgelenk(e) (n=112)	NEIN	<b>59</b>	<b>51,8</b>	12	10,5	18	15,8	29	25,4	0,711							
> Gelenkschwellung Hufgelenk(e) (n=112)	JA	<b>54</b>	<b>47,4</b>	11	9,6	17	14,9	26	22,8	0,682							
Muskelsteifheit allg.	NEIN	<b>20</b>	<b>17,5</b>	2	(4,6)↓	1,8		2	(5,6)↓	1,8	16	(9,8)↑	14,0				
	JA	<b>95</b>	<b>83,3</b>	23	20,2	27	23,7	45	39,5	0,013*							
	NEIN	<b>94</b>	<b>82,5</b>	24	(21,4)↑	21,1		30	(26,4)↑	26,3	40	(46,2)↓	35,1				
	JA	<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	0	0,0	2	1,8								
	NEIN	<b>110</b>	<b>98,2</b>	26	23,2	31	27,7	53	47,3	0,726							
	JA	<b>1</b>	<b>0,9</b>	0	0,0	0	0,0	1	0,9								
	NEIN	<b>111</b>	<b>99,1</b>	26	23,2	31	27,7	54	48,2	0,999							
	JA	<b>8</b>	<b>7,1</b>	1	0,9	0	0,0	7	6,3								
	NEIN	<b>104</b>	<b>92,9</b>	25	22,3	31	27,7	48	42,9	0,081							
	JA	<b>11</b>	<b>9,8</b>	0	(2,6)↓	0,0		1	(3,0)↓	0,9	10	(5,4)↑	8,9				
	NEIN	<b>101</b>	<b>90,2</b>	26	(23,4)↑	23,2		30	(28,0)↑	26,8	45	(49,6)↓	40,2				
	JA	<b>1</b>	<b>0,9</b>	1	0,9	0	0,0	0	0,0								
	NEIN	<b>111</b>	<b>99,1</b>	25	22,3	31	27,7	55	49,1	0,232							
	JA	<b>53</b>	<b>46,5</b>	12	10,5	15	13,2	26	22,8	0,939							
	NEIN	<b>61</b>	<b>53,5</b>	14	12,3	17	14,9	30	26,3	0,999							
	JA	<b>19</b>	<b>16,7</b>	4	3,5	8	7,0	7	6,1	0,294							

Anhang

Steifheit im Genick/ Nackенbereich	NEIN	<b>73</b>	<b>64,0</b>	17	14,9	22	19,3	34	29,8		<b>95</b>	<b>83,3</b>	22	19,3	24	21,1	49	43,0			
Muskel- schmerzen	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>28</b>	<b>24,6</b>	8	7,0	5	4,4	15	13,2			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>86</b>	<b>75,4</b>	18	15,8	27	23,7	41	36,0			
> Muskel- schmerzen thorakolumbal	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>26</b>	<b>22,8</b>	8	7,0	4	3,5	14	12,3			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>88</b>	<b>77,2</b>	18	15,8	28	24,6	42	36,8			
> Muskel- schmerzen cervikal (n=88)	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>4</b>	<b>4,5</b>	0	0,0	1	1,1	3	3,4			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>84</b>	<b>95,5</b>	17	19,3	27	30,7	40	45,5			
> Muskel- schmerzen Hinterhand (n=88)	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>4</b>	<b>4,5</b>	1	1,1	1	1,1	2	2,3			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>84</b>	<b>95,5</b>	17	19,3	27	30,7	40	45,5			
ophthalmo- logische Probleme	JA	<b>15</b>	<b>13,2</b>	4	3,5	3	2,6	8	7,0		<b>11</b>	<b>9,6</b>	2	1,8	1	0,9	8	7,0			
	NEIN	<b>99</b>	<b>86,8</b>	22	19,3	29	25,4	48	42,1	0,818	<b>103</b>	<b>90,4</b>	24	21,1	31	27,2	48	42,1			
dermatologische Veränderungen	JA	<b>22</b>	<b>19,3</b>	2	1,8	7	6,1	13	11,4		<b>7</b>	<b>6,1</b>	0	(1,6)↓	0,0	0	(2,0)↓	0,0	7	(3,4)↑	6,1
	NEIN	<b>92</b>	<b>80,7</b>	24	21,1	25	21,9	43	37,7	0,248	<b>107</b>	<b>93,9</b>	26	(24,4)↑	22,8	32	(30,0)↑	28,1	49	(52,6)↓	43,0
> Haut- knötchen/ Papeln	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>7</b>	<b>6,1</b>	0	(1,6)↓	0,0	0	(2,0)↓	0,0	7	(3,4)↑	6,1
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>107</b>	<b>93,9</b>	26	(24,4)↑	22,8	32	(30,0)↑	28,1	49	(52,6)↓	43,0
> Rötung	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	0	0,0	2	1,8			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>112</b>	<b>98,2</b>	26	22,8	32	28,1	54	47,4			
Herzprobleme	JA	<b>5</b>	<b>4,4</b>	0	0,0	3	2,6	2	1,8		<b>5</b>	<b>4,4</b>	0	0,0	2	1,8	3	2,6			
	NEIN	<b>109</b>	<b>95,6</b>	26	22,8	29	25,4	54	47,4	0,237	<b>109</b>	<b>95,6</b>	26	22,8	30	26,3	53	46,5			
(hohes) Fieber, Fieberschübe	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>15</b>	<b>13,2</b>	4	3,5	2	1,8	9	7,9			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>99</b>	<b>86,8</b>	22	19,3	30	26	47	41			
Ödeme im unteren Extremitäten- bereich	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>21</b>	<b>18,4</b>	5	4,4	3	2,6	13	11			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>93</b>	<b>81,6</b>	21	18,4	29	25	43	38			
subkutane Ödeme in anderen Körperregionen	JA	-	-	-	-	-	-	-	-		<b>6</b>	<b>5,3</b>	3	2,6	2	1,8	1	0,9			
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>108</b>	<b>94,7</b>	23	20,2	30	26	55	48			



Anhang

**Tabelle 85:** Krankheitsanzeichen im Hinblick auf serologische Befunde (Ap)

Krankheitssymptom		PB (n=114)						TA (n=114)									
				Ap						Ap							
		n	%	+	%	-	%	p-Werte	n	%	+	(erw.)	%	-	(erw.)	%	p-Werte
Unspezifische	JA	<b>92</b>	<b>80,7</b>	22	19,3	70	61,4	0,043* OR=6,60 (0,84-51,91)	<b>104</b>	<b>91,2</b>	23		20,2	81		71,1	0,209
	NEIN	<b>22</b>	<b>19,3</b>	1	0,9	21	18,4		<b>10</b>	<b>8,8</b>	0		0,0	10		8,8	
Neurologische	JA	<b>59</b>	<b>51,8</b>	12	10,5	47	41,2	0,999	<b>55</b>	<b>48,2</b>	13		11,4	42		36,8	0,485
	NEIN	<b>55</b>	<b>48,2</b>	11	9,6	44	38,6		<b>59</b>	<b>51,8</b>	10		8,8	49		43,0	
Orthopädische	JA	<b>90</b>	<b>78,9</b>	15	13,2	75	65,8	0,088	<b>86</b>	<b>75,4</b>	18		15,8	68		59,6	0,794
	NEIN	<b>24</b>	<b>21,1</b>	8	7,0	16	14,0		<b>28</b>	<b>24,6</b>	5		4,4	23		20,2	
Sonstige	JA	<b>35</b>	<b>30,7</b>	8	7,0	27	23,7	0,801	<b>21</b>	<b>18,4</b>	6		5,3	15		13,2	0,366
	NEIN	<b>79</b>	<b>69,3</b>	15	13,2	64	56,1		<b>93</b>	<b>81,6</b>	17		14,9	76		66,7	
Leistungsabfall, Belastungsintoleranz	JA	<b>62</b>	<b>54,4</b>	12	10,5	50	43,9	0,819	<b>80</b>	<b>70,2</b>	16		14,0	64		56,1	0,999
	NEIN	<b>52</b>	<b>45,6</b>	11	9,6	41	36,0		<b>34</b>	<b>29,8</b>	7		6,1	27		23,7	
mangelhafte Rittigkeit	JA	<b>59</b>	<b>51,8</b>	16	14,0	43	37,7	0,065	<b>58</b>	<b>50,9</b>	13		11,4	45		39,5	0,643
	NEIN	<b>55</b>	<b>48,2</b>	7	6,1	48	42,1		<b>56</b>	<b>49,1</b>	10		8,8	46		40,4	
Kachexie, Gewichtsverlust	JA	<b>36</b>	<b>31,6</b>	7	6,1	29	25,4	0,999	<b>28</b>	<b>24,6</b>	3		2,6	25		21,9	0,184
	NEIN	<b>78</b>	<b>68,4</b>	16	14,0	62	54,4		<b>86</b>	<b>75,4</b>	20		17,5	66		57,9	
Fieber	JA	<b>19</b>	<b>16,7</b>	10	8,8	9	7,9	0,001* OR=7,01 (2,40-20,51)	<b>23</b>	<b>20,2</b>	9		7,9	14		12,3	0,019* OR=3,54 (1,28-9,73)
	NEIN	<b>95</b>	<b>83,3</b>	13	11,4	82	71,9		<b>91</b>	<b>79,8</b>	14		12,3	77		67,5	
Inappetenz	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>15</b>	<b>13,2</b>	7		6,1	8		7,0	0,012* OR=4,54 (1,44-14,29)
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>99</b>	<b>86,8</b>	16		14,0	83		72,8	
Lethargie	JA	<b>46</b>	<b>40,4</b>	10	8,8	36	31,6	0,813	<b>62</b>	<b>54,4</b>	15		13,2	47		41,2	0,349
	NEIN	<b>68</b>	<b>59,6</b>	13	11,4	55	48,2		<b>52</b>	<b>45,6</b>	8		7,0	44		38,6	
Somnolenz	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>28</b>	<b>24,6</b>	9		7,9	19		16,7	0,102
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>86</b>	<b>75,4</b>	14		12,3	72		63,2	
Ataxie	JA	<b>30</b>	<b>26,3</b>	6	5,3	24	21,1	0,999	<b>21</b>	<b>18,4</b>	5		4,4	16		14,0	0,764
	NEIN	<b>84</b>	<b>73,7</b>	17	14,9	67	58,8		<b>93</b>	<b>81,6</b>	18		15,8	75		65,8	
Kopfnervenausfälle	JA	<b>8</b>	<b>7,0</b>	2	1,8	6	5,3	0,662	<b>5</b>	<b>4,4</b>	2		1,8	3		2,6	0,264
	NEIN	<b>106</b>	<b>93,0</b>	21	18,4	85	74,6		<b>109</b>	<b>95,6</b>	21		18,4	88		77,2	
	JA	<b>6</b>	<b>5,3</b>	2	1,8	4	3,5	0,599	<b>5</b>	<b>4,4</b>	1		0,9	4		3,5	0,999

