

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

**Untersuchung von Hunden mit Meningitis und
Meningoenzephalitis unbekannter Genese
auf Vektor-übertragene Mikroorganismen**

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

**vorgelegt von
Kali Lazzerini
Tierärztin
aus Hamburg**

Berlin 2014

Journal-Nr.: 3714

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Barbara Kohn
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Andrea Tipold
Dritter Gutachter: PD Dr. Jürgen Krücken

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Anaplasma phagocytophilum, central nervous system, cerebrospinal fluid,
inflammation, meningoencephalitis, meningitis, vector-borne diseases

Tag der Promotion: 10.07.2014

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-86387-571-8

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2014

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

This document is protected by copyright law.

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

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2015

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
I. Einleitung	1
II. Literaturübersicht	2
2.1 Diagnose von Meningitis und Meningoenzephalitis (ME)	2
2.1.1 Diagnostische Maßnahmen	2
2.1.2 Bildgebende Diagnostik	3
2.1.3 Liquoruntersuchung	4
2.1.3.1 Liquorentnahme	4
2.1.3.2 Aufbereitung der Proben	4
2.1.3.3 Makroskopische Untersuchung	4
2.1.3.4 Quantitative Analyse	5
2.1.3.5 Mikroskopische Untersuchung.....	6
2.1.3.6 Weitere Tests	7
2.2 Kanine Vektor-übertragene Erkrankungen	9
2.2.1 Allgemeines.....	9
2.2.2 Rickettsiosen	9
2.2.2.1 Granulozytäre Anaplasrose	9
2.2.2.2 Monozytäre Ehrlichiose	11
2.2.3 Bartonellose.....	12
2.2.4 Lyme Borreliose	15
2.2.5 Frühsommer-Meningoenzephalitis.....	17
2.2.6 Babesiose.....	18
2.2.7 Koinfektionen.....	19
2.3 Durch andere infektiöse Erreger verursachte Meningoenzephalitiden	19
2.3.1 Bakterielle Enzephalitis.....	19
2.3.2 Gehirnabszesse	20
2.3.3 Staupe	20
2.3.4 Tollwut	21
2.3.5 Bornasche Krankheit	22
2.3.6 Canines Minute-Virus	23
2.3.7 Weitere virale Erkrankungen	23
a) Untersuchungen bei Patienten mit nekrotisierender Meningoenzephalitis	24
b) Untersuchungen bei Greyhounds mit Greyhound-Meningoenzephalitis.....	24
c) Untersuchungen bei Patienten mit granulomatöser Meningoenzephalitis	24
2.3.8 Protozoäre Meningoenzephalomyelitis	25
2.3.8.1 Neosporose	25

2.3.8.2 Toxoplasmose.....	26
2.3.9 Kryptokokkose	26
2.4 Meningoenzephalitiden unbekannter Genese.....	27
2.4.1 Granulomatöse Meningoenzephalitis	28
2.4.2 Nekrotisierende Enzephalitiden	28
2.5 Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis (SRMA)	30
III. Material und Methoden	31
3.1 Art der Studie	31
3.2 Patienten, Einschluss- und Ausschlusskriterien	31
3.3 Studienprotokoll	32
3.4 Probenentnahme, -aufbewahrung, -aliquotierung und Transport.....	33
3.5 Untersuchungsmethoden	34
3.5.1 Real-Time-PCR.....	34
3.5.1.1 <i>A. phagocytophilum</i> und <i>E. canis</i>	34
3.5.1.2 <i>Bartonella</i> spp.	34
3.5.2 Qualitative eubakterielle PCR	35
3.5.3 Indirekter Immunfluoreszenzantikörpertest (IFAT).....	36
3.5.3.1 IFAT <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	36
3.5.3.2 IFAT <i>Ehrlichia canis</i>	37
3.5.4 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) <i>Bartonellen</i>	37
3.5.5 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) FSME-Virus.....	38
3.6 Statistische Auswertung	38
IV. Ergebnisse	40
4.1 Beschreibung der Gruppen	40
4.1.1 MUE-Gruppe (Patienten mit Meningoenzephalitis)	40
4.1.2 SRMA-Gruppe (Patienten mit SRMA)	48
4.1.3 Kontrollgruppe (Trauma-Gruppe).....	52
4.2 Gruppenvergleich	56
4.2.1 Regionale Verteilung der Patienten.....	56
4.2.2 Altersverteilung	56
4.2.3 Geschlechtsverteilung	57
4.2.4 Auslandsaufenthalt	57
4.2.5 Dauer der Symptome.....	58
4.2.6 Laborparameter	58
4.2.7 <i>Bartonella</i> spp.	65
4.2.8 <i>A. phagocytophilum</i>	66
4.2.9 <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.....	67
4.2.10 FSME-Virus	69

4.2.11 <i>E. canis</i>	69
4.2.12 Ergebnisse der eubakteriellen PCR (16S rRNA)	72
4.2.13 Ergebnisse der Untersuchungen auf infektiöse Erreger	73
V. Diskussion	76
5.1 Untersuchungen auf <i>Bartonella</i> spp.....	76
5.1.1 PCR Untersuchungen	76
5.1.2 Serologische Untersuchungen	77
5.2 Untersuchungen auf <i>A. phagocytophilum</i>.....	77
5.3 Untersuchungen auf <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	78
5.4 Untersuchungen auf das FSME-Virus	78
5.5 Untersuchungen auf <i>E. canis</i>.....	79
5.6 Untersuchung auf 16S rRNA	79
5.7 Koinfektion	79
5.8 CVBD-Erreger als Auslöser einer sekundären Immunantwort?	80
5.9 Limitationen der Studie: Vorbehandlung.....	80
5.9.1 Glukokortikoide	80
5.9.2 Antibiotika.....	81
a) Doxycyclin	81
b) Penicilline	82
c) Fluorochinolone	82
d) Metronidazol	82
e) Clindamycin	82
5.10 Limitationen der Studie: Patienten	82
5.10.1 Regionale Unterschiede innerhalb Deutschlands	82
5.10.2 Auslandsaufenthalt	83
5.11 Limitationen der Studie: Anzahl der Fälle	83
5.12 Limitationen der Studie: Diagnose von Meningoenzephalitis.....	83
VI. Zusammenfassung.....	85
VII. Summary	86
VIII. Literaturverzeichnis.....	LXXXVII
IX. Danksagung.....	CXII
X. Vorabveröffentlichungen.....	CXIII
XI. Selbstständigkeitserklärung	CXV

Abkürzungsverzeichnis

16S rRNA	16 S ribosomale Ribonukleinsäure
<i>A. phagocytophilum</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
Abb.	Abbildung
AG	Antigen
AK	Antikörper
ANE	Akute Nekrotisierende Enzephalopathie
Aqua dest.	Aqua destillata
AQ	Albuminquotient
B	Berlin
BAPGM	Bartonella Proctobacteria growth medium
BDV	Borna Disease Virus
<i>B. burgdorferi</i> s.l.	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato
<i>B. burgdorferi</i> s.s.	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto
<i>B. henselae</i>	<i>Bartonella henselae</i>
<i>B.b.s.l.</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato
<i>B.vinsonii</i> ssp. <i>berkhoffii</i>	<i>Bartonella vinsonii</i> subspezies <i>berkhoffii</i>
Baso	Basophile Granulozyten
Bzw.	Beziehungsweise
CnMV	<i>Canines Minute Virus</i>
CDV	<i>Canines Distemper Virus</i>
CHV-1	<i>Canines Herpes Virus</i>
CT	Computertomographie
CVBD	Kanine Vektor-übertragene Erkrankung
DD	Differentialdiagnose
d.h.	Das heisst
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAE	Autoimmune Enzephalomyelitis
<i>E. canis</i>	<i>Ehrlichia canis</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat

ELISA	Enzyme linked immunosorbant Assay
Eo	Eosinophile Granulozyten
Ery	Erythrozyten
Evtl.	Eventuell
FITC	Fluoreszein-isothiozyanat
FLAIR	Fluid attenuated inversion recovery
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
FKS	Fötales Kälberserum
ggf.	Gegebenenfalls
GFAP	Glial Fibrillary Acid Protein
ggr	Geringgradig
GME	Granulomatöse Meningoenzephalomyelitiden
GRASE	Gradient- and Spin-Echo
H	Hannover
HAES	Hydroxyethylstärke
HCl	Chlorwasserstoff
HEMO	T2 gewichtete Gradienten-Echo
hgr	Hochgradig
HIV	<i>Humanes Immundefizienz Virus</i>
IFA	Immunfluoreszenz Assay
IFAT	Immunfluoreszenz Antikörpertest
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IHC	Immunhistochemie
J.	Jahre
k.A.	Keine Angabe
Kg	Kilogramm
L	Liter

L4	4. lumbales Rückenmarkssegment
LIV	<i>Loupingill Virus</i>
Lz	Lymphozyten
M	Männlich
MK	Männlich kastriert
Makro	Makrophagen
ME	Meningoenzephalitis
mgr	Mittelgradig
MHC	Major histocompatibility complex
Min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimol
MNV	West Nile Virus
Mono	Monozyten
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
MUE	Meningoenzephalitis unbekannter Ätiologie
NE	Nekrotisierende Enzephalitiden
Nm	Nanometer
NLE	Nekrotisierende Leukoenzephalitis
NME	Nekrotisierende Meningoenzephalitis
o.b.B.	Ohne besonderen Befund
OD	optische Dichte
OMN	Unteres Motoneuron
Patho	Pathologische Untersuchung
PBS	Phosphat Buffer Saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
Pos.	Positiv
RBP	Retinol-bindendes Protein
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse transcriptase PCR

SD	Standard Abweichung
Seg	Segmentkernige Granulozyten
Sek.	Sekunde
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
Spp.	Spezies
Ssp.	Subspezies
SRMA	Steroid-Responsive Meningitis Arteriitis
Stb.	Stabkernige Granulozyten
T	Trauma
T1	T1 gewichtete Sequenz
T2	T2 gewichtete Sequenz
Tab.	Tabelle
TBEV	<i>Tick borne encephalitis Virus</i>
TR	Trier
TSE	Turbo- and Spin-Echo
TTR	Transthyretin (Präalbumin)
UMN	Unteres Motoneuron
U/Min	Umdrehungen pro Minute
V.	Vena
V.a.	Verdacht auf
W	Weiblich
WK	Weiblich kastriert
WNV	<i>West Nile Virus</i>
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

I. Einleitung

Das Auftreten der kaninen Vektor-übertragenen Erkrankungen (canine vector-borne diseases, CVBD) war bis vor einem Jahrzehnt weitgehend auf südliche Länder begrenzt. In den letzten Jahren hat sich die Lage aus klimatischen Gründen, aber auch im Zuge der Globalisierung und des Wissenszuwachses auf dem Gebiet der CVBD-Forschung verändert (Menn et al. 2010). Die Prävalenz von CVBD sowie die Aufmerksamkeit für diese Erkrankungen steigen auch in Mitteleuropa an (Hartelt et al. 2007).

Seropositivität für CVBD-Erreger wurde mit einer Vielfalt an klinischen Symptomen, einschließlich verschiedener neurologischer Symptome, in Verbindung gebracht (Cohen et al. 1990; Azuma et al. 1993; McKenna et al. 1995; Shaw et al. 2001). Aufgrund der hohen Seroprävalenz von CVBD-Erregern in einigen Gegenden sind serologische Untersuchungen nicht ausreichend, um einen kausalen Zusammenhang zwischen Infektion und neurologischer Symptomatik zu belegen (Jäderlund et al. 2009). Die Untersuchungen auf das Vorhandensein von CVBD-Erregern mittels Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) bei Hunden mit neurologischen Symptomen ergaben bisher unterschiedliche Ergebnisse (Jäderlund et al. 2009; Barber et al. 2010).

Einige CVBD-Erreger, wie z.B. *Bartonella* spp., infizieren auch Menschen. Kinder, aber auch immunkompetente Erwachsene können schwerste neurologische Symptome entwickeln (Gerber et al. 2002; Breitschwerdt et al. 2008). Hunde können als „Sentinels“ (Indikatoren) für humane Infektionen angesehen werden (Shaw et al. 2001). Auch in diesem Zusammenhang erscheint es wichtig, CVBD-Erreger auch in der Hundepopulation zu beachten, sei es als seltene alleinige Erreger von ZNS-Entzündungen oder als Teil einer multifaktoriellen Ätiologie.

Das Ziel der Doktorarbeit ist es, weitere Erkenntnisse zur Bedeutung von infektiösen Erregern, insbesondere von CVBD-Erregern bei der Ätiologie von Meningoenzephalitiden beim Hund in Deutschland zu ermitteln.

II. Literaturübersicht

Entzündungen des Zentralen Nervensystems (ZNS) werden je nach Lokalisation in Meningitiden (Hirnhautentzündungen), Enzephalitiden (Gehirnentzündungen) und Myelitiden (Rückenmarksentzündungen) eingeteilt. Aufgrund des engen Zusammenhangs zwischen Gehirnparenchym und Meningen betreffen entzündliche Prozesse oftmals beide Strukturen, sie werden dann als Meningoenzephalitis bezeichnet (Munana 1996).

Die Ätiologie solcher Entzündungen ist vielfältig: Infektionen, Immunkrankheiten, Neoplasien, Traumata oder Infarkte können in Frage kommen (Tipold 1995a). Infektiös bedingte Entzündungen können durch Viren, Bakterien, Protozoen oder Pilze hervorgerufen werden. Es wird zwischen neurotrophen Erregern und nicht-neurotrophen Erregern unterschieden. Bei einer Infektion mit neurotrophen Erregern, wie z.B. den Protozoen *Toxoplasma gondii* und *Neospora caninum*, gelangen diese in das ZNS und verursachen eine primäre parenchymatöse Entzündung. Nicht-neurotrope Erreger wie z.B. *Ehrlichia* und *Anaplasma* spp., können aufgrund ihrer systemischen Verteilung im Organismus bis in Hirnhautgefäße transportiert werden. Da das Gehirn immunologisch betrachtet eine Sonderstellung einnimmt, induzieren sie Vaskulitis und Meningitis mit sekundärer Parenchymzerstörung (Munana 1996).

2.1 Diagnose von Meningitis und Meningoenzephalitis (ME)

Die Ursache einer ME wird selten ante-mortem ermittelt. Eine Verdachtsdiagnose basiert generell auf klinischen Symptomen, bildgebenden Verfahren, Liquoruntersuchung und Untersuchung auf Infektionserreger. Auch die postmortale Diagnose kann sich als schwierig erweisen, wenn ein spezifisches histologisches Muster fehlt.

2.1.1 Diagnostische Maßnahmen

Aufgrund der stark unterschiedlichen Erscheinungsbilder von entzündlichen Erkrankungen des ZNS ist es schwierig, diese klinisch zu diagnostizieren.

Es können Hunde aller Rassen und Alterskategorien betroffen sein. Die Symptome sind akut oder chronisch.

Bei der klinischen Allgemeinuntersuchung zeigen Hunde mit Meningitis oder ME oft keine extraneuralen Symptome.

Oftmals tritt die Erkrankung akut auf und verläuft progressiv, mit einer multifokalen oder diffusen Verteilung der Läsionen im ZNS (Dewey 2008). Klinische Symptome spiegeln den diffusen Charakter der Entzündung in einigen Fällen nicht wider (Tipold 1995a). Bei der neurologischen Untersuchung können unterschiedliche Bilder auftreten, von Paresen bis Verhaltensveränderungen über Krampfanfälle. Krampfanfälle werden bei ca. 13 % der Hunde mit Meningitis oder ME beobachtet (Tipold 1995a). Es besteht ein starker Verdacht auf eine entzündliche Erkrankung des ZNS, wenn die Symptomatik auf multifokale Läsionen hindeutet, z.B. wenn Anfälle im Zusammenhang mit Paraparese auftreten. Auch fokale Läsionen können vorkommen (Thomas 1998).

Blutbild und Blutchemie sind oft ohne Befund oder unspezifisch verändert.

Bildgebende Verfahren haben nur einen begrenzten diagnostischen Wert, wobei sich röntgenologisch nur Traumata darstellen lassen. CT und MRT können der Lokalisationsbestimmung dienen und ermöglichen es, die differentialdiagnostisch wichtigen Tumore zu sehen. Dennoch erscheinen verschiedene entzündliche und nicht-entzündliche Erkrankungen ähnlich (Thomas 1998).

Die Analyse des Liquors ist ante-mortem der wichtigste diagnostische Test zur Identifizierung von Entzündungen des ZNS (Tipold 1995a). Routinemäßig werden Proteingehalt, Gesamtzellgehalt und Differentialzellbild ermittelt.

Die Liquoruntersuchung ermöglicht meist eine Unterscheidung zwischen entzündlichen und nicht-entzündlichen Erkrankungen und in einigen Fällen sogar eine spezifische Diagnose.

Die Leukozytenzahl ist bei Meningitis und Enzephalitis oft erhöht (Pleozytose). Dasselbe gilt für die Proteinkonzentration im Liquor, entweder aufgrund einer Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke, aufgrund intrathekalen Immunglobulinbildung oder beider Ursachen.

Kulturen, Antikörpertiter und PCR-Tests aus Serum oder EDTA-Blut und Liquor können die Identifizierung von infektiösen Ursachen ermöglichen.

2.1.2 Bildgebende Diagnostik

Magnetresonanztomographie (MRT):

Das MRT ist der Goldstandard in der bildgebenden Diagnostik von ME. Das MRT hat der Computertomographie gegenüber den Vorteil, dass sich anatomische Details (z.B. die kaudale Fossa) deutlicher darstellen lassen und dass Bilder in verschiedenen Ebenen (sagittal, transversal, dorsal) angesehen werden können (Talarico und Schatzberg 2010). Ein MRT kann besonders nützlich sein, um zwischen den idiopathischen Meningoenzephalitiden zu unterscheiden, weil es Läsionen darstellt, die der Neuropathologie der jeweiligen Erkrankungen entsprechen. Obwohl es klinische sowie histopathologische Überlappungen zwischen den verschiedenen Meningoenzephalitiden gibt, kann die Verteilung der Läsionen (Nekrotisierende Meningoenzephalitis (NME) vs. Nekrotisierende Leukoenzephalitis (NLE)) oder das Auftreten von Nekrosen (Granulomatöse Meningoenzephalitis (GME) vs. NLE) eine ante-mortem Verdachtsdiagnose ermöglichen (Talarico et al. 2010).

Computertomographie (CT):

CT kann im Zusammenhang mit der Liquoruntersuchung genutzt werden, um Gehirnentzündungen zu diagnostizieren (Plummer et al. 1992). CT ist allerdings nicht so sensitiv wie MRT, um parenchymale und meningeale Läsionen abzugrenzen. Die charakteristischen Erscheinungsbilder verschiedener Gehirnentzündungen im CT wurden beschrieben (Plummer et al. 1992; Thomas 1998).

Das Bild einer Meningoenzephalitis ist im CT variabel und unspezifisch. Bei raumfordernden Läsionen tritt Ventrikelasymmetrie mit Falxdeviation auf. Es kann oft ein sekundärer Hydrozephalus sichtbar sein. Ein Ödem ist in der CT durch eine Abnahme der Opazität des Parenchyms charakterisiert. Ein Ödem ist ein relativ häufig auftretender Befund. Es muss jedoch sehr ausgeprägt sein, um erkennbar zu sein.

Der Grad der Kontrastmittelaufnahme hängt von der Integrität der Blut-Hirn-Schranke ab. (Plummer et al. 1992; Speciale et al. 1992). Eine ringförmige Anreicherung ist unspezifisch. Eine periventrikuläre Anreicherung wurde mit Ependymitis (Ventrikulitis) assoziiert (Plummer et al. 1992).

Das CT kann zur Lokalisierung einer Läsion vor einer Biopsieentnahme genutzt werden. Eine der wichtigen Limitationen der CT-Untersuchung ist das Vorkommen von Artefakten (weil bevorzugt Strahlen mit niedriger Energie genutzt werden), vor allem in der Pars petrosa der Temporalis knochen. Läsionen in Hirnstamm und Kleinhirn können aufgrund dieser Artefakte schwer zu interpretieren sein (Plummer et al. 1992; Talarico et al. 2010).

2.1.3 Liquoruntersuchung

2.1.3.1 Liquorentnahme

Für eine Liquorentnahme muss der Patient in Narkose liegen. Liquor wird routinemäßig aus der Cisterna magna entnommen. Alternativ kann Liquor auch aus dem kaudalen lumbalen Subarachnoidalraum entnommen werden (zwischen L4 und L5 oder zwischen L5 und L6). Die Region der Entnahme wird geschoren und gereinigt. Es sollte nicht mehr als 1 ml Liquor pro 5 kg Körpergewicht entnommen werden. Als Material werden 20-22G 40-90 mm Nadeln und sterile Handschuhe benutzt. Für die Liquoranalyse werden sterile Röhrchen ohne Antikoagulans genutzt, weil Additive aus EDTA-Röhrchen zu falsch erhöhten Proteinkonzentration führen können (Parent und Rand 1994).

2.1.3.2 Aufbereitung der Proben

Die Liquoruntersuchung muss unmittelbar nach der Punktion erfolgen. Wird die Analyse verzögert durchgeführt, können signifikante Veränderungen der Untersuchungsergebnisse auftreten. Insbesondere die Zellzahl kann aufgrund von Zellyse falsch niedrig sein (Fry et al. 2006).

Wird die Analyse länger als 1 Stunde verzögert, können zelluläre Veränderungen wie Kernpyknose, Lyse und Zerstörung der Zytoplasma- und Kernmembranen auftreten. Studien über die Degenerationsgeschwindigkeit von verschiedenen Zelltypen ergaben unterschiedliche Ergebnisse: bei Raumtemperatur beginnt die Degeneration 1 bis 3 Stunden nach Probenentnahme (Kjeldsberg und Knight 1986), bei 4 °C hatten eosinophile Granulozyten noch 48 Stunden nach Liquorpunktion eine unveränderte Struktur (Fry et al. 2006). Die Empfindlichkeit des Liquors liegt zum Teil an den normalerweise niedrigen Proteinkonzentrationen. Proteine wirken in anderen Flüssigkeiten an der Stabilisierung von Zellmembranen mit (Steele et al. 1986).

2.1.3.3 Makroskopische Untersuchung

Farbe: Liquor ist physiologischerweise farblos. Rosa oder rote Verfärbung weist auf Vorhandensein von Blut hin. Ist nach Zentrifugation ein rotes zelluläres Pellet am Boden des Röhrchens zu sehen und ist der Überstand farblos, so sind intakte Erythrozyten die Ursache der Verfärbung. Diese können iatrogen durch Kontaminierung bei der Entnahme oder durch eine frische (wenige Stunden alte) Blutung in den Subarachnoidalraum in den Liquor gelangen (Cook und DeNicola 1988).

Ist der Überstand xanthochrom (gelb bis gelb-orange), ist eine ältere Blutung wahrscheinlich (Cook et al. 1988). Die Farbintensität ist 24 Stunden nach der Blutung am deutlichsten ausgeprägt und verschwindet nach 4-8 Tagen (Jamison und Lumsden 1988). Xanthochromie wurde auch bei erhöhtem Proteingehalt, Hyperbilirubinämie, bei ZNS-Entzündungen und Neoplasien beschrieben (Cook et al. 1988).

Turbidität: Liquor ist physiologischerweise durchsichtig. Eine erhöhte Turbidität wird auf Partikel im Liquor zurückgeführt und ist typischerweise durch eine erhöhte Zellzahl verursacht. Geringgradige bis mittelgradige Erhöhungen der Zellzahl verändern selten die Klarheit des Liquors (Chrisman 1992). Zellzahlen über 500 Zellen/ μ l werden mit erhöhter Turbidität assoziiert (Coles 1986).

2.1.3.4 Quantitative Analyse

Proteinkonzentration: Im Vergleich zu Serum hat Liquor einen sehr niedrigen Proteingehalt (Fishman 1992). Die Proteinkonzentration steigt von rostral nach kaudal an, daher ist in lumbal entnommenem Liquor typischerweise der Proteingehalt höher (Normbereich unter 45 mg/dl) als in Liquor, der aus der Cisterna magna entnommen wurde (Normbereich unter 30 mg/dl) (Bailey und Vernau 1997).

Es wird vermutet, dass die höhere Proteinkonzentration durch die geringere Flußgeschwindigkeit im lumbalen Bereich und der damit verbundenen lokalen Proteinansammlung (Thompson et al. 1990) entsteht. In anderen Studien wurde die Hypothese aufgestellt, dass die erhöhte Proteinkonzentration auf einer erhöhten Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke im Lumbalbereich basiert (Fishman et al. 1958).

Der Pandy Test ist ein Screening Test für das Vorhandensein von Globulinen. Bei dem Test werden zwei Tropfen Liquor zu 1 ml Pandy Reagenz (10 %ige Karboxylsäure) zugefügt. Wird die Flüssigkeit im Reagenzglas milchig, ist der Test positiv. Globuline können mit dieser Methode ab einer Konzentration von 50 mg/dl nachgewiesen werden (Di Terlizzi und Platt 2009).

Für eine genaue Evaluierung der Proteinkonzentration sind spezielle analytische Techniken notwendig (Parent et al. 1994). Die Tests werden mittels spezifischer Färbungen durchgeführt (Coomassie Blau und Pyrogallolrot) (Marshall und Williams 2000). Pyrogallolrot wird als die spezifischste Technik für die Ermittlung der Proteinkonzentration angesehen (Marshall et al. 2000), aber es unterschätzt das Gesamtprotein beim Hund aufgrund einer 20 % niedrigeren Affinität für Globuline als für Albumin (Behr et al. 2003). Ein immunturbimetrischer (Mikroalbumin-) Test aus der Humanmedizin wurde für die Messung der kaninen Albuminkonzentration in Urin und Liquor validiert (Gentilini et al. 2005).

Proteinzusammensetzung: Im unveränderten Liquor besteht das Protein fast ausschließlich aus Albumin. Es sind geringe Konzentrationen von Transthyretin (TTR, oder Präalbumin), „Retinol-Binding Protein“ (Retinol-bindendes Protein, RBP) und Transferrin sowie Spuren von weiteren Proteinen vorhanden (Aldred 1995).

IgA: IgA ist physiologischerweise in geringen Konzentrationen im Serum vorhanden, aber es spielt eine wichtige Rolle bei der Abwehr gegen Infektionserreger, die über Schleimhäute in den Körper gelangen. Die höchste Konzentration an intrathekalen IgA sowie systemischem IgA wurde bei Hunden mit Steroid-Responsiver Meningitis-Arteriitis (SRMA) ermittelt (Tipold 1995a; Maiolini et al. 2012). IgA scheint eine zentrale Rolle bei der humoralen Immunantwort des ZNS zu spielen (Tipold et al. 1994). Erhöhte Liquor-IgA-Konzentrationen können auch bei anderen entzündlichen ZNS-Erkrankungen wie der GME beobachtet werden (Maiolini et al. 2012).

Zellzahl: Die Zellkonzentration ist im Liquor zu niedrig, um mit den üblichen hämatologischen Analysemethoden gemessen zu werden. Aus dem Grund wird die Zellzahl mittels Hämozytometrie ermittelt (Neubauer Kammer oder Fuchs-Rosenthal Kammer). Eine neuere Methode zur Messung der Zellzahl ist die Durchflußzytometrie (de Graaf et al. 2011). Die Zellzahl ist typischerweise kaudal niedriger als rostral. Die Unterschiede in der Zellzahl sind noch nicht vollständig erklärt. Es wird vermutet, dass die Ursache in Zelllyse liegt, da Liquor von rostral nach kaudal fließt (Fishman und Chan 1980).

Der Referenzbereich für die Zellzahl ist bei Hunden unter 5 Zellen/ μ l (Cook et al. 1988). Eine erhöhte Zellzahl wird als Pleozytose bezeichnet. Die Pleozytose kann mild (unter 25 Zellen/ μ l), moderat (26-100 Zellen/ μ l) oder schwer (über 100 Zellen/ μ l) ausgeprägt sein.

Der Grad der Pleozytose wird von verschiedenen Faktoren wie Ursache, Schwere und Lokalisation der Läsion in Bezug auf den Subarachnoidalraum und das Ventrikelsystem beeinflusst (Cook et al. 1988). Auch bei normalen Zellzahlen können Veränderungen der Zelltypen oder der Zellmorphologie auftreten (Christopher et al. 1988).

Bei vielen Krankheitsprozessen entwickeln sich die Zellzahl und die Proteinkonzentration parallel zueinander (Carmichael 1998). Bei einigen Erkrankungen bleibt die Zellzahl im Normalbereich, obwohl die Proteinkonzentration stark erhöht ist: ein solches Phänomen wird als „Albumin-zytologische Dissoziation“ oder „Protein-zytologische Dissoziation“ bezeichnet (Evans 1988; Carmichael 1998). Erhöhte Proteinkonzentrationen bei normaler Zellzahl wurden bei viraler, nicht-eitriger Enzephalomyelitis (Bichsel et al. 1984; Sorjonen 1990), bei Neoplasie und traumatischen, vaskulären, degenerativen oder kompressiven Rückenmarkerkrankungen beschrieben (Evans 1988; Chrisman 1992).

2.1.3.5 Mikroskopische Untersuchung

Vorbereitung der Untersuchung: Aufgrund der niedrigen Anzahl und der großen Empfindlichkeit der Zellen aus dem Liquor müssen die Zellen zur zytologischen Untersuchung konzentriert werden. Es gibt verschiedene Methoden zur morphologischen Untersuchung der Zellen. In den meisten Laboren werden die Zellen mittels Zytozentrifugation für die Untersuchung vorbereitet (Garma-Avina 2004). Bei der Zytozentrifugation werden die Zellen mit langsamer Zentrifugation und Beschleunigung in einen kleinen zirkulären Bereich auf einem Glasobjektträger konzentriert (Christopher et al. 1988). Bei dieser Methode werden die Elemente sanft auf den Objektträger gedrückt, was es ermöglicht, die Zellen mikroskopisch gut zu beurteilen. Es können jedoch vor allem bei Monozyten und Makrophagen Artefakte wie Vakuolisierung oder Strukturveränderungen auftreten (Di Terlizzi et al. 2009). Weitere Methoden sind Sedimentation und Membranfiltration (Garma-Avina 2004).

Die Objektträger werden luftgetrocknet und die Zellen mit Romanowsky-Färbungen angefärbt (May-Grünwald-Giemsa, Wright-Giemsa oder Diff-Quick). In einigen Fällen sind spezielle Färbungen indiziert: Gram-Färbungen können der Identifizierung von Bakterien dienen (Cook et al. 1988; Evans 1988). Tusche oder Neu-Methylenblau werden zur Identifizierung von Pilzen, insbesondere Kryptokokken genutzt (Cook et al. 1988).

Physiologische Zellzusammensetzung des Liquors: In normalem Liquor sollten keine Erythrozyten vorhanden sein. Sie können aufgrund einer iatrogenen Kontamination in kleinen Mengen auftreten. Erythrozyten können auch mit akuten Blutungen assoziiert sein. Es ist schwierig, Erythrozyten von Leukozyten (vor allem kleinen Lymphozyten aufgrund ihrer Größe) in der Kammer zu unterscheiden. In manchen Fällen kann eine osmotische Schrumpfung der Erythrozyten für ihre Identifizierung nützlich sein (Meinkoth und Crysmal 2008).

Bei gesunden Tieren sind überwiegend mononukleäre Zellen im Liquor zu finden: es handelt sich um Lymphozyten, die den Lymphozyten im Blut stark ähneln und größere Zellen, die als monozytoide Zellen bezeichnet werden (Cook et al. 1988; Rand et al. 1990; Chrisman 1992). In einigen Fällen werden auch wenige (bis 10 % der Gesamtzellzahl) reife, nicht degenerierte neutrophile Granulozyten in normalem Liquor gefunden (Chrisman 1992). Sie gelangen wahrscheinlich durch Kontamination bei der Liquorentnahme in die Probe. Das

Vorhandensein von neutrophilen oder eosinophilen Granulozyten im Liquor wird von einigen Autoren immer als abnormal angesehen (Christopher et al. 1988). Selten werden Ependymzellen, Zellen des Plexus chorioideus, meningeale Zellen oder mitotische Formen im Liquor von gesunden Individuen gesehen (Cook et al. 1988; Chrisman 1992; Parent et al. 1994).

Interpretation von zytologischen Veränderungen: Eine Pleozytose wird nach den dominierenden Zelltypen als mononukleär, neutrophil, eosinophil oder gemischt eingeteilt (Freeman und Raskin 2001).

Bestimmte Zelltypen, wie neutrophile oder eosinophile Granulozyten, können bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen des ZNS auch bei normaler Zellzahl überrepräsentiert sein (Freeman et al. 2001).

Ist keine Blutkontamination aufgetreten, sind Prozentsätze von über 10-20 % für neutrophile Granulozyten (Chrisman 1992; Meinkoth et al. 2008) und über 1 % für eosinophile Granulozyten (Meinkoth et al. 2008) als pathologisch anzusehen.

Ein erhöhter Prozentsatz an neutrophilen Granulozyten ohne Erhöhung der Zellzahl ist in frühen Phasen oder bei einer leichten Entzündung anzutreffen. Er kann auch in anderen Fällen auftreten: bei einer Läsion ohne Beteiligung der Hirnhäute, bei einer ependymalen Läsion oder bei vorangegangener Medikation mit Glukokortikoiden bzw. Antibiotika, wodurch die Entzündungsreaktion vermindert wird (Meinkoth et al. 2008).

Eosinophile Granulozyten sind immer ein pathologischer Befund. Erhöhte Prozentsätze an eosinophilen Granulozyten ohne Erhöhung der Zellzahl wurden im Zusammenhang mit protozoären Erkrankungen beschrieben (*Neospora* spp. in Hunden) (Chrisman 1992).

Unveränderter Liquor ist kein ausreichender Befund, um eine Erkrankung vollständig auszuschließen (Kjeldsberg et al. 1986; Fishman 1992). Unveränderter Liquor tritt vor allem bei tiefen parenchymatösen Läsionen ohne Kontakt zu Leptomeningen, Subarachnoidalraum oder ependymalen Oberflächen auf (Cook et al. 1988).

2.1.3.6 Weitere Tests

Antikörpertiter: Titer aus Liquor können sensitiver sein als Titer aus Serum (Matsuki et al. 2004). Es sind verschiedene Tests zur Ermittlung von Antikörper- und Antigentiter für virale, fungale, protozoäre und rickettsiale Erreger kommerziell erhältlich (Matsuki et al. 2004).

Die Interpretation der Antikörpertiter im Liquor kann ungenau sein, wenn sie einzeln durchgeführt wird, da intrathekal gebildete Antikörper nicht von Antikörpern aus dem Serum bei gestörter Blut-Hirn-Schranke oder bei Kontaminierung zu unterscheiden sind (Bailey et al. 1997).

Intrathekale Antigen-spezifische Antikörperbildung kann mit einem Antikörperindex ermittelt werden (Reiber und Lange 1991).

Die Prävalenz von Autoantikörpern im Liquor wurde bei Hunden mit verschiedenen Erkrankungen dokumentiert (Matsuki et al. 2004). Anti-Astrozyten-Autoantikörper wurden im kaninen Liquor detektiert. Sie werden als hoch spezifisch für NME und GME angesehen. Sie wurden jedoch auch bei Tumoren beschrieben (Matsuki et al. 2004). Eine Studie ergab, dass Erkrankungen, die mit schwerer Vaskulitis einhergehen, die Blut-Hirn-Schranke und den Liquorfluss stören können (Boettcher et al. 2007). In diesen Fällen kann der Liquor-Antikörpertiter aufgrund der erhöhten Gefäßpermeabilität erhöht sein.

Liquorkultur: Es ist möglich, sowohl aerobe als anaerobe Bakterienkulturen des Liquors anzufertigen. Allerdings wurden selbst in Fällen mit definitiver Diagnose der bakteriellen Meningitis sehr selten positive Kulturen beobachtet (Tipold 1995a; Fenner 1998). Bei Hunden

mit histopathologisch nachgewiesener intrakranieller bakterieller Infektion waren weniger als 20 % der Liquorkulturen positiv (Radaelli und Platt 2002). Ein negatives Kulturergebnis kann aufgrund eines falschen Umgangs mit den Proben oder dem Kulturmedium im Zusammenhang mit einer niedrigen Anzahl an Organismen im Liquor auftreten (Fenner 1998; Garges et al. 2006).

Einige Bakterien unterliegen einer schnellen Autolyse in Entnahmegefäßen. Dies senkt die Sensitivität des kulturellen Nachweises (Peters et al. 1995).

Zur Isolierung von *Cryptococcus* spp. können Pilzkulturen des Liquors verwendet werden. Staupe-Meningoenzephalitis wurde erfolgreich mittels Virus-Isolierung diagnostiziert (Kai et al. 1993; Fenner 1998).

Polymerasen Kettenreaktion (PCR): Bestimmte Bakterienspezies sind schwer zu isolieren, haben in vitro ein zu langsames Wachstum oder sehr spezielle Wachstumsbedingungen. In einigen Fällen können Bakterien aufgrund von antimikrobieller Vorbehandlung nicht kultiviert werden. Molekulare Techniken wie PCR ermöglichen es, diese Schwierigkeiten zu umgehen, indem genetisches Material von Bakterien direkt nachgewiesen wird (Fredricks und Relman 1999).

Die PCR ermöglicht es, DNA oder RNA von Infektionserregern zu finden. Für die meisten Infektionserreger wie das Staupevirus, *T. gondii*, *N. caninum*, *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia rickettsii*, *Bartonella* spp. und *B. burgdorferi* wird PCR routinemäßig eingesetzt (Stiles et al. 1996; Nghiem und Schatzberg 2010).

In einigen Studien hat sich eine Multiplex-PCR als zusätzlicher Test bei der Diagnose der Protozoären Meningoenzephalitis als nützlich erwiesen (Schatzberg et al. 2003).

Die RNA des Staupevirus kann im Liquor mittels Reverse-Transcriptase-PCR (RT-PCR) amplifiziert werden (Frisk et al. 1999). RT-PCR ist eine spezifische und sensitive Methode zur ante-mortem Diagnose von Hundestaupe (Frisk et al. 1999). Allerdings schließt ein negatives PCR-Ergebnis das Vorhandensein des Infektionserregers nicht aus (Di Terlizzi et al. 2009).

16S rRNA PCR: Da konventionelle PCR-Verfahren spezifisch für einen Erreger entwickelt worden sind, haben sie eine hohe Sensitivität und Spezifität. Diese Verfahren ermöglichen es, nur die Organismen zu diagnostizieren, nach denen man speziell sucht. Die eubakterielle PCR, welche auf stark konservierten Genregionen basiert, wurde dazu entwickelt, diese Limitierung zu überwinden (Messer et al. 2008). Die Zielgene dieser PCR sind die Gene der 16S ribosomalen RNA (rRNA). 16S rRNA besteht aus stark konservierten Nukleotidsequenzen, welche bei allen Bakterienspezies identisch sind, aber auch aus variablen Regionen, welche genus- oder speziesspezifisch sind. Die Gensequenzen der variablen Regionen sind die Grundlagen für die phylogenetische Einteilung von Bakterien (Doolittle 1999).

Indem man PCR Primer nutzt, die auf die konservierten Regionen der DNA zielen (sog. Universal Primer), kann man breitgefächerte PCR-Tests entwickeln, die die Identifizierung der DNA fast aller Bakterien ermöglicht (Messer et al. 2008).

Um die Identität der gefundenen Bakterien zu ermitteln, wird das PCR-Produkt sequenziert und mit bekannten Nukleotidsequenzen verglichen (Drancourt et al. 2000; Janda und Abbott 2002). In einer Untersuchung wurde bei einem Hund mit neurologischen Ausfallserscheinungen und negativer Liquorkultur eine Streptokokkeninfektion mittels eubakterieller PCR aus Liquor diagnostiziert (Messer et al. 2008).

Weitere diagnostische Maßnahmen sind ante-mortem die Gehirnbioptie (Thomas et al. 1993) und post-mortem die pathologische Untersuchung des Gehirns.

2.2 Kanine Vektor-übertragene Erkrankungen

2.2.1 Allgemeines

Kanine Vektor-übertragene Erkrankungen werden durch Bakterien, einzellige Parasiten oder sogar Würmer ausgelöst. Die ektoparasitären Vektoren, die als Überträger dienen, sind Flöhe, Zecken, Mücken oder Läuse (Kent 2012).

Eine Seropositivität für CVBD-Erreger wurde mit verschiedenen neurologischen Symptomen, von Ataxie bis hin zu epileptiformen Anfällen, in Verbindung gebracht (Shaw et al. 2001). Allerdings reicht die serologische Diagnostik aufgrund der hohen Seroprävalenz von CVBD-Erregern in einigen Gegenden nicht aus, um einen kausalen Zusammenhang zwischen Infektion und neurologischer Symptomatik zu beweisen.

Hunde wurden als sogenannte „Sentinels“ (Indikatoren) für Lyme Borreliose beim Menschen vorgeschlagen (Goossens et al. 2001; Johnson et al. 2004; Duncan et al. 2005). Dies bleibt jedoch umstritten, da Hunde mit höherer Wahrscheinlichkeit an Zeckenbefall leiden, aber Menschen mit höherer Wahrscheinlichkeit klinische Borreliose entwickeln, falls sie infiziert sind (Eng et al. 1988; Littman 2003). Auch im Fall der granulozytären Anaplasrose wurden natürlich infizierte Hunde als adäquate „Sentinels“ für humane Infektionen beschrieben (Foley et al. 2001). Aufgrund der hohen Diversität an humanpathogenen kaninen *Bartonella* spp. dienen Hunde bei der Erforschung von Bartonelleninfektionen ebenfalls als „Sentinels“. Hunde entwickeln unterschiedliche klinische Symptomatiken, die alle den Erscheinungsbildern beim Menschen ähneln (Chomel et al. 2006).

2.2.2 Rickettsiosen

2.2.2.1 Granulozytäre Anaplasrose

Ätiologie:

Anaplasma phagocytophilum (*A. phagocytophilum*) ist der Erreger der kaninen, felines, equinen und humanen granulozytären Anaplasrose und des Zeckenfiebers der Wiederkäuer. Es ist ein gram-negatives, kokkoides bis ellipsoides, obligat intrazelluläres Bakterium, welches insbesondere neutrophile Granulozyten befällt und in deren Zytoplasma sogenannte Morulae (Einschlusskörperchen) bildet. *A. phagocytophilum* wird in die Familie der *Anaplasmataceae* der Ordnung Rickettsiales eingeordnet (Greig und Armstrong 2012).

Verbreitung:

A. phagocytophilum wurde bei vielen Säugetieren und bei Vögeln nachgewiesen. In Deutschland wurden unterschiedliche regionale Seroprävalenzen für *A. phagocytophilum* beim Hund festgestellt. So betrug die Seroprävalenz (Testmethode IFAT) im Nordwesten Deutschlands 43,2 % (n=111 Hunde) (Jensen et al. 2007a), im Nordosten Deutschlands 43 % (n= 522 Hunde) (Kohn et al. 2011). Eine Untersuchung von 5881 Hunden aus Deutschland mittels ELISA ergab eine Seroprävalenz von 21,5 % (Krupka et al. 2007). Mittels PCR-Untersuchung wurde eine Prävalenz von 6 % im Nordwesten (Jensen et al. 2007a) sowie im Nordosten (Kohn et al. 2011) Deutschlands festgestellt. Zwischen klinisch gesunden und kranken Hunden konnte in einer Studie an der Freien Universität Berlin bezüglich der Seroprävalenz kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Kohn et al. 2011).

Neurologische Symptome:

Bei Menschen mit *A. phagocytophilum*-Infektion wurden weder neurologische Symptome noch pathologische Liquorbefunde in Studien eindeutig identifiziert. Es wurden lediglich Einzelfälle beschrieben, in denen die humane granulozytäre Anaplasiose mit einer peripheren oder kranialen Neuropathie als Komplikation einherging (Horowitz et al. 1996; Bjoersdorff et al. 2002).

Die meisten natürlich infizierten Hunde zeigen unspezifische klinische Symptome wie Apathie, Inappetenz und Fieber (Kohn et al. 2008). Selten wurde beim Hund über neurologische Symptome wie epileptiforme Anfälle und Ataxie berichtet (Diniz und Breitschwerdt 2012).