Anhang

Störungen peripherer Nerven	NEIN	<b>108</b>	<b>94,7</b>	21	18,4	87	76,3		<b>109</b>	<b>95,6</b>	22	19,3	87	76,3		
Hinweise auf Meningoenzephalitis	JA	<b>1</b>	<b>0,9</b>	1	0,9	0	0,0	0,202	<b>2</b>	<b>1,8</b>	2	(0,4)↑	1,8	0	(1,6)↓	0,0
	NEIN	<b>113</b>	<b>99,1</b>	22	19,3	91	79,8		<b>112</b>	<b>98,2</b>	21	(22,6)↓	18,4	91	(89,4)↑	79,8
Muskelabbau, neurogene Muskelatrophie	JA	<b>47</b>	<b>41,2</b>	6	5,3	41	36,0	0,154	<b>15</b>	<b>13,2</b>	3	2,6	12	10,5		
	NEIN	<b>67</b>	<b>58,8</b>	17	14,9	50	43,9		<b>99</b>	<b>86,8</b>	20	17,5	79	69,3	0,999	
Muskelzittern	JA	<b>18</b>	<b>15,8</b>	4	3,5	14	12,3	0,758	<b>16</b>	<b>14,0</b>	4	3,5	12	10,5		
	NEIN	<b>96</b>	<b>84,2</b>	19	16,7	77	67,5		<b>98</b>	<b>86,0</b>	19	16,7	79	69,3	0,737	
Hyperästhesie	JA	<b>36</b>	<b>31,6</b>	7	6,1	29	25,4	0,999	<b>20</b>	<b>17,5</b>	7	6,1	13	11,4		
	NEIN	<b>78</b>	<b>68,4</b>	16	14,0	62	54,4		<b>94</b>	<b>82,5</b>	16	14,0	78	68,4	0,120	
Dysphagie	JA								<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	2	1,8		
	NEIN								<b>112</b>	<b>98,2</b>	23	20,2	89	78,1	0,999	
Lahmheit	JA	<b>60</b>	<b>52,6</b>	8	7,0	52	45,6	0,065	<b>59</b>	<b>51,8</b>	12	10,5	47	41,2		
	NEIN	<b>54</b>	<b>47,4</b>	15	13,2	39	34,2		<b>55</b>	<b>48,2</b>	11	9,6	44	38,6	0,999	
Gelenkschwellung	JA	<b>19</b>	<b>16,7</b>	4	3,5	15	13,2	0,999	<b>20</b>	<b>17,5</b>	4	3,5	16	14,0		
	NEIN	<b>95</b>	<b>83,3</b>	9	7,9	76	66,7		<b>94</b>	<b>82,5</b>	19	16,7	75	65,8	0,999	
> Gelenkschwellung Karpalgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	2	1,8		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>110</b>	<b>98,2</b>	23	20,5	87	77,7	0,999	
> Gelenkschwellung Knie (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>1</b>	<b>0,9</b>	0	0,0	1	0,9		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>111</b>	<b>99,1</b>	23	20,5	88	78,6	0,999	
> Gelenkschwellung Tarsalgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>8</b>	<b>7,1</b>	0	0,0	8	7,1		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>104</b>	<b>92,9</b>	23	20,5	81	72,3	0,203	
> Gelenkschwellung Fesselgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>11</b>	<b>9,8</b>	4	3,6	7	6,3		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>101</b>	<b>90,2</b>	19	17,0	82	73,2	0,232	
> Gelenkschwellung Hufgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>1</b>	<b>0,9</b>	0	0,0	1	0,9		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>111</b>	<b>99,1</b>	23	20,5	88	78,6	0,999	
Muskelsteifheit allg.	JA	<b>62</b>	<b>54,4</b>	11	9,6	51	44,7	0,493	<b>53</b>	<b>46,5</b>	11	9,6	42	36,8		
	NEIN	<b>52</b>	<b>45,6</b>	12	10,5	40	35,1		<b>61</b>	<b>53,5</b>	12	10,5	49	43,0	0,999	
Steifheit im Genick/ Nackenbereich	JA	<b>41</b>	<b>36,0</b>	9	7,9	32	28,1	0,809	<b>19</b>	<b>16,7</b>	6	5,3	13	11,4		
	NEIN	<b>73</b>	<b>64,0</b>	14	12,3	59	51,8		<b>95</b>	<b>83,3</b>	17	14,9	78	68,4	0,211	
Muskelschmerzen	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>28</b>	<b>24,6</b>	5	4,4	23	20,2		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>86</b>	<b>75,4</b>	18	15,8	68	59,6	0,794	
	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>26</b>	<b>22,8</b>	5	4,4	21	18,4	0,999	

Anhang

> Muskelschmerzen thorakolumbal	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>88</b>	<b>77,2</b>	18		15,8	70		61,4	
> Muskelschmerzen cervical (n=88)	JA	-	-	-	-	-	-		<b>4</b>	<b>4,5</b>	0		0,0	4		4,5	0,577
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>84</b>	<b>95,5</b>	18		20,5	66		75,0	
> Muskelschmerzen Hinterhand (n=88)	JA	-	-	-	-	-	-		<b>4</b>	<b>4,5</b>	0		0,0	4		4,5	0,577
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>84</b>	<b>95,5</b>	18		20,5	66		75,0	
ophthalmologische Probleme	JA	<b>15</b>	<b>13,2</b>	3	2,6	12	10,5	0,999	<b>11</b>	<b>9,6</b>	3		2,6	8		7,0	0,692
	NEIN	<b>99</b>	<b>86,8</b>	20	17,5	79	69,3		<b>103</b>	<b>90,4</b>	20		17,5	83		72,8	
dermatologische Veränderungen	JA	<b>22</b>	<b>19,3</b>	4	3,5	18	15,8	0,999	<b>7</b>	<b>6,1</b>	2		1,8	5		4,4	0,627
	NEIN	<b>92</b>	<b>80,7</b>	19	16,7	73	64,0		<b>107</b>	<b>93,9</b>	21		18,4	86		75,4	
> Hautknötchen/ Papeln	JA	-	-	-	-	-	-		<b>7</b>	<b>6,1</b>	2		1,8	5		4,4	0,627
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>107</b>	<b>93,9</b>	21		18,4	86		75,4	
> Rötung	JA	-	-	-	-	-	-		<b>2</b>	<b>1,8</b>	2	(0,4)↑	1,8	0	(1,6)↓	0,0	0,039*
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>112</b>	<b>98,2</b>	21	(22,6)↓	18,4	91	(89,4)↑	79,8	
Herzprobleme	JA	<b>5</b>	<b>4,4</b>	2	1,8	3	2,6	0,264	<b>5</b>	<b>4,4</b>	3		2,6	2		1,8	0,055
	NEIN	<b>109</b>	<b>95,6</b>	21	18,4	88	77,2		<b>109</b>	<b>95,6</b>	20		17,5	89		78,1	
(hohes) Fieber, Fieberschübe	JA	-	-	-	-	-	-		<b>15</b>	<b>13,2</b>	7		6,1	8		7,0	0,012* OR=4,54 (1,44-14,29)
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>99</b>	<b>86,8</b>	16		14,0	83		72,8	
Ödeme im unteren Extremitätenbereich	JA	-	-	-	-	-	-		<b>21</b>	<b>18,4</b>	6		5,3	15		13,2	0,366
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>93</b>	<b>81,6</b>	17		14,9	76		66,7	
subkutane Ödeme in anderen Körperregionen	JA	-	-	-	-	-	-		<b>23</b>	<b>20,2</b>	0		0,0	23		20,2	0,345
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>91</b>	<b>79,8</b>	6		5,3	85		74,6	
Rhabdomyolyse	JA	-	-	-	-	-	-		<b>3</b>	<b>2,6</b>	0		0,0	3		2,6	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-	-	<b>111</b>	<b>97,4</b>	23		20,2	88		77,2	

\*p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test, mit \* markierte p-Werte sind statistisch signifikant < 0,05; n=114, außer wenn anders angegeben; erwartete Werte in der Klammer, Abweichungen der beobachteten von den erwarteten Werten („erw.“) in Form von ↓/↑=weniger/mehr

**Tabelle 86:** Krankheitsanzeichen im Hinblick auf serologische Befunde (Koinfektion)

Krankheitssymptom		PB (n=114)						TA (n=114)									
		n	%	Koinfektion		p-Werte		n	%	Koinfektion		p-Werte					
				+	%	-	%			+	(erw.)	%	-	(erw.)	%		
Unspezifische	JA	<b>92</b>	<b>80,7</b>	7	6,1	85	74,6	0,343	<b>104</b>	<b>91,2</b>	7	6,1	97	85,1	0,999		
	NEIN	<b>22</b>	<b>19,3</b>	0	0,0	22	19,3		<b>10</b>	<b>8,8</b>	0	0,0	10	8,8			
Neurologische	JA	<b>59</b>	<b>51,8</b>	3	2,6	56	49,1	0,710	<b>55</b>	<b>48,2</b>	3	2,6	52	45,6	0,999		
	NEIN	<b>55</b>	<b>48,2</b>	4	3,5	51	44,7		<b>59</b>	<b>51,8</b>	4	3,5	55	48,2			
Orthopädische	JA	<b>90</b>	<b>78,9</b>	4	3,5	86	75,4	0,160	<b>86</b>	<b>75,4</b>	4	3,5	82	71,9	0,360		
	NEIN	<b>24</b>	<b>21,1</b>	3	2,6	21	18,4		<b>28</b>	<b>24,6</b>	3	2,6	25	21,9			
Sonstige	JA	<b>35</b>	<b>30,7</b>	0	0,0	35	30,7	0,098	<b>21</b>	<b>18,4</b>	0	0,0	21	18,4	0,346		
	NEIN	<b>79</b>	<b>69,3</b>	7	6,1	72	63,2		<b>93</b>	<b>81,6</b>	7	6,1	86	75,4			
Leistungsabfall, Belastungsintoleranz mangelhafte Rittigkeit	JA	<b>62</b>	<b>54,4</b>	3	2,6	59	51,8	0,700	<b>80</b>	<b>70,2</b>	3	2,6	77	67,5	0,194		
	NEIN	<b>52</b>	<b>45,6</b>	4	3,5	48	42,1		<b>34</b>	<b>29,8</b>	4	3,5	30	26,3			
Kachexie, Gewichtsverlust	JA	<b>59</b>	<b>51,8</b>	6	5,3	53	46,5	0,115	<b>58</b>	<b>50,9</b>	4	3,5	54	47,4	0,999		
	NEIN	<b>55</b>	<b>48,2</b>	1	0,9	54	47,4		<b>56</b>	<b>49,1</b>	3	2,6	53	46,5			
Fieber	JA	<b>36</b>	<b>31,6</b>	2	1,8	34	29,8	0,999	<b>28</b>	<b>24,6</b>	0	0,0	28	24,6	0,191		
	NEIN	<b>78</b>	<b>68,4</b>	5	4,4	73	64,0		<b>86</b>	<b>75,4</b>	7	6,1	79	69,3			
Inappetenz	JA	<b>19</b>	<b>16,7</b>	2	1,8	17	14,9	0,330	<b>23</b>	<b>20,2</b>	3	2,6	20	17,5	0,145		
	NEIN	<b>95</b>	<b>83,3</b>	5	4,4	90	78,9		<b>91</b>	<b>79,8</b>	4	3,5	87	76,3			
Lethargie	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>15</b>	<b>13,2</b>	2	1,8	13	11,4	0,230		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>99</b>	<b>86,8</b>	5	4,4	94	82,5			
Somnolenz	JA	<b>46</b>	<b>40,4</b>	4	3,5	42	36,8	0,437	<b>62</b>	<b>54,4</b>	5	4,4	57	50,0	0,452		
	NEIN	<b>68</b>	<b>59,6</b>	3	2,6	65	57,0		<b>52</b>	<b>45,6</b>	2	1,8	50	43,9			
Ataxie	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>28</b>	<b>24,6</b>	3	2,6	25	21,9	0,360		
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>86</b>	<b>75,4</b>	4	3,5	82	71,9			
Kopfnervenausfälle	JA	<b>30</b>	<b>26,3</b>	1	0,9	29	25,4	0,674	<b>21</b>	<b>18,4</b>	0	0,0	21	18,4	0,346		
	NEIN	<b>84</b>	<b>73,7</b>	6	5,3	78	68,4		<b>93</b>	<b>81,6</b>	7	6,1	86	75,4			
Störungen peripherer Nerven	JA	<b>8</b>	<b>7,0</b>	1	0,9	7	6,1	0,408 OR=13,87 (1,87- 102,63)	<b>5</b>	<b>4,4</b>	2	(0,3)↑	1,8	3	(4,7)↓	2,6	0,030*
	NEIN	<b>106</b>	<b>93,0</b>	6	5,3	100	87,7		<b>109</b>	<b>95,6</b>	5	(6,7)↓	4,4	104	(102,3)↑	91,2	
Hinweise auf Meningoenzephalitis	JA	<b>6</b>	<b>5,3</b>	0	0,0	6	5,3	0,999	<b>5</b>	<b>4,4</b>	0	0,0	5	4,4	0,999		
	NEIN	<b>108</b>	<b>94,7</b>	7	6,1	101	88,6		<b>109</b>	<b>95,6</b>	7	6,1	102	89,5			
Meningoenzephalitis	JA	<b>1</b>	<b>0,9</b>	1	0,9	0	0,0	0,061	<b>2</b>	<b>1,8</b>	2	(0,1)↑	1,8	0	(1,9)↓	0,0	0,003*
	NEIN	<b>113</b>	<b>99,1</b>	6	5,3	107	93,9		<b>112</b>	<b>98,2</b>	5	(6,9)↓	4,4	107	(105,1)↑	93,9	