Bei einigen experimentell infizierten Hunden wurden während der akuten Phase der Erkrankung über einige Tage ataktische Bewegungen beobachtet, die mit Apathie und Fieber einhergingen (Egenvall et al. 1997). Liquoranalyse sowie postmortale Untersuchungen des Gehirns und der Hirnhäute bei experimentell infizierten Hunden ergaben allerdings keine Veränderungen (Egenvall et al. 1998; Egenvall et al. 2000a; Panciera et al. 2001).

In einer Fallserie wurden die Symptome von 18 natürlich infizierten klinisch kranken Hunden untersucht. Einer der betroffenen Patienten hatte neurologische Symptome, die mit einer Läsion im Großhirn zu vereinbaren waren (akut auftretende Bewusstseinsstörung mit linksseitigen Drehbewegungen). Es wurde weder eine bildgebende Diagnostik noch Liquoruntersuchung durchgeführt. Die neurologischen Symptome verschwanden innerhalb von 24 Stunden nach Therapiebeginn mit Doxycyclin (Eberts et al. 2011). Ein weiterer Patient wurde mit Halsbiegeschmerz vorgestellt. Es wurde keine weiterführende Diagnostik betrieben. Die Symptome verschwanden ebenfalls nach Behandlung mit Doxycyclin (Eberts et al. 2011).

In Großbritannien zeigten Shaw et al. (2001) in fünf Fällen eine Assoziation zwischen unspezifischer Meningitis und dem Nachweis von *A. phagocytophilum*-DNA mittels PCR. Diese Ergebnisse konnten in einer weiteren Studie (Jäderlund et al. 2007) nicht wiederholt werden.

Ein Fallbericht beschrieb drei Hunde aus der Bodenseeregion mit neurologischen Symptomen, bei denen sowohl Serologie als auch PCR-Nachweis für *A. phagocytophilum* aus Blut positiv waren (Schaarschmidt-Kiener et al. 2008). Serologische Untersuchungen auf andere infektiöse Erreger (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, FSME-Virus, *Borrelia burgdorferi*) ergaben negative Ergebnisse. Nach Therapie mit Doxycyclin verschwanden die neurologischen Symptome.

In einer Studie von Jäderlund et al. (2009), bei der 14 Hunde mit entzündlicher ZNS-Erkrankung untersucht wurden (10 Hunde mit SRMA, 4 Hunde mit MUE), wurde in keinem Fall *A. phagocytophilum*-DNA mittels PCR aus Liquor oder Blut nachgewiesen.

In einer Studie von Barber wurden 109 Hunde mit neurologischen Symptomen untersucht, von denen bei 75 die Diagnose GME, NME oder MUE lautete. Bei keinem Hund wurde *A. phagocytophilum*-DNA mittels PCR aus Gehirngewebe oder Liquor festgestellt (Barber et al. 2010).

Diagnose:

Der Antikörpernachweis ist wegen der hohen Seroprävalenz diagnostisch unzureichend (Jäderlund et al. 2007; Kohn et al. 2011). Aufgrund des akuten Verlaufes der Erkrankung ist bei ca. 40 % der klinisch erkrankten Tiere zum Zeitpunkt der Vorstellung kein erhöhter Antikörpertiter nachweisbar (Greig et al. 1996; Kohn et al. 2008; Granick et al. 2009). Ein mindestens vierfacher Titeranstieg des Antikörperspiegels gegen *A. phagocytophilum* mittels IFAT oder ELISA im selben Labor gilt als diagnostisch (Greig et al. 2012).

A. phagocytophilum bildet in Granulozyten Einschlusskörperchen (Morulae), die lichtmikroskopisch 4-14 Tage nach Infektion über ca. 4-8 Tage nachweisbar sind (Egenvall et al. 1998). In einer Studie wurde granulozytäre Anaplasrose bei 18 Hunden mittels PCR diagnostiziert. Bei 10 der 18 Hunde waren Morulae nachweisbar (Kohn et al. 2008). Der Nachweis von DNA mittels PCR aus Blut ist sensitiver als der Nachweis von Einschlusskörperchen während der aktiven Infektion (Egenvall et al. 2000a). In einer Studie wurde das Blut von 522 Hunden mittels PCR auf *A. phagocytophilum*-DNA untersucht. 30 der 522 Hunde (5,7 %) waren PCR-positiv. 20 dieser Hunde waren klinisch krank, 10 Hunde waren klinisch gesund (Kohn et al. 2011).

2.2.2.2 Monozytäre Ehrlichiose

Ätiologie:

Der Erreger der monozytären Ehrlichiose, *Ehrlichia canis*, ist ein obligat intrazelluläres, gram-negatives, zwischen 0,2 und 2 µm großes Bakterium. Es gehört zur Ordnung der *Rickettsiales* und infiziert Monozyten. Ehrlichiose kann durch Sekundärinfektionen, z. B. mit Babesien verkompliziert werden (Trapp et al. 2006).

Der wichtigste Überträger von *E. canis* ist die „Braune Hundezecke“ (*Rhipicephalus sanguineus*). Die Zecken können den Erreger bis zu fünf Monaten beherbergen (Harrus et al. 2012).

Infektionen des Menschen mit dem Erreger kommen vor, allerdings vermutlich nur durch Übertragung durch Zecken. Eine direkte Übertragung vom Hund auf den Menschen ist unwahrscheinlich (Stich et al. 2008).

Verbreitung:

E. canis-Infektionen werden heutzutage in Deutschland als Reisekrankheit angesehen.

Es wurden einzelne Fälle bei Hunden, die noch nicht im Ausland waren, beschrieben (Jensen et al. 2007b). Es ist bislang nicht geklärt, inwieweit autochthone Infektionen aufgrund der Ausbreitung der „Braunen Hundezecke“ auch in Deutschland vorkommen.

Neurologische Symptome:

Monozytäre Ehrlichiose kann einen akuten oder chronischen Verlauf nehmen. Die Infektion kann auch subklinisch bleiben (Harrus et al. 2012).

Die akute Phase der Infektion tritt einige Wochen nach Infektion auf und kann bis zu einem Monat andauern. Sie ist durch Fieber und Blutbildveränderungen gekennzeichnet. Weitere Symptome der akuten Ehrlichiose sind u.a. Hyperästhesie und Muskelkontraktionen (Harrus et al. 2012).

Kann der Organismus die Infektion nicht abwehren, tritt die chronische Phase ein. Bei der chronischen Ehrlichiose wurde Meningoenzephalitis in Fallberichten beschrieben (Woody und Hoskins 1991).

Neurologische Symptome bei der kaninen Ehrlichiose sind laut Literatur Ataxie, epileptiforme Anfälle, Para- oder Tetraparese mit Defiziten im Bereich des unteren Motoneuron oder des oberen Motoneuron, Stupor, Vestibularsyndrom, spinale Schmerzen und Halsbiegeschmerz (Woody 1985). Es liegen keine neueren Studien zu dieser Erkrankung vor.

Die neurologischen Störungen werden auf Plasmazellinfiltration der Meningen oder Blutungen in das Gehirn- oder spinale Parenchym zurückgeführt (Woody et al. 1991).

In einer Studie mit 62 Hunden zeigten 5 Hunde neurologische Symptome, bei denen ein Zusammenhang mit Ehrlichiose vermutet wurde (Frank und Breitschwerdt 1999). Nur bei drei dieser Hunde schien eine primäre ZNS-Infektion die Ursache der Symptome zu sein.

Liquoranalysen ergaben bei zwei dieser Hunde eine erhöhte Proteinkonzentration und eine erhöhte Zellzahl. Es wurde keine PCR aus dem Liquor dieser Patienten durchgeführt. Ein Hund mit Paraplegie und Verlust von Tiefenschmerz wurde post-mortem untersucht. Die dabei gefundenen spinalen Blutungen werden auf die schwere Thrombozytopenie zurückgeführt. Bei einem anderen Hund mit Kopfzittern und Ataxie wurde vermutet, dass die Ursache der Symptome eine Hyperviskosität sekundär zu einer Hypergammaglobulinämie sei (Frank et al. 1999).

Diagnose:

Eine Diagnose aufgrund des klinischen Erscheinungsbildes ist nicht möglich. Blutbildveränderungen wie Thrombozytopenie, Anämie und Neutropenie können die Diagnose unterstützen (Harrus et al. 2012).

Der Erreger lässt sich im Blut oder in Proben von Lunge und anderen Organen mittels Giemsa-Färbung und Immunfluoreszenztests nachweisen. Die Monozyten und Lymphozyten zeigen eine typische Morula-Struktur. Selten können Morulae im Liquor oder Blut gefunden werden (Meinkoth et al. 1989). Die Sensitivität des mikroskopischen Nachweises ist niedriger als die der Serologie oder des DNA-Nachweis mittels PCR (McQuiston et al. 2003).

E. canis kann über PCR in Blut und Geweben nachgewiesen werden. Die auf dem p30-Gen basierte PCR hat eine höhere Sensitivität als die auf 16S rRNA basierte PCR (Stich et al. 2002). Weniger sensitiv ist ein Antikörpernachweis im Serum: bei einem IFA-Titer von 1:64 oder höher ist ein Verdacht auf eine *E. canis*-Infektion zu stellen. In der Frühphase der Infektion kann der IFAT negativ sein (Harrus et al. 2012). Zu serologischen oder PCR-Untersuchungen aus Liquor liegen bisher keine experimentellen Daten vor.

Einige diagnostische Kriterien aus der Humanmedizin (Olano et al. 1999) können auf *E. canis*-Infektionen übertragen werden (Waner et al. 2001). Mögliche Kreuzreaktionen, z. B. mit *A. phagocytophilum*, müssen in Betracht gezogen werden (Waner et al. 2001). IFA-Antikörpertiter von 1:80 oder niedriger werden als fraglich angesehen. In solchen Fällen ist eine weitere serologische Untersuchung nach zwei bis drei Wochen, eine PCR-Untersuchung oder ein Immunoblot zur Diagnosstellung durchzuführen (Neer et al. 2002).

2.2.3 Bartonellose

Ätiologie:

Bakterien der Gattung *Bartonella* sind fakultativ intrazelluläre gram-negative Erreger. Sie befallen bevorzugt Erythrozyten, sind stark wirtsadaptiert und rufen oft persistierende subklinische Infektionen hervor (Breitschwerdt et al. 2004).

Es gibt mindestens 22 *Bartonella* Spezies und Subspezies, von denen sieben beim Hund isoliert wurden. Die bedeutendsten sind der Zoonoseerreger *B. henselae* (Erreger der „cat scratch disease“) und *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* (Boulouis et al. 2005).

Koinfektionen mit anderen CVBD-Erregern sind möglich, da Zecken Träger von mehreren Erregern sein können (Schouls et al. 1999). Sie können das klinische Bild verändern und somit die Diagnose erschweren: Seroreaktivität gegen *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* wurde oft bei Hunden beobachtet, die auch gegen andere CVBD-Erreger seroreaktiv waren, u.a. *E. canis*, *Babesia* spp. oder *Rickettsia rickettsii* (Breitschwerdt et al. 1998; Kordick et al. 1999; Breitschwerdt und Maggi 2009).

Verbreitung:

Die Prävalenz von *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* variiert beim Hund weltweit zwischen 1 % und 38 % (Guptill 2010).

In den USA ist die Seroprävalenz in der Hundepopulation generell niedrig. Sie ist jedoch variabel: in einer Studie, in der 1920 klinisch kranke Hunde aus North Carolina und umgebenden Staaten untersucht wurden, lag sie bei 3,6 % (Pappalardo et al. 1997). In einer Studie, in der 9030 klinisch kranke Hunde aus den gesamten USA untersucht wurden, lag die Seroprävalenz bei 1,7 % (Breitschwerdt et al. 2010).

Die Seroprävalenz von *B. henselae* liegt weltweit zwischen 10 % und 35 % (Guptill 2010). In einer Studie in den USA lag sie bei gesunden Hunden bei 10,1 % und bei erkrankten Hunden bei 27,2 % (301 kranke Hunde, 99 gesunde Hunde) (Breitschwerdt et al. 2004; Solano-Gallego et al. 2004). In einer Studie, in der 9030 klinisch kranke Hunde aus den gesamten USA untersucht wurden, lag die Seroprävalenz bei 3,4 % (Breitschwerdt et al. 2010). In Großbritannien wurde eine Seroprävalenz von *B. henselae* bei Hunden von 3 % ermittelt (100 untersuchte Hunde) (Barnes et al. 2000). In Deutschland und Frankreich wurde *B. henselae*-DNA in Flöhen (n=952) mittels PCR nachgewiesen. Die Gesamtprävalenz lag in dieser Studie bei 3,5 % (Just et al. 2008). Mittels Real-Time-PCR konnte 2010 eine deutlich höhere PCR-Prävalenz von *Bartonella* spp. bei Hunden in Deutschland ermittelt werden. Bei 50 von 159 untersuchten Hunden konnte *Bartonellen*-DNA im Blut nachgewiesen. *B. henselae* wurde bei 28,3 % der untersuchten Hunde, *B. elizabethae* bei 3,1 % der untersuchten Hunde isoliert (Mietze 2010). Das Vorhandensein von *Bartonella* spp. ist regional stark unterschiedlich und es sind weitere Studien notwendig, um die aktuelle Lage besser zu ermitteln (Mietze 2010).

Neurologische Symptome:

Beim Menschen können Bartonellen an einer Vielfalt von neurologischen Veränderungen von Aphasie bis zu „Grand Mal“ Anfällen beteiligt sein (Wong et al. 1995).

Bei einem mit *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii* infizierten Hund wurde eine Meningitis beobachtet (Mellor et al. 2006).

Zudem wurde eine positive Serologie auf *B. henselae*-Antigenen mit granulomatöser Meningoenzephalitis (GME) in Verbindung gebracht (zwei der vier Patienten mit GME hatten erhöhte Serum-Antikörpertiter) (Goodman und Breitschwerdt 2005).

In einer retrospektiven Studie mit 24 erkrankten *Bartonella*-seropositiven Hunden wurde bei vier Hunden (16 %) neurologische Symptomatik als Vorstellungsgrund angegeben (Breitschwerdt et al. 2004). Bei einem Hund mit Verdacht auf idiopathische Epilepsie wurde *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii* als mögliche Ursache für eine chronische Hirnhautentzündung vermutet (Breitschwerdt et al. 2004).

Weiterhin wurde *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii* bei drei Hunden mit Meningoradikuloneuritis in Verbindung gebracht. Der Antikörper- bzw. DNA-Nachweis wurde mittels IFAT aus Serum und/oder PCR aus Blut durchgeführt. Bei zwei Hunden wurde die Diagnose der Meningoradikuloneuritis histologisch gestellt, bei einem Hund wurde die Erkrankung aufgrund der Lokalisation der extraduralen kompressiven Umfangsvermehrung und der Liquorveränderungen diagnostiziert (Cross et al. 2008). DNA von *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii* wurde mittels PCR aus dem Gehirn eines Hundes mit histopathologisch nachgewiesener GME isoliert (Barber et al. 2010).

Diagnose:

Sowohl die Serologie als auch der direkte Nachweis von Bakterien sind von begrenztem diagnostischem Wert. Bei Hunden und bei Menschen mit einer aktiven Infektion (mittels PCR nachgewiesen) mit *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* und *B. henselae* konnten Antikörper nur bei einem Teil der Patienten mittels IFAT ermittelt werden (Duncan et al. 2007b; Cherry et al. 2009).

Jedoch deutet das Vorhandensein von Antikörpern nur auf eine vorangegangene Exposition hin (Duncan et al. 2005). Ein Teil der infizierten Hunde hat keine erhöhten Antikörpertiter (Duncan et al. 2005). Des Weiteren treten erhöhte Serum-Antikörpertiter bei gesunden und bei kranken Tieren auf. Sie korrelieren daher nicht immer mit klinischer Erkrankung (Breitschwerdt et al. 2009). Titerpaare könnten für eine akute Infektion diagnostisch sein, allerdings ist ein negatives Ergebnis nicht beweisend (Duncan et al. 2005).

Da bei infizierten Hunden geringe Keimzahlen vorkommen, können falsch-negative PCR-Ergebnisse bei *Bartonella*-Infektion auftreten (Duncan et al. 2007a; Breitschwerdt et al. 2009). Die Kultivierung von *Bartonella* spp. erweist sich als schwierige und wenig sensitive Nachweismethode, weil die Bakterien langsam wachsen und sehr spezifische Ansprüche an Kulturmedien aufweisen. Um diese Probleme zu lösen, wurden zwei Kulturmedien entwickelt: erstens ein von Riess und Mitarbeiter entwickeltes Medium (Riess et al. 2008), zweitens das "Bartonella α -Proteobacteria growth medium" (BAPGM) (Maggi et al. 2005). Trotz dieser neuen Methoden bleibt die Kultivierung eine sehr aufwändige Methode. Es wurde eine Real-Time-PCR entwickelt, mit welcher verschiedene *Bartonella* spp. nachgewiesen werden können. Diese PCR scheint eine höhere Sensitivität zu haben als bisher angewandte Methoden (Mietze 2010).

Bedeutung von *Bartonella* spp. als Zoonoseerreger:

Seit dem Anfang der neunziger Jahre ist die Bedeutung des Genus *Bartonella* als Zoonoseerreger aufgrund der neuen diagnostischen Methoden und den daraus folgenden Erkenntnissen neu definiert. Beim Menschen sind mindestens sechs, möglicherweise sogar 11 Spezies oder Subspezies verantwortlich für ein breites Spektrum an Symptomen und für pathologische Veränderungen in verschiedenen Organsystemen (Chomel et al. 2006). Der Hund gilt als natürliches Modell für humane Bartonellose (und umgekehrt) (Chomel et al. 2003).

Es scheint, dass Bartonellen von Wildtieren und Haustieren auf den Menschen übertragen werden können. Inwiefern diese Infektionen bei Hund und Mensch zu selbstlimitierenden Erkrankungen oder chronischer Arthritis, Müdigkeit, Myalgie, Endokarditis oder gar anderen klinischen Symptomen führt, bleibt unklar (Breitschwerdt et al. 2010).

Einige Fallberichte beschreiben neurologische Komplikationen von „cat scratch disease“ bei Kindern (Gerber et al. 2002; Cherinet und Tomlinson 2008). *B. henselae* kann auch bei immunkompetenten Erwachsenen neurologische Symptome hervorrufen (Marienfeld et al. 2010).

Es gibt Hinweise darauf, daß *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* auch humanpathogen sein kann. *B. henselae* und *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* wurden bei sechs immunkompetenten Patienten mit chronischen neurologischen oder neurokognitiven Symptomen wie epileptiformen Anfällen, Ataxie, Amnesie und/oder Tremor nachgewiesen (Breitschwerdt et al. 2008). Alle Patienten hatten Kontakt zu Säugetieren oder zu Arthropoden gehabt.

Es ist noch unklar, bis zu welchem Grad der Hund als Reservoir für eine *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii* Infektion beim Menschen dienen kann. Obwohl Hunde bei der Übertragung von *B. henselae* durch Kratzer und Bisse auf Menschen beteiligt waren (Schiellerup et al. 2004; Chung et al. 2005), ist dieser Übertragungsweg noch nicht eindeutig geklärt. Es sind weitere Studien notwendig, um eine Übertragung vom Tier auf den Menschen eindeutig nachzuweisen (Chomel et al. 2006).

2.2.4 Lyme Borreliose

Ätiologie:

Lyme Borreliose wird durch schraubenförmige, gram-negative Bakterien der Gruppe Lyme borreliosis borreliae des Genus *Borrelia* verursacht. Borrelien sind kleine (0,2-30 µm) Spirochäten. Das Spezies Komplex *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B.b.s.l.*) wurde in mindestens 13 Genospezies unterteilt. In Europa treten vor allem *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* und *B. afzelii* auf. Koinfektionen mit Borrelien verschiedener Gruppen wurden nachgewiesen (Kent 2012).

Die drei *Borrelia* Gruppen scheinen gemeinsame Wirte (z.B. Nager) zu haben. Borrelien können nicht als frei lebende Organismen in der Außenwelt überleben. Ihre wichtigsten Vektoren sind Zecken des Ixodes-Komplexes, in Europa und Eurasien *Ixodes ricinus* (im Westen) und *Ixodes persulcatus* (im Osten) (Kent 2012).

Verbreitung:

Die Lyme Borreliose ist eine häufig diagnostizierte Vektor-übertragene Erkrankung beim Menschen. Die Verteilung der Genospezies von *B. burgdorferi* ist in Deutschland je nach Region unterschiedlich. In einer Studie, in der Zecken in der Region um Hannover untersucht wurden, lag die Prävalenz bei 26 % (Strube et al. 2011). In Hessen wurde bei 344 (9,5 %) von 3615 untersuchten Zecken *B. burgdorferi* sensu lato DNA mittel PCR nachgewiesen (Bingsohn et al. 2013). In Bayern lag die Prävalenz bei 15,8 % (599 untersuchte Zecken) (Vogel et al. 2012).

In der Humanmedizin wurde bei Kindern eine Seroprävalenz von 4,8 % ermittelt, wobei auch dort regionale Unterschiede auffielen (Dehnert et al. 2012). Seit Beginn der Meldepflicht in den neuen Bundesländern und in Berlin wurden zwischen 2002 und Ende 2006 23.394 Erkrankungen an das Robert-Koch-Institut gemeldet. Im Jahr 2002 traten 17,8 Fälle pro 100.000 Einwohner auf, 2006 waren es 37,3 Fälle pro 100.000 Einwohner. Dies kann zum Teil auch auf die zunehmende Meldefreudigkeit der Ärzte zurückgeführt werden (Epidemiologisches Bulletin des RKI, 2007).

In der deutschen Hundepopulation wurden 2007 regionale Unterschiede der Seroprävalenz für *B. burgdorferi* von 1,9 % bis 10,3 % festgestellt (Krupka et al. 2007). In der Region um München wurde in einer Studie, in der 448 Hunde untersucht wurden, eine Seroprävalenz von 4,9 % (weitere 2 % der Hunde waren gleichzeitig seropositiv für *A. phagocytophilum* und *B.b.s.l.*) ermittelt (Barth et al. 2012).

Neurologische Symptome:

Beim Menschen wird eine Infektion mit *B.b.s.l.* mit neurologischen Symptomen in Verbindung gebracht. *B.b.s.s.*, *B. afzelii* und *B. garinii* wurden beim Menschen u.a. mit Meningitiden assoziiert (Balmelli und Piffaretti 1995). Die sogenannte klinische Neuroborreliose tritt Wochen bis Jahre nach Infektion auf. Sie geht mit lymphozytärer Meningitis, peripherer/kranialer Neuropathie oder Enzephalitis / Enzephalopathie einher. In schwedischen Studien wurde eine Infektion mit *B.b.s.l.* beim Menschen in 11 bis 20 % der Fälle von peripherer Fazialislähmung serologisch nachgewiesen (Olsson et al. 1988).

Experimentell mit *B.b.s.l.* infizierte Hunde zeigten keine neurologischen Symptome (Appel et al. 1993; Krimer et al. 2011). Bei einzelnen Hunden wurden histopathologische Veränderungen im ZNS gefunden: drei von 22 Hunden entwickelten eine ggr. fokale Meningitis, ein Hund eine ggr. fokale Enzephalitis und 18 von 22 Hunden eine ggr. Perineuritis (Chang et al. 2001).

In Japan wurden zwei Fälle beschrieben, bei denen Hunde nach einem Zeckenbiß neurologische Symptome entwickelten. Der erste Patient war ein 2 Jahre alter Mischlingshund, der mit Krämpfen, Hyperreflexie und Astasie (mangelnde Sicherheit beim Stehen) vorgestellt wurde. Es wurden positive IgG- und IgM-Titer mittels ELISA im Serum ermittelt. Die neurologischen Symptome verschwanden nach Behandlung mit Penicillin und Streptomycin. Es wurde ein Spirochäten-Stamm (P427a) aus dem Mitteldarm der auf dem Hund gefundenen *Ixodes persulcatus* Zecke isoliert. Dieser konnte anhand der morphologischen Charakteristika, der immunologischen Eigenschaften und dem Protein Profil als *B. burgdorferi* definiert werden. Der zweite Patient war ein 2 Jahre alter Golden Retriever, der mit neurologischen Symptomen vorgestellt wurde (Symptome nicht genauer spezifiziert). Der Hund hatte einen positiven IgG Titer gegen *B. burgdorferi*. Die Symptomatik verbesserte sich unter antibiotischer Therapie (Azuma et al. 1993).

Eine niederländische Studie, in der 1177 Hunde serologisch auf *B.b.s.l.* untersucht wurden (davon 60 Hunde mit verschiedenen neurologischen Symptomen), fand keine Assoziation zwischen einem positiven serologischen Ergebnis für *B.b.s.l.* und der klinischen Symptomatik (Goossens et al. 2003).

In einer retrospektiven Studie in Schweden konnte keine statistisch relevante Beziehung zwischen Seropositivität für *B.b.s.l.* und klinischer Symptomatik ermittelt werden. Es wurden insgesamt 243 Hunde mit neurologischen Symptomen serologisch auf *B.b.s.l.* Infektion getestet: 21 Hunde waren seropositiv (8,6 %). 2 von 30 Hunden mit entzündlicher ZNS-Erkrankung waren seropositiv (Jäderlund et al. 2007). Die anderen Hunde litten z.B. an Neoplasie, Epilepsie, peripherer Neuropathie oder degenerativer Rückenmarkserkrankung (Jäderlund et al. 2007).

Auch in einer prospektiven Studie, in der 54 Hunde mit neurologischer Symptomatik (darunter 14 Hunde mit entzündlicher ZNS-Erkrankung) untersucht wurden, wurde keine relevante Verbindung zwischen positivem Erregernachweis von *B.b.s.l.* mittels PCR in Blut oder Liquor und neurologischer Symptomatik nachgewiesen (Jäderlund et al. 2009). In experimentellen Studien entwickelten infizierte Hunde ggr. fokale Meningitis, aber keine neurologischen Symptome (Chang et al. 2001; Krimer et al. 2011).

Diagnose:

Beim Menschen wird Neuroborreliose oft mit Meningitis, Enzephalitis oder peripheren Neuropathien assoziiert. In der Humanmedizin ist das Vorhandensein einer Pleozytose im Liquor im Zusammenhang mit intrathekal produzierten Antikörpern von großer diagnostischer Bedeutung (Cerar et al. 2008).

Da Bakterien der Gruppe *B.b.s.l.* in Geweben migrieren und normalerweise nicht im Blut gefunden werden, wird PCR aus Blut als unzureichendes diagnostisches Mittel bewertet (Jäderlund et al. 2009). Das Vorhandensein von migrierenden Bakterien im Liquor könnte jedoch über PCR ermittelt werden. PCR aus Liquor cerebrospinalis wurde in der Studie von Jäderlund einer PCR aus Blut vorgezogen. Im Blut wurden serologische Tests durchgeführt, wenn nicht genug Liquor für Serologie und PCR vorhanden war (Jäderlund et al. 2009).

Der serologische Nachweis von Antikörpern im Blut ist aufgrund der hohen Seroprävalenz diagnostisch unzureichend. Die Seropositivität hält bei *B.b.s.l.* bis zu über ein Jahr nach Infektion an (Appel et al. 1993). Es wurde ein serologischer Test zur Ermittlung von Antikörpern gegen das C6-Peptid entwickelt, um eine Unterscheidung zwischen natürlich infizierten und geimpften Patienten zu ermöglichen. Das C6-Peptid wird durch eine Gensequenz kodiert, die nur bei einer Infektion und Vermehrung in einer Säugetierzelle exprimiert wird. Die Region ist bei vielen *B. burgdorferi* Stämmen genetisch, strukturell und

antigenetisch hoch konserviert (Liang et al. 2000a). Die Sensitivität und Spezifität des Tests liegen im Vergleich zum Immunoblot bei 98,8 % und 100 %. Eine quantitative Aussage über den Antikörpertiter ist möglich. Das ELISA auf das C6-Peptid ermöglicht den Nachweis von Antikörpern gegen *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* und *B. afzelii* (Liang et al. 2000b).

2.2.5 Frühsommer-Meningoenzephalitis

Ätiologie:

Der Verursacher der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) ist das FSME-Virus. Es handelt sich um ein behülltes Einzelstrang-RNA-Virus aus der Familie der Flaviviridae, Genus Flavivirus. In der Untergruppe Zeckenzephalitisvirus sind derzeit drei Subtypen (*Western*, *Siberian*, *Far Eastern Subtype*) identifiziert worden. In Europa kommt der *Western Subtype* (FSME-Virus) vor.

Die wichtigsten Krankheitsüberträger in Mitteleuropa sind Zecken der Gattung *Ixodes*, vor allem der „Gemeine Holzbock“ (*Ixodes ricinus*). Das FSME-Virus ist ein Zoonoserreger.

Verbreitung:

In Deutschland ist die FSME beim Menschen seit 2001 meldepflichtig. In Risikogebieten liegt der Anteil der FSME-infizierten Zecken bei etwa 0 % bis 0,2 % (3947 untersuchte Zecken) (Bingsohn et al. 2013).

Beim Menschen liegt die Seroprävalenz in Risikogebieten bei 0,5 bis 5 % (Robert-Koch-Institut 2012). Im Jahr 2009 waren Risikogebiete auf den süddeutschen Raum begrenzt (v.a. Bayern und Baden-Württemberg). Nördlich von Südhessen oder Thüringen wurden keine Fälle gemeldet.

Bei Haushunden sind Einzelfälle beschrieben, insgesamt scheinen sie aber wenig empfänglich zu sein (Reiner und Fischer 1998). Auch in Gebieten mit hohen Seroprävalenzen entwickeln nur wenige Hunde klinische Symptome. In einer Studie aus Dänemark entwickelte keiner von 125 getesteten Hunden neurologische Symptome, wobei die Seroprävalenz mittels ELISA bei 30 % und mittels Neutralisationstest bei 4,8 % lag (Lindhe et al. 2009; Pfeffer und Dobler 2011).

Neurologische Symptome:

Die Krankheit verläuft beim Menschen häufig asymptomatisch. Ca. 40 % der infizierten Patienten zeigen Meningoenzephalitis (Kaiser 2012).

Symptome sind Fieber mit Kopf- und Gliederschmerzen. Diese bilden sich nach wenigen Tagen wieder zurück. Bei einem geringen Anteil (etwa 10 %) der symptomatischen Patienten kommt es etwa eine Woche nach der Entfieberung zu einem zweiten Fiebergipfel. Auch Zeichen einer Gehirnbeteiligung (Kopfschmerzen, Erbrechen) treten in diesem Stadium auf. Bei Fortschreiten der Meningoenzephalitis wurden Bewusstseinsstörungen bis hin zum Koma dokumentiert. Diese Symptome können mehrere Monate anhalten.

In Süddeutschland wurden beim Hund Einzelfälle mit Fieber, Bewusstseinsstörungen, Lähmungen und Ausfällen der Gehirnnerven beschrieben (Reiner und Fischer 1998). Experimentelle Infektionen von Welpen führten zu keiner klinischen Symptomatik. Infizierte Hunde können asymptomatisch sein, aber auch schwere bis fatale Enzephalitiden entwickeln. Schwer erkrankte Hunde haben Fieber und multifokale neurologische Symptome, wie Myoklonus, Krämpfe, Tetraparese, Stupor, Hyperästhesie und multiple Kopfnervendefizite. Rottweiler sind überrepräsentiert (8 von 22 beschriebenen Fällen). Die Symptome sind meistens progressiv und Hunde werden innerhalb von 4 bis 7 Tagen euthanasiert oder sterben (Tipold et al. 1993b; Weissenböck et al. 1998b; Pfeffer et al. 2011).

Diagnose:

Im Liquor tritt, wie bei anderen viralen Infektionen des ZNS, eine mononukleäre Pleozytose auf. Antikörper können in Serum und Liquor gemessen werden. Allerdings haben in endemischen Gebieten auch klinisch unauffällige Hunde erhöhte Antikörpertiter. Nur ein Anstieg des Antikörpertiters ermöglicht es, die Diagnose stellen zu können (Tipold und Vandeveld 2012). Nachweis von DNA mittels PCR wird noch nicht routinemäßig durchgeführt. In vielen Fällen wird eine definitive Diagnose nur post-mortem histopathologisch gestellt (Tipold et al. 2012).

2.2.6 Babesiose

Ätiologie:

Die Babesiose des Hundes (Hundemalaria) wird durch Protozoen der Gattung *Babesia* hervorgerufen. *Babesia* werden dem Stamm der Apicomplexa zugeordnet. Babesien werden in sogenannte große (*Babesia canis*) und kleine Babesien (*Babesia gibsoni*) eingeteilt.

B. canis misst 2-4 x 4-7 µm und kommt weltweit vor. Man unterscheidet drei Unterarten: *B. canis canis*, *B. canis vogeli* und *B. canis rossi* (Birkenheuer 2012).

Verbreitung:

B. canis canis ist in Mitteleuropa am häufigsten für Erkrankungen beim Hund verantwortlich. Es wird durch die Auwaldzecke (*Dermacentor reticulatus*) übertragen und ist sehr pathogen (Birkenheuer 2012). *B. canis vogeli* kommt in Mitteleuropa selten vor und verursacht milde Krankheitsverläufe. *B. canis rossi* kommt nur südlich der Sahara vor. *B. gibsoni* misst 1,1-2 x 1,2-4 µm und ist vor allem in Asien und in den U.S.A. verbreitet. 2007 wurden erstmals zwei autochthone Infektionen mit dem asiatischen Genotyp in Deutschland beschrieben (Hartelt et al. 2007).

Die Seroprävalenz (IFAT) von *B. canis* spp. bei importierten Hunden in Deutschland lag bei 4,9 % (997 untersuchte Hunde) (Hamel et al. 2011).

Im Folgenden werden nur Infektionen mit *B. canis* (große Babesien) besprochen.

Neurologische Symptome:

Es wurde eine atypische Form der Babesiose (zerebrale Babesiose) beschrieben, bei der neurologische Symptome im Zusammenhang mit infizierten Erythrozyten auftreten.

1-10 % der infizierten Hunde entwickeln eine zerebrale Babesiose (Birkenheuer 2012). Die Klinik verläuft meist perakut und kann mit epileptiformen Anfällen, Bewusstseinsstörungen, Nachhandparese, Ataxie, Koma, Aggressivität, Nystagmus und anderen neurologischen Ausfallserscheinungen einhergehen (Boozer und Macintire 2003; Birkenheuer 2012).

Die Pathogenese ist unzureichend geklärt. Es wurde postuliert, dass infizierte Erythrozyten in der Mikrovaskulatur des ZNS sequestriert werden, was zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren, Gewebhypoxie und neurologischen Symptomen führt (Schettlers und Eling 1999). Zerebrale Babesiose hat eine hohe Mortalitätsrate.

Es wurde ein Fall einer Infektion mit *B. canis* in Belgien beschrieben (Van de Maele et al. 2008): eine CT-Untersuchung des Gehirns zeigte eine generelle kortikale Atrophie, die mit Befunden bei Menschen mit ZNS-Entzündungen vergleichbar war.

Diagnose:

Die Diagnose kann über mikroskopische Darstellung der Mikroorganismen in Erythrozyten im Blutaussstrich gestellt werden. Bei niedriger Parasitämie (in der Frühphase der Infektion und in den Phasen zwischen den Vermehrungsschüben im Blut) können jedoch falsch negative Befunde auftreten (Birkenheuer 2012). Die Giemsa-Färbung ist im Vergleich zu den üblichen Schnelfärbungen am zuverlässigsten. *B. canis* zeigt sich als paarweise oder in

größeren Gruppen rosettenförmig angeordnete, birnenförmige Gebilde in den roten Blutkörperchen.

Ein IFA kann in Mitteleuropa aufgrund der niedrigen Seroprävalenz zur Diagnosesicherung genutzt werden. Serologische Untersuchungen sind bei akutem Verlauf ohne Bedeutung, da die Tiere noch keine Antikörper gebildet haben. Antikörper sind frühestens 10 Tage nach der Infektion nachweisbar. Bei chronischem Verlauf treten zyklische Veränderungen des Antikörperspiegels auf (Bobade et al. 1989).

PCR aus EDTA-Blut ist die sensitivste und spezifischste Nachweismethode für *B. canis* (Birkenheuer 2012).

2.2.7 Koinfektionen

Da einige CVBD-Erreger die gleichen Vektoren befallen, können Zecken und andere Ektoparasiten gleichzeitig oder nacheinander verschiedene Erreger übertragen. Daher sind bei freilaufenden Hunden Koinfektionen mit verschiedenen CVBD-Erregern nicht auszuschließen. Bei Koinfektionen werden eventuell schwerwiegendere Symptome beobachtet. Dies wurde z.B. bei gleichzeitiger Infektion mit *A. phagocytophilum* und *Borrelia burgdorferi* beschrieben (Beall et al. 2008).

In Endemiegebieten wurden Fälle beschrieben, bei denen Koinfektionen mit *Babesia vogeli* und *E. canis* mit schwerwiegenden neurologischen Symptomen in Zusammenhang gebracht wurden (Trapp et al. 2006). In der Studie hatten neurologische Symptome eine höhere Prävalenz bei Hunden, die Antikörper gegen beide Mikroorganismen aufwiesen.

In Thailand wurde ein komplizierter Fall einer Koinfektion von *E. canis* und Babesien (*B. canis*) beschrieben, bei welchem der Hund schwere neurologische Störungen zeigte (Assarasakorn und Niwetpathomwat 2007).

2.3 Durch andere infektiöse Erreger verursachte Meningoenzephalitiden

2.3.1 Bakterielle Enzephalitis

Ätiologie und Verbreitung:

Bakterielle Enzephalitiden und Meningitiden sind bei Kleintieren selten. Die Infektion kann direkt durch Schädeltrauma oder hämatogen nach Endokarditiden und Infektionen des Urogenitaltrakts entstehen (Kent 2012). Beim Hund wurden u.a. *Staphylokokken*, *Pasteurellen*, *Actinomyces* und *Nocardia* Spezies sowie Anaerobier (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptokokkus* und *Eubacterium*) isoliert (Dow et al. 1988; Radaelli et al. 2002).

Symptome:

Bakterielle Enzephalitiden und Meningitiden kommen vor allem bei erwachsenen Hunden vor. Es treten oft extraneurale Symptome auf, die auf einen Primärherd deuten (Kent 2012). Die Symptomatik ist meist seitenbetont. Die Symptome treten häufig akut auf und verlaufen progressiv (Tipold 1995a). Die neurologischen Ausfälle können je nach Ausmaß der meningealen Entzündung auf eine multifokale oder eine fokale Lokalisation deuten. Die Bandbreite der möglichen Symptome, wie z.B. Hyperästhesie, Bewusstseinsveränderungen oder Kopfnervendefizite, ist sehr groß (Kent 2012).

Diagnose:

Die Befunde der Allgemeinuntersuchung und das Vorhandensein eines extraneuralen Infektionsherdes sind diagnostisch wichtig. Die Blutuntersuchung ergibt meist eine

Leukozytose mit Neutrophilie und Linksverschiebung. Eine Harnuntersuchung ist empfehlenswert, um eine eventuelle Pyelonephritis zu diagnostizieren (Tipold 1995a). Die Liquoruntersuchung ergibt bei nicht vorbehandelten Tieren hohe Proteinwerte und eine starke Pleozytose. Blut- und Liquorkultur können zur Diagnosesicherung durchgeführt werden. Eine Liquorkultur gestaltet sich allerdings als sehr schwierig. In einer Untersuchung wurde bei einem Hund mit neurologischen Ausfallserscheinungen und negativer Liquorkultur eine Streptokokkeninfektion mittels Universal Bacterial PCR aus Liquor diagnostiziert (Messer et al. 2008). Bei dieser PCR werden einerseits 16S rRNA Fragmente, die alle Bakterien gemeinsam haben (mittels Universal Primer), andererseits Sequenzen, die genus- oder speziesspezifisch sind, amplifiziert (Messer et al. 2008). Die PCR auf 16S rRNA aus Liquor hat eine Sensitivität von 86 % und eine Spezifität von 97 % im Vergleich zum Goldstandard, der Kultur (Schuurman et al. 2004).

2.3.2 Gehirnabszesse

Bei Menschen werden Gehirnabszesse oft durch Staphylokokken und Streptokokken hervorgerufen und treten meist als Folge von Hautinfektionen auf. Gehirnabszesse kommen beim Hund seltener vor als bakterielle Enzephalitiden. Dies kann daran liegen, dass das ZNS kein Narbengewebe bilden kann, das die Verbreitung von pyogenen Infektionen hemmen würde. Spinale epidurale Abszesse kommen öfter vor als Gehirnabszesse, weil im Epiduralraum mehr Platz vorhanden ist (Kent 2012).

2.3.3 Staupe

Ätiologie und Verbreitung:

Hundestaupe wird durch das Staupevirus (Canine Distemper Virus, CDV) verursacht. Es wird dem Genus Morbillivirus in der Familie der Paramyxoviridae zugeordnet. Das Virus kann über alle Se- und Exkrete übertragen werden, meist erfolgt die Übertragung jedoch über Aerosole. Die Krankheitsbilder sind variabel: man unterscheidet die katarrhalische, respiratorische, nervöse und die kutane Form.

Die neurologische Form der Staupe ist die häufigste entzündliche Erkrankung des ZNS beim Hund (Tipold 1995a). Es werden 3 Formen von Staupe unterschieden: Polioenzephalomyelopathie bei jungen Hunden, Leukoenzephalomyelopathie bei erwachsenen Hunden und das „Old Dog Encephalitis Syndrome“ (Thomas 1998).

Es konnte keine Beteiligung von Staupevirus bei Greyhounds mit Greyhound-Meningoenzephalitis nachgewiesen werden (Callanan et al. 2002).

In ähnlichen Studien, in denen Malteser mit nekrotisierender Meningoenzephalitis untersucht wurden, konnte das Staupevirus ebenfalls nicht nachgewiesen werden (Stalis et al. 1995).

Symptome:

Extraneurale Symptome hängen von der Virulenz des Stammes, aber auch von Alter und Immunstatus des Patienten ab. Wahrscheinlich verlaufen mehr als 50 % der Infektionen subklinisch (Greene und Vandeveld 2012b). Die neurologischen Symptome treten meist akut auf und verlaufen progressiv. Sie sind abhängig von der Lokalisation der Infektion. Bei vielen Hunden sind fokale neurologische Defizite vorhanden. Bei der akuten Form können z.B. Anfälle, Hyperästhesie, Para- oder Tetraparese sowie Symptome einer vestibulären oder zerebellären Dysfunktion auftreten (Greene et al. 2012b). Myoklonus wird in 40 % der Fälle beschrieben (Tipold et al. 1995b).

Diagnose:

Im Blutbild ist in 70-90 % der Fälle eine Lymphopenie auffällig. Sie kann mit einer Leukopenie oder einer Leukozytose einhergehen (Tipold 1995a). Weitere Veränderungen wie Monozytose, Anämie oder Thrombozytopenie werden selten beschrieben (Greene et al. 2012b).

Die Liquoruntersuchung ergibt bei der akuten Form keine Veränderungen der Zellzahl und des Proteingehalts (selten wird eine leichte Pleozytose beobachtet). Das Differentialzellbild ist rein mononukleär, d.h. es sind nur Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten und Makrophagen zu finden (Tipold 1995a). Die MRT-Veränderungen sind sehr variabel (Bathen et al. 2008).

Bei der chronischen Form der Erkrankung ergibt die Liquoruntersuchung meist eine Pleozytose und / oder einen erhöhten Proteingehalt. Das Differentialzellbild ist auch bei der chronischen Form mononukleär (Amude et al. 2007).

Die Untersuchung auf Staupe-spezifische Antikörper im Liquor ist nur bedingt aussagekräftig. Die Sensitivität ist bei starker Immunsuppression niedrig, da die Antikörperproduktion im ganzen Organismus eingeschränkt ist (falsch negative Ergebnisse). Auch die Spezifität ist aufgrund einer unspezifischen Lymphozyteneinwanderung in das ZNS begrenzt (falsch positive Ergebnisse) (Greene et al. 2012b).

Aufgrund der sehr unterschiedlichen Veränderungen ist in den meisten Fällen nur eine Verdachtsdiagnose zu stellen. Zur Sicherung der Diagnose ist ein Nachweis mittels PCR notwendig. Eine Staupevirus-PCR kann aus einem Konjunktivaltupfer, aber auch mit Urin oder Liquor durchgeführt werden (Greene et al. 2012b). Ein Nachweis mittels PCR kann schwierig sein, wenn die Zellzahl im Liquor gering ist. In einem Fall mit Meningoenzephalitis unklarer Ätiologie wurde CDV vom Wildtyp mittels einer pan-Paramyxovirus Breitspektrum-PCR im Gehirn eines geimpften Hundes nachgewiesen (Schatzberg et al. 2009).