Anhang

Muskelabbau, neurogene Muskelatrophie	JA	<b>47</b>	<b>41,2</b>	1	0,9	46	40,4	0,237	<b>15</b>	<b>13,2</b>	1	0,9	14	12,3	0,999
	NEIN	<b>67</b>	<b>58,8</b>	6	5,3	61	53,5		<b>99</b>	<b>86,8</b>	6	5,3	93	81,6	
Muskelzittern	JA	<b>18</b>	<b>15,8</b>	1	0,9	17	14,9	0,999	<b>16</b>	<b>14,0</b>	1	0,9	15	13,2	0,999
	NEIN	<b>96</b>	<b>84,2</b>	6	5,3	90	78,9		<b>98</b>	<b>86,0</b>	6	5,3	92	80,7	
Hyperästhesie	JA	<b>36</b>	<b>31,6</b>	1	0,9	35	30,7	0,429	<b>20</b>	<b>17,5</b>	2	1,8	18	15,8	0,604
	NEIN	<b>78</b>	<b>68,4</b>	6	5,3	72	63,2		<b>94</b>	<b>82,5</b>	5	4,4	89	78,1	
Dysphagie	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	2	1,8	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>112</b>	<b>98,2</b>	7	6,1	105	92,1	
Lahmheit	JA	<b>60</b>	<b>52,6</b>	2	1,8	58	50,9	0,253	<b>59</b>	<b>51,8</b>	2	1,8	57	50,0	0,260
	NEIN	<b>54</b>	<b>47,4</b>	5	4,4	49	43,0		<b>55</b>	<b>48,2</b>	5	4,4	50	43,9	
Gelenkschwellung	JA	<b>19</b>	<b>16,7</b>	1	0,9	18	15,8	0,999	<b>20</b>	<b>17,5</b>	0	0,0	20	17,5	0,351
	NEIN	<b>95</b>	<b>83,3</b>	6	5,3	89	78,1		<b>94</b>	<b>82,5</b>	7	6,1	87	76,3	
> Gelenkschwellung Karpalgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>2</b>	<b>1,8</b>	0	0,0	2	1,8	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>110</b>	<b>98,2</b>	7	6,3	103	92,0	
> Gelenkschwellung Knie (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>1</b>	<b>0,9</b>	0	0,0	1	0,9	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>111</b>	<b>99,1</b>	7	6,3	104	92,9	
> Gelenkschwellung Tarsalgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>8</b>	<b>7,1</b>	0	0,0	8	7,1	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>104</b>	<b>92,9</b>	7	6,3	97	86,6	
> Gelenkschwellung Fesselgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>11</b>	<b>9,8</b>	0	0,0	11	9,8	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>101</b>	<b>90,2</b>	7	6,3	94	83,9	
> Gelenkschwellung Hufgelenk(e) (n=112)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>1</b>	<b>0,9</b>	0	0,0	1	0,9	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>111</b>	<b>99,1</b>	7	6,3	104	92,9	
Muskelsteifheit allg.	JA	<b>62</b>	<b>54,4</b>	2	1,8	60	52,6	0,243	<b>53</b>	<b>46,5</b>	2	1,8	51	44,7	0,447
	NEIN	<b>52</b>	<b>45,6</b>	5	4,4	47	41,2		<b>61</b>	<b>53,5</b>	5	4,4	56	49,1	
Steifheit im Genick/ Nackенbereich	JA	<b>41</b>	<b>36,0</b>	3	2,6	38	33,3	0,701	<b>19</b>	<b>16,7</b>	1	0,9	18	15,8	0,999
	NEIN	<b>73</b>	<b>64,0</b>	4	3,5	69	60,5		<b>95</b>	<b>83,3</b>	6	5,3	89	78,1	
Muskelschmerzen	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>28</b>	<b>24,6</b>	1	0,9	27	23,7	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>86</b>	<b>75,4</b>	6	5,3	80	70,2	
> Muskelschmerzen thorakolumbal	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>26</b>	<b>22,8</b>	1	0,9	25	21,9	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>88</b>	<b>77,2</b>	6	5,3	82	71,9	
> Muskelschmerzen cervikal (n=88)	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>4</b>	<b>4,5</b>	0	0,0	4	4,5	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-		<b>84</b>	<b>95,5</b>	6	6,8	78	88,6	
	JA	-	-	-	-	-	-	-	<b>4</b>	<b>4,5</b>	0	0,0	4	4,5	0,999

Anhang

> Muskelschmerzen Hinterhand (n=88)	NEIN	-	-	-	-	-	-	84	95,5	6	6,8	78	88,6	
ophthalmologische Probleme	JA	15	13,2	0	0,0	15	13,2	11	9,6	0	0,0	11	9,6	0,999
	NEIN	99	86,8	7	6,1	92	80,7	103	90,4	7	6,1	96	84,2	
dermatologische Veränderungen	JA	22	19,3	0	0,0	22	19,3	7	6,1	0	0,0	7	6,1	0,999
	NEIN	92	80,7	7	6,1	85	74,6	107	93,9	7	6,1	100	87,7	
> Hautknötchen/ Papeln	JA	-	-	-	-	-	-	7	6,1	0	0,0	7	6,1	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-	107	93,9	7	6,1	100	87,7	
> Rötung	JA	-	-	-	-	-	-	2	1,8	0	0,0	2	1,8	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-	112	98,2	7	6,1	105	92,1	
Herzprobleme	JA	5	4,4	0	0,0	5	4,4	5	4,4	0	0,0	5	4,4	0,999
	NEIN	109	95,6	7	6,1	102	89,5	109	95,6	7	6,1	102	89,5	
(hohes) Fieber, Fieberschübe	JA	-	-	-	-	-	-	15	13,2	3	2,6	12	10,5	0,047
	NEIN	-	-	-	-	-	-	99	86,8	4	3,5	95	83,3	
Ödeme im unteren Extremitätenbereich	JA	-	-	-	-	-	-	21	18,4	2	1,8	19	16,7	0,611
	NEIN	-	-	-	-	-	-	93	81,6	5	4,4	88	77,2	
subkutane Ödeme in anderen Körperregionen	JA	-	-	-	-	-	-	6	5,3	0	0,0	6	5,3	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-	108	94,7	7	6,1	101	88,6	
Rhabdomyolyse	JA	-	-	-	-	-	-	3	2,6	0	0,0	3	2,6	0,999
	NEIN	-	-	-	-	-	-	111	97,4	7	6,1	104	91,2	

\* Koinfektion= *Ap+* und *Bb+*; p-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test, mit \* markierte p-Werte sind statistisch signifikant < 0,05; n=114, außer wenn anders angegeben; erwartete Werte in der Klammer, Abweichungen der beobachteten von den erwarteten Werten in Form von ↓/↑=weniger/mehr

**Tabelle 87:** Schweregrad der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde (*Bbsl*, *Ap*, Koinfektion)

Schweregrad der Erkrankung		<b>Bb</b>						<b>Ap</b>					<b>Koinfektion</b>						
		+	%	+/-	%	-	%	p (1)	p (2)	+	%	-	%	p	+	%	-	%	p
PB (n=114)	geringgradig	9	7,9	4	3,5	6	5,3	0,121	0,036*	4	3,5	15	13,2	0,999	2	1,8	17	14,9	0,130
	mittelgradig	8	7,0	17	14,9	7	6,1			11	9,6	45	39,5		1	0,9	55	48,2	
	hochgradig	7	6,1	7	6,1	16	14,0			6	5,3	24	21,1		3	2,6	27	23,7	
	höchstgradig	2	1,8	4	3,5	3	2,6			2	1,8	7	6,1		1	0,9	8	7,0	
TA (n=114)	geringgradig	11	9,6	12	10,5	3	2,6	0,749	0,726	5	4,4	33	28,9	0,477	2	1,8	136	31,6	0,709
	mittelgradig	12	10,5	15	13,2	4	3,5			13	11,4	43	37,7		3	2,6	53	46,5	
	hochgradig	3	2,6	4	3,5	11	9,6			5	4,4	13	11,4		2	1,8	16	14,0	
	höchstgradig	0	0,0	1	0,9	1	0,9			0	0,0	2	1,8		0	0,0	2	1,8	

**Tabelle 88:** Dynamik der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde (*Bbsl*, *Ap*, Koinfektion)

Dynamik der Infektion		<b>Bb</b>						<b>Ap</b>					<b>Koinfektion</b>						
		+	%	+/-	%	-	%	p (1)	p (2)	+	%	-	%	p	+	%	-	%	p
PB (n=114)	permanent	7	6,1	10	8,8	16	14,0	0,516	0,723	5	4,4	28	24,6	0,227	2	1,8	31	27,2	0,289
	schubweise	15	13,2	21	18,4	32	28,1			1	11,4	55	48,2		3	2,6	65	57,0	
	erstmalig/sonstiges	4	3,5	1	0,9	8	7,0			5	4,4	8	7,0		2	1,8	11	9,6	
TA (n=114)	permanent	6	5,3	10	8,8	20	17,5	0,556	0,256	6	5,3	30	26,3	0,840	2	1,8	34	29,8	0,999
	schubweise	20	17,5	20	17,5	33	28,9			1	14,0	57	50,0		5	4,4	68	59,6	
	erstmalig/sonstiges	0	0,0	2	1,8	3	2,6			1	0,9	4	3,5		0	0,0	5	4,4	

(Koinfektion= *Ap*+ und *Bb*+; *p*= *p*-Werte basierend auf Pearson Chi-Quadrat- bzw. Exaktem Fisher-Test, mit \* markierte *p*-Werte sind statistisch signifikant < 0,05; *p* (1)= 3 Gruppen (*Bb*+ vs. *Bb*+/- vs. *Bb*-), *p* (2)= 2 Gruppen (*Bb*+ vs. *Bb*+/- & *Bb*-))

## 9.2 Fragebögen & Probenbegleitblatt, inkl. Begleitschreiben



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



Sehr geehrter Pferdebesitzer, sehr geehrte Pferdebesitzerin,

Ihnen wurde angeboten mit Ihrem Pferd an einer klinischen Forschungsstudie zur „Prävalenz der equinen Lyme-Borreliose und equinen granulozytären Anaplasrose“ teilzunehmen.

### I. Beschreibung und Ziel der Studie

Nicht jedes Pferd, das von einer Borrelien-übertragenden Zecke gestochen wurde, erkrankt an Lyme-Borreliose. In vielen Fällen verläuft die Infektion auch ohne erkennbare klinische Veränderungen oder die Krankheit zeigt sich in einer Vielzahl unterschiedlicher, zum Teil unspezifischer Symptome. Deshalb möchte die Klinik für Pferde der FU Berlin im Rahmen einer klinischen Forschungsstudie herausfinden, wie häufig Pferde in Deutschland an Lyme-Borreliose erkranken und ob auch andere Erreger (Anaplasmen) eine Rolle im Krankheitsgeschehen spielen.

### II. Praktische Durchführung

Zur Teilnahme an der Studie ist die Beantwortung eines Fragebogens sowohl durch Sie als auch eines weiteren Frage- bzw. Befundbogens durch den Tierarzt erforderlich. Der Fragebogen kann entweder online ausgefüllt (folgen Sie dem Link bzw. QR-Code auf der nächsten Seite) oder ausgedruckt, handschriftlich ausgefüllt und an die Klinik für Pferde der FU Berlin (Oertzenweg 19b, 14163; z.Hd. Dr. Beatrice Lehmann) versandt werden. Für die Borrelien- und Anaplasmen-Diagnostik wird lediglich eine Blutprobe Ihres Pferdes und eines Kontrolltieres derselben Altersgruppe (Jungpferd, erwachsenes Pferd, Senior) aus demselben Stall benötigt.

### III. Vertraulichkeit

Die gewonnenen Daten werden vertraulich behandelt und ausschließlich für wissenschaftliche Zwecke verwendet. Es werden keine persönlichen Daten von Patienten und Besitzern veröffentlicht oder an Dritte weitergegeben.

Die Ergebnisse der Borreliose- und Anaplasmen-Diagnostik werden in anonymisierter Form zu wissenschaftlichen Zwecken verwendet.

### IV. Kosten

Die Untersuchung und Auswertung der Proben ist kostenlos. Für Sie fallen nur die Kosten für die Blutabnahme durch Ihren Tierarzt an.

### V. Kontakt

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte vorzugsweise per E-Mail an:

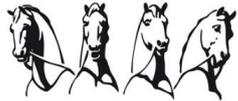
Katharina Füßinger (Doktorandin an der Klinik für Pferde der FU Berlin)  
[BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de](mailto:BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de)

In dringenden Fällen auch telefonisch (0174-9713984).

**Abbildung 64:** Anschreiben Pferdebesitzer



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



## Fragebogen für Pferdebesitzer

### I. Besitzerdaten

Name

Anschrift

Telefonnummer

E-Mail-Adresse

Name und Telefonnummer des behandelnden Tierarztes

### II. Allgemeine Angaben zum Pferd

Name

Alter (Jahre)

Rasse

Fellfarbe

Stockmaß (cm)

Gewicht (kg)

geschätzt

gewogen

Geschlecht:  Stute  Hengst  Wallach

Seit wann befindet sich das Pferd in Ihrem Besitz? \_\_\_\_\_  
(MM/JJ)

### III. Angaben zur Haltung

Wo befindet sich der Stall, in dem Ihr Pferd aktuell untergebracht ist? \_\_\_\_\_  
(LKR, Bundesland)

Sind Sie mit Ihrem Pferd innerhalb des letzten Jahres weiter als innerhalb des Bundeslandes umgezogen?

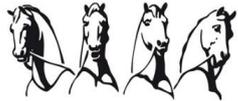
Nein  Ja, von \_\_\_\_\_ (LKR, Bundesland)

Hat sich die Haltungsform Ihres Pferdes innerhalb des letzten Jahres verändert?

Nein  Ja, von \_\_\_\_\_ zu \_\_\_\_\_  
(siehe Haltungsformen auf der folgenden Seite)



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



Wie wird Ihr Pferd derzeit gehalten? (Mehrfachnennungen möglich)

- Boxenhaltung
  - ohne angeschlossenen Paddock
  - mit geschlossenem Paddock
    - Paddock befestigt
    - Paddock mit Naturboden
  - mit zusätzlichem Auslauf
    - auf einem befestigten Paddock
    - auf einem Paddock mit Naturboden
- Gruppen-/ Laufstallhaltung (Gruppenhaltung in einem Stallgebäude)
  - ausschließlich Stallhaltung
  - mit Außenpaddock, zeitweise zugänglich
    - Paddock befestigt
    - Paddock mit Naturboden
- Offenstallhaltung, Aktivstall (Gruppenhaltung mit Stallgebäude & ständig zugänglichem Auslauf)  
Bodenbeschaffenheit:
  - befestigt
  - Naturboden
  - teils befestigt, teils Naturboden
- Weide-/ Robusthaltung (Gruppenhaltung auf der Weide, mit Witterungsschutz)
  - ganzjährig
  - saisonal von Monat \_\_\_\_\_ bis Monat \_\_\_\_\_
- Sonstige / Kombination der oben genannten (z.B. jahreszeitlich unterschiedlich):  
\_\_\_\_\_

Wie lange kommt Ihr Pferd während der Weidesaison auf die Weide?

- kein Weidegang
- ganztags (24/7)
- halbtags:  tagsüber /  nachts
- stundenweise: ca. \_\_\_\_ Stunden/Tag

Sofern Ihr Pferd Weidegang erhält, wie lange ist die Weidesaison im Allgemeinen?

- < 1 Monat
- 1-3 Monate
- > 3 Monate
- ganzjährig

#### IV. Angaben zur Nutzung des Pferdes

Wie wird Ihr Pferd genutzt? (Mehrfachnennungen möglich)

- Sport  Freizeit  Schulbetrieb  Zucht/Jungpferd  Gnadenbrotpferd/Beistellpferd





Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



- |  |   |   |                                    |
|--|---|---|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Dressur       | <input type="checkbox"/> Springen         | <input type="checkbox"/> Vielseitigkeit       | <input type="checkbox"/> Fahrsport |
| <input type="checkbox"/> Westernreiten | <input type="checkbox"/> Gangpferdereiten | <input type="checkbox"/> Gelände, Wanderritte | <input type="checkbox"/> Rennsport |
| <input type="checkbox"/> Distanzreiten | <input type="checkbox"/> Voltigieren      | <input type="checkbox"/> Sonstiges _____      |                                    |

Sofern Ihr Pferd sportlich genutzt wird, in welcher/n Leistungsklasse(n) (FN)?

- |                                   |  |                              |                            |                            |
|-----------------------------------|--|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <input type="checkbox"/> E        | <input type="checkbox"/> A             | <input type="checkbox"/> L   | <input type="checkbox"/> M | <input type="checkbox"/> S |
| <input type="checkbox"/> *        | <input type="checkbox"/> **            | <input type="checkbox"/> *** |                            |                            |
| <input type="checkbox"/> national | <input type="checkbox"/> international |                              |                            |                            |

Sonstige Leistungsklassen (EWU, IPZV...): \_\_\_\_\_

Reiten Sie mit Ihrem Pferd regelmäßig im Gelände aus bzw. gehen Sie mit Ihrem Pferd im Gelände spazieren, Kutsche fahren etc.?

- Ja,  
 1x/Woche  
 2-3x/Woche  
 > 3x/Woche  
 Nein

## V. Zeckenexposition

Wie häufig haben Sie in der letzten Weidesaison Zecken bei Ihrem Pferd beobachtet?



Häufig beobachtete Stichstellen: Leistenbereich, Innenfläche Vorder-/Hinterbeine, Kopf



- keine Zecken in der letzten Weidesaison beobachtet  
 Zecken beobachtet, aber genaue Anzahl unbekannt  
 Anzahl: \_\_\_\_\_  
 noch krabbelnd  
 bereits angeheftet

In welchen Monaten trat der Zeckenbefall auf? von \_\_\_\_\_ bis \_\_\_\_\_  
(auch diese Frage bezieht sich auf die letzte Weidesaison)

Steht Ihr Pferd in einem zeckengefährdeten Gebiet?



„Zeckengefährdetes Gebiet“ = Laub- und Mischwälder mit Kraut- und Strauchzone, Moor, Heide, Wiesenflächen mit Sträuchern, Bäumen und altem, hohem Gras und Kräutern



- Ja  Nein

Wie würden Sie den Zustand der Weideflächen beschreiben, auf denen Ihr Pferd sich die meiste Zeit aufhält?

- eher kurzgefressenes Gras bzw. kurzgehalten durch Schnitt; tendenziell eher Überbelegung  
 eher hohes, teilweise verholztes Gras; mehr Gras als die Pferde fressen können



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



Befindet sich die Weide am Waldrand?

- Ja  Nein

Auf welche Art und Weise entfernen Sie Zecken bei Ihrem Pferd?

- Zeckenzange, Pinzette...  Beträufeln mit Öl, Alkohol...  Fingernägel  Gar nicht

Benutzen Sie Insektenabwehr (Repellentien), die auch gegen Zecken wirkt? (Mehrfachnennungen möglich)

- Wellcare® (Permethrin)  Centaura® (Saltidin)  Equirepell® (Virbac)  
 BUTOX® (Deltamethrin)\*  Sebacil® (Phoxim)\*  Leovet Power Phaser  
 Effol Bremsen Blocker  Keines  
 Sonstige \_\_\_\_\_

\* = nicht für das Pferd zugelassen

Wie häufig wenden Sie die Repellentien an?

- täglich  
 häufiger als täglich: \_\_\_\_\_ (z.B. etwa alle 12 Stunden; vor & nach dem Reiten...)  
 seltener als täglich: \_\_\_\_\_ (z.B. nur vor dem Ausritt)

Woher beziehen Sie das Zeckenpräparat?

- Tierarzt  Reitsportfachgeschäft  sonstige \_\_\_\_\_

## VI. Gesundheitsvorsorge

Wird Ihr Pferd regelmäßig geimpft?

- Ja  Nein:  noch nie geimpft /  nicht mehr seit \_\_\_\_\_

Wogegen ist Ihr Pferd (regelmäßig) geimpft? (Mehrfachnennungen möglich)

- Tetanus  Equine Influenza  Equines Herpesvirus Typ 1+4

Ist Ihr Pferd abhängig von der aktuellen Erregerexposition (Gefährdungslage) gegen weitere Krankheiten geimpft? (Mehrfachnennungen möglich)

- Druse  Tollwut  Dermatomykosen (Hautpilz)  
 Equine virale Arteritis  Equine Rotavirus-Infektion  West-Nil-Virus-Infektion  
 Lyme-Borreliose

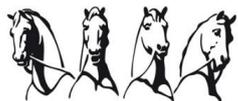
Würden Sie eine Borreliose-Impfung Ihres Pferdes grundsätzlich in Betracht ziehen?

- Ja  Nein

Abbildung 65: Fragebogen für Pferdebesitzer



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



### Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

hiermit möchten wir Sie über die Möglichkeit der Teilnahme an einer klinischen Forschungsstudie zur „Prävalenz der **equinen Lyme-Borreliose** und **equinen granulozytären Anaplasrose**“ informieren.

#### I. Beschreibung und Ziele der Studie

Ziel der Studie ist die Ermittlung der Seroprävalenz der Lyme-Borreliose bei Pferden mit klinischem Borrelioseverdacht sowie bei gesunden, gleichaltrigen Kontrolltieren in Deutschland. Die eingesandten Blutproben werden zusätzlich auf eine Coinfektion mit Anaplasmen getestet, um zu untersuchen, wie hoch der Anteil an Coinfektionen ist und ob Anaplasmeninfektionen zur Variabilität des beschriebenen klinischen Bildes bei equiner Borreliose beitragen.