2.3.4 Tollwut

Ätiologie und Verbreitung:

Der Erreger der Tollwut ist das Tollwutvirus. Es ist ein RNA-Virus, das in die Familie der Rhabdoviridae eingeteilt wird. Es ist weltweit verbreitet.

Tollwut tritt bei vielen Warmblütern, unter anderem beim Menschen, auf. Die Übertragung erfolgt über den Speichel infizierter Tiere. Die Virusausscheidung im Speichel beginnt meist kurz vor dem Auftreten der ersten neurologischen Symptome und bleibt bis zum Tode des Tieres bestehen (ungefähr 20 Tage) (Greene 2012). In Deutschland ist Tollwut anzeigepflichtig. Aufgrund der strengen Überwachung der Wildtierpopulation und des breitflächigen Einsatzes von Impfungen ist Deutschland seit 2008 offiziell Tollwut-frei. Es ist in den Jahren 2008 und 2010 jeweils ein Tollwutfall bekannt geworden (nicht geimpfte Hunde aus Kroatien bzw. Bosnien). Seit 2001 sind in den Mitgliedsstaaten der EU nur insgesamt 18 Fälle registriert worden, die auf eingeführte Hunde zurückgeführt werden konnten. In einer Studie wurde bei Hunden mit Greyhound-Meningoenzephalitis kein Tollwutvirus im Gehirn nachgewiesen (Callanan et al. 2002).

Symptome:

Als extraneurales Symptom ist beim Hund nur eine erhöhte Körpertemperatur auffällig.

Die neurologischen Ausfallserscheinungen treten akut auf und verlaufen progressiv. Sie sind meist multifokal. Der Tod tritt oftmals in wenigen Tagen ein (Fekadu 1993). Aufgrund der unspezifischen Symptomatik gilt Tollwut in Endemiegebieten oder bei ungeimpften Tieren als nicht zu vernachlässigende Differentialdiagnose.

Diagnose:

Bei Tieren mit akut aufgetretenen neurologischen Symptomen, die Kontakt zu gefährdeten Tieren hatten und bei welchen die Impfgeschichte unklar ist, wird eine Verdachtsdiagnose gestellt. Das Blutbild weist keine Veränderungen auf. Die Liquoruntersuchung ergibt eine Proteinerhöhung und eine mononukleäre Pleozytose (Thomas 1998). Eine endgültige Diagnose ist nur durch Nachweis des Virusantigens im Gehirn erkrankter Tiere mittels Immunfluoreszenz in Tollwutinstiuten post-mortem möglich (Thomas 1998).

2.3.5 Bornasche Krankheit

Ätiologie und Verbreitung:

Das Borna Disease Virus (BDV) ist ein einsträngiges RNA-Virus der Ordnung der *Mononegavirales*. Es wurde bei Pferden und Schafen beschrieben (Bode et al. 1994; Durrwald und Ludwig 1997). Bei der Katze wurde die als "Staggering Disease" betitelt Erkrankung in Zusammenhang mit einer Borna-Infektion gebracht. Die Erkrankung wird als "Borna disease-like meningoencephalomyelitis" bezeichnet, da der ätiologische Zusammenhang noch nicht eindeutig geklärt ist. Die Läsionen sind bei Katzen vor allem in Hirnstamm und Ammonshorn ausgeprägt, wobei die starke Mitbeteiligung des Ammonshornes diagnostisch wichtig ist. Ein felines Isolat des Bornavirus wurde teilweise charakterisiert (Lundgren et al. 1995).

Beim Menschen ist umstritten, ob es einen Zusammenhang zwischen BDV-Infektion und psychischen Störungen gibt. Es wurden BDV-spezifische Antikörper, Antigene und RNA bei kranken, aber auch bei klinisch gesunden Menschen gefunden (Bode et al. 1992; Bode et al. 1995; Bode et al. 1996; de la Torre et al. 1996). Es ist auch noch nicht eindeutig geklärt, ob das BDV von Tier auf Mensch übertragbar ist.

Einige Berichte sprechen von Detektion von BDV bei Hunden mit neurologischen Symptomen. In einer Studie aus Österreich wurde BDV retrospektiv mittels Histologie, Immunhistochemie, in situ Hybridisierung und PCR bei einem Hund nachgewiesen. Der Hund hatte eine Vorgeschichte von Anorexie und Apathie und entwickelte akute neurologische Symptome (Weissenbock et al. 1998a). In Japan (Okamoto et al. 2002) wurde eine spontane Infektion bei einem Hund beschrieben. Die Diagnose wurde mittels Histopathologie, Nachweis von BDVp40 Antikörpern und PCR-Nachweis von BDVp24 RNA gestellt. In Finnland wurde BDV bei Menschen und Hunden nachgewiesen (Kinnunen et al. 2007). In einer Studie in Irland wurde kein BDV bei Hunden mit Greyhound-Meningoenzephalitis gefunden (Callanan et al. 2002).

Symptome:

In dem beschriebenen Fall aus Österreich zeigte der BDV-positive Hund nach einer Phase von Apathie akute neurologische Symptome und wurde aufgrund eines Verdachts auf Tollwut oder Staupe euthanasiert (Weissenbock et al. 1998a). Der Hund in Japan hatte akute progressive neurologische Symptome (Okamoto et al. 2002). Bei der Katze ist der Verlauf schleichend. Die wichtigsten Symptome sind intermittierendes Fieber, Verhaltensstörungen und Störungen der Motorik der Hintergliedmaßen.

Diagnose:

Bei Hunden wurde die Diagnose post-mortem histologisch, immunhistochemisch sowie über Antikörper- und RNA-Nachweis im Gehirnschnitt gestellt (Weissenbock et al. 1998a; Okamoto et al. 2002).

2.3.6 Canines Minute-Virus

Ätiologie und Verbreitung:

Das Canine Minute-Virus (CnMV) (Synonym Canines Parvovirus Typ 1) ist ein Einzelstrang DNA Virus der Familie der *Parvoviridae*. Es gehört mit dem Bovinen Parvovirus und dem humanen Bocavirus dem Genus *Bocavirus* an. Es wurde 1967 in Faeces eines klinisch gesunden Deutschen Schäferhundes in einer deutschen Militärbasis isoliert. In den 80er Jahren wurde CnMV durch experimentelle Infektionen mit neonatalen Erkrankungen und Fertilitätsstörungen beim Hund in Verbindung gebracht. Es ist nur entfernt mit dem Caninen Parvovirus Typ 2 verwandt (Manteufel und Truyen 2008).

Seroprävalenzstudien deuten darauf hin, dass CnMV in der Hundepopulation in vielen Ländern weit verbreitet ist (Italien: 13,6-24,17 %; USA: 47-89 % je nach Testmethode) (Carmichael et al. 1994).

In Deutschland scheint die Seroprävalenz deutlich niedriger zu sein als in anderen Ländern. In einer Studie wurden 429 Sera mittels indirekter Immunfluoreszenz untersucht. Die Seroprävalenz lag bei 5,6 % (Manteufel et al. 2008). Außerhalb der USA wurden nur wenige Fälle von neonataler Sterblichkeit dokumentiert. Der einzige bestätigte Fall von CnMV-Infektion in Deutschland wurde 1996 bei einer Yorkshire Terrier Hündin mit spätem Abort beschrieben. CnMV wird zwischen 4 und 8 Tagen post infectionem über den Kot ausgeschieden. Es wurde bei Tieren mit Durchfall sowie bei klinisch gesunden Hunden isoliert (Manteufel et al. 2008). In Japan wurde das CnMV bei einem älteren Hund mit schweren Gastroenteritis Symptomen isoliert (Ohshima et al. 2010).

Neurologische Symptome:

CnMV wurde bei neun Hunden mit neurologischen Symptomen mittels RT-PCR im Liquor identifiziert (Eminaga et al. 2011). Bei drei der Hunde wurde eine Meningoenzephalitis unklarer Genese diagnostiziert, bei vier Patienten eine idiopathische Epilepsie. Bei zwei Patienten war die Diagnose unklar.

Diagnose:

Die Diagnose einer Infektion mit CnMV kann mittels PCR, Virus Isolierung, Immunfluoreszenz und Hämagglutination gestellt werden (Manteufel et al. 2008).

Indirekte Hämagglutination und indirekte Immunfluoreszenz werden als Goldstandard für den Antikörpernachweis angesehen. Hämagglutination kann nur mit Rhesusaffen Erythrozyten durchgeführt werden. Indirekte Immunfluoreszenz ist weniger sensitiv, kann aber auch genutzt werden (Manteufel et al. 2008).

Hohe Antikörpertiter können diagnostisch sein (Ohshima et al. 2010). CnMV-Infektion führt bei älteren Hunden wahrscheinlich zu Antikörperproduktion, aber selten zu Virusausscheidung (Ohshima et al. 2010).

2.3.7 Weitere virale Erkrankungen

Es wurde in verschiedenen Studien mittels Virusisolierung, Immunhistochemie oder in situ Hybridisierung versucht, einen Zusammenhang zwischen Meningoenzephalitis und viralen Erregern zu ermitteln (Schatzberg et al. 2005; Schwab et al. 2007).

Eine virale Ätiologie könnte vermutet werden, weil virale Enzephalitiden bei anderen Tierarten ähnliche histopathologische Muster haben wie kanine Meningoenzephalitiden unklarer Genese. Die Charakteristika der perivaskulären Reaktion geben oft Hinweise auf mögliche Ursachen. Lymphozyten- und plasmazellreiche nicht-eitrige Reaktionen lassen virale Infektionen vermuten, können aber auch auf einen Einfluss von Protozoa, Rickettsien oder Spirochäten hindeuten (Summers et al. 1995). Es wurden Matrix-Proteine (Interferon

induzierte GTPasen, die mit viralen und entzündlichen Prozessen assoziiert werden) in Gehirngeweben von Möpsen mit NME nachgewiesen (Porter et al. 2006).

Aus diesem Grund wurden weitere virale Erreger wie das canine Herpes Virus (CHV-1), Louping ill Virus (LIV), Parainfluenza Virus, West Nile Virus (WNV) und Encephalomyocarditis Virus als Ursache für neurologische Erkrankungen beim Hund untersucht.

a) Untersuchungen bei Patienten mit nekrotisierender Meningoenzephalitis

NME hat Ähnlichkeiten mit der humanen Herpesvirus-Enzephalitis. CHV-1 kann bei Neugeborenen eine Enzephalitis hervorrufen (Whitley und Gnann 2002). Das Wiederaufleben einer latenten Herpesvirusinfektion könnte eine nekrotisierende Enzephalitis triggern.

Es wurde ein „Herpes like-Virus“ bei NME bei Möpsen isoliert. Das Isolat wurde nicht aufbewahrt und es waren keine weiteren Isolierungen möglich (Cordy und Holliday 1989; Summers et al. 1995).

Es konnte in einer weiteren Studie keine Assoziation zwischen Staupevirus und CHV-1 mit nekrotisierender Leukoenzephalitis (NLE) des Yorkshire Terriers ermittelt werden (Tipold et al. 1993b). Es wurden mittels PCR keine Herpesviren, Adenoviren und Parvoviren in Paraffin- fixierten Gehirnen von 7 Hunden mit GME, 3 Hunden mit NLE und 12 Hunden mit NME entdeckt (Schatzberg et al. 2005).

b) Untersuchungen bei Greyhounds mit Greyhound-Meningoenzephalitis

Bei Hunden mit Greyhound-Meningoenzephalitis konnten keine der folgenden Organismen entdeckt werden: canines Staupevirus (CDV), canines Herpes Virus (CHV-1), Tollwutvirus, Borna disease Virus (BDV), „louping ill“ Virus (LIV), Tick Borne Encephalitis Virus (TBEV) und Protozoa. Da die Erkrankung selten vorkommt, wurden nur wenige Hunde untersucht (Callanan et al. 2002). Das Screening von bestätigten Greyhound-Meningoenzephalitis-Fällen mittels virusspezifischer Sonden ergab, dass eine direkte Beteiligung von CDV, LIV, TBEV, BDV und West Nile Virus unwahrscheinlich ist (Daly et al. 2006). Diese Ergebnisse werden durch weitere Untersuchungen mittels „degenerate Primern“ unterstützt. Es wurden keine Viren der Familie der Flaviviridae und Herpesviridae entdeckt (Daly et al. 2006).

c) Untersuchungen bei Patienten mit granulomatöser Meningoenzephalitis

Immunhistochemische Untersuchungen auf West Nile Virus, kanines Parainfluenza-Virus und Encephalomyocarditis Virus ergaben positive Ergebnisse bei schweren GME-Läsionen (Schwab et al. 2007). Die Bedeutung dieser Ergebnisse ist noch unklar, weil ein positives immunhistochemisches Ergebnis durch Antikörper-Kreuzreaktionen mit endogenen Proteinen bedingt sein kann. Solche Kreuzreaktionen wurden bei Maserninfektion beschrieben (Sheshberadaran und Norrby 1984). In einer weiteren Studie konnten mittels PCR keine viralen Nukleinsäuren in Gehirngeweben von Hunden mit GME detektiert werden (Barber et al. 2012).

Diese Resultate schließen die Möglichkeit eines viralen Triggers durch molekulare Mimikry nicht aus. Eine andere mögliche Ursache ist das Vorhandensein eines Pathogens in undetektierbaren Mengen, das zu einer selbst perpetuierenden Immunantwort führt, wie es bei Flavivireninfektionen gezeigt wurde (Talarico et al. 2010).

Alternativ können diese Ergebnisse die Theorie unterstützen, dass GME durch eine unspezifische Entzündungsantwort auf verschiedene Antigene entsteht (von denen infektiöse Agenzien einen wichtigen Teil darstellen können).

2.3.8 Protozoäre Meningoenzephalomyelitis

2.3.8.1 Neosporose

Ätiologie:

Neospora caninum ist der Erreger der protozoären Meningoenzephalomyelitis. Es ist ein Einzeller aus dem Stamm der Apicomplexa, Ordnung Eimeriida. Die Hauptwege der Infektion sind kongenitale Übertragung und Aufnahme von befallenem Gewebe oder mit Oozysten kontaminiertem Futter und Wasser. Der Hund ist End- und Zwischenwirt von *N. caninum*.

Beim Hund treten subklinische Infektionen häufig auf, eine klinische Erkrankung ist jedoch selten (Thomas 1998). Bei ZNS-Befall erzeugt *N. caninum* Granulome im Rückenmark, Hirnstamm, Cortex cerebri und cerebelli. Es können auch das periphere Nervensystem und Muskel befallen werden. Die protozoäre Infektion kann auch als Komplikation bei Staupe vorkommen (Thomas 1998).

Symptome:

In ca. 10 % der Fälle kommen extraneurale Symptome vor, wie erhöhte rektale Körpertemperatur, Atembeschwerden und Verdauungsstörungen. Spezielle Veränderungen wie protozoäre Myokarditis können ebenso wie Hepatitis und generalisierte Lymphknotenhyperplasie auftreten (Dubey et al. 2007).

Die Krankheit tritt vor allem bei Welpen und Jungtieren auf. Die schwersten Symptome tauchen bei transplazentär infizierten Welpen auf: diese entwickeln progressive Paraparese mit Atrophie und Kontraktur der Hintergliedmaßenmuskulatur im Alter von 4-5 Wochen (Dubey et al. 1988; Hass et al. 1989; Dubey et al. 2012).

Bei adulten Hunden sind die Symptome vielfältig, allerdings wird Paraparese am häufigsten beobachtet. Weiterhin können die Symptome bei Befall des Gehirns multifokalen Läsionen entsprechen oder in Großhirn, Hirnstamm, Kleinhirn oder Rückenmark lokalisierbar sein. Myositis kann alleine oder in Zusammenhang mit ZNS-Symptomen beobachtet werden (Dubey et al. 1988). In einer retrospektiven Studie wurden 7 natürlich mit *N. caninum* infizierte Hunde untersucht. Die neuroanatomische Lokalisation der Läsion war bei 6 Hunden in Kleinhirn und Hirnstamm, bei einem Hund zentral vestibulär. Die PCR-Untersuchung auf *Neospora caninum* aus Liquor cerebrospinalis war bei 4 von 5 Hunden positiv, bei all den 6 untersuchten Hunden wurde ein hoher Titer an Antikörpern gegen *Neospora caninum* ($\geq 1:800$) nachgewiesen. Die postmortale Untersuchung eines Hundes bestätigte eine zerebelläre Atrophie und multifokale nicht-eitrige Enzephalitis mit Foci von Malazie und eine Leptomeningitis. Die Ergebnisse der Studie deuten darauf hin, dass Neosporose bei adulten Hunden eine Ursache von progressiver Ataxie und zerebellärer Atrophie ist (Garosi et al. 2010).

Bei der Hälfte der betroffenen Tiere tritt die Erkrankung akut und mit rasch progressivem Verlauf auf, bei den übrigen Tieren verläuft die Erkrankung chronisch über mehrere Wochen oder Monate (Garosi et al. 2010).

Diagnose:

Die Diagnose wird anhand von klinischer Untersuchung, DNA-Nachweis mittels PCR (Dubey et al. 2012), serologischer Untersuchung oder histologischer Untersuchung von

Geweben gestellt. Die Befunde der Blutuntersuchung ergeben in 80 % der Fälle eine Eosinophilie (Dubey et al. 1988). Diese kann mit oder ohne Leukozytose auftreten. In ca. 70 % der Fälle ist die Kreatininkinase mittel- bis hochgradig erhöht.

Die Liquoruntersuchung ergibt in 90 % der Fälle eine Erhöhung des Proteingehalts und eine gering- bis mittelgradige Pleozytose. Das Differentialzellbild ergibt eine gemischtzellige oder mononukleäre Pleozytose (Hay et al. 1990). Bei einigen Hunden werden eosinophile Granulozyten gefunden. Es können selten Tachyzoiten in der Zytologie zu finden sein (Galgut et al. 2010).

In einer Fallserie mit 7 Hunden fiel im MRT eine geringe bis deutliche bilateral symmetrische zerebelläre Atrophie auf. Das atrophierte Kleinhirn war von einer Region umgeben, die sich in T2-gewichteten Schnitten hyper- und in T1-gewichteten Schnitten hypointens darstellte (Garosi et al. 2010).

Zwei Antikörperbestimmungen im Serum mit ansteigendem Titer innerhalb von 2-3 Wochen sind diagnostisch ausreichend (Tipold 1995a).

2.3.8.2 Toxoplasmose

Ätiologie:

Toxoplasma gondii ist ein weiterer Erreger der protozoären Meningoenzephalomyelitis. Es handelt sich ebenfalls um einen Einzeller aus dem Stamm der Apicomplexa, Ordnung Eimeriida. *T. gondii* kann mittels Elektronenmikroskopie, aber auch mittels immunhistochemischer und molekularbiologischer Methoden von *N. caninum* unterschieden werden. Die Hauptwege der Infektion sind kongenitale Übertragung und Aufnahme von befallenem Gewebe oder mit Oozysten kontaminiertem Futter und Wasser. Der Endwirt von *T. gondii* ist die Katze, neurologische Symptome treten bei Zwischenwirten auf (u.a. Hund, Katze, Mensch) (Dubey et al. 2012).

Symptome und Diagnose:

Symptome und Diagnose entsprechen denen der Neosporose. Bei der Hälfte der betroffenen Tiere tritt die Erkrankung akut und mit rasch progressivem Verlauf auf, bei den übrigen Tieren verläuft die Erkrankung chronisch über mehrere Wochen oder Monate (Dubey et al. 2012).

2.3.9 Kryptokokkose

Ätiologie und Verbreitung:

Kryptokokkose ist eine durch die Sprosspilzspezies *Cryptococcus neoformans* hervorgerufene, chronisch verlaufende Pilzkrankung bei Mensch und Tier. Zwei Spezies können Erkrankungen auslösen: *Cryptococcus neoformans* (eingeteilt in Serotypen A, D und AD) und *Cr. gattii* (Serotypen B und C) (Sykes und Malik 2012). Der Erreger besitzt eine Polysaccharidkapsel, die mittels Tusche-Färbung darstellbar ist.

Cr. neoformans ist weltweit verbreitet. Es wird oft in Taubenkot-kontaminierten Böden aufgefunden. Die Übertragung erfolgt meist aerogen. *Cr. neoformans* ist beim Hund stark neurotrop und gelangt hämatogen (Jergens et al. 1986) oder über die Lamina cribrosa des Siebbeins in das ZNS.

Beim Menschen ist *Cr. neoformans* vor allem bei immunsupprimierten Patienten von Bedeutung (6 % der HIV-Patienten weisen zusätzlich eine *Cr. neoformans* Infektion auf). *Cr. gattii* infiziert vor allem gesunde Individuen (Sykes et al. 2012). Eine Übertragung von Haustieren auf Menschen gilt als unwahrscheinlich.

In Australien und in den USA ist Kryptokokkose die häufigste Systemmykose bei der Katze, beim Hund tritt sie deutlich seltener auf (Malik et al. 1995).

ZNS-Kryptokokkose wurde beim Hund sehr selten in den USA und Australien beschrieben (Tiches et al. 1998). In England wurden zwei Fälle beschrieben (Palmer et al. 1981; Robson und Smith 2011).

Symptome:

Beim Hund wurde folgende Organverteilung beobachtet: ca. 20-50 % Respirationstrakt, 60 % ZNS. Nur selten wird Fieber beobachtet. Viele Patienten zeigen extraneurale Symptome, wie Chorioretinitis, Sinusitis, Lymphadenopathie oder Hautläsionen (Sykes et al. 2012).

Die ZNS-Symptome sind sehr variabel und abhängig von der Lokalisation (Depression, epileptiforme Anfälle, Gleichgewichtsstörungen bis hin zu Tetraplegie). *Cr. neoformans* ist häufig im Großhirn, insbesondere im Riechkolben lokalisiert und verursacht demnach epileptiforme Anfälle und Depression (Lavelly und Lipsitz 2005). Die Dauer der neurologischen Symptome ist variabel und kann sich von einigen Tagen bis zu 6 Monaten oder länger erstrecken (Thomas 1998).

Diagnose:

Blutbild und Blutchemie sind häufig unverändert. Eine ante-mortem Diagnose kann über Latex-Agglutination aus Liquor oder Serum, direkte zytologische Identifizierung des Organismus im Liquor oder kulturelle Isolierung gestellt werden (Sykes et al. 2012).

In Studien in den USA konnten bei 93 % der Hunde mit ZNS-Kryptokokkose, bei denen Liquor untersucht wurde, eingekapselte Organismen gesehen werden (Lavelly et al. 2005). Selbst wenn die Organismen nicht sichtbar sind, ergibt die Liquoruntersuchung einen erhöhten Proteingehalt (Berthelin et al. 1994) und Pleozytose. Das Differentialzellbild ist allerdings variabel und kann neutrophil, eosinophil, mononukleär oder gemischt sein (Bailey et al. 1997).

Kultur aus Liquor sowie PCR-Untersuchungen werden in der Veterinärmedizin im Gegensatz zu der Humanmedizin nicht routinemäßig durchgeführt.

Latex-Agglutination ermöglicht es, Kapselantigen zu identifizieren. Der Test ist sensitiv (91,6-98 %) und spezifisch (98 %) (Lavelly et al. 2005). Die Serologie ist das Diagnostikum der Wahl, wenn eine Liquorpunktion nicht möglich ist. Bei einigen Patienten wurde nach der Liquorpunktion eine Verschlechterung des neurologischen Zustandes festgestellt (Sykes et al. 2012).

Serologie wird zur Therapiekontrolle empfohlen, allerdings wurde Wiederauftreten von Symptomen auch bei Tieren mit wiederholt negativen Serum-Titern beobachtet (Lavelly et al. 2005).

2.4 Meningoenzephalitiden unbekannter Genese

Entzündungen des ZNS ohne definitive zytologische, serologische oder molekularbiologische Diagnose werden auch „Meningoenzephalomyelitiden unbekannter Genese“ genannt. Differentialdiagnostisch sind granulomatöse Meningoenzephalomyelitis (GME), nekrotisierende Meningoenzephalitis (NME) und nekrotisierende Leukoenzephalitis (NLE) zu beachten. Bei diesen Erkrankungen ist ein pathognomonisches histologisches Bild zu sehen. GME, NME und NLE wurden in dieser Studie als Meningoenzephalitiden unbekannter Genese zusammen untersucht, weil ihre Aetiologie auf einer Fehlfunktion des Immunsystems zu beruhen scheint. Ante-mortem ist eine definitive Unterscheidung der Krankheitsbilder nicht möglich. Jede dieser Erkrankungen weist allerdings histopathologische Besonderheiten

auf, weshalb sie in der Literatur zum Teil als getrennte Erkrankungen behandelt werden (Zarfoss et al. 2006; Adamo et al. 2007; Schatzberg 2007).

2.4.1 Granulomatöse Meningoenzephalitis

Ätiologie und Verbreitung:

Die Ätiologie der GME ist trotz langjähriger Forschung weiterhin unklar. Es wurden verschiedene infektiöse Trigger, sowie genetische Komponenten untersucht (Herrera et al. 2007; Schwab et al. 2007).

Die GME stellt möglicherweise bis zu 25 % der neurologischen Erkrankungen beim Hund dar (Tipold 1995a). Die Erkrankung tritt oft akut auf und verläuft progressiv. Unbehandelt ist sie tödlich. Weibliche, kleinrassige Hunde sind überrepräsentiert. Es können jedoch alle Rassen betroffen sein. Das Durchschnittsalter bei Auftreten der Symptome liegt bei 55 Monaten. Auf morphologischen und klinischen Veränderungen basierend, werden drei Formen unterschieden: eine disseminierte, eine fokale und eine okuläre Form.

Symptome:

Die disseminierte Form ist die häufigste Form. Sie äußert sich typischerweise als akut auftretende, schnell progressiv verlaufende, multifokale neurologische Symptomatik mit Beteiligung von Großhirn, kaudalem Hirnstamm und /oder Halsrückmark (Munana und Luttgen 1998). Neurologische Symptome der selteneren, fokalen Form können akut auftreten und langsam verlaufen. Sie deuten auf eine einzelne Läsion im Gehirn hin (Summers et al. 1995). In einer Studie wurden vor allem zerebro-thalamische Veränderungen beschrieben. Wichtige Differentialdiagnosen für fokale GME sind maligne Histiozytose und primäres ZNS Lymphosarkom.

Die okuläre Form der GME äußert sich durch akute Sehveränderungen. Hunde mit okulärer GME können gleichzeitig disseminierte Läsionen aufweisen.

Diagnose:

Die Ergebnisse der MRT-Untersuchung sind nicht pathognomonisch für GME. Oft treten multiple hyperintense Sequenzen in der weißen Substanz in der T2-gewichteten Sequenz oder FLAIR auf. Läsionen sind häufig infiltrativ mit unregelmäßigen Rändern. Die Läsionen treten oft in grauer und weißer Substanz auf, obwohl mehr Veränderungen in der weißen Substanz zu finden sind. In der T1-gewichteten Sequenz haben die Läsionen variable Intensitäten und zeigen verschiedene Grade der Kontrastaufnahme. Ödem ist in der weißen Substanz in der T2-gewichteten Sequenz hyperintens. Selten tritt eine Kontrastmittelanreicherung in den Meningen auf (Cherubini et al. 2006).

Im CT kann Kontrastmittelaufnahme bei der fokalen sowie der disseminierten Form auftreten. Ein Masseneffekt kann durch Verdrängung des umliegenden Gewebes entstehen. Disseminierte GME stellt sich durch multiple Foci von schlecht abgegrenzten Läsionen des Parenchyms und der Meningen dar (Plummer et al. 1992).

Pathologisch tritt bei der GME eine angiozentrische, nicht-eitrige, gemischt lymphoidzellige Entzündung mit Prädilektionsstellen in der weißen Substanz auf (Braund et al. 1978; Cordy 1979).

2.4.2 Nekrotisierende Enzephalitiden

Nekrotisierende Meningoenzephalitis und nekrotisierende Leukoenzephalitis haben viele verschiedene Namen, wie z.B. Mops Enzephalitis (NME) (Cordy et al. 1989) oder nekrotisierende Enzephalitis des Yorkshire Terriers (NLE) (Ducote et al. 1999). Es sind kleine Hunderassen betroffen (Chihuahua, Pekingese, West Highland White Terrier, Boston

Terrier, Malteser, etc.) (Stalis et al. 1995). Die Erkrankungen sind ante-mortem nicht zu unterscheiden. Aus diesem Grund wird hier eine histologisch basierte Nomenklatur bevorzugt. Pathohistologisch werden sie durch eine lymphozytäre Entzündung mit darauf folgender Nekrose im zerebralen Cortex charakterisiert (Suzuki et al. 2003). Sie können als nekrotisierende Enzephalitiden zusammengefasst (NE) werden (Talarico et al. 2010).

Ätiologie und Verbreitung:

NME tritt häufiger bei Möpsen, NLE tritt vermehrt beim Yorkshire Terrier auf. Allerdings wurde NLE auch bei Möpsen, Chihuahuas und Maltesern diagnostiziert und es wurde NME bei einem Yorkshire Terrier nachgewiesen. NME tritt meist bei jungen Tieren auf (Alter bei Beginn der Symptome von 6 Monaten bis zu 7 Jahren). Bei Beginn der Symptome einer NLE können die Tiere zwischen 4 Monate und 10 Jahre alt sein (Talarico et al. 2010).

Das Modell der autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE) der Ratte kann mehr Informationen über die Variationen der Topographie von Läsionen bei verschiedenen Hunderassen geben. Bei Ratten mit EAE führten kleine Veränderungen der MHC Haplotypen nach experimentellem Kontakt mit Myelin-Oligodendrozyt-Glykoprotein zu unterschiedlichen, aber reproduzierbaren Entzündungsmustern (Storch et al. 2006). In einer ähnlichen Weise könnten genetische Unterschiede zwischen Rassen zu den unterschiedlichen Erscheinungsbildern der Erkrankungen führen.

Symptome:

Der Krankheitsverlauf ist schnell progressiv. Die Läsionen sind meist multifokal. Bei beiden NE treten meist zerebro-thalamische Symptome auf, wobei mehr Läsionen im Prosencephalon beobachtet wurden. Bei der NLE können die Veränderungen auch im mittleren bis kaudalen Hirnstamm lokalisiert sein (Talarico et al. 2010).

Diagnose:

I. Bildgebung

Bei der NME sind im MRT asymmetrische, multifokale Läsionen in der grauen und weißen Substanz mit variabler Kontrastmittelanreicherung in der T1-gewichteten Aufnahme zu sehen (Young et al. 2009). Es kann ein Demarkationsverlust zwischen grauer und weißer Substanz vorliegen. Läsionen können sich in T2 hyperintens und in der T1 leicht hypointens bis isointens, mit leichter Kontrastmittelanreicherung darstellen (Kuwabara et al. 1998).

Bei der NLE sind bilateral multiple, asymmetrische prosencephale Läsionen vor allem in der subkortikalen weißen Substanz sichtbar (von Praun et al. 2006). Die Läsionen stellen sich in der T2 und FLAIR hyperintens dar. Sie enthalten häufig multiple zystische Nekroseareale. Die Läsionen sind in den T1-gewichteten Sequenzen hypo- oder isointens mit variabler Kontrastmittelanreicherung.

Im CT sind bei NME und NLE fokale hypodense Läsionen im Prosencephalon in den akuten Stadien sichtbar (Thomas 1998). Die Läsionen können, müssen aber nicht Kontrastmittel anreichern.

II. Pathologische Charakteristika

Neuropathologisch stellt sich die NME als eine nicht-eitrige Meningoenzephalitis mit bilateraler, asymmetrischer zerebraler Nekrose dar. NME befällt meist die Großhirnhemisphären und die subkortikale weiße Substanz. Tiefe Entzündungen ziehen von den Leptomeningen durch das Cortex bis zu der Corona Radiata (Summers et al. 1995). Es kommt oft zu einem Demarkationsverlust zwischen grauer und weißer Substanz. Meningeale Infiltrate durch Plasmazellen, Lymphozyten und selten auch Histiozyten treten meistens in

den zerebralen Sulci und Fissuren auf. Es können Areale der Malazie auftreten. Chronisch protrahierte Fälle können neuronalen Verlust aufweisen (Talarico et al. 2010).

Cortex und Meningen sind bei der NLE nicht betroffen. Die Läsionen wurden vor allem in der periventrikulären weißen Substanz (inkl. Centrum semiovale, thalamokortikale Fasern, Capsula interna und Thalamus) beobachtet (Summers et al. 1995). Es können auch Hirnstammläsionen auftreten. Die Schwere der Nekrose hängt von der Dauer und der Schwere der Erkrankung ab. Nekrotische Areale verschmelzen oft zu größeren Kavitationen (in einem größeren Umfang als bei der NME). In der betroffenen weißen Substanz sind viele geschwollene nekrotische Axone zu sehen. Gitter-Zellen, reaktive Mikroglia und selten perivaskuläre Infiltrate können auch vorhanden sein (Summers et al. 1995). Trotz der umgebenden Entzündung scheinen die Neurone der grauen Substanz nicht betroffen zu sein. In den Leptomeningen können kleine Mengen an Plasmazellen und Lymphozyten vorhanden sein, typischerweise ist die meningeale Entzündung jedoch minimal (Talarico et al. 2010).

2.5 Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis (SRMA)

Eine besondere Form der Gehirnhautentzündung ist die *steril-eitrige Meningitis / Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis*. Bei der SRMA handelt es sich um eine vermutlich immunbedingte Erkrankung beim Hund. Ihre Prognose ist deutlich günstiger als die der anderen entzündlichen ZNS-Erkrankungen. Man unterscheidet eine akute, typische Form und eine chronische oder atypische Form. Bei der akuten Form stehen Halsbiegeschmerz, erhöhte Körpertemperatur und polymorphkernige Pleozytose im Liquor im Vordergrund. Die chronische Form der Erkrankung tritt seltener auf. Sie kann mit neurologischen Symptomen einhergehen, die auf eine Lokalisation der Läsion im Rückenmark oder auf eine multifokale Läsion deuten. Bei der Liquoruntersuchung sind eine mononukleäre Pleozytose und ein erhöhter Proteingehalt auffällig.

Die Ätiologie der Erkrankung ist noch nicht vollständig geklärt; eine fehlgeleitete Immunantwort gegen das ZNS wird als Ursache vermutet (Tipold und Schatzberg 2010; Maiolini et al. 2012).

III. Material und Methoden

3.1 Art der Studie

Es handelt sich um eine prospektive Studie zur Ermittlung der klinischen Relevanz von infektiösen Erregern, insbesondere CVBD Erregern, bei Hunden mit Meningoenzephalitis. Es wurde das Vorhandensein von DNA und von Antikörpern im Liquor und im Blut von Hunden mit neurologischen Symptomen untersucht.

Die Patienten wurden in drei Gruppen eingeteilt: eine Kontrollgruppe, eine Gruppe von Hunden mit Verdacht auf Meningoenzephalitis und eine Gruppe von Patienten mit SRMA.

Die Dauer der Probensammlung betrug 24 Monate.

3.2 Patienten, Einschluss- und Ausschlusskriterien

66 Hunde wurden in die Studie aufgenommen. Die Patienten wurden an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin, der Klinik für Kleintiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover und der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Trier rekrutiert.

In der **MUE-Gruppe** wurden 22 Hunde mit Meningoenzephalitis untersucht, die folgende Einschlusskriterien erfüllen mussten:

- a) die Hunde haben neurologische Symptome im Sinne einer intrakraniellen Läsion,
- b) eine Liquoruntersuchung muss eine erhöhte Zellzahl (> 3 Zellen/ μ l) und eine Proteinerhöhung ergeben,
- c) in der Bildgebung wird ein entzündlicher Prozess vermutet.

Einschluss in die MUE-Gruppe bei unauffälliger Liquoruntersuchung findet statt, wenn deutliche Veränderungen in der bildgebenden Diagnostik beobachtet werden (multifokale Herde, Kontrastmittelanreicherung) und/oder das Tier schon mit Glukokortikoiden vorbehandelt ist oder eine histopathologische Untersuchung die Diagnose bestätigt.

In der **SRMA-Gruppe** wurden 23 Hunde mit SRMA untersucht, die folgende Einschlusskriterien erfüllen mussten:

- a) die klinische Erscheinung deutet auf SRMA hin (steife Kopf-Halshaltung, Halsbiegeschmerz, Fieber),
- b) eine Liquoruntersuchung muss Liquorveränderungen ergeben, die auf SRMA deuten (erhöhte Zellzahl (> 3 Zellen/ μ l) und Proteinerhöhung).

Eine Nichtaufnahme bzw. ein Ausschluss von potentiellen Patienten der **MUE-Gruppe** und der **SRMA-Gruppe** erfolgte, wenn

- a) die bildgebenden Verfahren ein tumoröses Geschehen oder Hinweise auf eine Anomalie anzeigten,
- b) andere Primärerkrankungen für die Symptomatik verantwortlich waren, z.B. wenn anamnestisch die Aufnahme von toxischen Substanzen als Ursache für neurologische Symptome ermittelt werden konnte,
- c) metabolische Veränderungen bei der Blutuntersuchung auffällig waren, oder
- d) keine vollständige Krankengeschichte vorlag oder eine diagnostische Abklärung nicht möglich war (z.B. Liquorentnahme nicht erfolgreich oder zu wenig Material entnommen).

In der **Kontrollgruppe (Trauma)** wurden 21 Hunde mit nicht-entzündlichen ZNS-Erkrankungen (Bandscheibenvorfall - Rückenmarkstrauma) untersucht, die folgende Einschlusskriterien erfüllen mussten:

- a) die Diagnostik ergibt eine eindeutige klinische Diagnose,
- b) CT oder MRT mit Kontrastmittelgabe, ggf. Chirurgie bestätigen die Diagnose.

3.3 Studienprotokoll

Erhebung einer ausführlichen Anamnese mit folgenden Informationen: Vorstellungsgrund, andere Hunde oder andere Tiere im Haushalt, evtl. andere erkrankte Tiere im Haushalt, Auslandsaufenthalte, Impfprophylaxe, Entwurmung, bisherige Erkrankungen, evtl. frühere neurologische Symptome und eventueller Zeckenbefall.

Bei allen Hunden wurden eine klinische Allgemeinuntersuchung und eine neurologische Untersuchung durchgeführt.

Ferner erfolgte eine Blutuntersuchung mit Blutbild, Differentialblutbild und Blutchemie (Elektrolyte, Glukose, Protein/Albumin, Leberenzyme, Harnstoff/Kreatinin). Der Liquor wurde bei allen Patienten sofort nach Probennahme analysiert (Proteingehalt, Zellzahl, evtl. Differentialzellbild).

Bei Patienten aus der MUE-Gruppe wurde ein CT des Gehirns mit Kontrastmittel (Berlin, Trier) oder MRT des Gehirns mit Kontrastmittel (Hannover) gemacht.

Bei verstorbenen Tieren wurde, wenn möglich, eine pathologische Untersuchung des Tierkörpers durchgeführt.

In der **Kontrollgruppe (Trauma)** wurden Hunde mit nicht-entzündlichen ZNS-Erkrankungen (Rückenmarkstrauma) untersucht. Es wurde ein CT oder MRT der Wirbelsäule und ggf. eine chirurgische Darstellung des Rückenmarks durchgeführt.

Blut-Untersuchungen :

EDTA-Blut von allen Hunden wurde auf die CVBD-Erreger *Bartonella* und *A. phagocytophilum* mittels PCR untersucht (Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, bzw. Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München).

Das Vorhandensein von Antikörpern gegen *Bartonella* wurde mittels IFAT aus Serum (Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover) ermittelt. Zusätzlich wurde eine serologische Untersuchung (Antikörper-Nachweis) auf *Borrelia burgdorferi* s.l. (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München) aus Serum gemacht. Bei einem Antikörpertiter $\geq 1:128$ im IFAT wurde ein quantitatives ELISA auf das C6-Peptid aus Serum durchgeführt (IDEXX Laboratories Vet.Med.Labor, Ludwigsburg, Deutschland).

Bei Verdacht (Auslandsaufenthalt) wurden Untersuchungen auf Erreger, die nicht in Deutschland vorkommen, durchgeführt. Dies beinhaltete eine PCR-Untersuchung auf *Ehrlichia canis* aus EDTA-Blut und ein IFAT aus Serum (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München).

Liquor-Untersuchungen :

Auf das Vorhandensein von Infektionserregern im Liquor wurde mittels eubakterieller PCR (Zielgen 16S rRNA) (Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin) untersucht. In Einzelfällen wurde bei Verdacht eine PCR-Untersuchung auf *Neospora caninum* und *Toxoplasma gondii* durchgeführt.

Bei lymphozytärer Pleozytose wurde zusätzlich eine Staupe PCR (CDV, *canine distemper virus*) (Virologie Gießen/Hannover) eingeleitet.

Der **Liquor** von allen Hunden wurde mittels PCR auf die Erreger *Bartonella* (Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover) und *A. phagocytophilum* (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München) untersucht; bei Verdacht (Auslandsaufenthalt, Vaskulitis) auch mittels PCR auf *Ehrlichia canis* (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München).

Tabelle 1 : Zusammenfassung der benötigten Proben und Untersuchungen bei allen Tieren mit minimal benötigten Materialvolumina

Proben	EDTA-Blut	Serum	Liquor
Standarduntersuchung	Blutbild, ggf. Differentialzellbild		Zellzahl, Proteingehalt, ggf. Differentialzellbild
Infektionserreger			16S rRNA
			PCR CDV (bei lymphozytärer Pleozytose)
CVBD-Erreger	PCR <i>A. phagocytophilum</i>		PCR <i>A. phagocytophilum</i>
	PCR <i>E.canis</i>	IFAT <i>E.canis</i>	PCR <i>E.canis</i>
	PCR <i>Bartonella</i> spp.	IFAT <i>Bartonella</i> spp.	PCR <i>Bartonella</i> spp.
		IFAT <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. / C6 ELISA	

3.4 Probenentnahme, -aufbewahrung, -aliquotierung und Transport

Die für die Untersuchungen benötigten Proben wurden im Rahmen der Erstuntersuchung gewonnen.

5 ml venöses Blut wurde unter sterilen Kautelen aus der V.cephalica antebrachii oder aus der V. saphena mittels einer Kanüle (Sterican® 20G x1½“) entnommen. Für die Studie wurde das Blut genutzt, das nach der Routinediagnostik übrig war. Ein Teil des Blutes wurde in ein Kalium- EDTA-beschichtetes Röhrchen (Sarstedt® 1,6 mg EDTA/ml Blut) gegeben, ein Teil wurde abzentrifugiert und das Serum aufbewahrt.

Liquor wurde unter Allgemeinnarkose unter sterilen Kautelen gewonnen (siehe Literaturübersicht). Liquor, der nach der Routinediagnostik übrig war, wurde aufbewahrt und für die Studie genutzt.

Proben, die nicht umgehend analysiert werden konnten (ca. 1 ml Liquor in Aliquots, 3 ml EDTA-Blut, 2 ml Serum), wurden bis zur Untersuchung tiefgefroren aufbewahrt (Temperatur -20 °C).

Aufgrund der multizentrischen Natur der Studie wurden die Proben transportiert. Im Zuge des Transports oder zur Aliquotierung wurden 60 Proben aufgetaut. 17 Proben aus Hannover (7 aus der MUE-Gruppe, 10 aus der SRMA-Gruppe) wurden zweimal zur Aliquotierung aufgetaut. Die übrigen Proben wurden alle einmal aufgetaut.

3.5 Untersuchungsmethoden

3.5.1 Real-Time-PCR

Bei der Real-Time-PCR werden die Produkte nicht erst am Ende eines PCR-Laufs, sondern während jedes Amplifikationszyklusses durch Messung der entstehenden Fluoreszenz nachgewiesen. Dies ermöglicht im Vergleich zur konventionellen PCR, eine reale Quantifizierung der Zielsequenzen. Zudem wird keine Gelelektrophorese, die bei der konventionellen PCR zum Nachweis des PCR-Produkts erforderlich ist, benötigt. Das Kontaminationsrisiko wird demzufolge deutlich reduziert. Die PCR-Produkte können durch DNA-bindende Fluoreszenzfarbstoffe oder mittels spezifischen Fluoreszenzstoff-markierten Hybridisierungssonden detektiert werden (Fenollar und Raoult 2004).