Untersucht werden die Proben mittels ELISA und Immunoblot auf Borrelien und mittels eines validierten Snap-Tests auf Anaplasmen. Darüber hinaus werden ein kleines Blutbild und ein Blutausschrieb angefertigt. Über Fragebögen für Pferdebesitzer betroffener Patienten und behandelnde Tierärzte werden außerdem aktuelle Daten zur equinen Lyme-Borreliose erhoben.

Die im Rahmen der Studie durchgeführten diagnostischen Tests sind für die teilnehmenden Patientenbesitzer **kostenlos**!

#### II. Praktische Durchführung

Die Voraussetzung für die Teilnahme ist, dass die **Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“** durch Sie als betreuenden Tierarzt gestellt wurde und ein kurzer Frage- und Befundbogen von Ihnen sowie dem Pferdebesitzer ausgefüllt wurde. **Frage- und Befundbögen** können online ausgefüllt werden (folgen Sie dem Link bzw. QR-Code auf der folgenden Seite; einfacher und schneller!) oder als ausgedruckt und handschriftlich ausgefüllt und zusammen mit den Proben versandt werden.

Für die Untersuchungen werden Blutproben (benötigt werden circa **5 ml EDTA-Blut** (bei Möglichkeit schon einen Ausstrich anfertigen) und **10 ml Serum** bzw. 1 Serumröhrchen) Ihres **Patienten** und eines altersgleichen (d.h. ebenso Jungpferd, adultes Pferd, Senior), gesunden **Kontrolltieres** aus demselben Stall benötigt.

Bei der **Einsendung** gibt es zwei Möglichkeiten:

Variante 1: Sie schicken die Proben, ggf. zusammen mit den manuell ausgefüllten Fragebögen, gesammelt nach **Berlin** (z.Hd. Fr. Ahrens/Labor, „Borreliosestudie“, Pferdeklinik FU Berlin, Oertzenweg 19b, 14163 Berlin) oder

Variante 2 (in Fällen, in denen die Ergebnisse besonders dringend erwartet werden): Sie schicken das EDTA-Blut, ggf. mit den Fragebögen, nach **Berlin** (Adresse s.o.) und das Serum zusammen mit dem Probenbegleitblatt (Seite 3) direkt nach **München** (z.Hd. Dr. Shari Fell/Labor, „Borreliosestudie“, Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie, Tierärztliche Fakultät der LMU, Veterinärstraße 13, 80539 München).

**ACHTUNG**: Bitte achten Sie beim EDTA-Blut auf eine ausreichende **Kühlung** der Proben beim Versand (lytische Proben werden nicht ausgewertet!) und versenden sie mittels Express-/Overnight-Versand.

#### III. Weitere Informationen

Für weitere Auskünfte zur Studie wenden Sie sich bitte an:

Katharina Füßinger, Doktorandin an der Klinik für Pferde  
([BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de](mailto:BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de); in dringenden Fällen Tel.: 0174-9713984).

**Abbildung 66: Anschreiben Tierärzte**



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



## Probenbegleitblatt

(auszufüllen durch den Tierarzt)

### I. Wichtige Angaben zur Zuordnung der Proben

Name des Pferdes (Patient) \_\_\_\_\_

Name des Tierhalters des Patienten \_\_\_\_\_

Name des Kontrolltiers \_\_\_\_\_

Datum der Probennahme (TT/MM/JJ) \_\_\_\_\_

Name und Anschrift der Klinik/Praxis  
(alternativ Praxisstempel)  
\_\_\_\_\_

### II. Benachrichtigung über Untersuchungsergebnisse

Wir möchten Sie über die Untersuchungsergebnisse informiert werden?

per E-Mail: \_\_\_\_\_

per Fax: \_\_\_\_\_

### III. Probenversand

Bitte senden Sie die Proben gekühlt zusammen mit diesem Probenbegleitblatt und gegebenenfalls auch zusammen mit dem ausgefüllten Frage- und Befundbogen (sofern nicht bereits anderweitig gesendet bzw. online ausgefüllt) an folgende Adresse(n):

Pferdeklinik FU Berlin  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin  
z.Hd. Fr. Ahrens/Labor, „Borreliosestudie“

EDTA + Serum (Variante 1) bzw.  
nur EDTA (Variante 2)

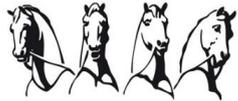
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
Veterinärstraße 13  
80539 München  
z.Hd. Dr. Shari Fell/Labor, „Borreliosestudie“

Serum + Probenbegleitblatt  
(Variante 2)

Abbildung 67: Probenbegleitblatt



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



## Befundbogen für Tierärzte

### I. Persönliche Daten

Name und Anschrift der Klinik/Praxis

Behandelnder Tierarzt

Telefonnummer

E-Mail-Adresse

### II. Allgemeine Angaben zum Patienten

Name des Pferdes

Name des Besitzers

Seit wann kennen und behandeln Sie das Pferd? \_\_\_\_\_  
(MM/JJ)

Wann und warum wurde das Pferd mit dem aktuellen Problem/Krankheitsbild vorgestellt?

### III. Probennahme für die Studie

Datum der Probennahme: \_\_\_\_\_ (TT/MM/JJ)

#### Angaben zum Patienten

Der vorgestellte Patient ist aufgrund seiner Nutzung und Haltung einer Zeckenexposition ausgesetzt und aus tierärztlichem Ermessen besteht Borreliose-Verdacht. Der (erste) Zeckenkontakt liegt > 6 Wochen zurück.

#### Angaben zum Kontrolltier

Das Kontrolltier ist aus tierärztlicher Sicht zum aktuellen Zeitpunkt und im letzten halben Jahr, insbesondere aus internistischer Sicht, gesund (gewesen) und hat in diesem Zeitraum auch keine Antibiotika verabreicht bekommen.

Name des Kontrolltieres

Alter (Jahre)

Rasse

Geschlecht:  Stute  Hengst  Wallach



Freie Universität Berlin  
**Klinik für Pferde**  
 Oertzenweg 19b  
 14163 Berlin



In Kooperation mit:  
**Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie**  
 Tierärztliche Fakultät der LMU  
 80539 München



#### IV. Allgemeinbefinden des Patienten

	1 = sehr gut	2 = gut	3 = mäßig	4 = schlecht	5 = sehr schlecht
Allgemeinzustand	<input type="checkbox"/>				
Ernährungszustand	<input type="checkbox"/>				
Pflegezustand	<input type="checkbox"/>				

Sonstige Auffälligkeiten bei der Allgemeinuntersuchung (bitte abweichende Parameter angeben):

---



---

#### V. Krankheitsbild

Wie würden Sie den Schweregrad der Erkrankung des Patienten einstufen?

leichte    mittlere    schwere    höchstgradige klinische Veränderungen

Zeigen sich die klinischen Veränderungen permanent oder intermittierend?

permanent    intermittierend    erstmalig aufgetreten/sonstiges: \_\_\_\_\_

Welche klinischen Veränderungen führten zur klinischen Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“?  
 (Mehrfachnennungen möglich)

1. Unspezifische (Allgemein-)Symptome:

- Fieber:  niedriges /  hohes //  erhöhte Temperatur
- Kachexie, chronischer Gewichtsverlust
- Inappetenz
- Leistungsabfall, Belastungsintoleranz
- mangelhafte Rittigkeit
- Verhaltensänderungen - Lethargie (geringgradige Verminderung des Allgemeinverhaltens)
- Änderungen des Bewusstseins - Somnolenz (Pferd matt, apathisch, schläfriger Eindruck)

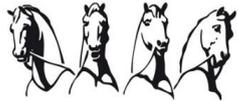
2. Neurologische Probleme:

- Muskelzittern
- Kopfnervenausfälle
- Störungen peripherer Nerven
- (neurogene) Muskelatrophie
- Hyperästhesie Haut
- Ataxie:  vestibuläre /  zerebelläre /  sensorische
- Dysphagie
- klinische Veränderungen hinweisend auf eine mögliche Meningoencephalitis





Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



3. Orthopädische Probleme:

Lahmheit

Lahmheitsgrad 1/5 bis 5/5: \_\_\_\_ / 5

permanent /  intermittierend

an einer /  verschiedenen Gliedmaßen

betroffene Gliedmaße(n): \_\_\_\_\_

Gelenkschwellungen eines/mehrerer Gelenke

betroffene(s) Gelenk(e): \_\_\_\_\_

Steifheit

Halswirbelsäule, Genick

allgemeine Muskelsteifheit

Muskelschmerzen

thorakolumbal

andere Region: \_\_\_\_\_

4. Sonstige klinische Veränderungen:

ophthalmologische Probleme: \_\_\_\_\_

dermatologische Veränderungen (an möglicher Zeckenstich-Stelle):

Hautknötchen/Papeln

Rötung

Abort, embryonale Mortalität

kardiologische Probleme: \_\_\_\_\_

Sonstiges \_\_\_\_\_

Wurden **weitere** Krankheitssymptome beobachtet, die auch zum Krankheitsbild der equinen granulozytären Anaplasrose passen? (Mehrfachnennungen möglich)

(hohes) Fieber bis 41°C, Fieberschübe nach 2-4 Wochen

Ödeme im unteren Extremitätenbereich

subkutane Ödeme in anderen Körperregionen

Rhabdomyolyse

Sonstiges \_\_\_\_\_

## VI. Weiterführende Diagnostik

Welche weiterführenden Untersuchungen wurden bislang durchgeführt?

(auch extern bzw. vom überweisenden Kollegen, z.B. in der Klinik; Mehrfachnennungen mgl.)

1. Spezielle Untersuchungen:

orthopädische Untersuchung

neurologische Untersuchung

ophthalmologische Untersuchung

gynäkologische Untersuchung

kardiologische Untersuchung

dermatologische Untersuchung



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



2. Eingeleitete Labordiagnostik:

- keine
- Differentialblutbild
- klinisch-chemische Blutuntersuchung (Metaboliten, Enzymaktivitäten, Elektrolyte)
- Infektionsdiagnostik (bakteriologische, virologische, serologische Untersuchungen)
- weitere? \_\_\_\_\_

Ergebnisse der weiterführenden Diagnostik (bitte abweichende Parameter angeben)?

---

---

(Gerne können Sie uns auch Kopien der Laborbefunde zukommen lassen. In diesem Fall genügt es, wenn Sie hier nur die Auffälligkeiten der weiterführenden klinischen Diagnostik aufführen.)

Wurde bereits auf Lyme-Borreliose im Speziellen getestet?

- Ja,
  - mittels Erregernachweis (Direktnachweis)
  - mittels Antikörpertest (indirekter Nachweis)
- Nein, bisher nicht

Wenn ja, mit welchem Ergebnis? (frei lassen, falls keine Borreliose-Diagnostik erfolgte)

- Testbefund: Borreliose-positiv
- Testbefund: Borreliose-negativ
- Testbefund: im Grenzbereich (fraglich-positiv)

Wurde in diesem Zuge auch schon auf equine granulozytäre Anaplasmose getestet?

- Ja,
  - Testbefund: Anaplasmose-positiv
  - Testbefund: Anaplasmose-negativ
- Nein, bisher nicht

Bitte geben Sie das Labor an, in dem die Untersuchung(en) durchgeführt wurde(n):

---

## VII. Bisherige Therapie

Wurde das Pferd bereits anbehandelt?

- (noch) keine Therapie durchgeführt
- Therapie durchgeführt





Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



Medikament	Dosierung	Anwendungszeitraum
1		
2		
3		
4		
5		

Wie bewerten Sie den Erfolg der Therapie?

- vollständige Genesung
- (noch) keine vollständige Genesung, aber Besserung
- keine Besserung

Wurde der Borrelien-Antikörpertiter nach Therapie erneut untersucht?

- Ja:  Titerabfall /  Titer unverändert oder gestiegen
- Nein

### VIII. Meinungsbild Borreliose

Diesen Teil müssen Sie nicht noch einmal ausfüllen, sofern Sie den Fragebogen bereits für einen anderen Patienten, der ebenfalls an der Studie teilnimmt, ausgefüllt haben!

Wie schätzen Sie die klinische Relevanz von Borrelien-Infektionen (serologischer Nachweis von Antikörpern) ein?

- Fälle von Borrelien-Infektionen sind sehr selten oder nicht vorhanden in meiner Praxis
- Fälle von Borrelien-Infektionen kommen in meiner Praxis gelegentlich vor
- Fälle von Borrelien-Infektionen sind häufig in meiner Praxis

Wie häufig wenden Sie weiterführende Borreliose-Diagnostik an? \_\_\_\_\_ Untersuchungen /Jahr

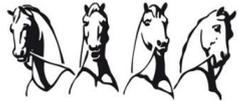
Wie schätzen Sie die klinische Relevanz von Lyme-Borreliose (klinische Erkrankung nach Infektion mit Borrelien) ein?

- Lyme-Borreliose gibt es beim Pferd nicht
- Ich habe bisher selbst keine Fälle von Lyme-Borreliose in meiner Praxis gesehen, aber schließe es nicht aus, dass es solche Fälle gibt
- Lyme-Borreliose kommt in meinem Praxisalltag vor

Wie viele klinische Borreliose-Fälle haben Sie im letzten Jahr diagnostiziert? \_\_\_\_\_



Freie Universität Berlin  
**Klinik für Pferde**  
 Oertzenweg 19b  
 14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
**Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie**  
 Tierärztliche Fakultät der LMU  
 80539 München



Welche Untersuchungsmethoden verwenden Sie zur Abklärung von Borreliose-Verdachtsfällen?  
 (Mehrfachnennungen möglich)

- indirekter Erregernachweis
  - ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)
  - Immunblot:  Westernblot (z.B. recomBlot IgM/IgG) /  LIA (Line Immunoassay)
  - Zweistufentest: ELISA + Immunblot
  - Schnelltest (z.B. SNAP® 4Dx® Plus, IDEXX Laboratories oder andere)
  - IFAT (Immunofluorescence Antibody Test)
  - Lyme Multiplex Assay (Animal Health Diagnostic Center, Cornell University)
- direkter Erregernachweis
  - PCR
  - Flüssigkultur
  - Probenmaterial:  Blut /  Synovia /  Liquor/  Hautstanze
  - Sonstige: \_\_\_\_\_

Sofern Sie diagnostisch den indirekten Erregernachweis eingesetzt haben, wie haben Sie die Diagnose gestellt?

- positiv bei einem positiven Antikörper-Titer
- positiv bei Titeranstieg (zwei Untersuchungen)

Ab welchem Antikörper-Titer wurden die Proben als positiv bewertet? \_\_\_\_\_  
 (Gerne dürfen Sie uns auch die Befundbögen der Patienten übermitteln.)

Wie behandeln Sie Pferde mit positivem Borreliose-Befund und klinischer Symptomatik?

antibiotisch:

Wirkstoff	Dosierung	Anwendungszeitraum
<input type="checkbox"/> Tetracyclin	6,6 mg/kg IV, alle 12 h andere:	über <input type="checkbox"/> 3/ <input type="checkbox"/> 4 Wochen anderer:
<input type="checkbox"/> Doxycyclin	10 mg/kg PO, alle 12 h andere:	über <input type="checkbox"/> 3/ <input type="checkbox"/> 4 Wochen anderer:
<input type="checkbox"/> Ceftiofur	2,2 mg/kg IM, alle 12 h andere:	über <input type="checkbox"/> 3/ <input type="checkbox"/> 4 Wochen anderer:
<input type="checkbox"/> Minocyclin	4 mg/kg PO, alle 12 h andere:	über <input type="checkbox"/> 3/ <input type="checkbox"/> 4 Wochen anderer:
<input type="checkbox"/> Oxytetracyclin	5-20 mg/kg IV, alle 12-24h andere:	über <input type="checkbox"/> 3/ <input type="checkbox"/> 4 Wochen anderer:
<input type="checkbox"/> Cefquinom	1 mg/kg IV/IM, alle 24 h andere:	über <input type="checkbox"/> 3/ <input type="checkbox"/> 4 Wochen anderer:

Kombination: IV Tetracyclin über 7-10 Tage, gefolgt von PO Docyxcyclin über 1-2 Monate

Sonstiges: \_\_\_\_\_



Freie Universität Berlin  
Klinik für Pferde  
Oertzenweg 19b  
14163 Berlin



**Klinik für Pferde**

In Kooperation mit:  
Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie  
Tierärztliche Fakultät der LMU  
80539 München



Empfehlen Sie Zeckenprophylaxe und wenn ja welcher Art? (Mehrfachnennungen möglich)

Ja  Selten  Nein

Wellcare® (Permethrin)  Centaura® (Saltidin)  Equirepell® (Virbac)  
 BUTOX® (Deltamethrin)\*  Sebacil® (Phoxim)\*  sonstige \_\_\_\_\_

\* = nicht für das Pferd zugelassen

Würden Sie regelmäßige Borreliose Impfungen in Ihrer Praxis/ Klinik in Erwägung ziehen bzw. führen Sie sie schon durch? (Mehrfachnennungen möglich)

- Ja, ich führe bereits regelmäßig Impfungen durch
- in gefährdeten Gebieten
  - sofern der Besitzer das wünscht
  - generell
- Nein, ich sehe keine Notwendigkeit zur Impfung
- Ich führe bisher keine Impfungen durch, würde es aber in Erwägung ziehen

Orientieren Sie sich hingehend der Impfpfehlungen an den Empfehlungen der StIKo Vet (Ständige Impfkommision Veterinär)?

Ja  Nein

#### IX. Weitere Mitteilungen

Sollten Sie noch weitere Informationen für wichtig halten, haben Sie hier Gelegenheit diese mitzuteilen!

---

---

#### X. Teilnahme an der Studie / Einverständniserklärung

Ich erkläre, dass ich mit der im Rahmen der Studie erfolgenden Aufzeichnung von Umfrage- und Untersuchungsergebnissen und ihrer Verwendung in anonymisierter Form einverstanden bin.

\_\_\_\_\_  
Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

Ihre Daten werden selbstverständlich nicht an Dritte weitergegeben.  
Vielen Dank, dass Sie sich die Zeit genommen haben den Fragebogen auszufüllen!

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte vorzugsweise per E-Mail an:  
Katharina Füßinger (Doktorandin an der Klinik für Pferde der FU Berlin)  
BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de  
In dringenden Fällen auch telefonisch (0174-9713984).

Abbildung 68: Frage- und Befundbogen Tierärzte



## 9.4 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklungszyklus Schildzecke .....	7
Abbildung 2: Taxonomische Einteilung der Spirochaetia .....	12
Abbildung 3: Einteilung der Familie der <i>Borreliaceae</i> .....	14
Abbildung 4: Morphologie von <i>B. burgdorferi</i> , mikroskopische und strukturelle Darstellung .....	16
Abbildung 5: Der Infektionszyklus von <i>Bbsl</i> .....	21
Abbildung 6: Reaktionen von Wirt und Bakterien nach Eindringen der Borrelien .....	31
Abbildung 7: Vorgeschlagenes Vorgehen für die ante mortem Diagnose der LB beim Pferd .....	45
Abbildung 8: Impfpflicht für Pferde ab der 12. Lebenswoche gegen <i>Bb</i> -Infektionen gemäß Empfehlungen der Leitlinie zur Impfung von Pferden der StIKo Vet. (Stand 02/2019) .....	68
Abbildung 9: In der Studie erfasste und untersuchte Risikofaktoren .....	86
Abbildung 10: SNAP® 4Dx Plus® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) .....	92
Abbildung 11: Anzahl der Einsendungen im Zeitraum der Probenannahme von Mitte Juni 2017 bis Ende August 2018 .....	99
Abbildung 12: Alter der Probanden in Jahren (VT & KT) .....	100
Abbildung 13: Standort des Stalles nach Landkreis (n=103) .....	103
Abbildung 14: Nutzungsarten des Pferdes, Mehrfachnennung möglich (*) .....	106
Abbildung 15: Anzahl der Zecken in der letzten Weidesaison, aufgeteilt nach Region .....	108
Abbildung 16: Auftreten des Zeckenbefalls in der letzten Weidesaison .....	108
Abbildung 17: Infokasten „zeckengefährdetes Gebiet“ Besitzerfragebogen .....	109
Abbildung 18: Häufigkeit des Repellentien-Einsatzes .....	110
Abbildung 19: Eingesetzte Repellentien (PB), Mehrfachnennung möglich (*) .....	110
Abbildung 20: Zeitdauer der Erkrankung, die zum „LB-Verdacht“ geführt hatte, in Monaten .....	111
Abbildung 21: Chronizität der Erkrankung .....	112
Abbildung 22: Vorstellungsgrund bzw. aktuelles Krankheitsbild zum Zeitpunkt der Probennahme .....	113
Abbildung 23: Kategorisierung der klinischen Befunde, Mehrfachnennung möglich (*) .....	114
Abbildung 24: Subjektive Einschätzung des Schweregrads der Erkrankung des Pferdes (TA & PB) .....	120
Abbildung 25: Wesen der Erkrankung (permanent / schubweise / erstmalig aufgetreten) (TA & PB) .....	120
Abbildung 26: Ergebnisse der Allgemeinuntersuchung (Allgemein- / Ernährungs- / Pflegezustand) (TA) .....	121
Abbildung 27: Dauer der Antibiotikagabe in Tagen (TA) .....	123
Abbildung 28: Einschätzung des Behandlungserfolgs, relative Angaben (TA & PB) .....	123
Abbildung 29: Ursprung der Verdachtsdiagnose „Lyme-Borreliose“ (PB) .....	124