3.5.1.1 *A. phagocytophilum* und *E. canis*

Die DNA-Extraktion erfolgte mit dem High Pure PCR Template Preparation Kit Roche nach Herstellerangaben (Roche Applied Science, Mannheim). Das „whole blood protocol“ wurde für EDTA-Blut sowie für Liquor genutzt. Die PCR wurde nach Herstellerangaben durchgeführt (Tab. 2). Als Negativkontrolle wurde eine PCR mit hochreinem Wasser ohne DNA durchgeführt. Als Positivkontrolle diente die aus EDTA-Blut extrahierte DNA eines Hundes, bei dem eine Infektion mit *A. phagocytophilum* nachgewiesen wurde. Für *E. canis* wurde ein Plasmid genutzt.

3.5.1.2 *Bartonella* spp.

Die DNA-Extraktion erfolgte aus 125 µl EDTA-Blut oder Liquor mit dem Innuprep DNA mini kit nach Herstellerangaben (Analytic Jena, Deutschland). Das „whole blood protocol“ wurde für EDTA-Blut sowie für Liquor benutzt. Die PCR wurde mit der x3005PTM QPCR Systems nach Herstellerangaben (Stratagene, Heidelberg, Germany) durchgeführt. Als Negativkontrolle wurde eine PCR ohne DNA gemacht. Als Positivkontrolle diente eine Standardkurve mit *B. henselae* genomischer DNA. Die Untersuchung wurde in Triplets durchgeführt. Wenn mindestens 2 der 3 Triplets eine Amplifikation über den Fluoreszenz-Schwellenwert von 1227 (dR) ergaben, wurde die Probe als positiv für *Bartonella* spp. angesehen. Die Spezies-Spezifität wurde mit genomischer DNA von Bakterien, die Bakteriämien verursachen können oder als Kontaminanten im Blut auftreten können, untersucht.

Tabelle 2: Primer- und Sondensequenzen, Mischungen und Temperaturzyklen der PCR-Untersuchungen auf *A. phagocytophilum*, *E. canis* und *Bartonella* spp.

	Primer- und Sondensequenzen	Referenz	Mastermix	Temperaturzyklen
<i>A. phagocytophilum</i> 7500 fast real time-PCR-System (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) Zielgen: msp2	ApMsp2r: 5'- TTGGTCTTGAAGCGCTCGT A-3' ApMSP2f: 5'-ATGGAAGGTAGTGTGG TTATGGTATT-3' Sonde Apmsp2p : 5'FAM- TGGTGCCAGGGTTGAG CTTGAGATTG-3'TAM	(Courtney et al. 2004)	Universal fast TaqMan MMX (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) 10 µl Primer f (10µM) 1,8 µl Primer r (10µM) 1,8 µl Sonde ApMsp2p (10 µM) 0,4 µl H2O 1 µl Proben-DNA 5,0 µl	95°C 20 Sek 40 Zyklen: 95°C 3 Sek 60°C 30 Sek
<i>E.canis</i> 7500 real time-PCR-System (Applied Biosystems, Carlsbad, CA)	Ecp30-f: 5'- TGGATACTACCATGGCGTT AT TGG-3' Ecp30-r: 5'- GAGGAGCATCATTTAATAC TA CAGGAGTT-3' Sonde Ecp30-p: 5'FAM- CAGGTATCTTCTCAAATTT- 3'NFQ	(Ionita et al. 2013)	Gene expression Mastermix (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) 12,5 µl Assay Mix (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) 1,25 µl Proben DNA 11,25 µl	50°C 2 Min 95°C 10 Min 40 Zyklen: 95°C 15 Sek 60°C 1 Min
<i>Bartonella</i> spp. Mx3005PTM QPCR Systems (Stratagene, Heidelberg, Germany) Zielgen: gltA	strat1: 5'- GGGGACCAGCTCATGGTGG -3' strat2: 5'- GCGTGATAGCAATATCAAG A AGTGG-3'	(Mietze et al. 2011)	2x QuantiTect® SYBR® Green PCR Master Mix (Qiagen, Hilden, Deutschland) 12.5 µl Primer (1 mM) 0.5 µl Proben DNA 10 µl ddH2O ad 25 µl	95,8 °C 10 Min 45 Zyklen: 95,8°C 20 Sek 58,8°C 50 Sek 72,8°C 20 Sek

3.5.2 Qualitative eubakterielle PCR

Um weitere potentielle infektiöse Erreger von ZNS-Entzündungen ermitteln zu können, wurde aus Liquor eine qualitative eubakterielle PCR durchgeführt, bei der das Zielgen die konservierte 16S rRNA Genregion war (Nadkarni et al. 2002). Zur Aufreinigung der GesamtdNA aus dem Liquor wurde das DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) verwendet.

Es wurden folgende Primer verwendet: 5' TCCTACGGGAGGCAGCAGT 3' (forward) und 5' GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT 3' (reverse).

Die Größe des Amplicons lag bei 466 bp (korrespondierend mit der Region 331-797 des *Escherichia coli* 16S rRNA-Gens). Die Amplifikate wurden bei LGC Genomics GmbH, Berlin einzelsträngig sequenziert und mit in einschlägigen Datenbanken hinterlegten Nukleotid-Sequenzen (NCBI/BLAST) verglichen.

3.5.3 Indirekter Immunfluoreszenzantikörpertest (IFAT)

Die IFA-Tests auf *E. canis* und auf *B. burgdorferi sensu lato* wurden am Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München durchgeführt.

3.5.3.1 IFAT *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Der IFAT stellt eine quantitative Methode zur Serumuntersuchung auf Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi sensu lato* dar. Dabei werden durch serielle Verdünnungen (Titration) Antikörper gegen *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* und *B. garinii* nachgewiesen.

Die Untersuchung wurde mit einem Testkit durchgeführt (MegaScreen® FLUOBORRELIA canis-Testkits, megaCor GmbH, Hörbranz, AU). Das Kit beinhaltet mit Antigen beschichtete Objektträger, Eindeckmittel, Positiv- und Negativkontrollseren und Anti-dog IgG FITC-markiertes Konjugat (bei +6 °C aufbewahrt). Weitere Reagenzien waren (bei +6 °C aufbewahrt): PBS-Puffer pH 7,4 (MI 1.04 PBS-Puffer, täglich frisch angesetzt), 0,02 %ige Evans Blue-Lösung (MI 1.05) und Aqua dest. Der PBS-Puffer pH 7,4 wurde sowohl zum Waschen als auch als Verdünnungspuffer eingesetzt.

Die mit Antigen beschichteten Objektträger wurden zunächst auf Zimmertemperatur erwärmt und beschriftet. Die Mikrotiterplatten wurden mit den entsprechenden Patientennummern oder mit „Kontrollseren“ gekennzeichnet.

Es wurde eine geometrische Verdünnungsreihe hergestellt: In die Reihen H bis C wurde zunächst PBS-Puffer vorgelegt (Reihe H: 150 µl, Reihen G bis C je 50 µl). In Reihe H wurden 10 µl der Patientenseren direkt in die entsprechende Vertiefung gegeben. Bei Reihe H beginnend wurde der Inhalt der Vertiefung mit einer Multikanalpipette vermischt und jeweils 50 µl wurden in die nächste Reihe überpipettiert. Es ergaben sich folgende Verdünnungen: Reihe H 1:16, Reihe G 1:32, Reihe F 1:64, Reihe E 1:128, Reihe D 1:256, Reihe C 1:512.

Jeweils 10 µl des verdünnten Patienten- und Kontrollserums wurden anschließend auf das entsprechende, mit Antigen beschichtete Objektträgerfeld pipettiert (5 Antigenfelder pro Patient, Verdünnungsstufen 1:32 bis 1:512).

Es folgte eine Inkubation der Objektträger über 30 Minuten in einer feuchten Kammer im Wärmeschrank bei 37 °C. Nach der Inkubationsphase wurden die Objektträger mit PBS-Puffer abgespült und zweimal für mindestens 5 Minuten mit PBS-Puffer gewaschen. Im nächsten Arbeitsschritt wurden 10 µl Konjugat auf jedes beschichtete Feld der Objektträger gegeben und die Objektträger wurden erneut im Wärmeschrank bei 37 °C über 30 Minuten inkubiert. Die Objektträger wurden mit PBS-Puffer abgespült und erst zweimal für mindestens 5 Minuten in PBS-Puffer gewaschen, dann zweimal für mindestens 5 Minuten mit Aqua dest. gewaschen. Im letzten Schritt wurden die Objektträger mit Eindeckmittel blasenfrei eingedeckt und bei 400facher Vergrößerung mit dem Fluoreszenzmikroskop (495 nm) analysiert.

Bei der Befundbegutachtung wurden Titerstufen unter 1:128 als negativ interpretiert. Titerstufen über 1:128 mit deutlicher Fluoreszenz wurden als positiv beurteilt. Die letzte Verdünnungsstufe mit deutlicher Fluoreszenz wurde als Endtiter angegeben und der Bewertung zugrunde gelegt.

Die Qualitätskontrolle erfolgte über ein deutliche Fluoreszenz der Positiv-Kontrolle und keine Fluoreszenz der Negativ-Kontrolle.

Bei einem stark positiven Ergebnis (höher als 1:512) wurden die Proben weitertitriert. In einer beschrifteten Mikrotiterplatte wurde nach demselben Prinzip folgende Verdünnungsreihe hergestellt: 1:512, 1:1024, 1:2048, 1:4096, 1:8192. Die Messung erfolgte nach dem oben beschriebenen Protokoll.

3.5.3.2 IFAT *Ehrlichia canis*

Beim IFAT werden durch serielle Verdünnungen (Titration) Antikörper gegen *E. canis* nachgewiesen.

Die Untersuchung wurde mit einem Testkit (MegaScreen FLUOEHRlichia canis, MegaCor Diagnostik GmbH, Hörbranz, AU) durchgeführt. Das Kit beinhaltet mit Antigen beschichtete Objektträger und Eindeckmittel (bei +6 °C aufbewahrt). Weitere Reagenzien waren Positiv- und Negativkontrollseren vom Hund (bei +6 °C aufbewahrt), PBS-Puffer pH 7,4 (MI 1.04 PBS-Puffer, täglich frisch angesetzt), Anti-dog IgG FITC-markiertes Konjugat (Firma Sigma; F-7884), 0,02 %ige Evans Blue-Lösung (MI 1.05) und Aqua dest. Der PBS-Puffer pH 7,4 wurde sowohl zum Waschen als auch als Verdünnungspuffer eingesetzt.

Die mit Antigen beschichteten Objektträger wurden zunächst auf Zimmertemperatur erwärmt und beschriftet. Die Mikrotiterplatten wurden mit den entsprechenden Patientennummern oder mit „Kontroll-Seren“ gekennzeichnet.

Es wurde eine geometrische Verdünnungsreihe hergestellt: In die Reihen H bis C wurde zunächst PBS-Puffer vorgelegt (Reihe H: 190 µl, Reihen G bis C je 50 µl).

In Reihe H wurden 10 µl der Patientenseren direkt in die entsprechende Vertiefung gegeben.

Bei Reihe H beginnend wurde der Inhalt der Vertiefung mit einer Multikanalpipette vermischt und jeweils 50 µl wurden in die nächste Reihe überpipettiert. Es ergaben sich folgende Verdünnungen: Reihe H 1:20, Reihe G 1:40, Reihe F 1:80, Reihe E 1:160, Reihe D 1:320, Reihe C 1:640.

Jeweils 10 µl des verdünnten Patienten- und Kontrollserums wurden anschließend, mit der höchsten Verdünnung beginnend, auf das entsprechende, mit Antigen beschichtete Objektträgerfeld pipettiert (6 Antigenfelder pro Patient).

Es folgte eine Inkubation der Objektträger über 30 Minuten in einer feuchten Kammer im Wärmeschrank bei 37 °C. Nach der Inkubationsphase wurden die Objektträger mit PBS-Puffer abgespült und zweimal für mindestens 5 Minuten mit PBS-Puffer gewaschen.

Im nächsten Arbeitsschritt wurden 10 µl Konjugat auf jedes beschichtete Feld der Objektträger gegeben und die Objektträger wurden erneut im Wärmeschrank bei 37 °C über 30 Minuten inkubiert.

Die Objektträger wurden mit PBS-Puffer abgespült und erst zweimal über je 5 Minuten in PBS-Puffer gewaschen, dann zweimal über je mindestens 5 Minuten mit Aqua dest. gewaschen.

Im letzten Schritt wurden die Objektträger mit Eindeckmittel blasenfrei eingedeckt und bei 400facher Vergrößerung mit dem Fluoreszenzmikroskop (495 nm) analysiert.

Bei der Befundbegutachtung wurden Titerstufen $\geq 1:40$ mit deutlicher Fluoreszenz als positiv beurteilt. Die letzte Verdünnungsstufe mit deutlicher Fluoreszenz wurde als Endtiter angegeben und der Bewertung zugrunde gelegt. Die Qualitätskontrolle erfolgte über eine deutliche Fluoreszenz der Positiv-Kontrolle und keine Fluoreszenz der Negativ-Kontrolle.

3.5.4 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) *Bartonella* spp.

Der ELISA auf *Bartonella* spp. wurde am Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt.

Das *Bartonella* spp. Antigen wurde wie durch Goethe et al. (2000) beschrieben präpariert.

Der *Bartonella* spp. Stamm Houston-1 wurde in einem modifizierten Schneider's Medium bei 37,8 °C in einer 5 % CO₂ Atmosphäre bis zu einer optischen Dichte von 0.5 bei 660 nm (OD₆₆₀) kultiviert (Riess et al. 2008).

Das Bakterien-Pellet wurde mit PBS gewaschen. Die Bakterien wurden im nächsten Schritt in 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 150mM NaCl und 0.025 % Sodium Deoxycholat resuspendiert und durch Schütteln extrahiert.

Die Extrakte wurden erneut zentrifugiert (8000 x g für 15 Minuten bei 4,8 °C). Der Überstand wurde bei -20 °C bis zum Gebrauch gelagert. Durch diese schonende Extraktionstechnik konnte die Integrität der bakteriellen Zellwand trotz Freisetzung der antigenen Oberflächenproteine erhalten bleiben (Goethe et al. 2000).

Durchführung des ELISA:

Maxisorp Platten (Nunc, Rochester, NY) wurden über Nacht bei 8 °C mit 5 µg *B. henselae* Antigen in Carbonat Puffer beschichtet. Sie wurden zwischen den verschiedenen Inkubationsschritten dreimal mit PBST gewaschen (PBS mit 0.05 % Tween 20) und mit 5 % Magermilch in PBST für 2 Stunden bei 37,8 °C geblockt.

Serumproben wurden in einer Verdünnung von 1:100 in das PBST hinzugefügt. Anschließend wurden die Platten für 1 Stunde bei 37 °C unter leichtem Schütteln inkubiert.

Für die Bestimmung des Gesamt-IgG-Wertes wurden die Platten mit Peroxidase-konjugiertem goat anti-cat IgG-Fc Antiserum (Bethyl Laboratories, Inc., Montgomery, USA) in einer Verdünnung von 1:10.000 für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.

Die Platten wurden mit 2,2-azino-di-[3-ethylbenzithiazoline sulfonat] (ABTS, Boehringer, Mannheim, Germany) und 0.002 % H₂O₂ als Substrat entwickelt.

Die Absorbanz wurde bei 405 nm gemessen. Proben wurden als positiv angesehen, wenn die optische Dichte (OD) höher war als die durchschnittliche OD der Negativ-Kontrolle plus eines Faktors, der auf der detektierten Standard Deviation (SD) basiert. Für IgG wurde ein Faktor von 3xSD genutzt. Eine Serum-Probe war positiv, wenn das errechnete Ratio $R \geq 1$ war.

$$R = \frac{\text{OD Probe}}{\text{durchschnittlicher OD} - \text{Wert der Negativ - Kontrolle} + \text{Faktor}}$$

3.5.5 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) FSME-Virus

Der ELISA auf das FSME-Virus wurde am Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Zentrum für Veterinary Public Health, Universität Leipzig durchgeführt.

Es wurde das Progen All Species IgG ELISA Kit (PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg, Deutschland) nach Herstellerangaben eingesetzt. Seren von vakzinierten Hunden wurden als Positivkontrolle genutzt.

3.6 Statistische Auswertung

Die Auswertung erfolgte als deskriptive Statistik mittels Angaben von Minima und Maxima sowie Medianwerten.

Die grafische Darstellung von Unterschieden in der Häufigkeitsverteilung erfolgte mit Hilfe von Balkendiagrammen und Boxplots. Ein Boxplot zeigt grafisch die Lage und Verteilung der Werte einer Variablen auf. Die schwarze horizontale Linie innerhalb der hellgrauen Fläche eines Boxplots kennzeichnet den Medianwert, die untere Grenze das 25 %-Perzentil, die obere das 75 %-Perzentil. Die dünnen Querstriche ober- und unterhalb der Box geben den größten bzw. kleinsten Wert aus der jeweiligen Stichprobe an, der noch keinen Ausreißer oder Extremwert

darstellt. Als Ausreißer und Extremwerte werden im Zusammenhang mit Boxplots solche Werte gekennzeichnet, die um mehr als das 1,5-fache der Höhe der Box ober- und unterhalb der Box liegen. Die Entfernung von Ausreißern zur Box beträgt zwischen dem 1,5-fachen und dem Dreifachen der Boxhöhe (in der Grafik als Kreise gekennzeichnet). Extremwerte liegen dagegen mehr als das Dreifache über bzw. unter der Boxhöhe (als Sternchen gekennzeichnet).

Zum Vergleich von Gruppenmittelwerten wurde die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) eingesetzt. Dieses Verfahren ermöglicht die Ermittlung des Einflusses eines Faktors (unabhängige Variable) auf eine Zielvariable (abhängige Variable). Ist die unabhängige Variable nominalskaliert und die abhängige Variable metrisch skaliert, werden die Mittelwerte der abhängigen Variablen innerhalb der, durch die Kategorien der unabhängigen Variablen definierten, Gruppen verglichen. $P \leq 0,05$ wurde als signifikant definiert.

Die Normalverteilungsannahme wurde jeweils anhand eines Histogramms überprüft. Da es bei einigen Variablen (z.B. IFAT *Borrelia burgdorferi* sensu lato) teilweise starke Abweichungen von dieser gab, wurde alternativ der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Im Falle eines signifikanten Ergebnisses des Omnibus-Tests wurden zur Ermittlung der einzelnen Gruppenunterschiede post-hoc Tests genutzt. Im Fall des Kruskal-Wallis-Test wurde der Mann-Whitney-U-Test als post-hoc Test eingesetzt.

Als statistische Software wurde SPSS 17.0 für Windows, SPSS Inc., USA verwendet.

IV. Ergebnisse

Im Zeitraum von Dezember 2009 bis November 2011 wurden 66 Hunde in die Studie eingeschlossen. Die drei Gruppen werden zunächst einzeln beschrieben, dann untereinander verglichen.

4.1 Beschreibung der Gruppen

4.1.1 MUE-Gruppe (Patienten mit Meningoenzephalitis)

22 Hunde wurden in die MUE-Gruppe eingeschlossen. 15 Hunde wurden an der Klinik für Kleintiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 4 Hunde an der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin und 3 Hunde an der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Trier vorgestellt und untersucht.

Das Vorstellungsalter von den 12 männlichen (2 kastrierte) und 10 weiblichen (3 kastrierte) Hunden lag zwischen 0,5 und 10 Jahren (Median [M]=2,7 Jahre). 4 Mischlinge und 15 Rassen waren vertreten (Tab. 3).

Bei 16 Patienten war bekannt, ob der Hund im Ausland gewesen war. 12 Hunde hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung Deutschland nie verlassen. Vier Hunde waren im Ausland gewesen. Die bereisten Länder waren Polen (2), Holland (1), Schweiz (1), Österreich (1) und Italien (1).

Der Impfstatus war bei 16 Hunden bekannt. 15 Hunde waren regelmäßig geimpft, ein Hund wurde grundimmunisiert und nicht nachgeimpft (Tab. 3).

Tabelle 3: Signalement, Auslandsaufenthalt und Impfstatus der Patienten der ME-Gruppe. W: weiblich, WK: weiblich kastriert, M: männlich, MK: männlich kastriert, H: Hannover, TR: Trier, B: Berlin, k.A. keine Angabe

Patient	Region	Datum der Vorstellung	Alter (J.)	Geschlecht	Rasse	Ausland	Impfung	Entwurmung
MUE1	H	16.04.2010	0,6	W	Labrador Retriever	k.A.	k.A.	k.A.
MUE2	B	04.02.2010	5	W	Rauhaarteckel	k.A.	k.A.	k.A.
MUE3	B	27.05.2010	9	WK	Basenji-Mischling	nein	ja	k.A.
MUE4	B	14.01.2011	0,6	MK	Französische Bulldogge	Polen	ja	ja
MUE5	H	28.12.2010	1	M	Deutscher Schäferhund	nein	nur erste Impfung	k.A.
MUE6	H	28.10.2010	2	WK	Mischling	Holland	ja	ja
MUE7	H	05.10.2010	0,6	W	Französische Bulldogge	nein	ja	ja
MUE8	H	08.02.2010	2,5.	M	Sloughi	Polen, Schweiz	ja	Ja
MUE9	TR	22.11.2010	2,8	W	Gordon Setter	nein	k.A.	k.A.
MUE10	H	02.10.2010	2	M	Berner Sennenhund	nein	ja	Ja
MUE11	H	13.12.2010	4	M	Australian Shepherd	k.A.	k.A.	k.A.
MUE12	H	02.07.2010	10	M	Mischling	Österreich	ja	ja
MUE13	TR	01.03.2011	2	W	Yorkshire Terrier	nein	ja	k.A.

Patient	Region	Datum der Vorstellung	Alter (J.)	Geschlecht	Rasse	Ausland	Impfung	Entwurmung
MUE14	TR	21.02.2011	5	M	Golden Retriever	nein	ja	ja
MUE15	H	04.08.2011	1	M	Mischling	Dänemark	ja	ja
MUE16	H	14.07.2011	1	MK	Mischling	nein	ja	ja
MUE17	H	06.07.2011	0,7	W	Rottweiler	nein	ja	ja
MUE18	H	24.07.2011	6	M	Katalanischer Schäferhund	Italien	ja	ja
MUE19	H	17.05.2011	10	WK	Französische Bulldogge	k.A.	ja	ja
MUE20	H	19.04.2011	8	M	Elo	nein	ja	ja
MUE21	H	09.03.2011	3,5	M	Parson Russel Terrier	nein	ja	ja
MUE22	B	07.11.2011	5	W	Deutscher Schäferhund	nein	ja	nein

Die häufigsten Vorstellungsgründe waren Lahmheit (5), Kreisbewegungen (4), Kopfschiefhaltung (4), Anfallsgeschehen (4), Tremor (2), Fieber (2), Verhaltensänderungen (2). Ein Patient (MUE 2) wurde wegen Erbrechen vorgestellt und entwickelte während des stationären Aufenthaltes Ataxie.

Die Dauer der Symptome lag zwischen 1 Tag und 3 Jahren ([M]=7 Tage). Der Patient MUE 21 hatte schon seit 3 Jahren Anfallsleiden. Es ist naheliegend dass das ursprüngliche Anfallsgeschehen nicht durch eine entzündliche ZNS-Erkrankung verursacht wurde, sondern dass bei diesem Patienten zwei verschiedene Erkrankungen aufgetreten sind. 17 Hunde hatten vor Vorstellung eine Medikation bekommen. 12 Hunde wurden mit Antibiotika vorbehandelt. Die eingesetzten Antibiotika waren Amoxicillin-Clavulansäure (4), Enrofloxacin (3), Marbofloxacin (1), Methyl-Penicillin (1), Clindamycin (1), Doxycyclin (1), Metronidazol (1), Cefovecin (1), Trimethoprim-Sulfadiazin (1). Nicht antibiotische Medikamente waren Glukokortikoide (5), Diazepam (3), Carprofen (2), Tolfenaminsäure (1), Metoclopramid (1), Pyridostigmin (1) (Tab. 4).

Das Allgemeinbefinden bei Erstvorstellung war bei 5 Patienten ungestört, bei 4 Hunden ggr. gestört, bei 5 Hunden mgr. gestört und bei 4 Hunden hgr. gestört. Ein Hund wurde im Anfall vorgestellt.

Tabelle 4: Vorstellungsgrund, Dauer der Symptome, Vorbehandlung der Patienten der MUE-Gruppe. k.A.: keine Angabe, X: keine Vorbehandlung

Patient	Vorstellungsgrund	Dauer der Symptome (Tage)	Vorbehandlung	Antibiotische Vorbehandlung
MUE1	Zuckungen	2	Dexamethason, Diazepam	Enrofloxacin
MUE2	Erbrechen, epileptiforme Anfälle, Ataxie	2	Metoclopramid	X
MUE3	Faszikulationen, Halsbiegeschmerz	14	X	Metronidazol, Methyl-Penicillin
MUE4	Lahmheit Hintergliedmaßen, Kreisbewegung, Kopschiefhaltung	14	Carprofen, Diazepam	X
MUE5	Lahmheit hinten rechts, nicht stehfähig, Kopfschiefhaltung	1	X	X
MUE6	Tremor	4	Tolfenaminsäure, Prednisolon	Amoxicillin-Clavulansäure

Patient	Vorstellungsgrund	Dauer der Symptome (Tage)	Vorbehandlung	Antibiotische Vorbehandlung
MUE7	progressive Gangstörung bis Lähmung Hinterhand	4	Cortison, Carprofen, Diazepam	X
MUE8	Schwäche, Schmerzhaftigkeit Hals	10	Prednisolon	X
MUE9	Kopfschiefhaltung	1	X	Amoxicillin-Clavulansäure
MUE10	Kreiswandern, Kopfschiefhaltung	7	Dexamethason	Marbofloxacin
MUE11	Lähmung hinten links, dann Paraparese	14	Prednisolon, Mestinon	X
MUE12	Gleichgewichtsstörungen	5	Phenylbutazon-Prednisolon	Doxycyclin (vor 2 Wochen)
MUE13	Apathie, Kreisbewegungen	4	X	Cefovecin, Enrofloxacin
MUE14	Ataxie Hintergliedmaßen, Fazialislähmung	21	X	Enrofloxacin
MUE15	Fieber, Fliegenschnappen, Halsbiegeschmerz	21	Prednisolon	X
MUE16	Fieber, Ataxie	9	X	Clindamycin
MUE17	Schmerzhaftigkeit, Lahmheit Hintergliedmaße nach Pferdebiß	1	X	Trimethoprim-Sulfadiazin
MUE18	Drangwandern, Verhaltensveränderung	1	X	Unbekanntes Antibiotikum
MUE19	Kreisbewegungen, Tetraparese	14	X	Amoxicillin-Clavulansäure
MUE20	Anfallsgeschehen	120	X	X
MUE21	Anfallsgeschehen	1200	X	X
MUE22	Anfallsgeschehen	2	X	Amoxicillin-Clavulansäure

Die Ergebnisse der Blutuntersuchung waren bei 19 Patienten bekannt. Die Leukozytenzahl lag zwischen $6,01 \times 10^9 / l$ und $21,84 \times 10^9 / l$ ($[M] = 10,77 \times 10^9 / l$), der Hämatokrit zwischen $0,36 l/l$ und $0,58 l/l$ ($[M] = 0,45 l/l$), die Thrombozytenzahl zwischen $102 \times 10^9 / l$ und $486 \times 10^9 / l$ ($[M] = 275 \times 10^9 / l$). Es wurde nur in Einzelfällen ein manuelles Differentialblutbild angefertigt, daher kann nur in wenigen Fällen eine Aussage über das Vorhandensein von Stabkernigen neutrophilen Granulozyten gemacht werden (Tab. 5).

18 Hunde hatten im Liquor eine erhöhte Zellzahl (>3 kernhaltige Zellen/ μl) und einen erhöhten Proteingehalt. Bei 3 Hunden waren Protein und Zellzahl niedrig. Eines dieser Tiere wurde mit Cortison vorbehandelt. Bei den beiden anderen Tieren wurde die Diagnose post-mortem mittels pathologischer Untersuchung des Gehirns gestellt. Bei einem der Hunde wurde keine Liquoruntersuchung durchgeführt. Bei diesem Patienten wurde die Diagnose ebenfalls post-mortem gestellt (Tab. 5).

Tabelle 5: Ergebnisse der Blut- und Liquoruntersuchung der Patienten der MUE-Gruppe. Seg: Segmentkernige neutrophile Granulozyten, Stb: Stabkernige neutrophile Granulozyten (nur wenn manuelles Differentialblutbild angefertigt), Lz: Lymphozyten, Eo: Eosinophile Granulozyten, Baso: Basophile Granulozyten, Mono: Monozyten, Makro: Makrophagen, Ery: Erythrozyten, Pandy pos.: Pandy Reaktion positiv, Pandy neg.: Pandy Reaktion negativ, k.A. keine Angabe

Patient	Blut: Leukozyten- zahl (x10 ⁹ /l)	Blut: Differentialblutbild	Blut: Hämatokrit (l/l)	Blut: Thrombo- zytenzahl (x10 ⁹ /l)	Liquor: Zellzahl (/µl)	Liquor: Differential- zellbild	Liquor: Protein (mg/dl)
MUE1	12,36	Lz 9,7, Seg 81, Baso 0,2, Eo 1,1, Mono 7,9	0,43	377	21	Lz 90, Mono10	16
MUE2	8,1	k.A.	0,58	310	20	k.A.	129
MUE3	10,21	k.A.	0,45	442	2288	k.A.	621
MUE4	21,07	Lz 9, Seg 76(Stb 3), Eo 10, Mono 2	0,52	180	Viele	k.A.	k.A.
MUE5	7,16	Lz 28,9, Seg 59,7, Baso 0,5, Eo 0,8, Mono 9,9	0,36	405	1	k.A.	83
MUE6	20,11	Lz 9,6, Seg 77,1, Baso 0,5, Eo 0,2, Mono 12,2	0,45	271	33	Seg 2, Lz 61, Makro 37	10
MUE7	8,93	Lz 25,3, Seg 65,7, Baso 0,7, Eo 2,2, Mono 5,6	0,48	239	10	Seg 2, Lz 76, Mono 22	21
MUE8	11,43	Lz 6,5, Seg 88,9, Baso 0,2, Eo 1,0, Mono 3,3	0,41	349	52	Seg 3, Lz 81, Mono 15, Stb 1	52
MUE9	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	47	Seg 32, Lz 68	Pandy pos.
MUE10	8,91	Lz 29, Seg 57, Eo 7, Mono 7	0,38	228	15	Seg 25, Lz 47, Mono 23, Stb 2	134
MUE11	8,82	Lz 6, Seg 69, Mono 25	0,52	197	k.A.	k.A.	k.A.
MUE12	6,01	Lz 28,5, Seg 48,9, Baso 0,3, Eo 7, Mono 15,2	0,49	486	129	Lz 90	120
MUE13	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	18	Überwiegend Lz; vereinzelt Seg	Pandy schwach pos.
MUE14	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	8	k.A.	Pandy pos.
MUE15	9,94	Lz 36,9, Seg 44,9, Baso 0,8, Eo 7,0, Mono 9,9	0,43	253	40	Seg 84, Lz 14, Mono 2	k.A.
MUE16	12,23	Lz 15,4, Seg 72,2, Baso 0,3, Eo 1,5, Mono 9,4	0,47	102	347	Seg 52, Lz 29, Makro 19	166
MUE17	21,84	Lz 10,1, Seg 85,8, Baso 0,3, Eo 0,3, Mono 3,4	0,41	275	7	Seg 79, Lz 3, Mono 18	19,9
MUE18	14,48	Lz 8,2, Seg 84,6, Baso 0,1, Eo 0,2, Mono 6,9	0,44	223	315	Seg 32, Lz 26, Makro 42	92,6
MUE19	10,77	Lz 11,1, Seg 80,2, Baso 0,3, Eo 0,4, Mono 8,0	0,55	279	3	k.A.	29,8

Patient	Blut: Leukozyten- zahl (x10 ⁹ /l)	Blut: Differentialblutbild	Blut: Hämatokrit (l/l)	Blut: Thrombo- zytenzahl (x10 ⁹ /l)	Liquor: Zellzahl (/µl)	Liquor: Differential- zellbild	Liquor: Protein (mg/dl)
MUE20	7,73	Lz 26,3, Seg 64,5, Baso 0,4, Eo 4,9, Mono 3,8	0,54	338	1	k.A.	12,4
MUE21	10,91	Lz 26,9, Seg 56,8, Baso 1,0, Eo 4,4, Mono 10,7	0,43	465	5	Lz 84, Mono 16	k.A.
MUE22	11,23	Lz 13, Seg 81, Eo 1, Mono 5	0,44	112	467	Seg, Lz, Mono	101

Bei 7 Hunden wurde ein CT des Kopfes mit Kontrastmittel durchgeführt, bei einem Hund ein CT der Halswirbelsäule. Bei 12 Hunden wurde eine MRT-Untersuchung des Kopfes gemacht. **Tabelle 6:** Befunde der speziellen Untersuchungen (bildgebende Verfahren) der Patienten der MUE-Gruppe. li: links, re: rechts, MRT-Sequenzen: T1: T1-gewichtete Sequenz, T2: T2 gewichtete Sequenz, HEMO: T2-gewichtete Gradienten-Echo Sequenz zur Darstellung von Hämorrhagien, FLAIR: fluid attenuated inversion recovery, GRASE: Gradient- and Spin-Echo, TSE: Turbo- and Spin-Echo

Patient	CT/ MRT	Befunde der Bildgebung
MUE1	MRT	Multifokale in T2, FLAIR und HEMO mgr.-hgr. hyperintense teils schlecht abgrenzbare Areale in der rechten Hirnhemisphäre im Bereich des Gyrus cingulus, des Hypothalamus, des Hippocampus und im Mesencephalon laterodorsal des Aquäduktus. Verändertes Areal in T1 hypointens. Keine Anreicherung nach Kontrastmittelgabe bis auf ein Kerngebiet im Bereich des ventralen, rechten Lobus parietalis. Das hgr. anreichernde Gebiet ist ca. 0,5 cm im Durchmesser, von einem in T2, HEMO und FLAIR darstellbaren mgr. hyperintensiven Saum umgeben. In diesem Bereich ggr. Mittelliniendevidation nach links. Ggr. vermehrte Anreicherung nach Kontrastmittelgabe der Meningen im Bereich der rechten Großhirnhemisphäre.
MUE2	CT	Ja
MUE3	CT	Ja
MUE4	CT	Kopf oB
MUE5	MRT	Multiple, ca. 0,2 mm im Durchmesser große hyperintense Areale im Bereich des Hirnstamms ventral des kaudalen Kleinhirnpols, ein ca. 0,3 mm großes hyperintenses Areal im Bereich des Kleinhirns auf der rechten Seite, multiple, hyperintense Areale, bis zu 7mm groß im Bereich des Thalamus links. Multiple hyperintense Areale im Bereich der Großhirnhemisphäre, die rechts und links, teilweise periventrikulär zu finden sind (T2). Sämtliche Läsionen hypointens in T1 und hyperintens in FLAIR und HEMO. Ggr. Anreicherung der Meningen nach Kontrastmittelgabe.
MUE6	MRT	Nach Kontrastmittelgabe: Ein schlecht abgrenzbares, hyperintenses Areal im Bereich des dorsalen Vermis cerebelli, multiple, inhomogene, schlecht abgrenzbare ggr. hyperintense Areale im Bereich der rostralen Kleinhirnhemisphären und im Bereich des Pons. Sonstiges Neuroparenchym obB. Meningen reichern nicht vermehrt an. V.a. ggr. Läsionen im Bereich des dorsalen Vermis (DD: Artefakt), fragliche multiple, schlecht abgrenzbare Areale, sonst obB.
MUE7	MRT	Ab mittlerer Höhe von C2 nach kaudal bis auf Höhe von C4/C5 ziehend in T2 diffuse mgr. Hyperintensität, mit linker Seitenbetonung, der Bereich in T1 hypointens, ggr. Anreicherung nach Kontrastmittelgabe, zentral eine Straße ohne Anreicherung. Fett-Liquor-Säule in diesem Bereich rundherum hgr. ausgedünnt, eine punktförmige Hyperintensität im kaudalen Bereich des Hirnstamms linksseitig in T2, die in T1 nach Kontrastmittelgabe keine Anreicherung zeigt, linksseitig im Bereich Übergang Lobus frontalis zum Lobus temporalis in T2, FLAIR und GRASE eine diffuse, schlecht abgrenzbare ggr. inhomogene hgr. Hyperintensität, in erster Linie die weiße Substanz betreffend. Areal in T1 ggr. inhomogen und ggr. hypointens. Hgr. Anreicherung nach Kontrastmittelgabe, welche zentrale Bereiche des Areals ausspart, Gesamt-Durchmesser des Areals ca. 1,4 cm. Hgr. punktförmige Anreicherung ggr. kaudal der vorher beschriebenen Läsion lateral des linken lateralen Ventrikels.

Patient	CT/ MRT	Befunde der Bildgebung
MUE8	MRT	Multiple intramedulläre, mgr. hyperintense, schlecht abgrenzbare Läsionen (T2, HEMO) über gesamten Verlauf des C2 ohne Seitenbetonung; Läsionen in T1 isointens, ggr. fokale Anreicherung im Bereich der Läsion nach Kontrastmittelgabe; mgr. hyperintense, schlecht abgrenzbare Läsion (T2, HEMO) im Bereich des Hirnstamms mit deutlicher rechter Seitenbetonung; Läsionen in T1 isointens bis ggr. hypointens, mgr. multifokale Anreicherung auf einer Größe von 0,5 cm im Durchmesser im ventralen rechten Bereich der Läsion nach Kontrastmittelgabe.
MUE9	CT	Dorsal der Hypophyse hyperdenses sichelförmiges Signal, fokal, aber bilateral symmetrisch ggr. Anreicherung im Cortex, übriges Gehirnparenchym, Ventrikelsystem und umgebende Strukturen im Bereich des Schädels von physiologischer Konfiguration und von physiologischem Signalverhalten nach Kontrastmittelgabe.
MUE10	MRT	Multiple diffuse, schlecht abgrenzbare, mgr. hyperintense Läsionen (T2, FLAIR, GRASE) im gesamten Hirnstamm beidseits, im Cerebellum beidseits und Großhirn auf Höhe des Thalamus beidseits, rechtsseitig auch kranial des Thalamus, Läsionen in T1 ggr. hypointens, mgr. Anreicherung nach Kontrastmittelgabe. Läsionen mit vergleichbarem Signalverhalten im Myelon nach kaudal bis Ende des Untersuchungsgebietes (C2).
MUE11	keine Bildgebung	
MUE12	MRT	Ein in T2 und FLAIR hyperintenses Areal im Bereich der Medulla oblongata linksseitig, hyperintense Areale (T2, FLAIR) in der rechten Großhirnhemisphäre in Capsula interna, Nucleus caudatus und Corona radiata. Mittelliniendevidation. Hyperintenses Areal in T2 und FLAIR (hypointens in T1) im rechten Kleinhirn. Alle Areale reichern nach Kontrastmittelgabe mgr.- bis hgr. an. Ggr. Kleinhirnherniation. Kranialer Bereich des Myeloms hyperintens in T2 mit einem erweiterten Zentralkanal. In diesem Bereich ein vom Zentralkanal ausgehendes hypointenses, keilförmiges Areal.
MUE13	CT	Hirnstamm kaudal der Bulla tympanica ggr. hyperdens (Artefakt). Gesamtes Ventrikelsystem stark dilatiert. Linker Lobus temporalis dorsolateral des lateralen Ventrikels ggr. hypodens. Kaumuskulatur schwach ausgebildet. Übriges Gehirnparenchym und umgebende Strukturen im Bereich des Schädels von normal-anatomischer Konfiguration und von physiologischem Signalverhalten nach Kontrastmittelgabe.
MUE14	CT	Nach Kontrastmittelgabe weichteilhyperdenses Signal im Bereich des rechten Hirnstamms auf Höhe der Bulla tympanica, auf Höhe des Thalamus dorsal des rechten lateralen und auch lateral des linken lateralen Ventrikels ähnliches Signal, im Bereich des Lobus frontalis Deviation der Falx cerebri nach links durch im rechten Lobus frontalis gelegene weichteilhyperdense Struktur.
MUE15	MRT	Im Bereich des Lobus frontalis rechts ein ca. 1,8 mm großes hyperintenses Areal (T2, GRASE), keine Anreicherung nach Kontrastmittelgabe. Restliches Neuroparenchym unauffällig. Mgr. vermehrte Anreicherung der Meningen nach Kontrastmittelgabe.
MUE16	MRT	Kontrastverlust von grauer und weißer Substanz (T2) im mittleren und rostralen Anteil der Großhirnhemisphären beidseits. Dieses Areal hyperintens in der FLAIR (V.a. Oedem). Multiple, multifokale hyperintense Areale mit einem Durchmesser von bis zu ca. 4,5mm im Durchmesser im Bereich der Großhirnhemisphäre, vorwiegend auf die weiße Substanz begrenzt. Mgr.-hgr. vermehrte Anreicherung nach Kontrastmittelgabe in diesen Arealen, ggr. vermehrte Anreicherung in den Meningen nach Kontrastmittelgabe. Linke Bulla tympanica mgr. mit weichteilisodensem Material gefüllt, mit Flüssigkeitsspiegel.
MUE17	CT	Becken: zwischen L7 und dem Sacrum stellt eine knochenisodense Struktur dar, die auf Höhe des Wirbelspalts L7/S1 eine hypodense Linie zeigt. Einzelne Knochenfragmente unter 1mm im distalen Bereich. M. psoas major in diesem Bereich ggr. hypodens und unruhig, keine vermehrte Kontrastmittelanreicherung. Kaudal der Blase, abdominal gelegen eine hgr. inhomogene, kavernöse weichteil iso- bis hypodense Masse, die bis zum Blasenhalss zieht und linksseitig gelegen ist.
MUE18	MRT	Im Bereich der Capsula interna links rostral ein ggr. inhomogenes, ggr. hyperintenses Areal (FLAIR, T2, GRASE) ohne vermehrte Anreicherung nach Kontrastmittelgabe. FLAIR: periventrikulär hyperintensere Saum, Neuroparenchym sonst unauffällig. Meningen reichern nach Kontrastmittelgabe vermehrt an.
MUE19	MRT	Ein ca 1,2cm großes, mgr. inhomogenes, iso- bis hyperintenses Areal (T2) auf Höhe des Kleinhirns im Hirnstamm rechts, welches sich auch auf die rechte Kleinhirnhemisphäre ausdehnt, ggr. Masseneffekt. Areal hypointens in T1. Areal von einem das Kleinhirn rechts und den rechten Hirnstamm betreffenden randständigen hyperintens (T2, FLAIR, GRASE) Areal umgeben. Zentrale, ggr. inhomogene Anreicherung nach Kontrastmittelgabe. In dem betreffenden Areal verminderte Neuropfusion und mgr.

Patient	CT/ MRT	Befunde der Bildgebung
		Diffusionsstörung. Ventrikel 1-4 mgr. vergrößert. Zentral im Myelon von C2-C5 ein hyperintenses (T2), in T1 hypointenses Areales. ggr Kontrastmittelanreicherung.
MUE20	MRT	Im Bereich des linken rostralen Lobus temporalis eine hgr. inhomogene, hypo-hyperintense ca. 2,2 cm im Durchmesser große, gut abgrenzbare Masse, welche von einem hypointensen Randsaum umgeben ist (T1,T2, GRASE). In der FLAIR kein die Läsion umgebender hyperintenser Bereich. Nach Kontrastmittelgabe erfolgt keine Anreicherung. Es stellt sich eine fragliche Verbindung zu den Meningen dar. Die Masse hat einen mgr. Masseneffekt mit einer deutlichen Mittelliniendevidation nach rechts. Großhirn ggr. herniiert. Hirnstamm und Kleinhirn mgr. von dorsorostral komprimiert. Ventrikel unauffällig (li<re). Nach Kontrastmittelgabe reichern die Meningen nicht vermehrt an. Diagnose: hgr. Läsion linker rostraler Lobus temporalis mit V.a. zentraler Blutung mit fraglicher Nekrose, mgr. Mittelliniendevidation, V.a. Großhirnherniation, mgr. Kompression des Hirnstamms und des Kleinhirns.
MUE21	MRT	T2/TSE und GRASE: im Bereich der dorsalen Großhirnhemisphären bzw. dorsal der Ventrikel links- und rechtsseitig bis zu 0,9 mm hyperintense Areale. Areale hypointens in T1 und FLAIR. Ein weiteres Areal befindet sich im linken kranialen Anteil des Bulbus olfactorius links (ca. 9 mm x 2,5 mm). Mgr-hgr Ventrikelasymmetrie mit Mittelliniendevidation nach rechts.
MUE22	CT	Gehirnparenchym diffus fleckig

Bei zwei Patienten wurde keine bildgebende Diagnostik durchgeführt, weil die Besitzer sich zur Euthanasie entschieden hatten. Bei diesen Patienten wurde die Diagnose post-mortem gestellt. Bei insgesamt 5 Hunden wurde post-mortem eine pathologische Untersuchung des Tierkörpers durchgeführt (Tab. 7).