Abbildung 30: Vorangegangene spezielle Untersuchungsgänge (TA), Mehrfachnennungen möglich (*) .....	124
Abbildung 31: Vorangegangene Labordiagnostik (TA) , Mehrfachnennungen möglich (*) ..	125
Abbildung 32: Ergebnisse vorangegangenes Differentialblutbild (TA) , Mehrfachnennungen möglich (*) .....	125
Abbildung 33: Durchgeführte LB-Vorabdiagnostik (PB & TA) .....	126
Abbildung 34: Befunde Vorabdiagnostik LB (PB & TA).....	127
Abbildung 35: <i>Bb</i> -Antikörpertiterkontrolle nach durchgeführter Therapie (TA & PB) .....	127
Abbildung 36: Zeitraum vom Zeitpunkt der Vorab-LB-Diagnostik bis zum Zeitpunkt der Probennahme, in Monaten (TA).....	129
Abbildung 37: Messung der Leukozyten (*10 <sup>3</sup> /μl) Abbildung 38: Messung der Erythrozyten(*10 <sup>6</sup> /μl) .....	131
Abbildung 39: Messung des Hämatokrits (%) .....	131
Abbildung 40: Snap® 4Dx Test <i>Ap</i> -AK (VT & KT), Reaktionsintensität „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“ .....	132
Abbildung 41: Snap® 4Dx Test <i>Bb</i> -AK (VT & KT), Reaktionsintensität „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“ .....	132
Abbildung 42: LIA-Ergebnisse VT, Bandenintensität: „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“ .....	133
Abbildung 43: LIA-Ergebnisse KT, Bandenintensität: „-“ = „negativ“ bis „+++“ = „hochgradig positiv“ .....	134
Abbildung 44: Gesamtbewertung <i>Bb</i> -Serologie (VT & KT) .....	134
Abbildung 45: Prozentualer Anteil (%) seropositiver Fälle unserer Studie mit Anzahl der positiv beprobten Probanden und Gesamtanzahl der im Bundesland beprobten Pferde (n/n), VT + KT (n=221) .....	136
Abbildung 46: KELA-Werte eingeteilt in zwei Gruppen (KELA ≥250 vs. KELA <250) und Gesamtbewertung Serologie Bbsl (VT).....	137
Abbildung 47: Vergleich der Befunde des VlsE im LIA und C6 im Snap® 4Dx Test.....	137
Abbildung 48: Serologischer <i>Bb</i> -AK-Befund und Lebensalter der Verdachtstiere (n=113) (einfaktorielle ANOVA, p=0,172).....	140
Abbildung 49: Einschätzung der Haltung hinsichtlich der Zeckenexposition und Ergebnis der serologischen Untersuchung ( <i>Bb</i> ).....	142
Abbildung 50: Einschätzung der Haltung hinsichtlich der Zeckenexposition und Ergebnis der serologischen Untersuchung ( <i>Ap</i> ).....	142
Abbildung 51: Chronizität der Erkrankung und serologische Befunde ( <i>Bb</i> ).....	150
Abbildung 52: Einschätzung der klinischen Relevanz von <i>Bb</i> -Infektionen (serologischer Nachweis von Antikörpern) .....	152
Abbildung 53: Einschätzung der klinischen Relevanz der LB (klinische Erkrankung nach Infektion mit Borrelien).....	152
Abbildung 54: Häufigkeit des Einsatzes weiterführender Borreliose-Diagnostik.....	153
Abbildung 55: Häufigkeit von LB-Fällen in der Praxis .....	154
Abbildung 56: Eingesetzte Antibiose bei LB-Verdachtsfällen, Mehrfachnennungen möglich (*) .....	156

Abbildung 57: Dauer der Anwendung der Antibiose bei LB-Verdachtsfällen, Mehrfachnennungen möglich (*) .....	156
Abbildung 58: Einsatz der Borreliose-Impfung in der Praxis .....	157
Abbildung 59: In der Praxis von den TÄ empfohlene Repellentien gegen Zecken .....	158
Abbildung 60: Hinzugezogene Labore für die LB-Diagnostik .....	XVII
Abbildung 61: <i>Bb</i> -IgG ELISA IDEXX / Labor Böse      Abbildung 62: <i>Bb</i> -IgG ELISA Synlab .....	XVIII
Abbildung 63: Ergebnisse der vorliegenden <i>Bb</i> -IgG-Imunoblots (- bis ++++).....	XVIII
Abbildung 64: Anschreiben Pferdebesitzer .....	XXXVIII
Abbildung 65: Fragebogen für Pferdebesitzer .....	XLII
Abbildung 66: Anschreiben Tierärzte .....	XLIII
Abbildung 67: Probenbegleitblatt .....	XLIV
Abbildung 68: Frage- und Befundbogen Tierärzte .....	LI
Abbildung 69: Beispiel eines serologischen Befundes aus der Studie .....	LII
Abbildung 70: Poster zur Studie auf dem 3 <sup>rd</sup> International Equine Congress, 5./6.10.2018, Berlin.....	LIX

## 9.5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Durch Zecken übertragbare und für das Pferd relevante Infektionserreger .....	3
Tabelle 2: Übersicht der Genospezies des <i>Bbsl</i> -Komplexes.....	13
Tabelle 3: Wichtige immundominante Proteine von <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	19
Tabelle 4: Die humane Lyme-Borreliose als Multisystemerkrankung.....	34
Tabelle 5: Klinisches Bild der Lyme-Borreliose beim Hund.....	36
Tabelle 6: Fallberichte equine LB mit Bestätigung durch direkte Nachweismethoden.....	40
Tabelle 7: Überblick seroepidemiologische Studien zur equinen LB .....	41
Tabelle 8: Überblick über die gängigsten serologischen Testverfahren, die in der Pferdemedizin zur Borreliose-Diagnostik zum Einsatz kommen.....	50
Tabelle 9: Überblick über die gegen <i>Bbsl</i> eingesetzten Antibiotika für Pferde.....	61
Tabelle 10: Tiermedizinisch relevante Rickettsien .....	70
Tabelle 11: Studien zu <i>Ap</i> -(Sero-)Prävalenzen bei Pferden in verschiedenen europäischen Ländern mit unterschiedlicher Methodik .....	74
Tabelle 12: Bedeutung der Antigene im <i>Borrelia</i> Veterinär plus OspA LINE (Sekisui Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany) .....	93
Tabelle 13: Auswertungskriterien zur Beurteilung sowie Interpretation mittels LIA detektierter Ergebnisse (Banden $\geq$ cut off Bandenintensität).....	94
Tabelle 14: Definierung von Gruppen für die statistische Analyse .....	96
Tabelle 15: Definierung serologischer Gruppen.....	97
Tabelle 16: Einteilung nach Altersklassen (VT & KT).....	100
Tabelle 17: Rasseverteilung nach Rassegruppen in der Studienpopulation VT .....	101
Tabelle 18: Rasseverteilung nach Rassegruppen in der Studienpopulation KT .....	101

Tabelle 19: Geschlechterverteilung VT & KT .....	102
Tabelle 20: Verteilung der Fellfarben VT .....	102
Tabelle 21: Angaben zum Standort des Stalles (Region, Bundesland) .....	103
Tabelle 22: Probanden (VT) mit Umzugshintergrund im letzten halben Jahr .....	104
Tabelle 23: Angaben zur aktuellen Haltungsform (VT) zum Zeitpunkt der Probennahme ...	104
Tabelle 24: Probanden (VT) mit Haltungswechsel auf Boxenhaltung im letzten halben Jahr .....	105
Tabelle 25: Besitzerangaben zur Dauer des Weidegangs während der Weidesaison in Stunden (h).....	105
Tabelle 26: Nutzung des Pferdes (nach Gruppen), allgemein (Mehrfachnennung möglich (*), s.r.) .....	106
Tabelle 27: Von Besitzern genannte Gründe für die Entscheidung gegen die LB-Impfung .	107
Tabelle 28: Weitergehende Beschreibung der beobachteten Lahmheiten (TA) , Mehrfachnennungen möglich.....	115
Tabelle 29: Weitergehende Beschreibung der beobachteten Gelenkschwellungen (TA), Mehrfachnennungen möglich.....	116
Tabelle 30: Weitergehende Beschreibung der beobachteten Steifheit (TA), Mehrfachnennungen möglich.....	116
Tabelle 31: Weitergehende Beschreibung der beobachteten Muskelschmerzen (TA), Mehrfachnennungen möglich.....	116
Tabelle 32: Weitergehende Beschreibung der beobachteten Hautveränderungen (TA), Mehrfachnennungen möglich.....	117
Tabelle 33: Weitergehende Beschreibung der beobachteten ophthalmologische Veränderungen (TA), Mehrfachnennungen möglich.....	117
Tabelle 34: Übersicht über die beobachteten und im Fragebogen erfassten klinischen Veränderungen (PB & TA), Mehrfachnennungen möglich.....	117
Tabelle 35: Beobachtete EGA-typische klinische Veränderungen (TA), Mehrfachnennungen möglich.....	119
Tabelle 36: Eingesetzte Medikamente und Therapien, gegliedert nach Medikamentengruppen (TA & PB), Mehrfachnennungen möglich.....	122
Tabelle 37: Angewandte Methoden der LB-Diagnostik (TA) .....	127
Tabelle 38: <i>Bb</i> -IgG-IFAT-Titer .....	128
Tabelle 39: EGA-Diagnostik Methode, gegliedert nach Ergebnis (TA).....	130
Tabelle 40: Deskriptive Statistik der hämatologischen Befunde .....	130
Tabelle 41: Deskriptive Statistik KELA-Ergebnisse (VT & KT) .....	132
Tabelle 42: Topografische Einordnung der Befunde der <i>Bb</i> -Serodiagnostik (VT + KT).....	135
Tabelle 43: Ergebnisse des SNAP® 4Dx im Vergleich mit den Ergebnissen des LIA bei der VT-Population.....	138
Tabelle 44: Antibiotische Vorbehandlung und beobachtete serologische Befunde ( <i>Bb</i> ).....	138
Tabelle 45: Serologische Befunde ( <i>Bb</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion) bei VT & KT im Vergleich .....	139
Tabelle 46: Serologische Befunde ( <i>Bb</i> ) Verdachts- & Kontrolltiere im Vergleich.....	139
Tabelle 47: Risikofaktoren für Zeckenexposition.....	142

Tabelle 48: Vergleich Studienbefund und Befund Vorabdiagnostik ( <i>Bb</i> ).....	143
Tabelle 49: Vergleich der KELA-Werte vorab positiv getesteter Probanden, unterteilt nach zwei Gruppen hinsichtlich der aktuellen Studienbefunde ( <i>Bb</i> ).....	144
Tabelle 50: Art der Vorabdiagnostik in Bezug auf die Chronizität der Erkrankung (PB / TA) ( $p = 0,787$ ) .....	144
Tabelle 51: Deskriptive Statistik der hämatologischen Befunde, gruppenweiser Vergleich (VT) .....	145
Tabelle 52: Deskriptive Statistik der hämatologischen Befunde, gruppenweiser Vergleich (KT) .....	145
Tabelle 53: Beurteilung des Therapieerfolgs (TA & PB) in Bezug auf die angewandte Medikation und die beobachteten klinischen Veränderungen .....	146
Tabelle 54: Therapieerfolg TA/PB vergleichend.....	146
Tabelle 55: Therapieerfolg in Bezug auf Befunde der Bbsl-Vorabdiagnostik.....	147
Tabelle 56: Beurteilung von Allgemein-, Ernährungs- und Pflegezustand unter dem Aspekt der Verteilung der serologischen Befunde der Bbsl-AK-Diagnostik ..	147
Tabelle 57: Gegenüberstellung der von Tierärzten und Pferdebesitzern angegebenen beobachteten klinischen Veränderungen .....	148
Tabelle 58: Beurteilung des Schweregrads durch die Pferdebesitzer in Abhängigkeit von den serologischen Befunden ( <i>Bb</i> ).....	150
Tabelle 59: Vergleich Einschätzung des Schweregrad der Erkrankung durch PB & TA.....	151
Tabelle 60: Verwendetes Probenmaterial für den direkten Erregernachweis von <i>Bb</i> , Mehrfachnennungen möglich.....	154
Tabelle 61: Eingesetzte Methoden beim indirekten Erregernachweis von <i>Bb</i> , Mehrfachnennungen möglich.....	155
Tabelle 62: Medikamentöse Behandlung von LB-Verdachtsfällen, Mehrfachnennungen möglich .....	155
Tabelle 63: Rasseverteilung ( VT & KT).....	XI
Tabelle 64: Überblick Landkreise der Ställe (KFZ-Kennzeichen) .....	XII
Tabelle 65: Bodenbefestigung in Abhängigkeit von der Haltungsform .....	XII
Tabelle 66: Höchste angegebene Prüfungsklasse (Sportpferde) .....	XIII
Tabelle 67: Antwort PB auf die Frage: „Leidet Ihr Pferd unter weiteren (chronischen) Krankheiten?“ (Freitext) .....	XIII
Tabelle 68: Antwort PB auf die Frage: „Bekommt Ihr Pferd regelmäßig Medikamente?“ (Freitext) .....	XIV
Tabelle 69: TA Angaben „Warum wurde das Pferd mit dem aktuellen Problem/Krankheitsbild vorstellig?“ > Sonstige (Freitext) .....	XIV
Tabelle 70: TA Angaben „Sonstige neurologische Probleme“ (Freitext).....	XV
Tabelle 71: TA Angaben „Sonstige orthopädische Probleme“ (Freitext) .....	XV
Tabelle 72: TA Angaben „Sonstige ophthalmologische Probleme“ (Freitext) .....	XV
Tabelle 73: TA Angaben „Beschreibung kardiologischer Probleme“ (Freitext) .....	XV
Tabelle 74: PB Angaben „Sonstige klinische Veränderungen“ (Freitext).....	XV
Tabelle 75: TA Angaben „Sonstige klinische Veränderungen“ (Freitext).....	XVI