Tabelle 7: Ergebnisse der Neurolokalisation, pathologischen Untersuchung und Diagnose bei den Patienten der MUE-Gruppe

Patient	Neurolokalisation	Pathologische Untersuchung	Diagnose
MUE1	Lateralisiert Großhirn, rechts	Nein	V.a. Enzephalitis im Bereich des Lobus parietalis und Kerngebieten im Di- und Mesenzephalon (DD vaskulär), V.a. postiktale Veränderungen insb. im Bereich des Gyrus cingulus
MUE2	Intrakraniell	Hgr., chronische, multifokal bis konfluierende, zT betont perivaskuläre, lymphohistiozytäre und Plasmazelluläre Meningoenzephalitis, besonders im Kleinhirn	Granulomatöse Meningoenzephalitis
MUE3	Intrakraniell	Nein	Meningoenzephalitis
MUE4	Zentral vestibulär	Nein	Meningitis, V.a. Enzephalitis
MUE5	Hirnstamm rechts, Kleinhirn rechts, Thalamus links, bds. Großhirnhemisphären	Nein	Multiple multifokale veränderte Areale, V.a. entzündlicher Prozess (DD: degenerativ, neoplastisch)
MUE6	Kleinhirn, Hirnstamm	Nein	Meningoenzephalitis (V.a. White Shaker Syndrom, DD infektiös)
MUE7	C1-C5 links	Nein	Multiple Läsionen mit nekrotischen Bezirken in Gehirn und Myelon, V.a. Nekrotisierende Meningoenzephalitis
MUE8	Hirnstamm rechts, Zervikalmark	Nein	V.a. Myelitis, Enzephalitis
MUE9	Vestibulär	Nein	V.a. Enzephalitis
MUE10	Multiple Läsionen Hirnstamm, Kleinhirn, Großhirn	Hgr. chronisch eitrig Enzephalomyelitis mit akzentuierten Arealen in Hirnstammarealen und Rückenmark mit hgr. Parenchymnekrosen und prominenter Beteiligung eosinophiler Granulozyten	Chronisch-eitrig Enzephalomyelitis (DD bakteriell, eosinophile GME)
MUE11	Intrakraniell, UMN L4-S3 +- T2-3	Granulomatöse bis nekrotisierende Meningomyelitis und -enzephalitis sowie granulomatöse Neuritis und Perineuritis von Kopf- und Spinalnerven	Disseminierte idiopathische granulomatöse Meningoenzephalitis
MUE12	Multifokal, besonders Stammhirn, auch Großhirn, Kleinhirn und Rückenmark betroffen	Mgr. lymphohistiozytäre Meningoenzephalomyelitis; fokal hgr. im Stammhirn; vaskuläres Hamartom der Meninx im Hippocampusbereich	Idiopathische granulomatöse Meningoenzephalitis
MUE13	Linker Lobus temporalis	Nein	Meningoenzephalitis
MUE14	Multifokal Hirnstamm und Großhirn	Nein	V.a. granulomatöse Meningoenzephalitis, DD Neoplasie
MUE15	Vorberichtlich intrakraniell	Nein	Meningitis
MUE16	Mgr. Läsionen im Bereich der Großhirnhemisphären, ggr. Im Hirnstamm	Nein	V.a. Meningoenzephalitis

Patient	Neurolokalisation	Pathologische Untersuchung	Diagnose
MUE17	Meningen, Weichteile im Lumbosakralbereich	Nein	Meningitis, V.a. Myelitis
MUE18	Ggr. Läsionen Capsula interna ohne Anreicherung, ggr. periventrikuläres Ödem, vermehrte Anreicherung in den Meningen	Nein	Meningoenzephalitis
MUE19	Hirnstamm rechts, rechte Kleinhirnhemisphäre	Überwiegend granulomatöse, teils lymphozytäre Enzephalitis. Zusätzlich in mehreren Lokalisationen monomorphe flächenhafte Infiltration mit Mikroglia-ähnlichen Zellen	Kontinuum zwischen granulomatöser Meningoenzephalitis und neoplastischen Prozessen
MUE20	Multifokal intrakraniell	Lymphohistiozytäre Meningoenzephalomyelitis / Hämangiom im linken Lobus temporalis	Hämangiom im linken Lobus temporalis und multifokale Meningoenzephalomyelitis (wahrscheinlich unabhängig)
MUE21	Multifokal intrakraniell	Nein	V.a. nekrotisierende Meningoenzephalitis
MUE22	Diffus intrakraniell	Nein	Meningoenzephalitis

4.1.2 SRMA-Gruppe (Patienten mit SRMA)

Es wurden 23 Hunde in die SRMA-Gruppe eingeschlossen. 13 Hunde wurden an der Klinik für Kleintiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 6 Hunde an der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin und 4 Hunde an der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Trier vorgestellt und untersucht.

Das Vorstellungsalter von den 13 männlichen (2 kastriert) und 10 weiblichen (2 kastriert) Hunden lag zwischen 0,5 und 11 Jahren ([M]= 1,1 Jahre). Es waren 13 verschiedene Rassen vertreten (Tab. 8).

17 Hunde hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung Deutschland nie verlassen. Bei 6 Hunden war ein Auslandsaufenthalt bekannt. Die bereisten Länder waren Ungarn (2), Russland (1), Schweiz (1), Spanien (1), Belgien (1) und Frankreich (1).

Der Impfstatus war bei 17 Hunden bekannt. 15 Hunde waren regelmäßig geimpft. Ein Hund (SRMA 16) hatte erst eine Impfung bekommen, ein Patient wurde 1,5 Jahre vor Vorstellung geimpft (Tab. 8).

Tabelle 8: Signalement, Auslandsaufenthalt und Impfstatus der Patienten der SRMA-Gruppe. W: weiblich, WK: weiblich kastriert, M: männlich, MK: männlich kastriert, H: Hannover, TR: Trier, B: Berlin, nein: kein Ausland, k.A. keine Angabe

Patient	Region	Vorstellungsdatum	Alter (J.)	Geschlecht	Rasse	Ausland	Impfung	Entwurmung
SRMA1	H	05.02.2010	2	W	Barsoi	Russland	ja	ja
SRMA2	H	27.01.2010	2	M	Retriever	nein	ja	ja
SRMA3	B	10.05.2010	1	W	Boxer	nein	k.A.	k.A.
SRMA4	H	04.01.2010	1,3	W	Boxer	nein	ja	ja
SRMA5	H	22.02.2010	0,6	M	Novia Scotia Duck Tolling	nein	ja	nein

Patient	Region	Vorstellungsdatum	Alter (J.)	Geschlecht	Rasse	Ausland	Impfung	Entwurmung
					Retriever			
SRMA6	H	30.09.2010	0,8	W	Mischling	nein	ja	ja
SRMA7	H	21.11.2009	1,2	MK	Deutscher Schäferhund	nein	ja	ja
SRMA8	H	03.02.2011	0,8	M	Berner Sennenhund	nein	ja	ja
SRMA9	TR	10.12.2010	0,8	M	Beagle	Ungarn	k.A.	k.A.
SRMA 10	H	25.05.2009	1,5	MK	Mischling	Spanien	ja	ja
SRMA 11	H	15.10.2009	1,4	W	Beagle-Mischling	nein	ja	ja
SRMA 12	H	29.11.2010	1,5	M	Mischling	nein	ja	ja
SRMA 13	TR	01.02.2011	11	M	Bichon maltais	Belgien	k.A.	k.A.
SRMA 14	B	19.02.2011	2	M	Labrador Mischling	nein	ja, Juni 09	ja
SRMA 15	B	31.05.2011	0,8	WK	Beagle	nein	k.A.	k.A.
SRMA 16	B	26.02.2010	0,6	W	Beagle	nein	06.02.2010 1x	ja
SRMA 17	TR	23.03.2011	0,7	W	Holländischer Schäferhund	Schweiz, Frankreich	k.A.	k.A.
SRMA 18	TR	23.02.2011	0,5	M	Beagle	Ungarn	k.A.	k.A.
SRMA 19	B	23.07.2011	1,5	WK	Berner Sennenhund	nein	ja	ja
SRMA 20	H	30.06.2011	0,8	M	Berner Sennenhund	nein	ja	ja
SRMA 21	H	15.04.2011	1,1	W	Berner Sennenhund	nein	ja	ja
SRMA 22	H	10.07.2011	0,9	M	Petit Basset Griffon	nein	ja	ja
SRMA 23	B	12.10.2011	2	M	Novia Scotia Duck Tolling Retriever	nein	ja	k.A.

22 Hunde wurden mit Halsbiegeschmerz, Mattigkeit und/oder erhöhter Körpertemperatur vorgestellt. Ein Hund hatte einen Rechtsdrall (Patient SRMA 16).

Die Dauer der Symptome lag zwischen 1 Tag und 3 Monaten ([M]= 4 Tage). 17 Hunde hatten vor Vorstellung eine Medikation bekommen. Insgesamt 14 Hunde wurden mit Antibiotika vorbehandelt. Die eingesetzten Antibiotika waren Amoxicillin-Clavulansäure (5), Enrofloxacin (5), Doxycyclin (4), Penicillin-Streptomycin (1), Metronidazol (1) und Marbofloxacin (1). Ein Hund bekam vor der Überweisung Imidocarb. Nicht antibiotische Medikamente waren Metamizol (8), Meloxicam (6), Carprofen (2), Glukokortikoide (3) und Phenylbutazon (1) (Tab. 9).

Tabelle 9: Vorstellungsgrund, Dauer der Symptome und Vorbehandlung der Patienten der SRMA-Gruppe. X: keine Vorbehandlung

Patient	Vorstellungsgrund	Dauer der Symptome (Tage)	Vorbehandlung	Antibiotische Vorbehandlung
SRMA1	Fieber, Schmerzhaftigkeit, torkelnder Gang	5, hatte vor 1 Jahr schon solche Episode	Methylprednisolon	X

Patient	Vorstellungsgrund	Dauer der Symptome (Tage)	Vorbehandlung	Antibiotische Vorbehandlung
SRMA2	Schmerzhaftigkeit, Fieber, trippelnder Gang	4	Meloxicam, Metamizol	Enrofloxacin, Metronidazol
SRMA3	Mattigkeit	1	Carprofen	X
SRMA4	Schmerzhaftigkeit	2	X	X
SRMA5	Mattigkeit	2	Metamizol	X
SRMA6	Fieber	4	Phenylbutazon	Enrofloxacin
SRMA7	Fieber, Mattigkeit	5	Metamizol	Amoxicillin-Clavulansäure, Enrofloxacin
SRMA8	Apathie, Fieber	14	X	X
SRMA9	Mattigkeit, Schmerzhaftigkeit	6	Meloxicam	Amoxicillin-Clavulansäure
SRMA 10	Mattigkeit, Schwierigkeiten beim Aufstehen	4	X	Doxycyclin
SRMA 11	Fieber	1 Jahr, rezidivierend, 5 Tage akut	X	X
SRMA 12	Fieber	3	Metamizol, Prednisolon	Amoxicillin-Clavulansäure, Enrofloxacin
SRMA 13	Schmerzhaftigkeit	5	Meloxicam	X
SRMA 14	Mattigkeit, Fieber	2	Metamizol	Marbofloxacin
SRMA 15	Fieber, Apathie	7	Meloxicam, Prednisolon	Doxycyclin
SRMA 16	Rechtsdrall	3	X	X
SRMA 17	Fieber, Schmerzhaftigkeit	1	X	Penicillin-Streptomycin
SRMA 18	Fieber	7	Meloxicam	Amoxicillin-Clavulansäure, Imidocarb, Doxycyclin
SRMA 19	Schmerzhaftigkeit	4	Metamizol	Doxycyclin
SRMA 20	Schmerzhaftigkeit beim Hinlegen und Aufstehen	30	Diverse	Diverse
SRMA 21	Bewegungsunlust	2	Carprofen	Amoxicillin
SRMA 22	Fieber, Schmerzhaftigkeit Rücken	Intermittierend 90	Metamizol	X
SRMA 23	Halsbiegeschmerz	2	Meloxicam, Metamizol	Enrofloxacin

Die Ergebnisse der Blutuntersuchung waren bei 18 Patienten bekannt. Die Leukozytenzahl lag zwischen $11,07 \times 10^9 / l$ und $67,02 \times 10^9 / l$ ($[M] = 27,18 \times 10^9 / l$), der Hämatokrit zwischen 0,28 l/l und 0,58 l/l ($[M] = 0,42$ l/l), die Thrombozytenzahl zwischen $156 \times 10^9 / l$ und $446 \times 10^9 / l$ ($[M] = 264 \times 10^9 / l$). Es wurde bei der Blutuntersuchung nur in Einzelfällen ein manuelles Differentialzellbild angefertigt. Daher kann nur in diesen Fällen eine Aussage über das Vorhandensein von Stabkernigen neutrophilen Granulozyten gemacht werden.

22 der Hunde hatten im Liquor eine erhöhte Zellzahl und einen erhöhten Proteingehalt (Tab. 10). Bei 1 Hund (SRMA 12) waren Protein und Zellzahl niedrig (2,7 Zellen/ μ l, 2 Zellen im Differentialzellbild, beide Zellen Segmentkernige Granulozyten). Der Patient wurde mit Prednisolon vorbehandelt.

Tabelle 10: Ergebnisse der Blut- und Liquoruntersuchungen der Patienten der SRMA-Gruppe. Seg:Segmentkernige neutrophile Granulozyten, Stb: Stabkernige neutrophile Granulozyten (nur wenn manuelles Differentialzellbild untersucht wurde), Lz: Lymphozyten, Eo: Eosinophile Granulozyten, Baso: Basophile Granulozyten, Mono: Monozyten, Makro: Makrophagen, Ery: Erythrozyten, Blasten: Lymphoblasten, x: keine Angabe, Pandy pos.: Pandy Reaktion positiv, Pandy neg.: Pandy Reaktion negativ

Patient	Blut: Leuko- zytenzahl (x10 ⁹ /l)	Blut: Differentialblutbild (%)	Blut: Hämato- krit (l/l)	Blut: Thrombo- zytenzahl (x10 ⁹ /l)	Liquor: Zellzahl (/µl)	Liquor: Differential- zellbild (%)	Liquor: Protein- gehalt (mg/dl)
SRMA1	11,07	Lz 14,5, Seg 72, Baso 0,4, Eo 4,7, Mono 8,3	0,58	259	17	gemischt	15
SRMA2	26,87	Lz 9,7, Seg 74,5, Baso 0,2, Eo 0,2, Mono 14,9	0,35	238	672	Lz 17, Seg 80, Mono 3	162
SRMA3	30,7	vereinzelt Stb	0,39	156	19	k.A.	23,8
SRMA4	31,4	Lz 8, Seg 83, Mono 8	0,44	441	1280	k.A.	145
SRMA5	13,85	Lz 15,8, Seg 71,6, Eo 1,3, Mono 9,8	0,4	306	1067	überwiegend Seg, vereinzelt Lz	84,1
SRMA6	26,63	Lz 25, Seg 62, Stb 1, Mono 12	0,28	324	1767	Lz 22, Seg 77, Mono 1	186
SRMA7	28	Lz 6,1, Seg 85,2, Baso 0,2, Eo 0,1, Mono 7,6	0,32	313	93	Lz 5, Seg 80, Mono 15	30
SRMA8	28,06	Lz 6, Seg 70, Eo 1, Mono 23	0,38	183	11	Seg 90, Makro 10	14,3
SRMA9	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	2053	k.A.	Pandy pos.
SRMA 10	21,19	Lz 6,4, Seg 86,4, Baso 0,1, Eo 0,3, Mono 6,7	0,48	198	9	überwiegend Seg	22
SRMA 11	11,96	Lz 35, Seg 59, Mono 6	0,44	211	29	k.A.	21
SRMA 12	13,89	Lz 3, Seg 87,7, Baso 0,9, Eo 0,4, Mono 7,5	0,47	194	3	Insgesamt 2 Seg	12,48
SRMA 13	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	459	Lz 86, Seg 14	Pandy pos.
SRMA 14	29,8	k.A.	0,37	194	353	k.A.	42,6
SRMA 15	67,02	Lz 7, Seg 87(Stb++), Eo 5, Mono 2	0,44	287	647	k.A.	104,9
SRMA 16	14,29	Lz 27, Seg 61(Stb2), Eo 2, Mono 8	0,53	446	nur Ausstrich	Seg und Lz	Pandy neg.
SRMA 17	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	94	Lz 24, Seg 76	Pandy neg.
SRMA 18	48	k.A.	0,33	k.A.	1067	Lz 5, Seg 94, Stb 1, Blasten	Pandy pos.
SRMA 19	24	Lz 10, Seg 79, Mono 11	0,41	269	233	k.A.	86,6
SRMA 20	27,49	k.A.	0,39	k.A.	180	Lz 2, Seg 70, Makro 28	32,48
SRMA 21	20,78	Lz 19,7, Seg 69,3, Baso 0,2, Eo 2,4, Mono 8,3	0,42	217	1267	Lz 6, Seg 94	13,02
SRMA 22	29,63	Lz 7,4, Seg 82, Baso 0,2, Eo 1,5, Mono 8,8	0,42	274	155	Seg 71, Mono 19, Makro 10	117,9
SRMA 23	49,48	Lz 5, Seg 85 (Stb 3), Eo 2, Mono 5	0,43	316	700	überwiegend Seg	76,6

4.1.3 Kontrollgruppe (Trauma-Gruppe)

Es wurden 21 Hunde in die Trauma-Gruppe eingeschlossen. Zwei Hunde wurden an der Klinik für Kleintiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 4 Hunde an der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin und 15 Hunde an der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Trier vorgestellt und untersucht.

Das Vorstellungsalter der 13 männlichen (2 kastrierte) und 8 weiblichen (2 kastrierte) Hunde lag zwischen 3 und 13 Jahren ([M]= 7 Jahre). 10 verschiedene Rassen waren vertreten.

Bei 18 Patienten war bekannt, ob der Hund im Ausland gewesen war. 8 Hunde hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung Deutschland nie verlassen. 10 Hunde waren im Ausland gewesen. Die bereisten Länder waren Frankreich (5), Holland (3), Spanien (2), Polen (1), Österreich (1), Dänemark (1), Norwegen (1), Italien (1), Belgien (1), U.S.A. (1), Tschechische Republik (1).

Der Impfstatus war nur bei 3 Hunden bekannt. Die Patienten T 4, T 31 und T 32 waren regelmäßig geimpft (Tab. 11).

Tabelle 11: Signalement und Auslandsaufenthalt der Patienten der Trauma-Gruppe. W: weiblich, WK: weiblich kastriert, M: männlich, MK: männlich kastriert, H: Hannover, TR: Trier, B: Berlin, nein: kein Ausland, k.A: keine Angabe

Patient	Region	Vorstellungsdatum	Alter (J.)	Geschlecht	Rasse	Ausland
T1	B	26.06.2010	7	MK	Mischling	k.A.
T2	B	08.06.2010	4,5	WK	Mischling	k.A.
T3	B	15.01.2011	13	WK	Labrador Retriever	k.A.
T4	B	25.09.2010	10	MK	Labrador Retriever	Frankreich, Italien, Dänemark
T5	TR	21.12.2010	7	W	Mischling	nein
T6	TR	04.01.2011	6	W	Jack Russel Terrier	nein
T7	TR	29.12.2010	3	M	Mischling	nein
T8	TR	21.12.2010	10	M	Teckel-Mischling	nein
T9	TR	30.12.2010	9	M	Schnauzer-Mischling	Belgien, Holland
T10	TR	20.12.2010	6	W	Tibet Terrier	Polen, Spanien
T11	TR	10.01.2011	4	W	Jack Russel Terrier	Frankreich
T12	TR	26.01.2011	8	M	Mischling	Mallorca
T13	TR	13.01.2011	9	M	Dalmatiner	Frankreich, Holland
T14	TR	04.02.2011	6	W	Dobermann	nein
T15	TR	03.05.2010	7	M	Alaskan Malamute	nein
T16	TR	16.03.2011	7	M	Rauhhaarteckel	nein
T17	TR	01.03.2011	10	M	Langhaarteckel	nein
T18	TR	05.04.2011	10	W	Coton de tular	Frankreich, U.S.A., Norwegen

Patient	Region	Vorstellungsdatum	Alter (J.)	Geschlecht	Rasse	Ausland
T19	TR	08.02.2011	3	M	Rauhhaarteckel	Frankreich, Holland
T20	H	18.07.2011	11	M	Labrador Retriever	Österreich
T21	H	16.06.2011	7	M	Beagle	Dänemark, Tschechische Republik

Die häufigsten Vorstellungsgründe waren Paraparese (3), Ataxie (4), Schmerzhaftigkeit (7), Hinterhandschwäche (4), Tetraparese (1), Lahmheit einer Hintergliedmaße (1), Schwierigkeiten beim Laufen (1).

Die Dauer der Symptome lag zwischen 1 Tag und 1 Jahr ([M]= 4 Tage). 18 Hunde hatten vor Vorstellung eine Medikation erhalten. Zwei Hunde wurden mit Antibiotika vorbehandelt. Je ein Hund bekam Enrofloxacin und Amoxicillin-Clavulansäure. Die am häufigsten eingesetzten nicht antibiotischen Medikamente waren Glukokortikoide (12), Meloxicam (5) und Metamizol (2) (Tab.12).

Tabelle 12: Vorstellungsgrund, Dauer der Symptome, Vorbehandlung und Allgemeinbefinden der Patienten der Trauma-Gruppe (T). k.A.: keine Angabe, X: keine Vorbehandlung

Patient	Vorstellungsgrund	Dauer der Symptome (Tage)	Vorbehandlung	Antibiotische Vorbehandlung
T1	Ataxie	3	k.A.	k.A.
T2	Schmerzhaftigkeit Hals	k.A.	Meloxicam	X
T3	Schwierigkeiten beim Aufstehen, Schwanken Hintergliedmaßen	30	X	X
T4	unkontrollierter Harnabsatz, Paraparese	3	Phenylbutazon-Prednisolon, Dexamethason	X
T5	Schwäche Hinterhand	40	Phenylbutazon-Prednisolon, Prednisolon, Vitamin B, Tramadol	X
T6	Paraparese	3	Dexamethason, Vitamin B, Metamizol	Enrofloxacin
T7	Lahmheit hinten links	1	Dexamethason, Meloxicam, Tramadol, Depot-Cortison	X
T8	Paraparese	21	Carprofen, Prednisolon, Metamizol, Vitamin B	X
T9	Schmerzhaftigkeit Hals	9	Meloxicam, Dexamethason, Tolfenaminsäure	X
T10	Schwierigkeiten beim Aufstehen	60	Phenylbutazon-Prednisolon, Mavacoxib	X
T11	Schmerzhaftigkeit Rücken	2	Dexamethason	X
T12	Einknicken in Vordergliedmaßen	365	Prednisolon, Metamizol	X
T13	Ataxie	X	Methylprednisolon, Acetyl-Salicylsäure, Propentofyllin, Vitamin B	X
T14	Ataxie	60	X	X
T15	Halsbiegeschmerz	1	X	Amoxicillin-Clavulansäure
T16	Paraparese	1	X	X
T17	Ataxie	4	Meloxicam	X
T18	Paraparese	3	Maropitant	X

Patient	Vorstellungsgrund	Dauer der Symptome (Tage)	Vorbehandlung	Antibiotische Vorbehandlung
T19	Schmerzhaftigkeit Rücken, Paraparese	1	Methylprednisolon, Furosemid	X
T20	steifer Gang	80	Meloxicam, Prednisolon	X
T21	Schmerzhaftigkeit Hals	7	k.A.	X

Die Ergebnisse der Blutuntersuchungen waren bei 6 Patienten bekannt. Die Leukozytenzahl lag zwischen $7,18 \times 10^9/l$ und $18,05 \times 10^9/l$ ($[M]= 9,38 \times 10^9/l$), der Hämatokrit zwischen 0,40 l/l und 0,60 l/l ($[M]= 0,45 l/l$) und die Thrombozytenzahl zwischen $123 \times 10^9/l$ und $470 \times 10^9/l$ ($[M]= 345 \times 10^9/l$).

Bei 20 Hunden in der Trauma-Gruppe ergab die Liquoruntersuchung weder einen erhöhten Proteingehalt noch eine erhöhte Zellzahl im Liquor. Ein Hund hatte im Liquor eine ggr. erhöhte Zellzahl und einen ggr. erhöhten Proteingehalt (Pandy Reaktion positiv) (T13) (Tab.13).

Tabelle 13: Ergebnisse der Blut- und Liquoruntersuchungen der Patienten der Trauma-Gruppe. Seg: Segmentkernige neutrophile Granulozyten, Stb: Stabkernige neutrophile Granulozyten, Lz: Lymphozyten, Eo: Eosinophile Granulozyten, Baso: Basophile Granulozyten, Mono: Monozyten, Makro: Makrophagen, Ery: Erythrozyten, Blasten: Lymphoblasten, X: keine Angabe, Pandy pos.: Pandy Reaktion positiv, Pandy neg.: Pandy Reaktion negativ

Pa-tient	Blut: Leukozytenzahl ($\times 10^9/l$)	Blut: Differentialblutbild (%)	Blut: Hämatokrit (l/l)	Blut: Thrombozytenzahl ($\times 10^9/l$)	Liquor: Zellzahl (μl)	Liquor: Differentialzellbild (%)	Liquor: Proteingehalt (mg/dl)
T1	18,05	Lz 21, Seg 64, Eo 4, Mono 11	0,42	123	Wenig	X	X
T2	9,09	X	0,48	253	0	X	X
T3	7,18	Lz 28,7, Seg 67,2, Mono 4,1	0,45	410	1	X	22,9
T4	15,5	X	0,4	421	0	X	X
T5	X	X	X	X	3	X	X
T6	X	X	0,6	X	2	X	Pandy neg.
T7	X	X	X	X	7	X	Pandy schwach pos.
T8	X		X	X	1	X	X
T9	X	X	X	X	1	X	X
T10	X	X	X	X	1	X	Pandy neg.
T11	X	X	X	X	3	X	X
T12	X	X	X	X	4	X	Pandy neg.
T13	X	X	X	X	0	X	Pandy schwach pos.
T14	X	X	X	X	5	X	Pandy neg.

Patient	Blut: Leukozytenzahl (x10 ⁹ /l)	Blut: Differentialblutbild (%)	Blut: Hämatokrit (l/l)	Blut: Thrombozytenzahl (x10 ⁹ /l)	Liquor: Zellzahl (/µl)	Liquor: Differentialzellbild (%)	Liquor: Protein gehalt (mg/dl)
T15	X	X	X	X	1	X	Pandy neg.
T16	X	X	X	X	3	X	Pandy neg.
T17	X	X	X	X	4	Lz, Mono, Seg	Pandy neg.
T18	X	X	X	X	1	X	Pandy neg.
T19	X	X	X	X	3	X	Pandy neg.
T20	8,57	Lz 10,5, Seg 82, Baso 0,2, Mono 6,0	0,4	470	5	X	29,60
T21	9,67	Lz 16,5, Seg 75,2, Baso 0,2, Mono 5,8, Eo 2,2	0,45	280	2	X	34,10

Bei 19 Hunden wurde ein CT mit Kontrastmittel (Myelographie) angefertigt. Bei 2 Hunden wurde eine MRT- Untersuchung des Rückenmarks durchgeführt. Bei 20 Hunden wurde ein Bandscheibenvorfall im Bereich der Halswirbelsäule bzw. im Bereich der Brust-Lendenwirbelsäule diagnostiziert, bei einem Hund lag der Verdacht einer Rückenmarkskontusion vor (Tab.14).

Tabelle 14: Angewandte bildgebende Verfahren, Neuroanatomische Lokalisation, und Diagnose der Patienten der Trauma-Gruppe

Patient	CT/MRT	Neuroanatomische Lokalisation	Diagnose
T3	CT	C2-C3	Diskopathie
T4	CT	C1-C5	V.a.Kontusion
T5	CT	T13-L1	Diskopathie
T8	CT	L3-L4	Diskopathie
T10	CT	L6-L7	Diskopathie
T11	CT	T11-T12	Diskopathie
T13	CT	L4-L6	Diskopathie
T14	CT	T13-L1	Diskopathie
T15	CT	C6-C7	Diskopathie
T16	CT	L7-S1	Diskopathie
T18	CT	T13-L1	Diskopathie
T20	CT	C5-C6	Diskopathie
T22	CT	C5-C6	Diskopathie
T25	CT	C5-C6	Diskopathie
T26	CT	L1-L2	Diskopathie
T27	CT	T12-T13	Diskopathie

Patient	CT/MRT	Neuroanatomische Lokalisation	Diagnose
T28	CT	C5-C6	Diskopathie
T29	CT	L2-L3	Diskopathie
T30	CT	L1-L2	Diskopathie
T31	MRT	C5-C6	Diskopathie
T32	MRT	C3-C4	Diskopathie

4.2 Gruppenvergleich

4.2.1 Regionale Verteilung der Patienten

Tabelle 15: Regionale Verteilung nach Vorstellungsort

Gruppe	Hannover (n/%)	Berlin (n/%)	Trier (n/%)	Gesamt (n/%)
MUE	15/68,2	4/18,2	3/13,6	22/100,0
SRMA	13/56,5	6/26,1	4/17,4	23/100,0
Trauma	2/9,5	4/19,0	15/71,4	21/100,0
Gesamt	30/45,5	14/21,2	22/33,3	66/100,0

4.2.2 Altersverteilung

Die Patienten aus der SRMA-Gruppe hatten ein medianes Alter von 1,1 Jahren. Das mediane Alter der Patienten der MUE-Gruppe lag bei 2,7 Jahren und das der Hunde der Trauma-Gruppe lag bei 7 Jahren (Abb. 1). Mittels Mann-Whitney-Test wurden signifikante Unterschiede bezüglich des Alters zwischen den Gruppen Trauma und MUE ($p=0,00$) sowie zwischen Trauma und SRMA ($p=0,00$) und zwischen den Gruppen MUE und SRMA ($p=0,01$), ermittelt.

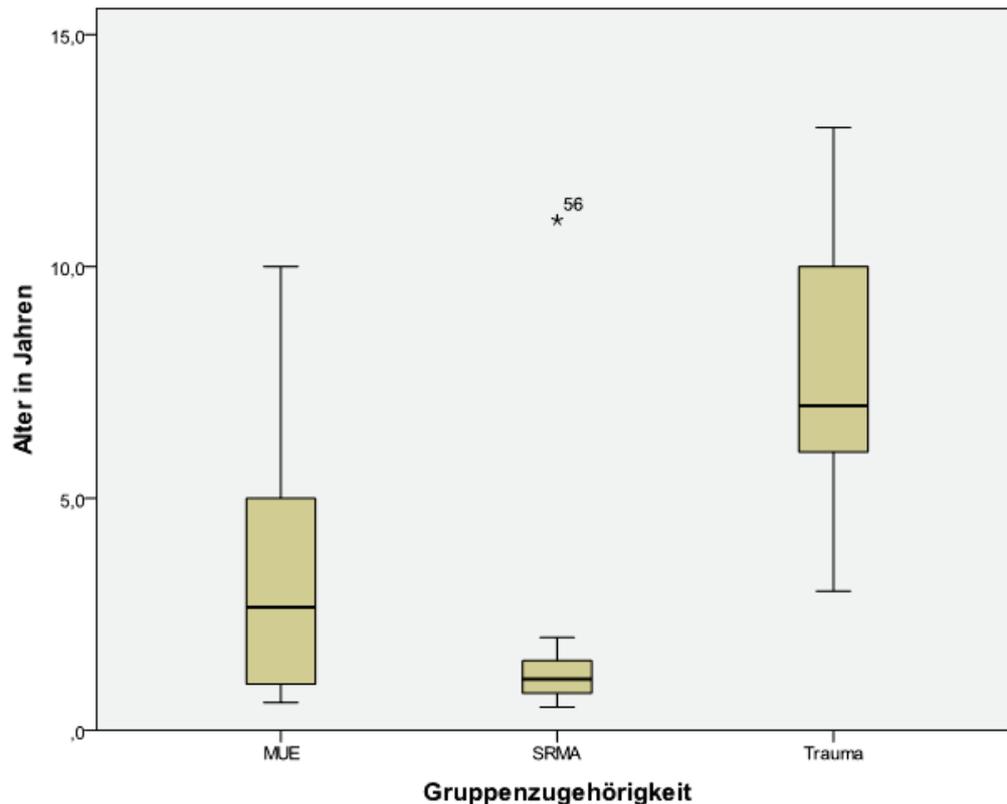


Abbildung 1: Altersverteilung (Alter in Jahren) bei den Patienten der Gruppen MUE, SRMA und Trauma

4.2.3 Geschlechtsverteilung

Tabelle 16: Geschlechtsverteilung bei den Patienten der Gruppen MUE, SRMA und Trauma

Gruppe	Weiblich intakt (n/%)	Weiblich kastriert (n/%)	Männlich intakt (n/%)	Männlich kastriert (n/%)	Gesamt (n/%)
MUE	7/31,8	3/13,6	10/45,5	2/9,1	22/100,0
SRMA	8/34,8	2/8,7	11/47,8	2/8,7	23/100,0
Trauma	6/28,6	2/9,5	11/52,4	2/9,5	21/100,0
Gesamt	21/31,8	7/10,6	32/48,5	6/9,1	66/100,0

Es wurden insgesamt 28 weibliche (42,4 %) und 38 männliche (57,6 %) Hunde vorgestellt. Bezüglich des Geschlechts konnten keine Signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden.

4.2.4 Auslandsaufenthalt

Die Aufenthaltsländer wurden geographisch in drei Gruppen eingeteilt: Mittel- und Nordeuropa (Dänemark, Norwegen, Holland, Schweiz, Österreich), West- und Südeuropa (Frankreich, Spanien, Italien), Osteuropa (Ungarn, Russland, Polen, Tschechische Republik). War ein Patient in verschiedenen Ländern, wurde er in die Gruppe mit der höheren Prävalenz für Parasiten eingeteilt (Südeuropa > Osteuropa > Mitteleuropa) (Tab. 17). Bei 7 Patienten war die Auslandsanamnese nicht bekannt.

Zum Zeitpunkt der Untersuchungen auf *E. canis* war die Auslandsanamnese bei 6 weiteren Patienten noch nicht bekannt: Serum, Liquor und Blut wurde bei diesen Patienten untersucht, obwohl zu einem späteren Zeitpunkt bekannt wurde, dass sie noch nie in einem Endemiegebiet waren. Insgesamt 17 Hunde hatten einen Auslandsaufenthalt in einem Land, in dem *E. canis* auftritt (Gruppe 2 oder 3) oder eine unbekannte Auslandsanamnese (26 %). Sieben der Hunde gehörten in die MUE-Gruppe (32 %), 5 in die SRMA-Gruppe (22 %) und 10 Hunde in die Trauma-Gruppe (48 %).

Tabelle 17: Auslandsaufenthalte der Patienten der Gruppen MUE, SRMA und Trauma

Gruppe	kein Ausland	Mitteleuropa	Osteuropa	Südeuropa	Unbekannt
MUE	12	3	2	1	4
SRMA	17	1	3	2	0
Trauma	8	3	0	7	3
Gesamt	37	7	5	10	7

4.2.5 Dauer der Symptome

Tabelle 18: Dauer der Symptome in Tagen bei den Gruppen MUE, SRMA und Trauma

Gruppe	Minimum (Tage)	Maximum (Tage)	[M] (Tage)
MUE	1	1200	7
SRMA	1	90	4
Trauma	1	365	4

Es konnten mittels Kruskal-Wallis-Test keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Dauer der Symptome vor Vorstellung zwischen den 3 Gruppen MUE, SRMA und Trauma ($p=0,62$) ermittelt werden.

4.2.6 Laborparameter

Bezüglich der Ergebnisse der Blutuntersuchungen lagen in der Trauma-Gruppe nur wenige Daten vor. Es wurden nur MUE- und SRMA-Gruppen mittels Mann-Whitney-Test verglichen.

Hämatologie: Leukozytenzahl

Es konnten mittels Mann-Whitney-Test signifikante Unterschiede bezüglich der Leukozytenzahl im peripheren Blut zwischen den Gruppen MUE und SRMA ($p=0,00$) ermittelt werden.

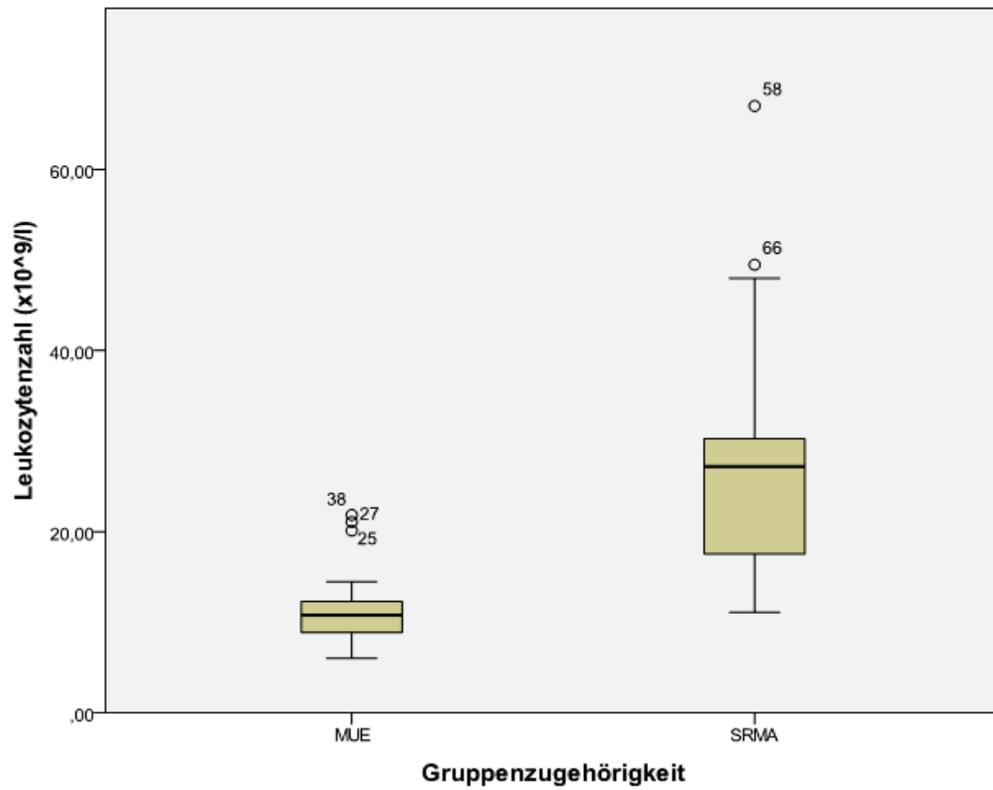


Abbildung 2: Leukozytenzahl ($\times 10^9/l$) im peripheren Blut bei den Gruppen MUE und SRMA

Hämatologie: Hämatokrit

Es lag ein signifikanter Unterschied bezüglich des Hämatokrits zwischen den Gruppen MUE und SRMA ($p=0,02$) vor.

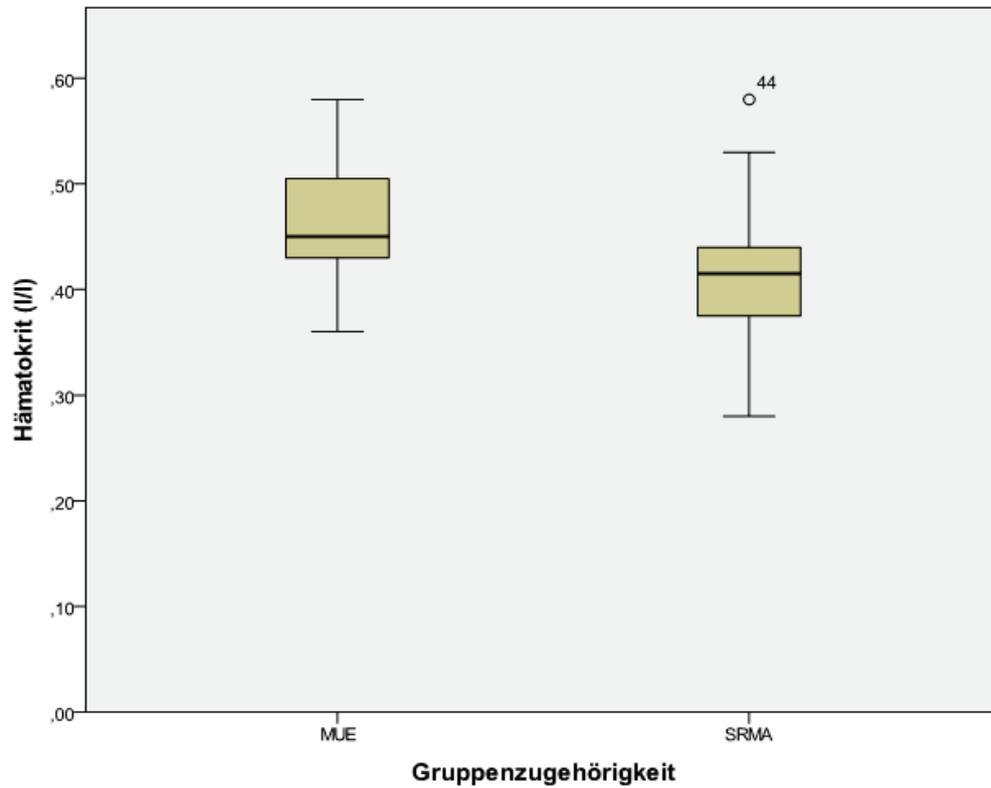


Abbildung 3: Hämatokrit (H) bei den Gruppen MUE und SRMA

Hämatologie: Thrombozytenzahl

Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen vor ($p=0,44$) vor.

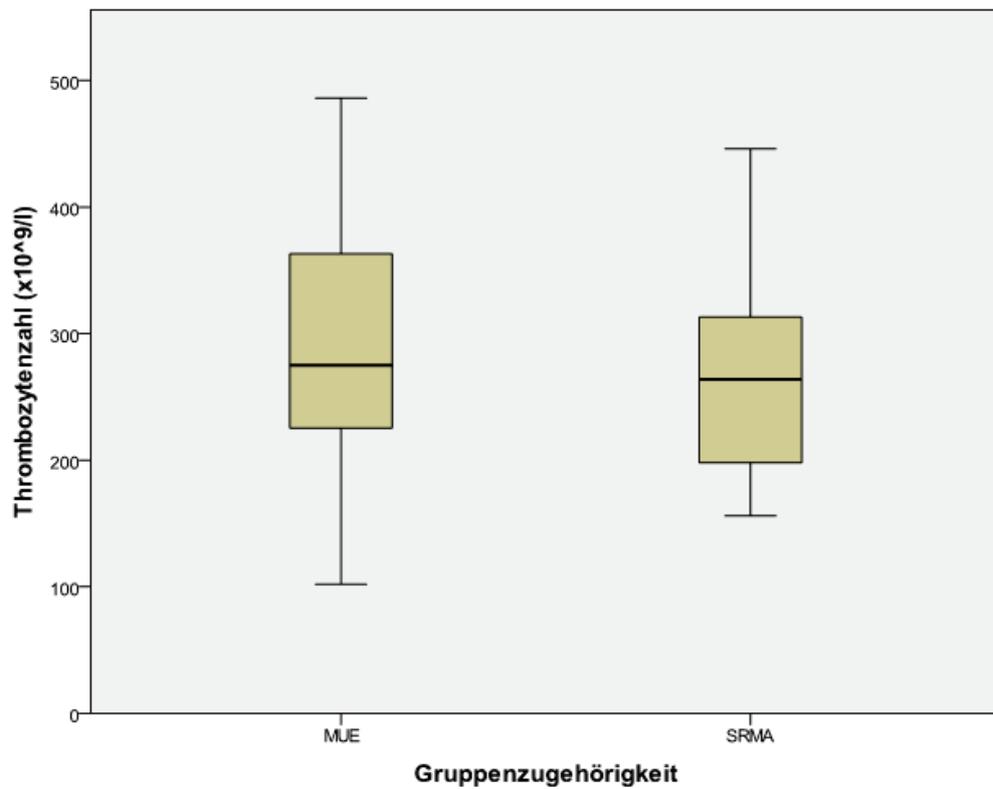


Abbildung 4: Thrombozytenzahl ($\times 10^9/l$) im peripheren Blut in den Gruppen MUE und SRMA

Liquoruntersuchung: Zellzahl

Es lagen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen MUE und SRMA ($p=0,01$), MUE und Trauma ($p=0,00$) und SRMA und Trauma ($p=0,00$) vor (Kruskal-Wallis-Test und Mann-Whitney-Test).

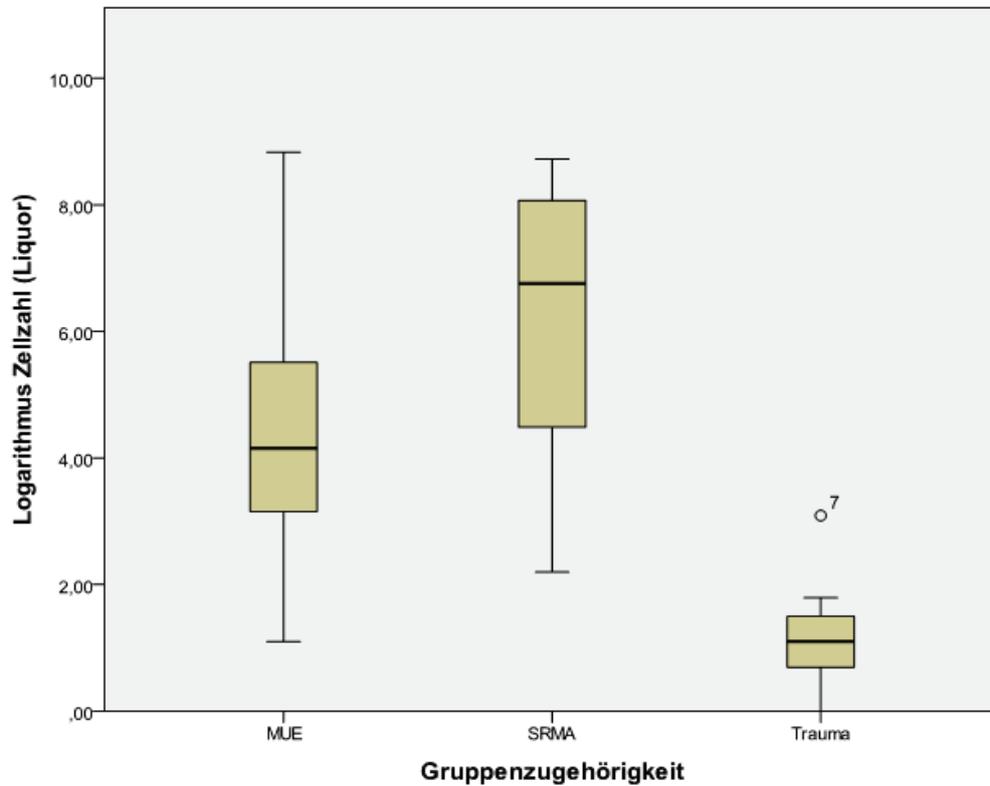


Abbildung 5: Logarithmus der Zellzahl ($/\mu\text{l}$) im Liquor in den Gruppen MUE, SRMA und Trauma

Liquoruntersuchung: Zytologie

Es lagen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen MUE und SRMA ($p=0,01$) vor.

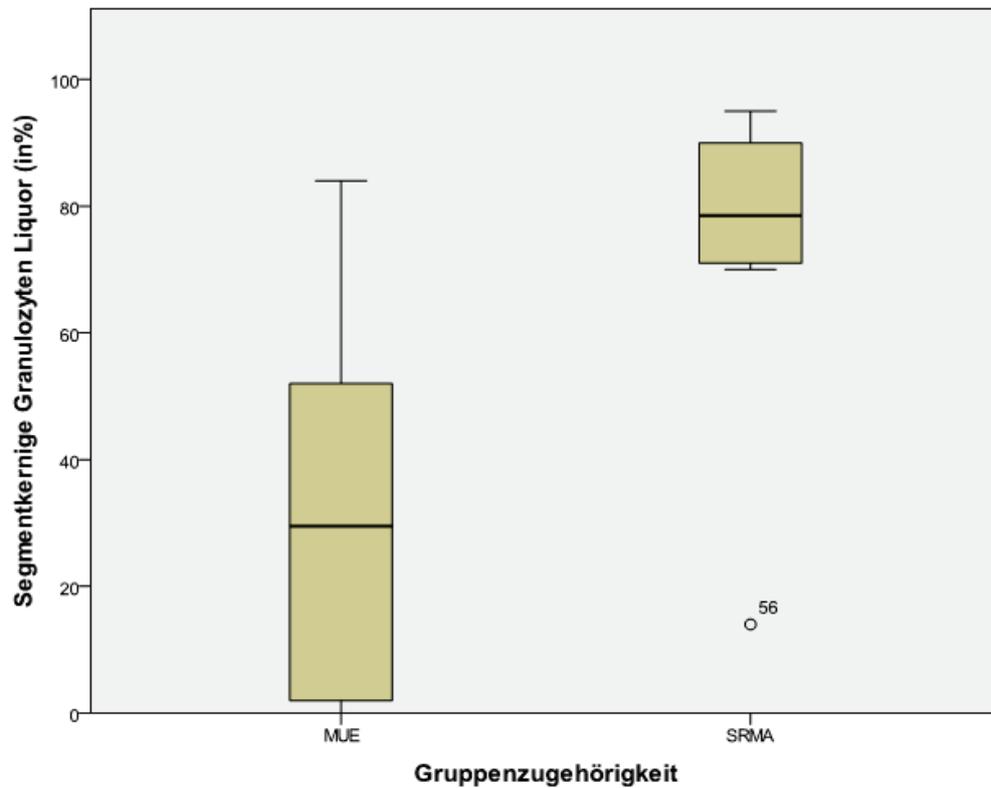


Abbildung 6: Anzahl an segmentkernigen Granulozyten (in %) im Liquor in den Gruppen MUE und SRMA

Es lagen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppe MUE und SRMA ($p=0,004$) vor.

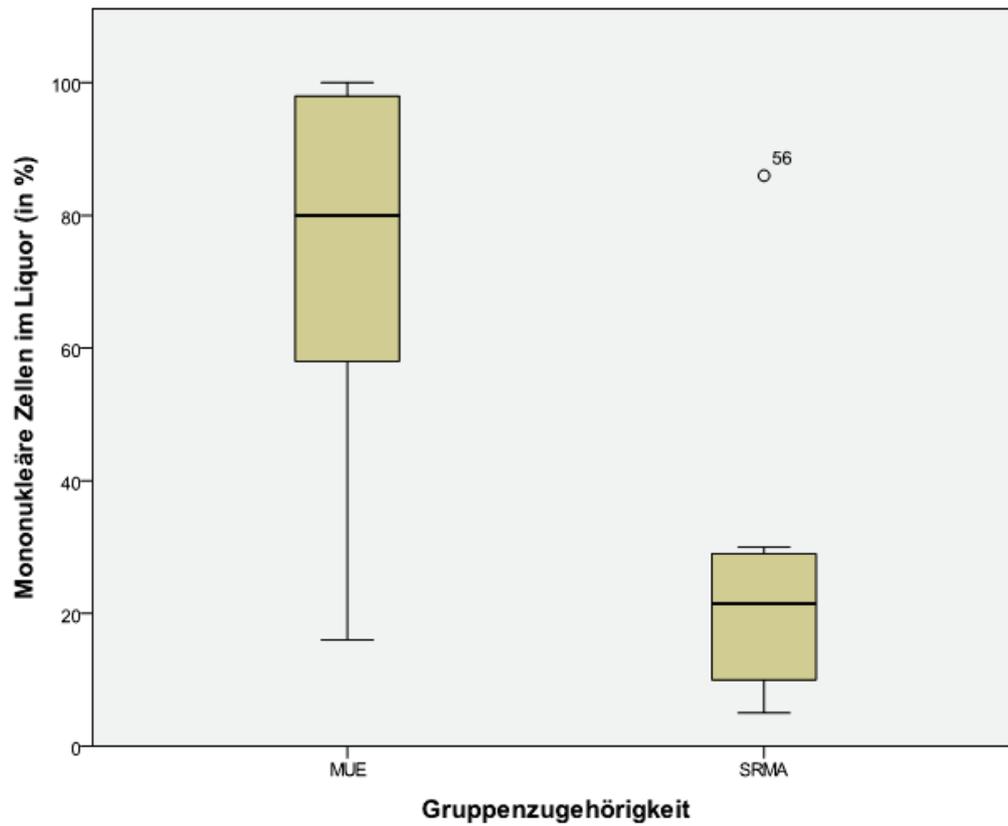


Abbildung 7: Anzahl an mononukleären Zellen (in %) im Liquor in den Gruppen MUE und SRMA

Es lagen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppe MUE und SRMA ($p=0,004$) vor.

Liquoruntersuchung: Proteingehalt

Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen MUE und SRMA ($p=0,65$) vor.

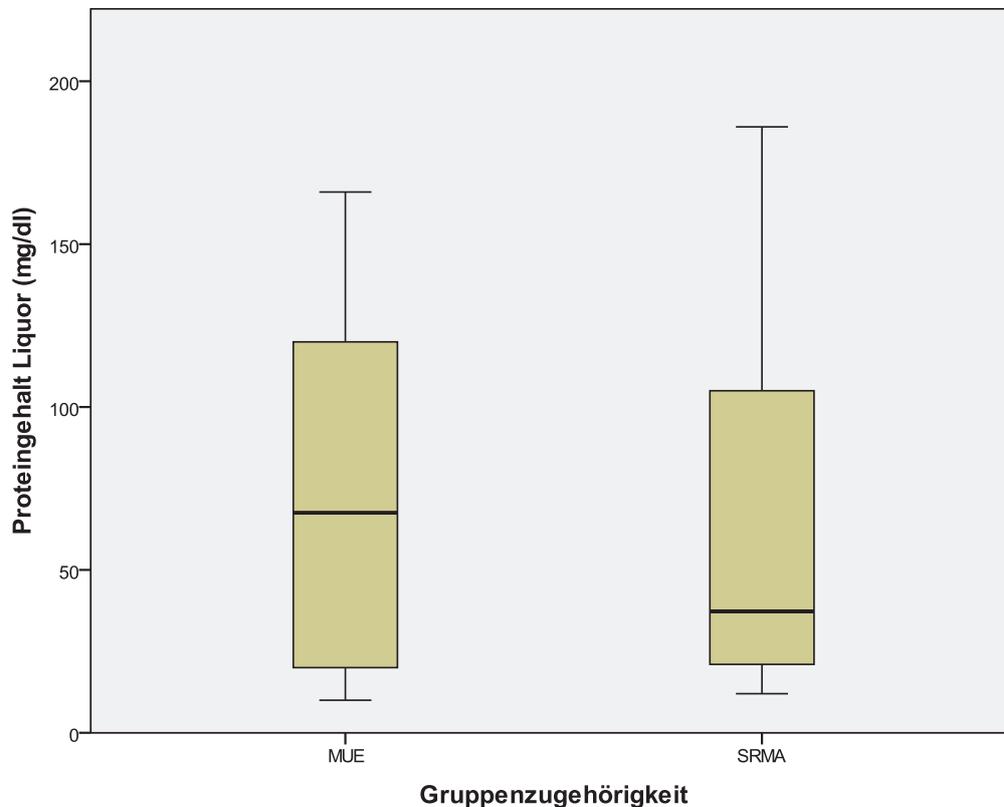


Abbildung 8: Proteingehalt (mg/dl) im Liquor in den Gruppen MUE und SRMA

4.2.7 *Bartonella* spp.

PCR-Untersuchung im Blut:

Bei 64 der 65 untersuchten Patienten konnte keine *Bartonella*-DNA im Blut ermittelt werden. Bei einem Hund aus der SRMA-Gruppe (SRMA 3) konnte *Bartonella*-DNA im Blut nachgewiesen werden. Nach Restriktionsanalyse wurde der Stamm als *B. henselae* definiert.

Der Patient war eine 1 Jahr alte Boxer Hündin (kein Auslandsaufenthalt, regelmäßig geimpft, aber keine Impfung kurz vor Beginn der Symptomatik). Die Hündin hatte regelmäßig Zecken. Zwei Wochen vor Vorstellung war den Besitzern ein hochgradiger Zeckenbefall aufgefallen. Der Patient wurde in Berlin vorgestellt, da er seit einem Tag auffallend matt wirkte. Die Hündin wurde mit Carprofen vorbehandelt (keine Antibiose).

Die Ergebnisse der Laboruntersuchungen waren: Blutuntersuchung: Hämatokrit 0,39 l/l, Leukozytenzahl $30,7 \times 10^9$ /l, Thrombozytenzahl 156×10^9 /l, Liquoruntersuchung: 19 Zellen/ μ l (kein Differentialzellbild), Proteingehalt 23,8 mg/dl. Die Untersuchungen auf weitere Infektionserreger ergaben PCR/IFAT *Babesia canis* aus Blut negativ, ELISA *Bartonella* spp. positiv.

PCR-Untersuchung im Liquor:

Bei keinem der Hunde konnte *Bartonella*-DNA im Liquor festgestellt werden.

Serologische Untersuchung:

Bei 61 Hunden wurde das Vorhandensein von Serum-Antikörpern gegen *Bartonellen* mittels ELISA ermittelt (Tab.19). Die Gesamtseroprävalenz der Hunde aller Gruppen lag bei 83,6 %. In der MUE-Gruppe lag die Prävalenz bei 73,7 %, in der SRMA-Gruppe bei 85,7 %, in der Trauma-Gruppe bei 90,5 % (Tab.19). Es lagen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Seroprävalenz zwischen den 3 Gruppen vor ($p=0,35$) (mittels ANOVA und Kruskal-Wallis-Test). Auch nach Gruppierung der Patienten nach Vorstellungsregion konnten mittels ANOVA und Kruskal-Wallis-Test keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Seroprävalenzen festgestellt werden ($p=0,51$). Wurden die Patienten nach Auslandsaufenthalt eingeteilt, so konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Patienten ohne Auslandsaufenthalt, den Patienten, die in Osteuropa und den Patienten, die in Südeuropa waren ($p=0,97$), ermittelt werden (Kruskal-Wallis-Test).

Tabelle 19: Ergebnisse des ELISA auf *Bartonella* spp. aus Serum in den Gruppen MUE, SRMA und Trauma

Gruppe	Negativ (n/%)	Positiv (n/%)	Gesamt (n/%)
MUE	5/26,3	14/73,7	19/100,0
SRMA	3/14,3	18/85,7	21/100,0
Trauma	2/9,5	19/90,5	21/100,0
Gesamt	10/16,4	51/83,6	61/100,0

4.2.8 *A. phagocytophilum*

Eine PCR auf *A. phagocytophilum*-DNA aus Liquor wurde bei 64 Hunden durchgeführt. Die Untersuchung ergab bei allen Hunden ein negatives Ergebnis (Tab. 20).

Bei 4 der 65 untersuchten Hunde ergab eine PCR auf *A. phagocytophilum*-DNA aus EDTA-Blut ein positives Ergebnis (Prävalenz 6,2 %) (Tab. 20). Alle 4 Hunde gehörten zur SRMA-Gruppe (Prävalenz 17,4 %). Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren signifikant ($p=0,012$) (Exakter Fischer-Test). Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der PCR-Prävalenzen nach Gruppierung der Patienten nach Vorstellungsregion (Berlin, Trier und Hannover) ($p=0,31$) festgestellt werden.

Wurden die Patienten nach Auslandsaufenthalt eingeteilt, so konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Patienten ohne Auslandsaufenthalt, den Patienten, die in Osteuropa und den Patienten, die in Südeuropa waren ($p=0,57$), erkannt werden.

Tabelle 20: Beschreibungen der Patienten mit einem positiven PCR-Ergebnis auf *A. phagocytophilum* aus Blut

Patient	SRMA 09	SRMA 12	SRMA 15	SRMA 19
Rasse	Beagle	Mischling	Beagle	Berner Sennenhund
Alter (in Jahren)	0,8	2,5	0,8	1,5
Geschlecht	Männlich	Männlich	Weiblich kastriert	Weiblich kastriert
Ausland	Ungarn	Kein Ausland	Kein Ausland	Kein Ausland
Vorstellungsort und -datum	Trier, 10.12.2010	Hannover, 29.11.2010	Berlin, 31.5.2011	Berlin, 23.2.2011

Patient	SRMA 09	SRMA 12	SRMA 15	SRMA 19
Vorstellungsgrund	Mattigkeit, Schmerzhaftigkeit	Fieber seit 4 Tagen	Fieber, Apathie seit 1 Woche	Schmerzhaftigkeit seit 4 Tagen
Vorbehandlung	Meloxicam, Amoxicillin-Clavulansäure (vermutlich nur 1 Tag). Cortisongabe unsicher	2 Tage Amoxicillin-Clavulansäure, 1 Tag Enrofloxacin, 1 Tag Metamizol, 1 Tag Prednisolon 1 mg/kg 2 x täglich	Meloxicam, Prednisolon, Doxycyclin 5 Tage oral, Dosierung unbekannt	Metamizol, Enrofloxacin, Amoxicillin-Clavulansäure, Doxycyclin (PCR aus Probe vor Doxycyclingabe, nach 2 Tagen Behandlung mit Enrofloxacin und Amoxicillin-Clavulansäure positiv, PCR aus Blutprobe nach 1 Tag Doxycyclin negativ)
Blutuntersuchung: Leukozytenzahl	Keine Angabe	13,9x10 ⁹ /l	67x10 ⁹ /l	24x10 ⁹ /l
Blutuntersuchung: Thrombozytenzahl	Keine Angabe	194x10 ⁹ /l	287x10 ⁹ /l	269x10 ⁹ /l
Blutuntersuchung: Hämatokrit	Keine Angabe	0,47 l/l	0,44 l/l	0,41 l/l
Liquoruntersuchung: Zellzahl	2053 Zellen/μl	2,7 Zellen/μl (2 Zellen im Differentialzellbild, beide Zellen Segmentkernige Granulozyten)	647 Zellen/μl	233 Zellen/μl
Liquoruntersuchung: Proteingehalt	Pandy Reaktion positiv	12,5 mg/dl	104,9 mg/dl	86,6 mg/dl
Weitere Untersuchungen		Neurologische Untersuchung unauffällig, MRT Kopf: Neuroparenchym unauffällig, nach Kontrastmittelgabe keine pathologische Anreicherung		<i>Borrelia</i> C6 quantitativ: 101 U/ml (positiv >10 U/ml)

4.2.9 *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Ein IFAT auf *Borrelia burgdorferi* sensu lato aus Serum wurde bei 61 Hunden durchgeführt. Bei 14 Hunden ergab der IFAT einen Antikörpertiter von 1:128 oder höher (Tab. 19). Bei 13 dieser Hunde wurde ein quantitatives ELISA auf das C6 Peptid durchgeführt (Tab. 20). Bei einem Patienten wurde die Untersuchung durch den überweisenden Tierarzt eingeleitet. Das ELISA ergab bei 11/13 Hunden einen Antikörpertiter <10 U/ml. Bei zwei Patienten der MUE-Gruppe und einem Patienten der SRMA-Gruppe wurde ein erhöhter C6-Antikörperspiegel gemessen (MUE 10: 464 U/ml, MUE 22: 294 U/ml, SRMA 19: 101 U/ml).

Tabelle 21: Antikörpertiter gegen *Borrelia burgdorferi* sensu lato (IFAT) bei den Gruppen MUE, SRMA und Trauma

Gruppe	<1:64 (n/%)	1:64 (n/%)	1:128 (n/%)	1:256 (n/%)	1:512 (n/%)	1:1024 (n/%)	1:2048 (n/%)
MUE	13/65,0	0/0	1/5,0	2/10,0	2/10,0	1/5,0	1/5,0
SRMA	13/68,4	4/21,1	1/5,3	0/0	1/5,3	0/0	0/0
Trauma	16/76,2	0/0	2/9,5	0/0	2/9,5	1/4,7	0/0
Gesamt	42/70,0	4/6,7	4/6,7	2/3,3	5/8,3	2/3,3	1/1,7

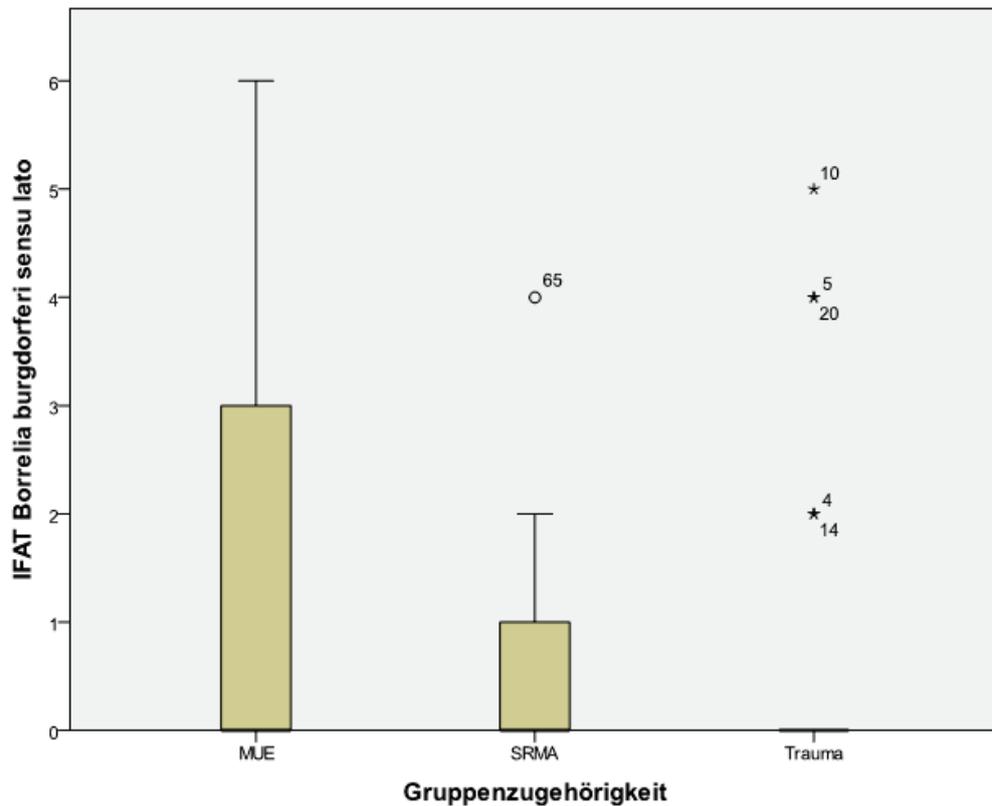


Abbildung 9: Antikörpertiter gegen *B. burgdorferi* sensu lato im Serum (IFAT). Kodierung der Titerstufen: 0 : <1:64, 1: 1:64; 2: 1:128; 3: 1:256; 4: 1: 512; 5: 1: 1024; 6: 1: 2048

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den 3 Gruppen ermittelt werden ($p=0,12$). Auch nach Gruppierung der Patienten nach Vorstellungsregion (Berlin, Trier und Hannover) konnten mittels Kruskal-Wallis-Test keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Seroprävalenzen festgestellt werden ($p=0,67$) (Abb. 10).

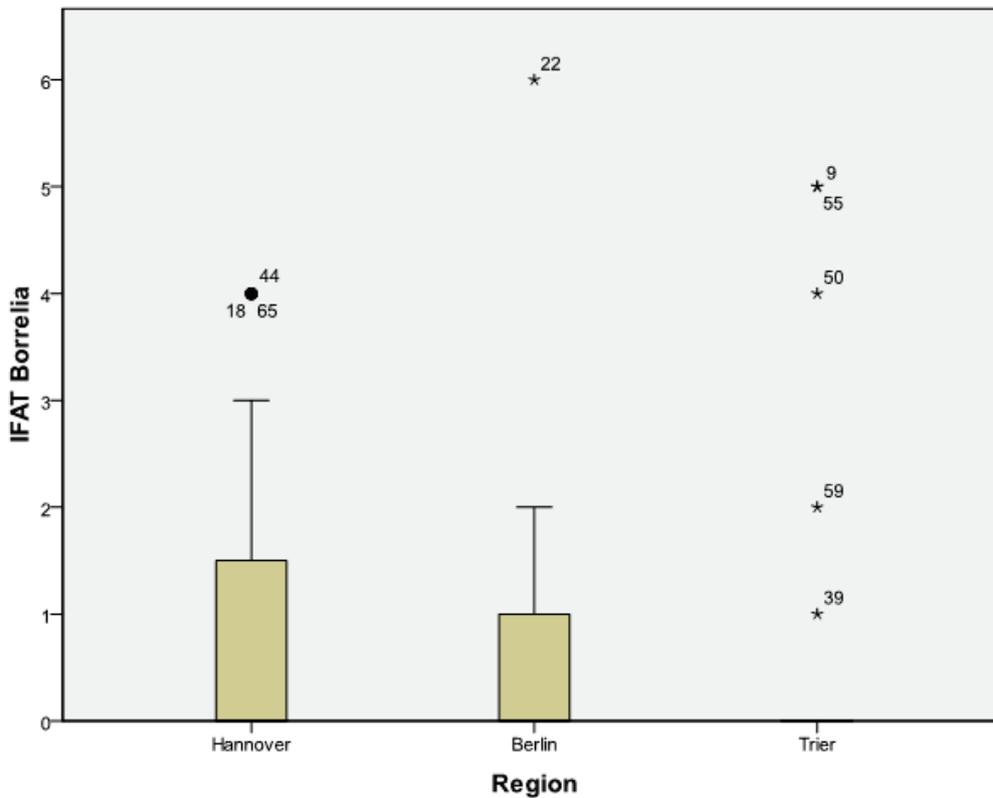


Abbildung 10: Antikörpertiter gegen *B. burgdorferi* sensu lato im Serum (IFAT) je nach Vorstellungsregion. Kodierung der Titerstufen: 0 : <1:64, 1: 1:64; 2: 1:128; 3: 1:256; 4: 1: 512; 5: 1: 1024; 6: 1: 2048

4.2.10 FSME-Virus

65/66 Hunde wurden serologisch auf das FSME-Virus getestet. Die Untersuchungen ergaben bei allen Patienten negative Ergebnisse.

4.2.11 *E. canis*

Insgesamt 28 Hunde hatten einen Auslandsaufenthalt in einem Land, in dem *E. canis* endemisch vorkommt oder zum Zeitpunkt der Analyse eine unbekannte Auslandsanamnese (42 %). Acht der Hunde gehörten in die MUE-Gruppe (36 %), 9 in die SRMA-Gruppe (39 %) und 11 in die Kontrollgruppe (52 %). Bei diesen Patienten wurde eine PCR-Untersuchung auf *E. canis*-DNA aus EDTA-Blut und aus Liquor durchgeführt. Die PCR-Untersuchung ergab bei allen Patienten in Blut und Liquor negative Ergebnisse. Mittels IFAT konnten keine Antikörper gegen *E. canis* im Serum nachgewiesen werden.

Tabelle 22: Ergebnisse der Untersuchungen auf *Bartonella* spp., *A. phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato der Gruppen MUE, SRMA und Trauma (T). 0: negativ; +: positiv, X: Untersuchung nicht durchgeführt. Im IFAT: Titer <1:128: negativ, Titer = 1:128 und höher wurden als positiv angesehen

Patient	<i>Bartonella</i> spp.		<i>A. phagocytophilum</i>		<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	
	PCR Blut	ELISA Serum	PCR Blut	PCR Liquor	IFAT Serum	ELISA C6 quant (U/ml)
MUE1	0	X	0	0	X	X
MUE2	0	X	0	0	X	X
MUE3	0	+	0	0	<1:128	X
MUE4	0	X	0	0	<1:128	X
MUE5	0	+	0	0	<1:128	X
MUE6	0	0	0	0	<1:128	X
MUE7	0	+	0	0	<1:128	X
MUE8	0	+	0	0	<1:128	X
MUE9	0	0	0	0	1:1024	<10
MUE10	0	+	0	0	1:512	464
MUE11	0	0	0	0	<1:128	X
MUE12	X	+	X	X	<1:128	X
MUE13	0	+	0	X	<1:128	X
MUE14	0	+	0	0	<1:128	X
MUE15	0	+	0	0	1:128	<10
MUE16	0	+	0	0	<1:128	X
MUE17	0	+	0	0	1:256	<10
MUE18	0	+	0	0	1:512	<10
MUE19	0	+	0	0	<1:128	X
MUE20	0	+	0	0	1:256	<10
MUE21	0	0	0	0	<1:128	X
MUE22	0	0	0	0	1:2048	294
SRMA1	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA2	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA3	<i>B. henselae</i>	+	0	0	<1:128	X
SRMA4	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA5	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA6	0	+	0	0	<1:128	X

	<i>Bartonella</i> spp.		<i>A. phagocytophilum</i>		<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	
SRMA7	0	+	0	0	X	X
SRMA8	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA9	0	+	+	0	<1:128	X
SRMA10	0	X	0	0	X	X
SRMA11	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA12	0	+	+	0	<1:128	X
SRMA13	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA14	0	0	0	0	<1:128	X
SRMA15	0	+	+	0	<1:128	X
SRMA16	0	X	0	0	X	X
SRMA17	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA18	0	+	0	0	<1:128	X
SRMA19	0	+	+	0	X	101
SRMA20	0	0	0	0	<1:128	X
SRMA21	0	0	0	0	<1:128	X
SRMA22	0	+	0	0	1:512	<10
SRMA23	X	+	0	0	1:128	<10
T3	0	+	0	0	<1:128	X
T4	0	+	0	0	<1:128	X
T5	0	+	0	0	<1:128	X
T8	0	+	0	0	1:128	X
T10	0	+	0	0	1:512	<10
T11	0	+	0	0	<1:128	X
T13	0	+	0	0	<1:128	X
T14	0	+	0	0	<1:128	X
T15	0	+	0	0	<1:128	X
T16	0	+	0	0	1:1024	<10
T18	0	+	0	0	<1:128	X
T20	0	+	0	0	<1:128	X
T22	0	0	0	0	<1:128	X
T25	0	+	0	0	1:128	<10
T26	0	+	0	0	<1:128	X

	<i>Bartonella</i> spp.		<i>A. phagocytophilum</i>		<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	
	0	+	0	0	<1:128	X
T27	0	+	0	0	<1:128	X
T28	0	+	0	0	<1:128	X
T29	0	+	0	0	<1:128	X
T30	0	+	0	0	<1:128	X
T31	0	+	0	0	1:512	<10
T32	0	0	0	0	<1:128	X

4.2.12 Ergebnisse der eubakteriellen PCR (16S rRNA)

Bei 5 Hunden wurde eine mikrobiologische Untersuchung des Liquors (Tab. 22). Bei den Hunden aller Gruppen wurde eine 16S rRNA PCR im Liquor durchgeführt. Bei 3 Hunden der Trauma-Gruppe wurden geringe Mengen an Genmaterial von *Pasteurellaceae* sp. nachgewiesen (Tab. 21, Tab. 22). Aufgrund der geringen Menge an Genmaterial war keine Speziesdifferenzierung möglich.

Tabelle 23: Beschreibung der Patienten mit positiver 16S rRNA-PCR aus Liquor

Patient	T4	T13	T27
Rasse	Mischling	Cuba Hund Mischling	Rauhhaarteckel
Alter (in Jahren)	5	3	6
Geschlecht	Weiblich kastriert	Männlich	Männlich
Vorstellungsort und -datum	Berlin, 08.06.2010	Trier, 29.12.2010	Trier, 16.03.2011
Vorstellungsgrund	Halsbiegeschmerz	Paraparese seit 1 Tag. Keine Tiefenschmerzempfindung	Paraparese seit 1 Tag. Keine Tiefenschmerzempfindung
Vorbehandlung	Meloxicam	Dexamethason, Metacam, Depot-Cortison, Tramadol	Keine Medikation
Blutuntersuchung: Leukozytenzahl	9,09x10 ⁹ /L	Keine Angabe	Keine Angabe
Blutuntersuchung: Thrombozytenzahl	253x10 ⁹ /L	Keine Angabe	Keine Angabe
Blutuntersuchung: Hämatokrit	0,49 l/l	Keine Angabe	Keine Angabe
Liquoruntersuchung: Zellzahl	0 Zellen/μl	21 Zellen/μl	3 Zellen/μl
Liquoruntersuchung: Proteingehalt	13,6 mg/dl	Pandy Reaktion schwach positiv	Pandy Reaktion negativ
Diagnose	Verdacht auf Kontusion	Diskopathie L4/5 rechts mit starker Rückenmarkstraumatisierung und Blutung. Hemilaminotomie am 29.12.2010	Diskopathie Th12-13 links. Operation am 16.03.2011
Komplikation	Zentrale Hemiparese nach Myelographie	Am 30.12.2010 hgr. Atemnot und krampfartige Anfälle (V.a. Embolus im Gehirn) mit tödlichem Ausgang	Am 18.03.2011 Euthanasie auf Wunsch der Besitzer.

4.2.13 Ergebnisse der Untersuchungen auf infektiöse Erreger

Bei Hunden der MUE- und der SRMA-Gruppe wurden im Rahmen der Diagnostik weitere Untersuchungen durchgeführt. Bei 13 Hunden wurde eine PCR auf *Toxoplasma gondii* gemacht, bei 14 Hunden eine PCR auf *Neospora caninum*. Bei 8 Patienten wurden Untersuchungen auf das Staupevirus durchgeführt. Alle Untersuchungen ergaben negative Ergebnisse.

Tabelle 24: Ergebnisse der weiteren Untersuchungen der Gruppen MUE, SRMA und Trauma (T) aus Liquor und Blut. Neg: negativ; Mibi: mikrobiologische Untersuchung (Kultur) aus Liquor; IHC: Immunhistochemie; AG: Antigennachweis; Patho: pathologische Untersuchung; SHV-1: *Suides Herpesvirus Typ 1*

Patient	Mikrobiologische Untersuchung Liquor	16 S RNA PCR	<i>Toxoplasma</i> PCR	<i>Neospora</i> PCR	<i>Staupevirus</i> PCR	Weitere Untersuchungen
MUE1	X	neg	neg	neg	neg	
MUE2	X	neg	X	X	X	
MUE3	X	neg	neg	neg	X	
MUE4	X	neg	X	X	X	
MUE5	X	neg	X	X	X	
MUE6	X	neg	X	neg	neg	
MUE7	X	neg	neg	neg	X	
MUE8	X	neg	neg	neg	X	
MUE9	X	neg	X	X	X	
MUE10	X	neg	Patho IHC neg	Patho IHC neg	Patho IHC neg	
MUE11	X	neg	Patho AG neg	Patho AG neg	Patho AG neg	Pathologie: <i>Bornavirus, Tollwutvirus, kanines Adenovirus Typ1, SHV-1</i> negativ
MUE12	X	X	X	X	X	Pathologie: <i>SHV-1</i> negativ, <i>Tollwutvirus</i> Immunfluoreszenz negativ
MUE13	X	X	X	X	X	
MUE14	X	neg	X	X	X	
MUE15	X	X	neg	neg	neg	
MUE16	Mibi neg	X	X	neg	X	IFAT <i>Babesia canis</i> negativ (Blut)
MUE17	X	neg	X	X	X	
MUE18	X	neg	X	X	X	
MUE19	X	neg	X	X	Patho IHC neg	Pathologie: <i>SHV-1</i> kulturell negativ, <i>Tollwutvirus</i> AG Immunfluoreszenz negativ
MUE20	X	neg	X	Patho IHC neg	Patho IHC neg	Pathologie: <i>Tollwutvirus</i> Immunfluoreszenz negativ
MUE21	X	neg	X	X	X	

Patient	Mikrobiologische Untersuchung Liquor	16 S RNA PCR	Toxoplasma PCR	Neospora PCR	Staupevirus PCR	Weitere Untersuchungen
MUE22	X	neg	neg	neg	X	
SRMA1	Mibi neg	neg	X	X	X	
SRMA2	X	neg	X	X	X	
SRMA3	X	neg	X	X	X	
SRMA4	X	neg	X	X	X	
SRMA5	X	neg	X	X	X	
SRMA6	Mibi neg	neg	X	X	X	Reisekrankheiten: <i>Babesia canis</i> , <i>Leishmania infantum</i> (Blut) negativ
SRMA7	X	neg	X	X	X	
SRMA8	X	neg	X	X	X	
SRMA9	X	neg	X	X	X	
SRMA 10	Mibi neg	X	X	X	X	
SRMA 11	X	neg	X	X	X	
SRMA 12	X	neg	neg	neg	X	
SRMA 13	X	neg	X	X	X	
SRMA 14	X	neg	neg	neg	X	
SRMA 15	X	neg	neg	neg	X	
SRMA 16	X	neg	neg	neg	neg	
SRMA 17	X	neg	X	X	X	
SRMA 18	X	neg	X	X	X	
SRMA 19	X	neg	neg	neg	X	<i>Neospora</i> AK neg, <i>Toxoplasma</i> IgG 1:32, IgM negativ
SRMA 20	X	neg	X	X	X	
SRMA 21	X	neg	X	X	X	
SRMA 22	Mibi neg	neg	X	X	X	
SRMA 23	X	X	neg	neg	X	
T1	X	neg	X	X	X	
T2	X	positiv: <i>Pasteurellaceae</i> sp.	X	X	X	
T3	X	neg	X	X	X	
T4	X	neg	X	X	X	
T5	X	neg	X	X	X	

Patient	Mikrobiologische Untersuchung Liquor	16 S RNA PCR	<i>Toxoplasma</i> PCR	<i>Neospora</i> PCR	<i>Staupevirus</i> PCR	Weitere Untersuchungen
T6	X	neg	X	X	X	
T7	X	positiv: <i>Pasteurellaceae</i> sp.	X	X	X	
T8	X	neg	X	X	X	
T9	X	neg	X	X	X	
T10	X	neg	X	X	X	
T11	X	neg	X	X	X	
T12	X	neg	X	X	X	
T13	X	neg	X	X	X	
T14	X	neg	X	X	X	
T15	X	neg	X	X	X	
T16	X	positiv: <i>Pasteurellaceae</i> sp.	X	X	X	
T17	X	neg	X	X	X	
T18	X	neg	X	X	X	
T19	X	neg	X	X	X	
T20	X	neg	X	X	X	
T21	X	neg	X	X	X	

V. Diskussion

In dieser Studie wurden Liquor und Blut von Hunden mit Meningoenzephalitis und SRMA auf Vektor-übertragene Erreger hin untersucht. Es wurde DNA von *A. phagocytophilum* im Blut von Hunden mit SRMA nachgewiesen. Möglicherweise spielt *A. phagocytophilum* eine Rolle als Trigger von entzündlichen ZNS-Erkrankungen. Es konnte keine Korrelation zwischen entzündlichen Erkrankungen des ZNS und dem Vorhandensein von DNA von *E. canis* oder *Bartonella* spp. oder erhöhten Antikörpertitern gegen FSME-Virus, *E. canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato oder *Bartonella* spp. ermittelt werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass diese Vektor-übertragenen Erreger entweder keine ätiologische Rolle bei der Entwicklung von Entzündungen des ZNS spielen oder zum Zeitpunkt der Untersuchung schon eliminiert waren. Ob auch diese Erreger Trigger von entzündlichen ZNS-Erkrankungen sein können, kann nicht ausgeschlossen werden.

5.1 Untersuchungen auf *Bartonella* spp.

5.1.1 PCR Untersuchungen

Aus Liquor konnte bei keinem Patienten *Bartonellen*-DNA nachgewiesen werden. Es ist beschrieben, dass *Bartonellen* die Blut-Hirn-Schranke überwinden und Mikroglia-Zellen infizieren können (Munana et al. 2001). *B. henselae*-DNA konnte bei einem Menschen nach Voranreicherung im Liquor nachgewiesen werden (Breitschwerdt et al. 2008). Bei Katzen mit Erkrankungen des ZNS wurde ebenfalls *B. henselae*-DNA im Liquor isoliert (Leibovitz et al. 2008). In einer Studie wurde das Gehirngewebe von 35 Hunden mittels PCR untersucht (25 Fälle mit nekrotisierender Meningoenzephalitis, 6 Fälle mit granulomatöser Meningoenzephalitis, drei Fälle mit Gehirntumoren und ein Fall mit Staupe-Enzephalitis). Im Gehirn eines Hundes mit GME wurde DNA von *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* festgestellt (Barber et al. 2010). In derselben Studie wurde Liquor von 74 Hunden mit neurologischen Symptomen untersucht (42 Fälle mit MUE, zwei Fälle mit nekrotisierender Meningoenzephalitis und 30 Kontrolltiere mit entzündlich verändertem Liquor). Es konnte keine DNA von *E. canis*, *A. phagocytophilum*, Spotted Fever Group *Rickettsia*, *Bartonella* spp. und *Borrelia* spp. in diesen Proben festgestellt werden. Möglicherweise können diese Ergebnisse auch durch die relativ geringen Keimzahlen bei infizierten Hunden erklärt werden (Duncan et al. 2007a; Breitschwerdt et al. 2009).

Aufgrund der vermutlich sehr niedrigen Keimzahlen im Liquor sollten weitere Studien für PCR-Untersuchung auf *Bartonella* spp. aus Liquor Voranreicherung einsetzen.

Aus EDTA-Blut wurde bei einem Patienten *B. henselae*-DNA isoliert. In einer Studie mit zufällig getesteten Blutproben einer Klinikpopulation in Deutschland wurde mit derselben PCR-Methode bei 50 von 159 untersuchten Hunden *Bartonellen*-DNA im Blut nachgewiesen (zufällig ausgewählte klinisch gesunde und kranke Hunde einer Klinikpopulation). *B. henselae* wurde bei 28,3 % der untersuchten Hunde, *B. elizabethae* bei 3,1 % der untersuchten Hunde isoliert (Mietze 2010). Diese Ergebnisse sind mit PCR-Ergebnissen aus Thailand (Prävalenz von *Bartonella* spp.-DNA 31,3 %) und Irak (Chomel et al. 2012) vergleichbar und liegen deutlich höher als die Ergebnisse der Untersuchungen in anderen entwickelten Ländern (z.B. 9 %, 61/663 kranke Hunde in den USA) (Pérez et al. 2011). Das positive PCR-Ergebnis lässt daher nicht zwangsläufig auf einen kausalen Zusammenhang zwischen der Infektion und der Erkrankung des Tieres schließen. Eine Rolle von *Bartonella* spp. als Trigger einer entzündlichen ZNS-Erkrankung kann nicht ausgeschlossen werden.

5.1.2 Serologische Untersuchungen

Mittels ELISA wurde auf Antikörper gegen *Bartonella* spp. untersucht. Es wurden Seroprävalenzen von 73,3 % (MUE-Gruppe) bis 90,5 % (Trauma-Gruppe) ermittelt. Die Gesamtseroprävalenz lag bei 83,6 %, wobei sie deutlich höher ist als bisher in der Literatur beschriebenen Ergebnissen (Guptill 2010).

Das Vorhandensein von *Bartonella* spp. ist regional stark unterschiedlich. Die Prävalenz von *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii* variiert beim Hund weltweit zwischen 1 % und 38 % (Guptill 2010). Die Seroprävalenz von *B. henselae* liegt weltweit zwischen 10 % und 35 % (Guptill 2010). In einer Studie in den USA lag sie bei gesunden Hunden bei 10,1 % und bei erkrankten Hunden bei 27,2 % (301 kranke Hunde, 99 gesunde Hunde) (Solano-Gallego et al. 2004; Breitschwerdt et al. 2010). In einer Studie, in der 9030 klinisch kranke Hunde aus den gesamten USA untersucht wurden, lag die Seroprävalenz bei 3,4 % (Breitschwerdt et al. 2010). In Großbritannien wurde eine Seroprävalenz von *B. henselae* bei Hunden von 3 % ermittelt (100 untersuchte Hunde) (Barnes et al. 2000). *B. henselae*-DNA wurde in Flöhen mittels PCR nachgewiesen (Just et al. 2008). Die Gesamtprävalenz lag in dieser Studie in Frankreich und Deutschland bei 3,5 % (Just et al. 2008).

In dieser Studie wurde die Seroreaktivität gegen verschiedene *Bartonella* spp. untersucht. Eine Speziesdifferenzierung war nicht möglich. Das so breit gefächerte Testsystem (Mietze 2010) kann die ermittelte hohe Seroprävalenz erklären. Es bleibt unklar, ob Hunde asymptomatische Träger von nicht-pathogenen Stämmen sind oder ob eine Infektion mit pathogenen Stämmen in den drei Gruppen stattgefunden haben kann. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen (MUE, SRMA und Trauma) bezüglich der Seroprävalenz von *Bartonella* spp.