Tabelle 76: TA Angaben „Sonstige Befunde im Rahmen der klinischen Allgemeinuntersuchung“ (Freitext) .....	XVII
Tabelle 77: Hämatologie Vorabdiagnostik und <i>Bbsl</i> -Serologie Vorabdiagnostik .....	XVIII
Tabelle 78: Hämatologie Vorabdiagnostik und <i>Bbsl</i> -Serologie Studie.....	XIX
Tabelle 79: Chronizität der Erkrankung nach TÄ-Angaben und serologische Befunde ( <i>Bb</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion).....	XIX
Tabelle 80: Chronizität der Erkrankung nach PB-Angaben und serologische Befunde ( <i>Bb</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion).....	XIX
Tabelle 81: Signalement und Herkunft der Verdachtstiere im Hinblick auf die serologischen Befunde ( <i>Bb</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion) (n=114).....	XXI
Tabelle 82: Signalement und Herkunft der Kontrolltiere im Hinblick auf die serologischen Befunde ( <i>Bb</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion) (n=107) .....	XXIII
Tabelle 83: Einschätzung der Risikofaktoren hinsichtlich einer Infektion mit <i>Bbsl</i> , <i>Ap</i> und Koinfektion mit beiden Erregern.....	XXV
Tabelle 84: Krankheitsanzeichen im Hinblick auf serologische Befunde ( <i>Bbsl</i> ).....	XXVII
Tabelle 85: Krankheitsanzeichen im Hinblick auf serologische Befunde ( <i>Ap</i> ) .....	XXXI
Tabelle 86: Krankheitsanzeichen im Hinblick auf serologische Befunde (Koinfektion) ...	XXXIV
Tabelle 87: Schweregrad der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde ( <i>Bbsl</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion) .....	XXXVII
Tabelle 88: Dynamik der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde ( <i>Bbsl</i> , <i>Ap</i> , Koinfektion) .....	XXXVII

9.6 Publikationsverzeichnis



Klinik für Pferde

Freie Universität Berlin



**Cross-sectional study on the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* infections in German horses**

Katharina S. Inerle<sup>1\*</sup>, Dr. Beatrice Lehmann<sup>2</sup>, Dr. Shari Fell<sup>3</sup>, Maria Volkmann<sup>2</sup>, Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.<sup>3</sup>, Prof. Dr. Heidrun Gehlen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Freie Universität Berlin, Department of Veterinary Medicine, Equine Clinic, Department of Internal Medicine

<sup>2</sup>Freie Universität Berlin, Institute for Veterinary Epidemiology and Biostatistics

<sup>3</sup>Ludwig-Maximilians-Universität München, Faculty of Veterinary Medicine, Institute for Infectious Diseases and Zoonoses

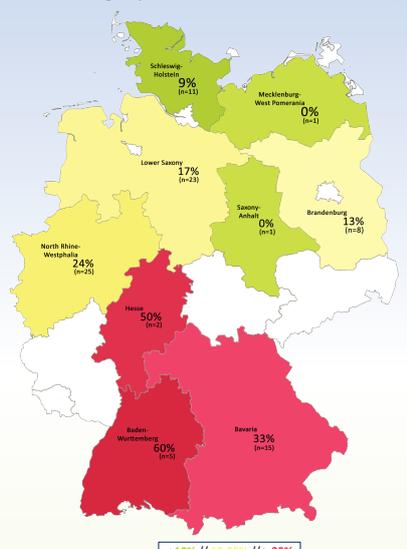
\*Correspondence: Katharina Inerle, BorrelioseStudie@vetmed.fu-berlin.de



**Introduction**

- Tick-borne diseases in horses:
  - pathogen contact (*Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*) common in the Northern hemisphere
- ***Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bbsl) infections in horses:**
  - significance of serologic results poorly understood
  - clinical relevance of Lyme borreliosis in horses remains a controversial issue (Bartol 2013)
  - exact incidence and distribution in the German horse population not yet determined
- **Clinical signs of Lyme Borreliosis (LB):**
  - arthritis, uveitis, encephalitis, lameness with synovitis (swollen joints, joint pain), dermatitis, muscle tenderness, fever, fatigue and chronic weight loss (Divers 2014)
- **Clinical signs of Equine Granulocytic Anaplasmosis (EGA):**
  - high fever, ataxia, lameness, subcutaneous edema, anemia, thrombocytopenia (Pusterla & Madigan 2013)

**Distribution of horses, suspected of being Bbsl-antibody positive, with actual serological pattern indicative of Bbsl infection (n=91)**



**Objectives**

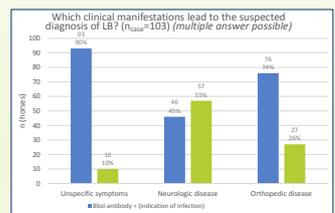
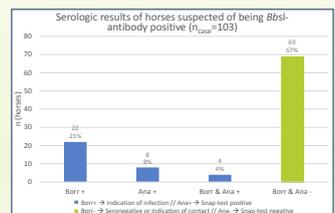
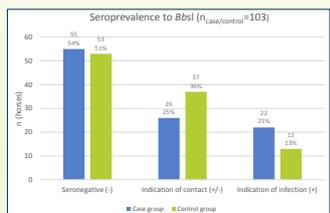
- determine the seroprevalence to **Bbsl** and to **Ap** in horses in **different geographic regions**
- clarify the role of **coinfections** with *A. phagocytophilum* in the disease complex of "LB"
- establish a **link** among **clinical signs** and **serological results**

**Material & Methods**

- Cross-sectional study (June 2017 - April 2018):
  - blood samples taken by veterinarians all over Germany, from horses with suspected LB and aged matched, healthy controls from the same county
  - overall **206 horses** from **10 federal states** in Germany were examined
  - use of a standardized **online questionnaire** to gain additional information from horse owners as well as attending veterinarians
- Diagnostic methods:
  - specific antibodies against *Bbsl*: **kinematic enzyme-linked immunoassay (KELA)**, **line immunoassay (Borreliä Veterinär plus OspA Line Immunoblot; Sekisui Virotech GmbH) and C6-ELISA (SNAP® 4Dx Plus® ELISA, IDEXX)**
  - specific antibodies against *Ap*: **ELISA (SNAP® 4Dx Plus® ELISA, IDEXX)**
  - **blood smear** analyzed microscopically, **RBC/WBC** and **hematocrit** measured
  - laboratory findings were analyzed in **connection** with **questionnaire results** for every horse
  - statistics: SAS 9.4

**Results**

- proportionally **most serologically positive results** from the **southern part of Germany** (Bavaria, Hesse and Baden-Württemberg) (significant difference between the South and the North concerning seropositive results:  $\chi^2=5.20, p=0.0023$ ; **Odds Ratio=3.28 (CI 95%: 1.15-9.43)**)
- **22 horses** (out of 103 suspected of having LB) with **serological pattern indicative of Bbsl infection** (21%), eight horses tested positive for **specific Ap antibodies** (8%), four horses tested positive for **both infections** (4%)
- ten horses (out of 206, case & control group) had been **vaccinated** with Equilyme® (Merial) previously (OspA-antibodies & history)



**Discussion & Conclusion**

- until clinical signs can be reproduced experimentally, the association between infection and clinical disease in many horses will remain speculative
- LB should only be diagnosed based on possible exposure to Bbsl-infected ticks, clinical signs compatible with LB, absence of other causes of disease, high antibody levels to Bbsl and positive response to treatment with antibiotics (Stiko Vet 2017)
- **LB might be overdiagnosed** in horses in Germany by considering only the seroprevalences
- examining associated **risk factors** remains an objective for **subsequent evaluations**



3<sup>rd</sup> International Equine Congress, 5<sup>th</sup>-6<sup>th</sup> October 2018, Berlin

**Literature**  
 Bartol, J. (2013): Is Lyme disease overdiagnosed in horses? *EVI* 45 (1), pp. 529-530.  
 Divers, T. J. (2014): Equine Infectious Diseases, Lyme Disease.  
 Pusterla, N., & Madigan, J. E. (2013): Equine Granulocytic Anaplasmosis, *J EVS* 13, pp. 493-496.  
 Ständige Impfkommission Veterinärmedizin (Stiko Vet): Leitlinie zur Impfung von Pferden, 4. Auflage, Stand 03.03.2017.

**Abbildung 70:** Poster zur Studie auf dem 3<sup>rd</sup> International Equine Congress, 5./6.10.2018, Berlin

Inerle, K. S., Lehmann, B., Fell, S., Volkmann, M., Straubinger, R. K., & Gehlen, H. (2018): Cross-sectional study on the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* infections in German horses. 3<sup>rd</sup> International Equine Congress.

Gehlen H., Inerle K., Ulrich S., Lehmann B., Straubinger R. K. (2021): Anaplasmosose beim Pferd – Ein Literaturreview unter Berücksichtigung aktueller Diagnose- und Therapieverfahren sowie möglicher Präventionsmaßnahmen. *Pferdeheilkunde* 37, 25–33, DOI 10.21836/PEM20210104

## **9.7 Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Professor Dr. Heidrun Gehlen für die Überlassung des spannenden Themas, die zuverlässige Betreuung und großzügige Bereitstellung der finanziellen Mittel. Die Durchführung dieser umfassenden Studie wäre ohne ihre tatkräftige Unterstützung und Ermutigung niemals möglich gewesen. Außerdem bedanke ich mich herzlich bei Herrn Professor Dr. Reinhard Straubinger, ohne den das Kooperationsprojekt zwischen den beiden Universitäten nie möglich gewesen ist, der uns mit den serologischen Auswertungen der Blutproben tatkräftig unterstützt hat und der mir darüber hinaus mit seiner fachlichen Kompetenz bei vielen Fragen Rede und Antwort gestanden ist. Ich bedanke mich ferner bei Dr. Maria Volkmann und Alexander Bartel für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten. Besonders bedanken möchte ich an dieser Stelle auch für die tatkräftige und geduldige Unterstützung durch meine Betreuerin Frau Dr. Beatrice Lehmann, die mich stets ermutigt hat durchzuhalten und weiterzumachen. Abschließend möchte ich meinen Freunden, meinem Mann und meinen Eltern dafür danken, dass sie mich über die gesamte Zeitdauer der Erstellung dieser Dissertation so unermüdlich unterstützt haben und mir immer wieder den Rücken freigehalten haben. Zuallerletzt danke ich schließlich auch noch meinem Sohn dafür, dass er mir gezeigt hat, worauf es wirklich ankommt im Leben.

## **9.8 Selbstständigkeitserklärung**

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

### **Interessenskonflikte – Conflict of Interest:**

Im Rahmen dieser Arbeit bestehen keine Interessenskonflikte durch Zuwendungen Dritter.

Remseck, 18.01.2022

Katharina Inerle









9 783967 291513  
**mbv**berlin | mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-151-3