5.2 Untersuchungen auf *A. phagocytophilum*

Die PCR-Untersuchung auf *A. phagocytophilum*-DNA aus Liquor ergab bei allen Patienten negative Ergebnisse. In einem Fallbericht wurde beschrieben, dass intrazytoplasmatische Morulae in neutrophilen Granulozyten im Liquor eines Hundes nachgewiesen werden konnten, was dafür spricht, dass *A. phagocytophilum* die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann (Maretzki et al. 1994). In einer Studie konnte keine *A. phagocytophilum*-DNA im Liquor isoliert werden (14 untersuchte Hunde) (Jäderlund et al. 2009).

Die PCR-Untersuchung auf *A. phagocytophilum*-DNA aus Blut ergab bei 4 von 65 Hunden ein positives Ergebnis. Alle 4 Hunde gehörten der SRMA-Gruppe an (Prävalenz 17,4 %). Die Unterschiede zwischen den Gruppen SRMA, MUE und Trauma waren statistisch signifikant.

Eine Infektion mit *A. phagocytophilum* spielt möglicherweise eine Rolle bei der Pathogenese von immunbedingten Hirnhautentzündungen, wie man es z.B. anhand der „Hit-and-Run-Hypothese“ beschreiben könnte: der Erreger verursacht nach Infektion eine Immunantwort. Die Immunantwort kann fehlgeleitet (z.B. durch molekulare Mimikry) oder überschießend sein und zu klinischen Symptomen führen. Der Erreger selbst kann bei Auftreten der Symptome schon eliminiert sein (Theil et al. 2001).

Eine Infektion mit *A. phagocytophilum* wurde in Zusammenhang mit autoimmunen Prozessen beschrieben, wie z.B. der sekundären Polyarthrit, immunpathologischen Thrombozytopenie oder Anämie. Es wurden thrombozytenggebundene Antikörper bei Menschen und Hunden mit Anaplasiose nachgewiesen (Wong und Thomas 1998; Kohn et al. 2008). In einem Fallbericht aus England wurde ein Hund mit immunmediierter Anämie und

Thrombozytopenie (Nachweis von antithrombozytären Antikörpern und Erythrozyten-Agglutination) mittels PCR positiv auf *A. phagocytophilum*-DNA getestet (Bexfield et al. 2005). Zwei Hunde mit nachgewiesener Anaplasmose hatten einen positiven Coombs‘ Test (Goldman et al. 1998).

Die Ergebnisse unserer Studie könnten darauf hindeuten, dass eine Infektion mit *A. phagocytophilum* auch eine Rolle bei der Pathogenese von immunbedingten Hirnhautentzündungen spielen könnte.

5.3 Untersuchungen auf *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Es wurde bei 14 von 61 Hunden ein Antikörpertiter von 1:128 oder höher mittels IFAT aus Serum ermittelt (Seroprävalenz 22,9 %). Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen vor. Die serologische Untersuchung auf das C6-Peptid ermöglicht es, zwischen natürlich infizierten und geimpften Patienten zu unterscheiden. Auch die C6-Seroreaktivität korreliert nicht mit der klinischen Symptomatik, d.h. Hunde mit hohen Antikörper-Titern können symptomlos sein (Greene et al. 2012a). Bei 13 der 14 Hunde mit einem erhöhten Antikörpertiter im IFAT wurde eine Untersuchung auf C6-Antikörper durchgeführt. Nur bei zwei Hunden der MUE-Gruppe und bei einem Hund aus der SRMA-Gruppe wurde ein erhöhter C6-Antikörpertiter gemessen. Erhöhte C6-Titer korrelierten nicht mit der Höhe des Antikörpertiters im IFAT.

Seroprävalenzstudien bei Hunden in Deutschland (mittels C6-ELISA) ergaben Werte zwischen 1,9 und 10,3 % (Krupka et al. 2007). In einer Studie mit 448 untersuchten Hunden aus der Region München lag die Seroprävalenz bei 6,9 % (mittels C6-ELISA) (Barth et al. 2012).

Anhand dieser Ergebnisse konnte kein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Serum-Antikörperspiegel gegen *Borrelia burgdorferi sensu lato* und dem Auftreten von entzündlichen ZNS-Erkrankungen gestellt werden. Dies entspricht den Ergebnissen einer experimentellen Studie (Krimer et al. 2011). Die Untersuchung von Antikörpertitern im Liquor könnte weitere Aussagen zur klinischen Relevanz einer Infektion mit *Borrelia burgdorferi sensu lato* ermöglichen. In einer Studie aus Schweden, in der Hunde mit neurologischen Symptomen untersucht wurden, waren serologische und PCR-Untersuchungen auf *A. phagocytophilum* und *Borrelia burgdorferi sensu lato* im Liquor negativ, obwohl Antikörper gegen beide Erreger im Serum ermittelt werden konnten (Jäderlund et al. 2009). In der aktuellen Studie war nicht genügend Liquor vorhanden, um Antikörpertiterbestimmungen aus Liquor durchzuführen.

5.4 Untersuchungen auf das FSME-Virus

Serologische Untersuchungen auf das FSME-Virus ergaben bei allen Patienten negative Ergebnisse. Dies ist aufgrund der Vorstellungsorte der Hunde nicht erstaunlich, da im Norden Deutschlands nur sporadische Fälle von FSME beschrieben wurden und 90 % der Fälle in Bayern, Baden-Württemberg und Süd-Hessen aufgetreten sind. Keine der teilnehmenden Kliniken ist in einer dieser Regionen situiert oder rekrutiert viele Fälle aus diesen Gebieten. FSME war jedoch aufgrund der Reiseanamnese der Hunde und der aktuellen Verteilung des FSME-Virus in Europa eine mögliche Differentialdiagnose (Tipold et al. 1993a; Pfeffer et al. 2011; Dobler et al. 2012).

5.5 Untersuchungen auf *E. canis*

Bei 28 von 64 Patienten konnte eine Infektion mit *E. canis* nicht ausgeschlossen werden. Bei diesen Patienten war entweder unklar, ob sie im Ausland gewesen waren oder es war bekannt, dass sie in einer Region gewesen waren, in der *E. canis* auftritt. Bei diesen Patienten wurden PCR-Untersuchungen auf *E. canis* aus Blut und Liquor sowie ein Antikörpernachweis im Serum mittels IFAT durchgeführt. Alle Untersuchungen ergaben negative Ergebnisse. Selten werden Morulae im Liquor von Patienten mit Monozytärer Ehrlichiose ermittelt. Das spricht dafür, dass *E. canis* die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann (Meinkoth et al. 1989).

Anhand der Ergebnisse dieser Studie konnte kein Zusammenhang zwischen Infektionen mit *E. canis* und entzündlichen ZNS-Erkrankungen festgestellt werden.

5.6 Untersuchung auf 16S rRNA

Um das Vorhandensein von weiteren Mikroorganismen ein- oder ausschließen zu können, wurden bei 62/66 Patienten PCR-Untersuchungen auf die hoch konservierten genomischen Regionen der 16S rRNA durchgeführt. Die Untersuchung ergab bei drei Hunden aus der Trauma-Gruppe ein positives Ergebnis. Es wurde bei ihnen DNA von *Pasteurellaceae* sp. nachgewiesen. Eine Speziesdifferenzierung war in keinem Fall möglich. Diese drei Tiere hatten einen schweren Krankheitsverlauf bzw. Komplikationen post-operationem. *Pasteurellen*-Infektionen wurden als Ursachen für Rückenmarksentzündungen beim Hund beschrieben (De Stefani et al. 2008). Die drei Patienten hatten in der bildgebenden Diagnostik keinen Hinweis auf Rückenmarksentzündung. Bei zwei konnte eine Diskopathie mittels CT und intra-operationem festgestellt werden. Bei einem Hund dieser Gruppe war die Zellzahl geringfügig erhöht. Es lag bei diesem Hund eine hochgradige mechanische Rückenmarksschädigung vor. Bei dem dritten Tier konnte keine Diskopathie in der bildgebenden Diagnostik nachgewiesen werden. Es wurde der Verdacht einer Rückenmarkskontusion gestellt. Die Blut- und Liquoruntersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Entzündung. Zwei der Patienten wurden in Trier, der dritte wurde in Berlin vorgestellt. Alle Liquorproben wurden vor der Untersuchung aufgetaut und aliquotiert. Eine Kontamination könnte während der Aliquotierung aufgetreten sein.

Pasteurellaceae sp. sind an das Leben auf Schleimhäuten adaptiert (De Stefani et al. 2008). Möglicherweise handelt es sich um orale Pasteurellen, die als Kontamination in die Proben gelangt sein könnten. Es wurde keine quantitative PCR durchgeführt. Eine Kontamination während des Aliquotierungsvorgangs ist wahrscheinlicher als eine tatsächliche Infektion der drei Patienten mit Erregern derselben Familie.

5.7 Koinfektion

Ein Hund hatte ein positives PCR-Ergebnis für *A. phagocytophilum* aus Blut und einen erhöhten Antikörper-Titer gegen *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Koinfektionen treten relativ häufig auf, da beide Erreger durch Zecken der Gattung *Ixodes* übertragen werden (Greene et al. 2012a). In einer experimentellen Studien (Krimer et al. 2011) entwickelten über Zecken mit *Borrelia burgdorferi* sensu lato infizierte Tiere einen erhöhten Antikörper-Titer gegen *A. phagocytophilum*. Antinukleäre Antikörper wurden bei Hunden mit erhöhten Antikörpertitern gegen *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii* und *E. canis* ermittelt (natürlich infizierte Tiere) (Smith et al. 2004). Ob Koinfektionen mit multiplen Erregern das immunogene Potential von infektiösen Erregern erhöhen, bleibt unklar.

5.8 CVBD-Erreger als Auslöser einer sekundären Immunantwort?

Anaplasrose kann zu sekundären autoimmunen Prozessen führen, wie z.B. sekundärer immunbedingter Thrombozytopenie oder Anämie. Die Ergebnisse unserer Studien könnten darauf hindeuten, dass eine Infektion mit *A. phagocytophilum* auch eine Rolle bei der Pathogenese von immunbedingten ZNS-Entzündungen spielt.

In dieser Studie konnte keine Korrelation zwischen entzündlichen ZNS-Erkrankungen und dem Vorhandensein von *E. canis*-DNA oder einem erhöhten Antikörperspiegel gegen *E. canis* ermittelt werden. Bei einem Hund wurde *B. henselae*-DNA im Blut nachgewiesen. Bei zwei Hunden der MUE-Gruppe und einem Hund der SRMA-Gruppe wurden erhöhte C6-Antikörper gegen *B. burgdorferi* sensu lato nachgewiesen. Anhand dieser Ergebnisse kann kein kausaler Zusammenhang zwischen Infektion und Entzündungsreaktion nachgewiesen werden. Eine Rolle dieser Erreger als Trigger einer sekundären Immunantwort kann nicht ausgeschlossen werden.

In einer Studie konnten antinukleäre Antikörper bei klinisch gesunden Hunden, deren Besitzer am Systemischen Lupus Erythematoses erkrankt waren, nachgewiesen werden (Jones et al. 1992). Die Autoren vermuten, dass ein übertragbares Agens bei der Pathogenese des Systemischen Lupus Erythematoses bei Menschen und Hunden eine Rolle spielt.

Eine Theorie ist, dass das kausale Agens, welches ein Mikroorganismus sein kann, aber nicht muss, nicht im ZNS bleibt oder nicht in das ZNS eintritt, sondern durch molekulare Mimikry eine Entzündungsreaktion auslöst (Oldstone 1998; Theil et al. 2001). Dieser Mechanismus wurde kontrovers bei der Multiplen Sklerose (Gilden 2005; Holmoy und Vartdal 2005; Prat und Antel 2005) und bei der Rasmussen's Enzephalitis diskutiert (Takahashi et al. 2006). Das Rasmussen's Syndrom ist eine chronische Enzephalitis, an der Kinder erkranken. Es wurde bisher kein viraler Einfluss nachgewiesen, aber Studien haben eine Immunantwort mit spezifischen T-Zell Populationen im Beisein von aktivierten Astroglia- und Mikroglia-Zellen ermittelt, was auf eine fokussierte immun-medierte, möglicherweise autoimmune Enzephalitis hinweist (Pardo et al. 2004).

5.9 Limitationen der Studie: Vorbehandlung

Aufgrund des Status der Kliniken als Überweisungskliniken war eine Vorbehandlung der Patienten nicht zu vermeiden. Da die Hunde oft mit Fieber, Schmerzen und neurologischen Symptomen vorgestellt wurden, waren die am häufigsten eingesetzten Wirkstoffe Glukokortikoide, Antibiotika und nicht-steroidale Antiphlogistika/Metamizol.

5.9.1 Glukokortikoide

Eine Vorbehandlung mit Glukokortikoiden führt zu einer Veränderung der Ergebnisse der Liquoruntersuchung. Aufgrund der starken antiphlogistischen Wirkung von Glukokortikoiden kann die Zellzahl trotz hochgradiger Entzündung nach Kortisongabe niedrig sein (Patient SRMA 12). Allerdings führt eine Vorbehandlung mit Glukokortikoiden nicht zu einer Veränderung der Ergebnisse der Untersuchungen auf Infektionserreger. Glukokortikoide werden bei experimentellen Infektionen mit *Borrelia* (Chang et al. 2001) und *Ehrlichia* (Egenvall et al. 2000b) aufgrund ihrer immunsuppressiven Wirkung eingesetzt.

5.9.2 Antibiotika

Die häufigsten eingesetzten Antibiotika in dieser Studie waren Amoxicillin-Clavulansäure und Enrofloxacin. Seltener verwendete Antibiotika waren Doxycyclin, Marbofloxacin, Clindamycin, Metronidazol, Methylpenicillin, Penicillin-Streptomycin, Trimethoprim-Sulfadiazin und Cefovecin.

Besonders in den Gruppen MUE und SRMA wurden bei vielen Patienten Antibiotika verabreicht. In der MUE-Gruppe bekamen 12/22 Patienten Antibiotika: Amoxicillin-Clavulansäure (4), Enrofloxacin (3), Marbofloxacin (1), Methyl-Penicillin (1), Clindamycin (1), Doxycyclin (1), Metronidazol (1), Cefovecin (1), Trimethoprim-Sulfadiazin (1). In der SRMA-Gruppe wurden bei 14/23 Patienten folgende Medikamenten eingesetzt: Amoxicillin-Clavulansäure (5), Enrofloxacin (5), Doxycyclin (4), Penicillin-Streptomycin (1), Metronidazol (1), Marbofloxacin (1). In der Trauma-Gruppe wurden lediglich 2/21 Patienten antibiotisch vorbehandelt: je ein Patient bekam Amoxicillin-Clavulansäure bzw. Enrofloxacin.

Viele Antibiotika überwinden beim gesunden Hund nicht die Blut-Hirn-Schranke. Bei einer Entzündung ist allerdings die Blut-Hirn-Schranke nicht mehr intakt, wodurch nicht lipophile Wirkstoffe in das Gehirn gelangen können (Webb und Muir 2000). Die eingesetzten Antibiotika können aufgrund ihrer Verteilungsmuster im Organismus und ihrer Wirkungsspektren unterschiedliche Einflüsse auf die Ergebnisse der PCR-Untersuchungen haben.

a) Doxycyclin

Doxycyclin ist ein halb-synthetisches Tetracyclin. Tetracycline sind bakteriostatisch. Sie wirken gegen Spirochäten (inkl. *Borrelia burgdorferi* sensu lato), Chlamydien und Rickettsien (Greig et al. 2012). Sie sind gegen viele Gram-positive Bakterien effizient. Tetracycline wirken gegen einige Gram-negative Bakterien, unter anderen *Bartonella* spp. (Guptill et al. 2012) und haben eine gute Verteilung im Organismus. Doxycyclin ist lipophiler als andere Tetracycline und kann dadurch auch in den Liquorraum gelangen. Die Konzentrationen im Liquor sind für gewöhnlich zu niedrig, um die meisten bakteriellen Infektionen zu behandeln. Dennoch wurde Doxycyclin beim Menschen erfolgreich bei der Behandlung von Neuroborreliose eingesetzt (Halperin 2014).

Eine Vorbehandlung mit Doxycyclin kann demzufolge zu relevanter Beeinflussung der PCR-Ergebnisse dieser Studie führen. Es wurden fünf Hunde vor der Liquorpunktion mit Doxycyclin behandelt. Ein Hund stammte aus der MUE-Gruppe (MUE 12). Die Doxycyclingabe erfolgte zwei Wochen vor der Liquorpunktion. Vier Patienten gehörten zur SRMA-Gruppe (SRMA 10, SRMA 15, SRMA 18, SRMA 19). Bei dem Patienten SRMA 15 (Vorbehandlung Meloxicam, Prednisolon, Doxycyclin 5 Tage oral, Dosierung unbekannt) war die PCR-Untersuchung auf *A. phagocytophilum*-DNA positiv. Dies kann möglicherweise durch eine Unterdosierung des Antibiotikums erklärt werden.

Bei dem Patienten SRMA 19 (Vorbehandlung mit Metamizol, Enrofloxacin, Amoxicillin-Clavulansäure, Doxycyclin) wurde die Untersuchung auf *A. phagocytophilum* aus Blut zweimal durchgeführt. Die Untersuchung aus der ersten Blutprobe (vor Doxycyclingabe, nach zwei Tagen Enrofloxacin und Amoxicillin-Clavulansäure) ergab ein positives PCR-Ergebnis. Die Untersuchung aus der Blutprobe nach einem Tag Doxycyclingabe war negativ. Bei diesem Patienten ist es möglich, dass bei der Untersuchung aus Liquor ein falsch negatives

Ergebnis ermittelt wurde, da die Liquorpunktion erst nach Doxycyclingabe durchgeführt wurde.

b) Penicilline

Penicilline haben eine gute Verteilung im Körper. Amoxicillin tritt nur bei Entzündung der Meningen in den Liquorraum ein und erreicht dort keine therapeutischen Konzentrationen (Maximalkonzentration 10-60 % der Serum-Konzentration). Penicillin-Derivate sind gegen *E. canis*, *A. phagocytophilum* (Greig et al. 2012) und *Bartonella* spp. (Pendle et al. 2006) (in Menschen und Katzen untersucht) nicht wirksam.

c) Fluorochinolone

Enrofloxacin verteilt sich gut im Organismus. Es werden nur niedrige Konzentrationen im Liquor gefunden: Liquor-Konzentrationen erreichen nur 6-10 % der Serum-Konzentration. Marbofloxacin ist ein synthetisches Fluorochinolon. Es hat das gleiche Wirkspektrum und eine ähnliche Verteilung wie Enrofloxacin (Frazier et al. 2000).

Fluorochinolone haben begrenzte Wirkung gegen *Bartonella* spp. (Angelakis et al. 2008; Guptill et al. 2012) und werden nicht gegen *Rickettsien* eingesetzt.

d) Metronidazol

Metronidazol ist ein synthetisches Nitroimidazolderivat.

Metronidazol ist lipophil und verteilt sich in die meisten Flüssigkeiten und Geweben, unter anderem auch im ZNS (Chew et al. 2012). Es wirkt bakterizid und antiprotozoär. Es ist gegen die meisten Anaerobier wirksam, wird jedoch nicht gegen *Rickettsien* oder *Bartonella* spp. eingesetzt.

e) Clindamycin

Clindamycin ist ein halbsynthetisches Lincosamid. Es hat ein breites Wirkspektrum gegen Anaerobier, Gram-positive aerobe Kokken und *Toxoplasma* spp.

Clindamycin hat eine gute Verteilung in allen Geweben. Wenn die Meningen eine Entzündung aufweisen, können Konzentrationen im ZNS 40 % der Serum-Konzentration erreichen. Clindamycin wird gegen Protozoa (Dubey et al. 2007), jedoch nicht gegen *Bartonella* spp. and *Rickettsien* genutzt (Guptill et al. 2012).

Antibiotische Behandlung mit Penicillin-Derivaten (12), Fluorochinolonen (11) oder Clindamycin (1) vor der Liquorpunktion kann zu falsch negativen Ergebnissen der eubakteriellen PCR geführt haben.

5.10 Limitationen der Studie: Patienten

5.10.1 Regionale Unterschiede innerhalb Deutschlands

Die Hunde wurden an drei verschiedenen Standorten in Deutschland vorgestellt. Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der folgenden Untersuchungen ermittelt werden: *Bartonella* ELISA, *Borrelia burgdorferi* sensu lato IFAT, *A. phagocytophilum*-PCR. Dies deutet darauf hin, dass regionale Unterschiede im Rahmen dieser Studie vernachlässigbar sind.

5.10.2 Auslandsaufenthalt

Insgesamt 17 Hunde hatten einen Auslandsaufenthalt in einem Land, in dem *E. canis* vorkommt (Gruppe 2 oder 3) oder eine unbekannte Auslandsanamnese (26 %). Sieben der Hunde gehörten in die MUE-Gruppe (32 %), fünf in die SRMA-Gruppe (22 %) und 10 in die Trauma-Gruppe (48 %). Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Ergebnisse der Untersuchungen auf *A. phagocytophilum*-DNA und *Bartonella* spp. Serologie zwischen den Hunden mit Aufenthalten in verschiedenen Regionen ermittelt werden. Allerdings fehlten Details bezüglich des Zeitpunktes und der Dauer der Aufenthalte.

5.11 Limitationen der Studie: Anzahl der Fälle

In die Studie wurden 66 Hunde aufgenommen. Viele potentielle Patienten mussten aufgrund von begrenzten Liquormengen ausgeschlossen werden. Die Aussagekraft der Ergebnisse ist aufgrund der niedrigen Fallzahl limitiert. Allerdings trifft diese Limitation auch auf andere klinische Studien zu entzündlichen ZNS-Erkrankungen zu. Eine klinische Studie aus Schweden untersuchte Liquor und Blut von 10 Hunden mit SRMA und 4 Hunden mit MUE auf *A. phagocytophilum* und *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Jäderlund et al. 2009).

5.12 Limitationen der Studie: Diagnose von Meningoenzephalitis

Die klinische Diagnosestellung von Meningoenzephalitiden ist schwierig. Eine histologische Diagnose wird bisher nur post-mortem gestellt, da Gehirnbiospien noch nicht routinemäßig eingesetzt werden. Es wurde bei 6 Patienten der MUE-Gruppe eine pathologische Untersuchung durchgeführt (MUE 2, MUE 10, MUE 11, MUE 12, MUE 19, MUE 20), bei den übrigen 16 Patienten kann lediglich die Verdachtsdiagnose einer Meningoenzephalitis unbekannter Ätiologie gestellt werden. Dadurch ergibt sich eine sehr heterogene Gruppe, in der verschiedene Formen der Meningoenzephalitis unbekannter Genese (z.B. NME und GME) eingeschlossen wurden. Es ist bisher noch unklar, ob es sich bei diesen Erkrankungen um eine einzelne Erkrankung mit verschiedenen Erscheinungsbildern oder um grundlegend unterschiedliche Erkrankungen handelt.

In einer Studie von 2010 wurden post-mortale Diagnosen gestellt und somit die entzündlichen Erkrankungen weiter differenziert (z.B. NME und GME). 75 Fälle mit GME, NME oder MUE wurden mittels PCR (in Gehirngewebe oder Liquor) auf Vektor-übertragene Erreger hin untersucht (Barber et al. 2010).

Eine Limitation von pathologischen Studien ist, dass die Untersuchungen in späten Krankheitsstadien durchgeführt werden, in denen schon signifikante Entzündungsprozesse stattgefunden haben und eventuelle infektiöse Trigger möglicherweise schon eliminiert wurden.

In der aktuellen, klinisch orientierten Studie lag der Fokus nicht auf einer genauen histologischen Klassifizierung des Entzündungsgeschehens, sondern auf einer Untersuchung vor dem Endstadium der Erkrankung. In Bezug auf die „Hit-and-Run-Hypothese“ ist die Wahrscheinlichkeit, potentielle immunogene Erreger mittels PCR nachweisen zu können in einem früheren Stadium der Erkrankung größer (Courtney et al. 2004).

Aufgrund der weitestgehend negativen Ergebnisse bei lebenden und toten Tieren sind vermutlich experimentelle Studien mit Fokus auf die immunpathologischen Prozesse im Gehirn notwendig, um das immunogene Potential von Vektor-übertragenen Erregern in ZNS-Entzündungen zu klären. Trotzdem können die Ergebnisse dieser Studie darauf hinweisen, dass Vektor-übertragene Erreger Trigger einer Entzündung des ZNS sein könnten, und daher

bei der kompletten diagnostischen Abklärung eines Falls mit entzündlicher ZNS-Erkrankung in Betracht gezogen werden sollten.

VI. Zusammenfassung

Bei vielen Entzündungen des zentralen Nervensystems (ZNS) beim Hund können Erreger nicht nachgewiesen werden. Sie werden daher als Entzündungen unbekannter Genese bezeichnet. Immunpathologische Untersuchungen lassen vermuten, dass ein Antigen eine autoimmune Reaktion auslöst („Hit-and-Run-Prinzip“).

Serum, Blut und Liquor cerebrospinalis wurden auf Antikörper bzw. DNA von Vektorübertragenen Erregern hin untersucht, um zu klären, inwieweit Vektorübertragene Erreger Meningitiden und Enzephalitiden unbekannter Genese beim Hund in Deutschland auslösen oder Teil einer multifaktoriellen Ätiologie sind.

Im Zeitraum von Dezember 2009 bis November 2011 wurden 66 Hunde in die prospektive multizentrische Studie aufgenommen. Die Hunde wurden in drei Gruppen eingeteilt:

- 1) Kontrollgruppe (Trauma-Gruppe) mit nicht-entzündlichen ZNS-Erkrankungen (Rückenmarkstrauma) (n=21),
- 2) Hunde mit Verdacht auf Meningoenzephalitis unbekannter Ätiologie (MUE) (n=22) und
- 3) Hunde mit Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis (SRMA) (n=23).

Es erfolgten PCR-Untersuchungen auf *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis* (bei Aufenthalt in endemischen Gebieten bzw. bei unbekannter Herkunft, n=28) und *Bartonella* spp. in Liquor und EDTA-Blut sowie serologische Untersuchungen auf *E. canis* (IFAT), Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)-Virus (ELISA) und *Borrelia burgdorferi* sensu lato (IFAT, bzw. C6-ELISA bei IFAT-Antikörpertitern $\geq 1:128$). Eine eubakterielle PCR wurde aus Liquor durchgeführt. Der Gruppenvergleich wurde mit nicht parametrischen Tests (Kruskal-Wallis-Test) gemacht. Als statistische Software wurde SPSS 17.0 für Windows, SPSS Inc., USA, verwendet.

Bei keinem Hund wurde DNA der untersuchten Erreger im Liquor nachgewiesen. Die PCR-Untersuchung auf *A. phagocytophilum* im Blut war bei 4 Hunden aus der SRMA-Gruppe positiv. Bei keinem Hund war die *E. canis*-PCR bzw. der Antikörpernachweis in Blut bzw. Serum positiv. Bei keinem Hund konnten Antikörper gegen das FSME-Virus nachgewiesen werden. Bei einem Hund aus der SRMA-Gruppe wurde *B. henselae*-DNA im Blut nachgewiesen. Der Antikörperspiegel (IFAT) gegen *B. burgdorferi* sensu lato lag bei 14 Hunden bei $\geq 1:128$, wobei es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gab. Bei zwei Hunden der MUE-Gruppe und einem Hund der SRMA-Gruppe wurde ein erhöhter C6-Antikörperspiegel gegen *B. burgdorferi* sensu lato (> 10 U/ml) gemessen. Bei drei Hunden der Trauma-Gruppe konnte mittels eubakterieller PCR DNA von *Pasteurellaceae* nachgewiesen werden, was vermutlich auf eine Kontamination der Proben zurückzuführen ist. Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von *E. canis*- oder einem erhöhten Antikörperspiegel gegen *E. canis* und FSME-Virus und entzündlichen ZNS-Erkrankungen gezeigt werden. Erwähnenswert ist, dass 17 % der Hunde mit SRMA im EDTA-Blut PCR-positiv für *A. phagocytophilum* waren, was weiterer Untersuchungen bedarf. *A. phagocytophilum* spielt möglicherweise eine Rolle als Trigger einer sekundären Immunantwort. Inwieweit vereinzelte positive Ergebnisse der Untersuchungen auf *B. henselae*-DNA und *B. burgdorferi* sensu lato Antikörper im Serum eine klinische Relevanz haben, bleibt ungeklärt.

VII. Summary

Testing of dogs with meningitis and meningoencephalitis of unknown etiology for vector-transmitted microorganisms

In many cases of inflammatory diseases of the central nervous system in dogs, no aetiological infectious agent can be found. These inflammatory conditions are thus named inflammations of unknown aetiology. Results of immunopathological studies imply that an antigen may trigger an autoimmune response (Hit-and-Run-Hypothesis).

Serum was analyzed for antibodies against vector-transmitted pathogens and blood and cerebrospinal fluid for DNA of such infectious agents in order to further define the role of CVBD-agents in the aetiology of meningitis and meningoencephalitis of unknown aetiology in dogs in Germany.

66 client-owned dogs were included in the prospective multicenter study between december 2009 and november 2011. They were classified in three groups:

a.) control-group with dogs with non-inflammatory CNS-disease (e.g. intervertebral disc disease, n=21) (trauma group)

b.) dogs with meningoencephalitis of unknown aetiology (MUE) (n=22)

c.) dogs with steroid-responsive meningitis-arteritis (SRMA) (n=23)

PCR was performed in blood and cerebrospinal fluid to detect *A. phagocytophilum*, *E. canis* (for dogs that stayed in an endemic area or dogs with unknown past, n=28) and *Bartonella* spp. Serological assays targeted *E. canis* (IFAT), TBEV (ELISA) and *Borrelia burgdorferi* sensu lato antibodies (IFAT and C6-ELISA for patients with elevated antibody titers in IFAT). Group comparison was done with non parametric tests, using the statistical software SPSS 17.0 for windows, SPSS Inc., USA.

No DNA was found in cerebrospinal fluid. In 4 dogs of the SRMA-group, DNA of *A. phagocytophilum* was found in blood. Serological and PCR analysis for *E. canis* were negative in all dogs in blood and serum. No elevated antibody-titers against TBEV were measured in any dog. *B. henselae* DNA was detected in blood of 1 dog of the SRMA-group. 14 dogs had an elevated antibody titer ($\geq 1:128$) against *B. burgdorferi* sensu lato (IFAT). There were no significant differences between the 3 groups. In two dogs of the SRMA-group and in one dog of the MUE-group, an elevated C6-titer was detected via C6-ELISA (> 10 U/ml). DNA of *Pasteurellaceae* was detected with eubacterial PCR in CSF of 3 dogs of the trauma group, which may be due to a contamination of the samples.

No correlation could be determined between the presence of *E. canis* DNA or elevated antibody-titers against *E. canis* or TBEV and inflammatory CNS diseases. 17 % of dogs with SRMA had positive PCR results for *A. phagocytophilum*. *A. phagocytophilum* may play a role as trigger of a secondary immunopathy. It remains unclear whether the positive test results for *Bartonella* DNA and *Borrelia burgdorferi* sensu lato antibodies are clinically relevant.

VIII. Literaturverzeichnis

Adamo, P. F.; Adams, W. M.; Steinberg, H. (2007):
Granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs.
Compend Contin Educ Vet. 29(11), 678-90.

Aldred, A. R., Brack, C.M., Schreiber, G. (1995):
The cerebral expression of plasma protein genes in different species.
Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry and Molecular Biology. 111,
1-15.

Amude, A. M.; Alfieri, A. A.; Alfieri, A. F. (2007):
Clinicopathological findings in dogs with distemper encephalomyelitis presented without
characteristic signs of the disease.
Res Vet Sci. 82(3), 416-22.

Angelakis, E.; Biswas, S.; Taylor, C.; Raoult, D.; Rolain, J. M. (2008):
Heterogeneity of susceptibility to fluoroquinolones in Bartonella isolates from Australia
reveals a natural mutation in gyrA.
J Antimicrob Chemother. Jun;61(6):1252-5.

Appel, M. J.; Allan, S.; Jacobson, R. H.; Lauderdale, T. L.; Chang, Y. F.; Shin, S. J.;
Thomford, J. W.; Todhunter, R. J.; Summers, B. A. (1993):
Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection.
J Infect Dis. 167(3), 651-64.

Assarasakorn, S.; Niwetpathomwat, A. (2007):
A complicated case of concurrent canine babesiosis and canine ehrlichiosis.
comparative clinical pathology. 16, 281-284.

Azuma, Y.; Kawamura, K.; Isogai, H.; Isogai, E. (1993):
Neurologic abnormalities in two dogs suspected Lyme disease.
Microbiol Immunol. 37(4), 325-9.

Bailey, C. S.; Vernau, W. (1997):
Cerebrospinal fluid.
In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Hrsg. J. J. Kaneko, Harvey, J.W., Bruss,
M.L. New York: Academic Press. S. 785–827.

Balmelli, T.; Piffaretti, J. C. (1995):
Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of
Borrelia burgdorferi sensu lato.
Res Microbiol. 146(4), 329-40.

- Barber, R. M.; Li, Q.; Diniz, P. P.; Porter, B. F.; Breitschwerdt, E. B.; Claiborne, M. K.; Birkenheuer, A. J.; Levine, J. M.; Levine, G. J.; Chandler, K.; Kenny, P.; Nghiem, P.; Wei, S.; Greene, C. E.; Kent, M.; Platt, S. R.; Greer, K.; Schatzberg, S. J. (2010): Evaluation of brain tissue or cerebrospinal fluid with broadly reactive polymerase chain reaction for Ehrlichia, Anaplasma, spotted fever group Rickettsia, Bartonella, and Borrelia species in canine neurological diseases (109 cases).
J Vet Intern Med. 24(2), 372-8.
- Barber, R. M.; Porter, B. F.; Li, Q.; May, M.; Claiborne, M. K.; Allison, A. B.; Howerth, E. W.; Butler, A.; Wei, S.; Levine, J. M.; Levine, G. J.; Brown, D. R.; Schatzberg, S. J. (2012): Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis.
J Vet Intern Med. 26(4), 962-8.
- Barnes, A.; Bell, S. C.; Isherwood, D. R.; Bennett, M.; Carter, S. D. (2000): Evidence of Bartonella henselae infection in cats and dogs in the United Kingdom.
Vet Rec. 147(24), 673-7.
- 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.
Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 125(7-8), 337-44.
- Beall, M. J.; Chandrashekar, R.; Eberts, M. D.; Cyr, K. E.; Diniz, P. P.; Mainville, C.; Hegarty, B. C.; Crawford, J. M.; Breitschwerdt, E. B. (2008): Serological and molecular prevalence of Borrelia burgdorferi, Anaplasma phagocytophilum, and Ehrlichia species in dogs from Minnesota.
Vector Borne Zoonotic Dis. 8(4), 455-64.
- Behr, S.; Trumel, C.; Palanche, F.; Braun, J. P. (2003): Assessment of a pyrogallol red technique for total protein measurement in the cerebrospinal fluid of dogs.
J Small Anim Pract. 44(12), 530-3.
- Berthelin, C. F.; Legendre, A. M.; Bailey, C. S. (1994): Cryptococcosis of the nervous system in dogs. Part 2. Diagnosis and treatment.
Prog Vet Neurology. 5, 136-146.
- Bexfield, N. H.; Villiers, E. J.; Herrtage, M. E. (2005): Immune-mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with Anaplasma phagocytophilum in a dog.
J Small Anim Pract. 46(11), 543-8.
- Bichsel, P.; Vandeveld, M.; Vandeveld, E.; Affolter, U.; Pfister, H. (1984): Immunoelectrophoretic determination of albumin and IgG in serum and cerebrospinal fluid in dogs with neurological diseases.
Res Vet Sci. 37(1), 101-7.

Bingsohn, L.; Beckert, A.; Zehner, R.; Kuch, U.; Oehme, R.; Kraiczy, P.; Amendt, J. (2013): Prevalences of tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* populations of the Rhine-Main region, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 4(3), 207-13.

Birkenheuer, A. J. (2012):

Babesiosis.

In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 771-784.

Bjoersdorff, A.; Wittesjo, B.; Berglund, J.; Massung, R. F.; Eliasson, I. (2002):

Human granulocytic ehrlichiosis as a common cause of tick-associated fever in Southeast Sweden: report from a prospective clinical study.

Scand J Infect Dis. 34(3), 187-91.

Bobade, P. A.; Oduye, O. O.; Aghomo, H. O. (1989):

Prevalence of antibodies against *Babesia canis* in dogs in an endemic area.

Rev Elev Med Vet Pays Trop. 42(2), 211-7.

Bode, L.; Riegel, S.; Lange, W.; Ludwig, H. (1992):

Human infections with Borna disease virus: seroprevalence in patients with chronic diseases and healthy individuals.

J Med Virol. 36(4), 309-15.

Bode, L.; Durrwald, R.; Ludwig, H. (1994):

Borna virus infections in cattle associated with fatal neurological disease.

Vet Rec. 135(12), 283-4.

Bode, L.; Zimmermann, W.; Ferszt, R.; Steinbach, F.; Ludwig, H. (1995):

Borna disease virus genome transcribed and expressed in psychiatric patients.

Nat Med. 1(3), 232-6.

Bode, L.; Durrwald, R.; Rantam, F. A.; Ferszt, R.; Ludwig, H. (1996):

First isolates of infectious human Borna disease virus from patients with mood disorders.

Mol Psychiatry. 1(3), 200-12.

Boettcher, I. C.; Steinberg, T.; Matiasek, K.; Greene, C. E.; Hartmann, K.; Fischer, A. (2007):

Use of anti-coronavirus antibody testing of cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis involving the central nervous system in cats.

J Am Vet Med Assoc. 230(2), 199-205.

Boozer, A. L.; Macintire, D. K. (2003):

Canine babesiosis.

Vet Clin North Am Small Anim Pract. 33(4), 885-904, viii.

Boulouis, H. J.; Chang, C. C.; Henn, J. B.; Kasten, R. W.; Chomel, B. B. (2005):

Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections.

Vet Res. 36(3), 383-410.

Braund, K. G.; Vandeveld, M.; Walker, T. L. (1978):
Granulomatous meningoencephalomyelitis in six dogs.
J Am Vet Med Assoc. 172, 1195-1200.

Breitschwerdt, E. B.; Hegarty, B. C.; Hancock, S. I. (1998):
Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*,
Ehrlichia equi, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*.
J Clin Microbiol. Sep;36(9), 2645-51.

Breitschwerdt, E. B.; Blann, K. R.; Stebbins, M. E.; Munana, K. R.; Davidson, M. G.;
Jackson, H. A.; Willard, M. D. (2004):
Clinicopathological abnormalities and treatment response in 24 dogs seroreactive to
Bartonella vinsonii (*berkhoffii*) antigens.
J Am Anim Hosp Assoc. 40(2), 92-101.

Breitschwerdt, E. B.; Maggi, R. G.; Nicholson, W. L.; Cherry, N. A.; Woods, C. W. (2008):
Bartonella sp. bacteremia in patients with neurological and neurocognitive dysfunction.
J Clin Microbiol. 46(9), 2856-61.

Breitschwerdt, E. B.; Maggi, R. G. (2009):
A confusing case of canine vector-borne disease: clinical signs and progression in a dog co-
infected with *Ehrlichia canis* and *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii*.
Parasites & Vectors. 2 Suppl 1, S3.

Breitschwerdt, E. B.; Maggi, R. G.; Lantos, P. M.; Woods, C. W.; Hegarty, B. C.; Bradley, J.
M. (2010):
Bartonella vinsonii subsp. *berkhoffii* and *Bartonella henselae* bacteremia in a father and
daughter with neurological disease.
Parasit Vectors. 3(1), 29.

Callanan, J. J.; Mooney, C. T.; Mulcahy, G.; Fatzer, R.; Vandeveld, M.; Ehrensperger, F.;
McElroy, M.; Toolan, D.; Raleigh, P. (2002):
A novel nonsuppurative meningoencephalitis in young greyhounds in Ireland.
Vet Pathol. 39(1), 56-65.

Carmichael, L. E.; Schlafer, D. H.; Hashimoto, A. (1994):
Minute virus of canines (MVC, canine parvovirus type-1): pathogenicity for pups and
seroprevalence estimate.
J Vet Diagn Invest. 6(2), 165-74.

Carmichael, N. (1998):
Nervous system.
In: Manual of Small Animal Clinical Pathology. Hrsg. M. Davidson, Else, R., Lumsden, J.
Cheltenham, UK: British Small Animal Veterinary Association. S. 235-240.

Cerar, T.; Ogrinc, K.; Cimperman, J.; Lotric-Furlan, S.; Strle, F.; Ruzic-Sabljić, E. (2008):
Validation of cultivation and PCR methods for diagnosis of Lyme neuroborreliosis.
J Clin Microbiol. 46(10), 3375-9.

- Chang, Y. F.; Novosel, V.; Chang, C. F.; Summers, B. A.; Ma, D. P.; Chiang, Y. W.; Acree, W. M.; Chu, H. J.; Shin, S.; Lein, D. H. (2001):
Experimental induction of chronic borreliosis in adult dogs exposed to *Borrelia burgdorferi*-infected ticks and treated with dexamethasone.
Am J Vet Res. 62(7), 1104-12.
- Cherinet, Y.; Tomlinson, R. (2008):
Cat scratch disease presenting as acute encephalopathy.
Emerg Med J. 25(10), 703-4.
- Cherry, N. A.; Diniz, P. P.; Maggi, R. G.; Hummel, J. B.; Hardie, E. M.; Behrend, E. N.; Rozanski, E.; DeFrancesco, T. C.; Cadenas, M. B.; Breitschwerdt, E. B. (2009):
Isolation or molecular detection of *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* from dogs with idiopathic cavitory effusions.
J Vet Intern Med. 23(1), 186-9.
- Cherubini, G. B.; Platt, S. R.; Anderson, T. J.; Rusbridge, C.; Lorenzo, V.; Mantis, P.; Cappello, R. (2006):
Characteristics of magnetic resonance images of granulomatous meningoencephalomyelitis in 11 dogs.
Vet Rec. 159(4), 110-5.
- Chew, W. K.; Segarra, I.; Ambu, S.; Mak, J. W. (2012):
Significant reduction of brain cysts caused by *Toxoplasma gondii* after treatment with spiramycin coadministered with metronidazole in a mouse model of chronic toxoplasmosis.
Antimicrob Agents Chemother. 56(4), 1762-8.
- Chomel, B. B.; Kasten, R. W.; Sykes, J. E.; Boulouis, H. J.; Breitschwerdt, E. B. (2003):
Clinical impact of persistent *Bartonella* bacteremia in humans and animals.
Ann N Y Acad Sci. 990, 267-78.
- Chomel, B. B.; Boulouis, H. J.; Maruyama, S.; Breitschwerdt, E. B. (2006):
Bartonella spp. in pets and effect on human health.
Emerg Infect Dis. 12(3), 389-94.
- Chomel, B. B.; McMillan-Cole, A. C.; Kasten, R. W.; Stuckey, M. J.; Sato, S.; Maruyama, S.; Diniz, P. P.; Breitschwerdt, E. B. (2012):
Candidatus Bartonella merieuxii, a potential new zoonotic *Bartonella* species in canids from Iraq.
PLoS Negl Trop Dis. 6(9), e1843.
- Chrisman, C. L. (1992):
Cerebrospinal fluid analysis.
Vet Clin North Am Small Anim Pract. 22(4), 781-810.
- Christopher, M. M.; Perman, V.; Hardy, R. M. (1988):
Reassessment of cytologic values in canine cerebrospinal fluid by use of cytocentrifugation.
J Am Vet Med Assoc. 192(12), 1726-9.

- Chung, J. Y.; Han, T. H.; Kim, B. N.; Yoo, Y. S.; Lim, S. J. (2005):
Detection of bartonella henselae DNA by polymerase chain reaction in a patient with cat scratch disease: a case report.
J Korean Med Sci. 20(5), 888-91.
- Cohen, N. D.; Carter, C. N.; Thomas, M. A., Jr.; Angulo, A. B.; Eugster, A. K. (1990):
Clinical and epizootiologic characteristics of dogs seropositive for Borrelia burgdorferi in Texas: 110 cases (1988).
J Am Vet Med Assoc. 197(7), 893-8.
- Coles, E. H. (1986).
In: Veterinary Clinical Pathology. Hrsg. E. H. Coles. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 267-278.
- Cook, J. R. J.; DeNicola, D. B. (1988):
Cerebrospinal fluid.
Vet Clin North Am Small Anim Pract. 18(3), 475-99.
- Cordy, D. R. (1979):
Canine granulomatous meningoencephalomyelitis.
Veterinary Pathology. 16, 325-333.
- Cordy, D. R.; Holliday, T. A. (1989):
A necrotizing meningoencephalitis of pug dogs.
Vet Pathol. 26(3), 191-4.
- Courtney, J. W.; Kostelnik, L. M.; Zeidner, N. S.; Massung, R. F. (2004):
Multiplex real-time PCR for detection of anaplasma phagocytophilum and Borrelia burgdorferi.
J Clin Microbiol. 42(7), 3164-8.
- Cross, J. R.; Rossmeisl, J. H.; Maggi, R. G.; Breitschwerdt, E. B.; Duncan, R. B. (2008):
Bartonella-associated meningoradiculoneuritis and dermatitis or panniculitis in 3 dogs.
J Vet Intern Med. 22(3), 674-8.
- Daly, P.; Drudy, D.; Chalmers, W. S.; Baxendale, W.; Fanning, S.; Callanan, J. J. (2006):
Greyhound meningoencephalitis: PCR-based detection methods highlight an absence of the most likely primary inducing agents.
Vet Microbiol. 118(3-4), 189-200.
- de Graaf, M. T.; de Jongste, A. H.; Kraan, J.; Boonstra, J. G.; Sillevius Smitt, P. A.; Gratama, J. W. (2011):
Flow cytometric characterization of cerebrospinal fluid cells.
Cytometry B Clin Cytom. 80(5), 271-81.
- de la Torre, J. C.; Bode, L.; Durrwald, R.; Cubitt, B.; Ludwig, H. (1996):
Sequence characterization of human Borna disease virus.
Virus Res. 44(1), 33-44.

- De Stefani, A.; Garosi, L. S.; McConnell, F. J.; Diaz, F. J.; Dennis, R.; Platt, S. R. (2008):
Magnetic resonance imaging features of spinal epidural empyema in five dogs.
Vet Radiol Ultrasound. 49(2), 135-40.
- Dehnert, M.; Fingerle, V.; Klier, C.; Talaska, T.; Schlaud, M.; Krause, G.; Wilking, H.;
Poggensee, G. (2012):
Seropositivity of Lyme borreliosis and associated risk factors: a population-based study in
Children and Adolescents in Germany (KiGGS).
PLoS One. 7(8), e41321.
- Dewey, C. W. (2008):
Encephalopathies.
In: *A Practical Guide to Canine and Feline Neurology*. Hrsg. C. W. Dewey. Ames, I: Wiley
S. 115-220.
- Di Terlizzi, R.; Platt, S. R. (2009):
The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: part II -
analysis.
Vet J. 180(1), 15-32.
- Diniz, P. P.; Breitschwerdt, E. B. (2012):
Canine Granulocytotropic Anaplasmosis (*A. phagocytophilum* Infection).
In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier
Saunders. S. 244-253.
- Dobler, G.; Gniel, D.; Petermann, R.; Pfeffer, M. (2012):
Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis.
Wien Med Wochenschr. 162(11-12), 230-8.
- Doolittle, W. F. (1999):
Phylogenetic classification and the universal tree.
Science. 284(5423), 2124-9.
- Dow, S. W.; LeCouteur, R. A.; Henik, R. A.; Jones, R. L.; Poss, M. L. (1988):
Central nervous system infection associated with anaerobic bacteria in two dogs and two cats.
J Vet Intern Med. 2(4), 171-6.
- Drancourt, M.; Bollet, C.; Carlioz, A.; Martelin, R.; Gavral, J. P.; D., R. (2000):
16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical
unidentifiable bacterial isolates.
J Clin Microbiol. Oct;38(10), 3623-30.
- Dubey, J. P.; Hattel, A. L.; Lindsay, D. S. (1988):
Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and
experimental transmission.
J Am Vet Med Assoc. 193, 1259-1263.

Dubey, J. P.; Vianna, M. C.; Kwok, O. C.; Hill, D. E.; Miska, K. B.; Tuo, W.; Velmurugan, G. V.; Conors, M.; Jenkins, M. C. (2007):
Neosporosis in Beagle dogs: clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*.
Vet Parasitol. 149(3-4), 158-66.

Dubey, J. P.; Greene, C. E.; Lappin, M. R. (2012):
Toxoplasmosis and neosporosis.
In: *Infectious Diseases of Dogs and Cats*. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 806-827.

Ducote, J. M.; Johnson, K. E.; Dewey, C. W.; Walker, M. A.; Coates, J. R.; Berridge, B. R. (1999):
Computed tomography of necrotizing meningoencephalitis in 3 Yorkshire Terriers.
Vet Radiol Ultrasound. 40(6), 617-21.

Duncan, A. W.; Correa, M. T.; Levine, J. F.; Breitschwerdt, E. B. (2005):
The dog as a sentinel for human infection: prevalence of *Borrelia burgdorferi* C6 antibodies in dogs from southeastern and mid-Atlantic States.
Vector Borne Zoonotic Dis. 5(2), 101-9.

Duncan, A. W.; Maggi, R. G.; Breitschwerdt, E. B. (2007a):
A combined approach for the enhanced detection and isolation of *Bartonella* species in dog blood samples: pre-enrichment liquid culture followed by PCR and subculture onto agar plates.
Microbiol Methods. 69, 273-281.

Duncan, A. W.; Maggi, R. G.; Breitschwerdt, E. B. (2007b):
Bartonella DNA in dog saliva.
Emerg Infect Dis. 13(12), 1948-50.

Durrwald, R.; Ludwig, H. (1997):
Borna disease virus (BDV), a (zoonotic?) worldwide pathogen. A review of the history of the disease and the virus infection with comprehensive bibliography.
Zentralbl Veterinarmed B. 44(3), 147-84.

Eberts, M. D.; Vissotto de Paiva Diniz, P. P.; Beall, M. J.; Stillman, B. A.; Chandrashekar, R.; Breitschwerdt, E. B. (2011):
Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs.
J Am Anim Hosp Assoc. 47(6), e86-94.

Egenvall, A.; Bjoersdorff, A.; Lilliehook, I.; Olsson Engvall, E.; Karlstam, E.; Artursson, K.; Hedhammar, A.; Gunnarsson, A. (1998):
Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish *Ehrlichia* species isolate.
Vet Rec. 143(15), 412-7.

- Egenvall, A.; Bonnett, B. N.; Gunnarsson, A.; Hedhammar, A.; Shoukri, M.; Bornstein, S.; Artursson, K. (2000a):
Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in Swedish dogs 1991-94.
Scand J Infect Dis. 32(1), 19-25.
- Egenvall, A.; Lilliehook, I.; Bjoersdorff, A.; Engvall, E. O.; Karlstam, E.; Artursson, K.; Heldtander, M.; Gunnarsson, A. (2000b):
Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs.
Vet Rec. 146(7), 186-90.
- Egenvall, A. E.; Hedhammar, A. A.; Bjoersdorff, A. I. (1997):
Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden.
Vet Rec. 140(9), 222-6.
- Eminaga, S.; Palus, V.; Cherubini, G. B. (2011):
Minute virus as a possible cause of neurological problems in dogs.
Vet Rec. 168(4), 111-2.
- Eng, T. R.; Wilson, M. L.; Spielman, A.; Lastavica, C. C. (1988):
Greater risk of Borrelia burgdorferi infection in dogs than in people.
J Infect Dis. 158(6), 1410-1.
- Evans, R. J. (1988):
Ancillary diagnostic aids.
In: Manual of Small Animal Neurology. Hrsg. S. J. Wheeler. Cheltenham, UK: British Small Animal Veterinary Association. S. 47-62.
- Fekadu, M. (1993):
Canine rabies.
Onderstepoort J Vet Res. 60(4), 421-7.
- Fenner, W. R. (1998):
Central nervous system infections.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 647-657.
- Fenollar, F.; Raoult, D. (2004):
Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms.
APMIS. 112(11-12), 785-807.
- Fishman, R. A.; Ransohof, J.; Ossermann, E. F. (1958):
Factors influencing the concentration gradient of protein in cerebrospinal fluid.
Journal of Clinical Investigation. 37, 1419-1424.
- Fishman, R. A.; Chan, P. H. (1980):
Metabolic basis of brain edema.
Adv Neurol. 28, 207-15.

- Fishman, R. A. (1992):
Cerebrospinal Fluid.
In: Diseases of the Nervous System. Hrsg. R. A. Fishman. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 56-62.
- Foley, J. E.; Foley, P.; Madigan, J. E. (2001):
Spatial distribution of seropositivity to the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in dogs in California.
Am J Vet Res. 62(10), 1599-605.
- Frank, J. R.; Breitschwerdt, E. B. (1999):
A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia.
J Vet Intern Med. 13(3), 194-201.
- Frazier, D. L.; Thompson, L.; Trettien, A.; Evans, E. I. (2000):
Comparison of fluoroquinolone pharmacokinetic parameters after treatment with marbofloxacin, enrofloxacin, and difloxacin in dogs.
J Vet Pharmacol Ther. 23(5), 293-302.
- Fredricks, D. N.; Relman, D. A. (1999):
Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of infectious diseases.
Clin Infect Dis. Sep;29(3), 475-86.
- Freeman, R. A.; Raskin, R. E. (2001):
Cytology of the central nervous system.
In: Atlas of Canine and Feline Cytology. Hrsg. R. E. Raskin, Meyer, D.J. Philadelphia, PA: Saunders. S. 325-365.
- Frisk, A. L.; Konig, M.; Moritz, A.; Baumgartner, W. (1999):
Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper.
J Clin Microbiol. 37(11), 3634-43.
- Fry, M. M.; Vernau, W.; Kass, P. H.; Vernau, K. M. (2006):
Effects of time, initial composition, and stabilizing agents on the results of canine cerebrospinal fluid analysis.
Vet Clin Pathol. 35(1), 72-7.
- Galgut, B. I.; Janardhan, K. S.; Grondin, T. M.; Harkin, K. R.; Wight-Carter, M. T. (2010):
Detection of Neospora caninum tachyzoites in cerebrospinal fluid of a dog following prednisone and cyclosporine therapy.
Vet Clin Pathol. 39(3), 386-90.
- Garges, H. P.; Moody, M. A.; Cotten, C. M.; Smith, P. B.; Tiffany, K. F.; Lenfestey, R.; Li, J. S.; Fowler, V. G., Jr.; Benjamin, D. K., Jr. (2006):
Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters?
Pediatrics. 117(4), 1094-100.

- Garma-Avina, A. (2004):
An inexpensive sedimentation chamber for the preparation of cytologic specimens of cerebrospinal fluid.
J Vet Diagn Invest. 16(6), 585-7.
- Garosi, L.; Dawson, A.; Couturier, J.; Matiasek, L.; de Stefani, A.; Davies, E.; Jeffery, N.; Smith, P. (2010):
Necrotizing cerebellitis and cerebellar atrophy caused by *Neospora caninum* infection: magnetic resonance imaging and clinicopathologic findings in seven dogs.
J Vet Intern Med. 24(3), 571-8.
- Gentilini, F.; Dondi, F.; Mastrorilli, C.; Giunti, M.; Calzolari, C.; Gandini, G.; Mancini, D.; Bergamini, P. F. (2005):
Validation of a human immunoturbidimetric assay to measure canine albumin in urine and cerebrospinal fluid.
J Vet Diagn Invest. 17(2), 179-83.
- Gerber, J. E.; Johnson, J. E.; Scott, M. A.; Madhusudhan, K. T. (2002):
Fatal meningitis and encephalitis due to *Bartonella henselae* bacteria.
J Forensic Sci. 47(3), 640-4.
- Gilden, D. H. (2005):
Infectious causes of multiple sclerosis.
Lancet Neurol. 4(3), 195-202.
- Goethe, R.; Gonzales, O. F.; Lindner, T.; Gerlach, G. F. (2000):
A novel strategy for protective *Actinobacillus pleuropneumoniae* subunit vaccines: detergent extraction of cultures induced by iron restriction.
Vaccine. 19(7-8), 966-75.
- Goldman, E. E.; Breitschwerdt, E. B.; Grindem, C. B.; Hegarty, B. C.; Walls, J. J.; Dumler, J. S. (1998):
Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia.
J Vet Intern Med. 12(2), 61-70.
- Goodman, R. A.; Breitschwerdt, E. B. (2005):
Clinicopathologic findings in dogs seroreactive to *Bartonella henselae* antigens.
Am J Vet Res. 66(12), 2060-4.
- Goossens, H. A.; van den Bogaard, A. E.; Nohlmans, M. K. (2001):
Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands.
J Clin Microbiol. 39(3), 844-8.
- Goossens, H. A.; Maes, J. H.; van den Bogaard, A. E. (2003):
The prevalence of antibodies against *B. burgdorferi*, an indicator for Lyme borreliosis in dogs? A comparison of serological tests.
Tijdschr Diergeneeskd. 128(21), 650-7.

Granick, J. L.; Armstrong, P. J.; Bender, J. B. (2009):
Anaplasma phagocytophilum infection in dogs: 34 cases (2000-2007).
J Am Vet Med Assoc. Jun 15;234(12), 1559-65.

Greene, C. E. (2012):
Rabies and other *Lyssavirus* infections.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 179-197.

Greene, C. E.; Straubinger, A. F.; Levy, S. A. (2012a):
Borreliosis.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 437-463.

Greene, C. E.; Vandeveld, E. (2012b):
Canine Distemper.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 25-40.

Greig, B.; Asanovich, K. M.; Armstrong, P. J.; J.S., D. (1996):
Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs.
J Clin Microbiol. 1(Jan;34), 44-8.

Greig, B.; Armstrong, P. J. (2012):
Canine Granulocytotropic Anaplasmosis (*A. phagocytophilum* Infection).
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 219-224.

Guptill, L. (2010):
Bartonellosis.
Vet Microbiol. 140(3-4), 347-59.

Guptill, L.; Breitschwerdt, E. B.; Chomel, B. B. (2012):
Bartonellosis.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 543-562.

Halperin, J. J. (2014):
Nervous system Lyme disease.
Handb Clin Neurol. 121, 1473-83.

Hamel, D.; Rohrig, E.; Pfister, K. (2011):
Canine vector-borne disease in travelled dogs in Germany--a retrospective evaluation of laboratory data from the years 2004-2008.
Vet Parasitol. 181(1), 31-6.

Harrus, S.; Waner, T.; Mark Neer, T. (2012):
Ehrlichia canis Infection.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. . Hrsg. G. CE. Elsevier Saunders. S. 227-237.

Hartelt, K.; Rieker, T.; Oehme, R. M.; Brockmann, S. O.; Muller, W.; Dorn, N. (2007):
First evidence of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) in dogs in Western Europe.
Vector Borne Zoonotic Dis. 7(2), 163-6.

Hass, J. A.; L., S.; G., S. (1989):
Neurological manifestations of toxoplasmosis: A literature review and case summary.
J Am Anim Hosp Assoc. 25, 253-260.

Hay, W. H.; Shell, L. G.; Lindsay, D. S.; Dubey, J. P. (1990):
Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog.
J Am Vet Med Assoc. 197(1), 87-9.

Herrera, B. M.; Cader, M. Z.; Dymont, D. A.; Bell, J. T.; Deluca, G. C.; Willer, C. J.; Lincoln, M. R.; Ramagopalan, S. V.; Chao, M.; Orton, S. M.; Sadovnick, A. D.; Ebers, G. C. (2007):
Multiple sclerosis susceptibility and the X chromosome.
Mult Scler. 13(7), 856-64.

Holmoy, T.; Vartdal, F. (2005):
Infectious causes of multiple sclerosis.
Lancet Neurol. 4(5), 268; discussion 269.

Horowitz, H. W.; Marks, S. J.; Weintraub, M.; Dumler, J. S. (1996):
Brachial plexopathy associated with human granulocytic ehrlichiosis.
Neurology. 46(4), 1026-9.

Ionita, M.; Mitrea, I. L.; Pfister, K.; Hamel, D.; Silaghi, C. (2013):
Molecular evidence for bacterial and protozoan pathogens in hard ticks from Romania.
Vet Parasitol. 196(1-2), 71-6.

Jäderlund, K. H.; Egenvall, A.; Bergstrom, K.; Hedhammar, A. (2007):
Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs with neurological signs.
Vet Rec. 160(24), 825-31.

Jäderlund, K. H.; Bergstrom, K.; Egenvall, A.; Hedhammar, A. (2009):
Cerebrospinal fluid PCR and antibody concentrations against *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in dogs with neurological signs.
J Vet Intern Med. 23(3), 669-72.

Jamison, E. M.; Lumsden, J. H. (1988):
Cerebrospinal fluid analysis in the dog: methodology and interpretation.
Semin Vet Med Surg (Small Anim). 3(2), 122-32.

Janda, J. M.; Abbott, S. L. (2002):
Bacterial identification for publication: when is enough enough?
J Clin Microbiol. 40(6), 1887-91.

Jensen, J.; Simon, D.; Murua Escobar, H.; Soller, J. T.; Bullerdiek, J.; Beelitz, P.; Pfister, K.; Nolte, I. (2007a):
Anaplasma phagocytophilum in dogs in Germany.
Zoonoses Public Health. 54(2), 94-101.

Jensen, J.; Simon, D.; Schaarschmidt-Kiener, D.; Müller, W.; Nolte, I. (2007b):
Vorkommen von Ehrlichia canis bei Hunden in Deutschland? .
Tierärztl. Praxis. 35, 123-128.

Jergens, A. E.; Wheeler, C. A.; Collier, L. L. (1986):
Cryptococcosis involving the eye and central nervous system of a dog.
J Am Vet Med Assoc. 189(3), 302-4.

Johnson, J. L.; Ginsberg, H. S.; Zhioua, E.; Whitworth, U. G., Jr.; Markowski, D.; Hyland, K. E.; Hu, R. (2004):
Passive tick surveillance, dog seropositivity, and incidence of human lyme disease.
Vector Borne Zoonotic Dis. 4(2), 137-42.

Jones, D. R.; Hopkinson, N. D.; Powell, R. J. (1992):
Autoantibodies in pet dogs owned by patients with systemic lupus erythematosus.
Lancet. 339(8806), 1378-80.

Just, F. T.; Gilles, J.; Pradel, I.; Pfalzer, S.; Lengauer, H.; Hellmann, K.; Pfister, K. (2008):
Molecular evidence for Bartonella spp. in cat and dog fleas from Germany and France.
Zoonoses Public Health. 55(8-10), 514-20.

Kai, C.; Ochikubo, F.; Okita, M.; Iinuma, T.; Mikami, T.; Kobune, F.; Yamanouchi, K. (1993):
Use of B95a cells for isolation of canine distemper virus from clinical cases.
J Vet Med Sci. 55(6), 1067-70.

Kaiser, R. (2012):
Tick-borne encephalitis--still a serious disease?
Wien Med Wochenschr. 162(11-12), 229.

Kent, M. (2012):
Bacterial infections of the central nervous system.
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 1045-1054.

Kinnunen, P. M.; Billich, C.; Ek-Kommonen, C.; Henttonen, H.; Kallio, R. K.; Niemimaa, J.; Palva, A.; Staeheli, P.; Vaheri, A.; Vapalahti, O. (2007):
Serological evidence for Borna disease virus infection in humans, wild rodents and other vertebrates in Finland.
J Clin Virol. 38(1), 64-9.

- Kjeldsberg, C. R.; Knight, J. A. (1986).
In: *Body Fluids: Laboratory Examination of Amniotic, Cerebrospinal, Seminal, Serous and Synovial Fluids; a Textbook Atlas*. Hrsg. C. R. Kjeldsberg, Knight, J.A. Chicago: American Society of Clinical Pathology Press. S. 107–109.
- Kohn, B.; Galke, D.; Beelitz, P.; Pfister, K. (2008):
Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs.
J Vet Intern Med. 22(6), 1289-95.
- Kohn, B.; Silaghi, C.; Galke, D.; Arndt, G.; Pfister, K. (2011):
Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany.
Res Vet Sci. 91(1), 71-6.
- Kordick, S. K.; Breitschwerdt, E. B.; Hegarty, B. C.; Southwick, K. L.; Colitz, C. M.; Hancock, S. I.; Bradley, J. M.; Rumbough, R.; McPherson, J. T.; MacCormack, J. N. (1999):
Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina.
J Clin Microbiol. 37(8), 2631-8.
- Krimer, P. M.; Miller, A. D.; Li, Q.; Grosenbaugh, D. A.; Susta, L.; Schatzberg, S. J. (2011):
Molecular and pathological investigations of the central nervous system in *Borrelia burgdorferi*-infected dogs.
J Vet Diagn Invest. Jul;23(4), 757-63.
- Krupka, I.; Pantchev, N.; Lorentzen, L.; Weise, M.; Straubinger, R. K. (2007):
Durch Zecken übertragbare bakterielle Infektionen bei Hunden: Seropravalenzen von *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* und *Ehrlichia canis* in Deutschland.
Der Praktische Tierarzt 88 (10).
- Kuwabara, M.; Tanaka, S.; Fujiwara, K. (1998):
Magnetic resonance imaging and histopathology of encephalitis in a Pug.
J Vet Med Sci. 60(12), 1353-5.
- Lavelly, J.; Lipsitz, D. (2005):
Fungal infections of the central nervous system in the dog and cat.
Clin Tech Small Anim Pract. 20(4), 212-9.
- Liang, F. T.; Aberer, E.; Cinco, M.; Gern, L.; Hu, C. M.; Lobet, Y. N.; Ruscio, M.; Voet, P. E., Jr.; Weynants, V. E.; Philipp, M. T. (2000a):
Antigenic conservation of an immunodominant invariable region of the VlsE lipoprotein among European pathogenic genospecies of *Borrelia burgdorferi* SL.
J Infect Dis. 182(5), 1455-62.
- Liang, F. T.; Jacobson, R. H.; Straubinger, R. K.; Grooters, A.; Philipp, M. T. (2000b):
Characterization of a *Borrelia burgdorferi* VlsE invariable region useful in canine Lyme disease serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay.
J Clin Microbiol. 38(11), 4160-6.

- Lindhe, K. E.; Meldgaard, D. S.; Jensen, P. M.; Houser, G. A.; Berendt, M. (2009):
Prevalence of tick-borne encephalitis virus antibodies in dogs from Denmark.
Acta Vet Scand. 51, 56.
- Littman, M. P. (2003):
Canine borreliosis.
Vet Clin North Am Small Anim Pract. 33(4), 827-62.
- Lundgren, A. L.; Zimmermann, W.; Bode, L.; Czech, G.; Gosztonyi, G.; Lindberg, R.;
Ludwig, H. (1995):
Staggering disease in cats: isolation and characterization of the feline Bornavirus.
J Gen Virol. 76 (Pt 9), 2215-22.
- Maggi, R. G.; Duncan, A. W.; Breitschwerdt, E. B. (2005):
Novel chemically modified liquid medium that will support the growth of seven bartonella
species.
J Clin Microbiol. 43(6), 2651-5.
- Maiolini, A.; Carlson, R.; Schwartz, M.; Gandini, G.; Tipold, A. (2012):
Determination of immunoglobulin A concentrations in the serum and cerebrospinal fluid of
dogs: an estimation of its diagnostic value in canine steroid-responsive meningitis-arteritis.
Vet J. 191(2), 219-24.
- Malik, R.; Dill-Mackay, E.; Martin, P.; Wigney, D. I.; Muir, D. B.; Love, D. N. (1995):
Cryptococcosis in dogs: a retrospective study of 20 consecutive cases.
J Med Vet Mycol. 33(5), 291-7.
- Manteufel, J.; Truyen, U. (2008):
Animal bocaviruses: a brief review.
Intervirology. 51(5), 328-34.
- Maretzki, C. H.; Fisher, D. J.; Greene, C. E. (1994):
Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog.
J Am Vet Med Assoc. 205(11), 1554-6.
- Marienfeld, C. B.; Dicapua, D. B.; Sze, G. K.; Goldstein, J. M. (2010):
Expressive aphasia as a presentation of encephalitis with *Bartonella henselae* infection in an
immunocompetent adult.
Yale J Biol Med. 83(2), 67-71.
- Marshall, T.; Williams, K. M. (2000):
Protein determination in cerebrospinal fluid by protein dye-binding assay.
Br J Biomed Sci. 57(4), 281-6.
- Matsuki, N.; Fujiwara, K.; Tamahara, S.; Uchida, K.; Matsunaga, S.; Nakayama, H.; Doi, K.;
Ogawa, H.; Ono, K. (2004):
Prevalence of autoantibody in cerebrospinal fluids from dogs with various CNS diseases.
J Vet Med Sci. 66(3), 295-7.

McKenna, P.; Clement, J.; Van Dijck, D.; Lauwerys, M.; Carey, D.; Van den Bogaard, T.; Bigaignon, G. (1995):
Canine Lyme disease in Belgium.
Vet Rec. 136(10), 244-7.

McQuiston, J. H.; McCall, C. L.; Nicholson, W. L. (2003):
Ehrlichiosis and related infections.
J Am Vet Med Assoc. 223(12), 1750-6.

Meinkoth, J. H.; Hoover, J. P.; Cowell, R. L.; Tyler, R. D.; Link, J. (1989):
Ehrlichiosis in a dog with seizures and nonregenerative anemia.
J Am Vet Med Assoc. 195(12), 1754-5.

Meinkoth, J. H.; Crysmal, M. A. (2008):
Cerebrospinal fluid analysis.
In: Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. Hrsg. R. L. Cowell, Tyler, R.D.
St Louis: Mosby. S. 215-232.

Mellor, P. J.; Fetz, K.; Maggi, R. G.; Haugland, S.; Dunning, M.; Villiers, E. J.; Mellanby, R. J.; Williams, D.; Breitschwerdt, E.; Herrtage, M. E. (2006):
Alpha1-proteinase inhibitor deficiency and Bartonella infection in association with panniculitis, polyarthritis, and meningitis in a dog.
J Vet Intern Med. 20(4), 1023-8.

Menn, B.; Lorentz, S.; Naucke, T. J. (2010):
Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany.
Parasit Vectors. 3, 34.

Messer, J. S.; Wagner, S. O.; Baumwart, R. D.; Colitz, C. M. (2008):
A case of canine streptococcal meningoencephalitis diagnosed using universal bacterial polymerase chain reaction assay.
J Am Anim Hosp Assoc. 44(4), 205-9.

Mietze, A. (2010):
Bartonella henselae in Katzen, Hunden und Zecken
in Deutschland.
Hannover, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, PhD.

Mietze, A.; Morick, D.; Kohler, H.; Harrus, S.; Dehio, C.; Nolte, I.; Goethe, R. (2011):
Combined MLST and AFLP typing of Bartonella henselae isolated from cats reveals new sequence types and suggests clonal evolution.
Vet Microbiol. 148(2-4), 238-45.

Munana, K. R. (1996):
Encephalitis and meningitis.
Vet Clin North Am Small Anim Pract. 26(4), 857-74.

- Munana, K. R.; Luttgren, P. J. (1998):
Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982-1996).
J Am Vet Med Assoc. 212(12), 1902-6.
- Munana, K. R.; Vitek, S. M.; Hegarty, B. C.; Kordick, D. L.; Breitschwerdt, E. B. (2001):
Infection of fetal feline brain cells in culture with *Bartonella henselae*.
Infect Immun. 69(1), 564-9.
- Nadkarni, M. A.; Martin, F. E.; Jacques, N. A.; Hunter, N. (2002):
Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set.
Microbiology. 148(Pt 1), 257-66.
- Neer, T. M.; Breitschwerdt, E. B.; Greene, R. T.; Lappin, M. R. (2002):
Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine.
J Vet Intern Med. 16(3), 309-15.
- Nghiem, P. P.; Schatzberg, S. J. (2010):
Conventional and molecular diagnostic testing for the acute neurologic patient.
J Vet Emerg Crit Care (San Antonio). 20(1), 46-61.
- Ohshima, T.; Kawakami, K.; Abe, T.; Mochizuki, M. (2010):
A minute virus of canines (MVC: canine bocavirus) isolated from an elderly dog with severe gastroenteritis, and phylogenetic analysis of MVC strains.
Vet Microbiol. 145(3-4), 334-8.
- Okamoto, M.; Kagawa, Y.; Kamitani, W.; Hagiwara, K.; Kirisawa, R.; Iwai, H.; Ikuta, K.; Taniyama, H. (2002):
Borna disease in a dog in Japan.
J Comp Pathol. 126(4), 312-7.
- Olano, J. P.; Masters, E.; Cullman, L.; Hogrefe, W.; Yu, X. J.; Walker, D. H. (1999):
Human monocytotropic ehrlichiosis (HME). Epidemiological, clinical and laboratory diagnosis of a newly emergent infection in the United States.
In: *Rickettsiae and Rickettsial Diseases at the Turn of the Millenium.* Hrsg. D. Roult, Brouqui, P. . Paris: Elsevier. S. 262-268.
- Oldstone, M. B. (1998):
Molecular mimicry and immune-mediated diseases.
FASEB J. 12(13), 1255-65.
- Olsson, I.; Engervall, K.; Asbrink, E.; Carlsson-Nordlander, B.; Hovmark, A. (1988):
Tick-borne borreliosis and facial palsy.
Acta Otolaryngol. 105(1-2), 100-7.
- Palmer, A. C.; Herrtage, M. E.; Kaplan, W. (1981):
Cryptococcal infection of the central nervous system of a dog in the United Kingdom.
J Small Anim Pract. 22(9), 579-86.

- Pancieria, R. J.; Ewing, S. A.; Confer, A. W. (2001):
Ocular histopathology of Ehrlichial infections in the dog.
Vet Pathol. 38(1), 43-6.
- Pappalardo, B. L.; Correa, M. T.; York, C. C.; Peat, C. Y.; Breitschwerdt, E. B. (1997):
Epidemiologic evaluation of the risk factors associated with exposure and seroreactivity to
Bartonella vinsonii in dogs.
Am J Vet Res. 58(5), 467-71.
- Pardo, C. A.; Vining, E. P.; Guo, L.; Skolasky, R. L.; Carson, B. S.; Freeman, J. M. (2004):
The pathology of Rasmussen syndrome: stages of cortical involvement and neuropathological
studies in 45 hemispherectomies.
Epilepsia. 45(5), 516-26.
- Parent, J. M.; Rand, J. S. (1994):
Cerebrospinal fluid collection and analysis.
In: *Consultation in Feline Internal Medicine.* Hrsg. J. R. August. Philadelphia: Saunders. S.
385–392.
- Pendle, S.; Ginn, A.; Iredell, J. (2006):
Antimicrobial susceptibility of *Bartonella henselae* using Etest methodology.
J Antimicrob Chemother. Apr;57(4):761-3.
- Pérez, C.; Maggi, R. G.; Diniz, P. P.; Breitschwerdt, E. B. (2011):
Molecular and serological diagnosis of *Bartonella* infection in 61 dogs from the United States.
J Vet Intern Med. Jul-Aug;25(4):805-10.
- Peters, M.; Pohlenz, J.; Jatou, K.; Ninet, B.; Billet, J. (1995):
Studies of the detection of *Listeria monocytogenes* by culture and PCR in cerebrospinal
fluid samples from ruminants with listeric encephalitis.
Zentralblatt Veterinärmedizin(42), 84-88.
- Pfeffer, M.; Dobler, G. (2011):
Tick-borne encephalitis virus in dogs--is this an issue?
Parasites & Vectors. 4, 59.
- Plummer, S. B.; Wheeler, S. J.; Thrall, D. E.; Kornegay, J. N. (1992):
Computed tomography of primary inflammatory brain disorders in dogs and cats.
Vet Radio. 133, 307-372.
- Porter, B. F.; Ambrus, A.; Storts, R. W. (2006):
Immunohistochemical evaluation of mx protein expression in canine encephalitides.
Vet Pathol. 43(6), 981-7.
- Prat, A.; Antel, J. (2005):
Pathogenesis of multiple sclerosis.
Curr Opin Neurol. 18(3), 225-30.

- Radaelli, S. T.; Platt, S. R. (2002):
Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: a retrospective study of 23 cases (1990-1999).
J Vet Intern Med. 16(2), 159-63.
- Rand, J. S.; Parent, J.; Jacobs, R.; Percy, D. (1990):
Reference intervals for feline cerebrospinal fluid: cell counts and cytologic features.
Am J Vet Res. 51(7), 1044-8.
- Reiber, H.; Lange, P. (1991):
Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and
specific detection of antibody synthesis in brain.
Clin Chem. 37(7), 1153-60.
- Reiner, B.; Fischer, A. (1998):
Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte.
Kleintierpraxis. 43, 255-268.
- Riess, T.; Dietrich, F.; Schmidt, K. V.; Kaiser, P. O.; Schwarz, H.; Schafer, A.; Kempf, V. A.
(2008):
Analysis of a novel insect cell culture medium-based growth medium for Bartonella species.
Appl Environ Microbiol. 74(16), 5224-7.
- Robson, K.; Smith, P. M. (2011):
Cryptococcal meningoencephalitis in a dog.
Vet Rec. 168(20), 538.
- Schaarschmidt-Kiener, D.; Helm, M.; Müller, W. (2008):
Neurologische Symptomatik in Verbindung mit einer *Anaplasma-phagocytophilum*-Infektion
bei drei Hunden in der westlichen Bodenseeregion.
Tierarztl Prax. 35(K), 299-301.
- Schatzberg, S. (2007):
Polymerase chain reaction for viral, bacterial, and rickettsial nucleic acid detection in dogs
with meningoencephalitis of unknown aetiology.
In: 20th Annual Symposium of the European College of Veterinary Neurology, September
27-29. Bern, Switzerland S.63-64.
- Schatzberg, S. J.; Haley, N. J.; Barr, S. C.; deLahunta, A.; Olby, N.; Munana, K.; Sharp, N. J.
(2003):
Use of a multiplex polymerase chain reaction assay in the antemortem diagnosis of
toxoplasmosis and neosporosis in the central nervous system of cats and dogs.
Am J Vet Res. 64(12), 1507-13.
- Schatzberg, S. J.; Haley, N. J.; Barr, S. C.; de Lahunta, A.; Sharp, N. J. (2005):
Polymerase chain reaction screening for DNA viruses in paraffin-embedded brains from dogs
with necrotizing meningoencephalitis, necrotizing leukoencephalitis, and granulomatous
meningoencephalitis.
J Vet Intern Med. 19(4), 553-9.

Schatzberg, S. J.; Li, Q.; Porter, B. F.; Barber, R. M.; Claiborne, M. K.; Levine, J. M.; Levine, G. J.; Israel, S. K.; Young, B. D.; Kiupel, M.; Greene, C.; Ruone, S.; Anderson, L.; Tong, S. (2009):

Broadly reactive pan-paramyxovirus reverse transcription polymerase chain reaction and sequence analysis for the detection of Canine distemper virus in a case of canine meningoencephalitis of unknown etiology.

J Vet Diagn Invest. 2009 Nov;21(6):844-9.

Schettler, T. P.; Eling, W. M. (1999):

Can Babesia infections be used as a model for cerebral malaria?

Parasitol Today. 15(12), 492-7.

Schiellerup, P.; Krogfelt, K. A.; Andersen, A. B. (2004):

Bartonella henselae causing severe and protracted illness in an otherwise healthy person.

Scand J Infect Dis. 36(4), 316-8.

Schouls, L. M.; Van De Pol, I.; Rijpkema, S. G.; Schot, C. S. (1999):

Detection and identification of Ehrlichia, Borrelia burgdorferi sensu lato, and Bartonella species in Dutch Ixodes ricinus ticks.

J Clin Microbiol. Jul;37(7), 2215-22.

Schuurman, T.; de Boer, R. F.; Kooistra-Smid, A. M.; van Zwet, A. A. (2004):

Prospective study of use of PCR amplification and sequencing of 16S ribosomal DNA from cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis in a clinical setting.

J Clin Microbiol. 42(2), 734-40.

Schwab, S.; Herden, C.; Seeliger, F.; Papaioannou, N.; Psalla, D.; Polizopoulou, Z.; Baumgartner, W. (2007):

Non-suppurative meningoencephalitis of unknown origin in cats and dogs: an immunohistochemical study.

J Comp Pathol. 136(2-3), 96-110.

Shaw, S.; Kenny, M.; Day, M.; Birtles, R.; Holden, D.; German, A.; Craven, M.; Chandler, M.; Garosi, L. (2001):

Canine granulocytic ehrlichiosis in the UK.

Vet Rec. 148(23), 727-8.

Sheshberadaran, H.; Norrby, E. (1984):

Three monoclonal antibodies against measles virus F protein cross-react with cellular stress proteins.

J Virol. 52(3), 995-9.

Smith, B. E.; Tompkins, M. B.; Breitschwerdt, E. B. (2004):

Antinuclear antibodies can be detected in dog sera reactive to Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii, Ehrlichia canis, or Leishmania infantum antigens.

J Vet Intern Med. 18(1), 47-51.

Solano-Gallego, L.; Bradley, J.; Hegarty, B.; Sigmon, B.; Breitschwerdt, E. (2004):

Bartonella henselae IgG antibodies are prevalent in dogs from southeastern USA.

Vet Res. 35(5), 585-95.

- Sorjonen, D. C. (1990):
Clinical and histopathological features of granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs.
Journal of the American Animal Hospital Association. 26, 141-147.
- Speciale, J.; Van Winkle, T. J.; Steinberg, S. A.; Wortman, J. A. (1992):
Computed tomography in the diagnosis of focal granulomatous meningoencephalitis:
retrospective evaluation of three cases.
J Am Anim Hosp Assoc. 28, 327-332.
- Stalis, I. H.; Chadwick, B.; Dayrell-Hart, B.; Summers, B. A.; Van Winkle, T. J. (1995):
Necrotizing meningoencephalitis of Maltese dogs.
Vet Pathol. 32(3), 230-5.
- Steele, R. W.; Marmer, D. J.; O'Brien, M. D.; Tyson, S. T.; Steele, C. R. (1986):
Leukocyte survival in cerebrospinal fluid.
J Clin Microbiol. 23(5), 965-6.
- Stich, R. W.; Rikihisa, Y.; Ewing, S. A.; Needham, G. R.; Grover, D. L.; Jittapalpong, S. (2002):
Detection of *Ehrlichia canis* in canine carrier blood and in individual experimentally infected ticks with a p30-based PCR assay.
J Clin Microbiol. 40(2), 540-6.
- Stich, R. W.; Schaefer, J. J.; Bremer, W. G.; Needham, G. R.; Jittapalpong, S. (2008):
Host surveys, ixodid tick biology and transmission scenarios as related to the tick-borne pathogen, *Ehrlichia canis*.
Vet Parasitol. 158(4), 256-73.
- Stiles, J.; Prade, R.; Greene, C. (1996):
Detection of *Toxoplasma gondii* in feline and canine biological samples by use of the polymerase chain reaction.
Am J Vet Res. 57(3), 264-7.
- Storch, M. K.; Bauer, J.; Linington, C.; Olsson, T.; Weissert, R.; Lassmann, H. (2006):
Cortical demyelination can be modeled in specific rat models of autoimmune encephalomyelitis and is major histocompatibility complex (MHC) haplotype-related.
J Neuropathol Exp Neurol. 65(12), 1137-42.
- Strube, C.; Schicht, S.; Schnieder, T. (2011):
Borrelia burgdorferi sensu lato and *Rickettsia* spp. infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the region of Hanover (Germany).
Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 124(11-12), 512-7.
- Summers, B. A.; Cummings, J. F.; De Lahunta, A. (1995):
Inflammatory diseases.
In: *Veterinary Neuropathology.* Hrsg. St Louis: Mosby. S. 96-99.

Suzuki, M.; Uchida, K.; Morozumi, M.; Yanai, T.; Nakayama, H.; Yamaguchi, R.; Tateyama, S. (2003):

A comparative pathological study on granulomatous meningoencephalomyelitis and central malignant histiocytosis in dogs.

J Vet Med Sci. Dec;65(12), 1319-24.

Sykes, J. E.; Malik, R. (2012):

Cryptococcosis.

In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 621-631.

Takahashi, Y.; Matsuda, K.; Kubota, Y.; Shimomura, J.; Yamasaki, E.; Kudo, T.; Fukushima, K.; Osaka, H.; Akasaka, N.; Imamura, A.; Yamada, S.; Kondo, N.; Fujiwara, T. (2006):

Vaccination and infection as causative factors in Japanese patients with Rasmussen syndrome: molecular mimicry and HLA class I.

Clin Dev Immunol. 13(2-4), 381-7.

Talarico, L. R.; Schatzberg, S. J. (2010):

Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: a review and future perspectives.

J Small Anim Pract. 51(3), 138-49.

Theil, D. J.; Tsunoda, I.; Rodriguez, F.; Whitton, J. L.; Fujinami, R. S. (2001):

Viruses can silently prime for and trigger central nervous system autoimmune disease.

J Neurovirol. 7(3), 220-7.

Thomas, W. B.; Sorjonen, D. C.; Hudson, J. A.; Cox, N. R. (1993):

Ultrasound-guided brain biopsy in dogs.

Am J Vet Res. 54(11), 1942-7.

Thomas, W. B. (1998):

Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs.

Clin Tech Small Anim Pract. 13(3), 167-78.

Thompson, C. E.; Kornegay, J. N.; Stevens, J. B. (1990):

Analysis of cerebrospinal

fluid from the cerebellomedullary and lumbar cisterns of dogs with focal neurologic disease: 145 cases (1985-1987).

J Am Vet Med Assoc. 196, 1841-1844.

Tiches, D.; Vite, C. H.; Dayrell-Hart, B.; Steinberg, S. A.; Gross, S.; Lexa, F. (1998):

A case of canine central nervous system cryptococcosis: management with fluconazole.

J Am Anim Hosp Assoc. 34(2), 145-51.

Tipold, A.; Fatzer, R.; Holzmann, H. (1993a):

Zentraleuropäische Zeckenzephalitis beim Hund.

Kleintierpraxis. 38(10), 615-688.

- Tipold, A.; Pfister, H.; Vandeveld, M. (1993b):
Determination of the IgG index for the detection of intrathecal immunoglobulin synthesis in dogs using an ELISA.
Res Vet Sci. 54(1), 40-4.
- Tipold, A.; Pfister, H.; Zurbriggen, A.; Vandeveld, M. (1994):
Intrathecal synthesis of major immunoglobulin classes in inflammatory diseases of the canine CNS.
Vet Immunol Immunopathol. 42(2), 149-59.
- Tipold, A. (1995a):
Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study.
J Vet Intern Med. 9(5), 304-14.
- Tipold, A.; Vandeveld, M.; Zurbriggen, A. (1995b):
Neuroimmunological studies in steroid-responsive meningitis-arteritis in dogs.
Res Vet Sci. 58(2), 103-8.
- Tipold, A.; Schatzberg, S. J. (2010):
An update on steroid responsive meningitis-arteritis.
J Small Anim Pract. 51(3), 150-4.
- Tipold, A.; Vandeveld, E. (2012):
Central european Tick-borne encephalitis.
In: Infectious diseases of the Dog and Cat. Hrsg. C. E. Greene. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. S. 217-219.
- Trapp, S. M.; Dagnone, A. S.; Vidotto, O.; Freire, R. L.; Amude, A. M.; de Morais, H. S. (2006):
Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population.
Vet Parasitol. 140(3-4), 223-30.
- Van de Maele, I.; Savary-Bataille, K.; Gielen, I.; Daminet, S. (2008):
An unusual form of canine babesiosis.
Can Vet J. 49(3), 283-6.
- Vogel, M.; Zubrikova, D.; Pfister, K. (2012):
Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s. l. in *Ixodes ricinus* ticks from four localities in Bavaria, Germany.
Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 125(9-10), 401-6.
- von Praun, F.; Matiasek, K.; Grevel, V.; Alef, M.; Flegel, T. (2006):
Magnetic resonance imaging and pathologic findings associated with necrotizing encephalitis in two Yorkshire terriers.
Vet Radiol Ultrasound. 47(3), 260-4.

- Waner, T.; Harrus, S.; Jongejan, F.; Bark, H.; Keysary, A.; Cornelissen, A. W. (2001):
Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the
diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*.
Vet Parasitol. 95(1), 1-15.
- Webb, A. A.; Muir, G. D. (2000):
The blood-brain barrier and its role in inflammation.
J Vet Intern Med. 14(4), 399-411.
- Weissenbock, H.; Nowotny, N.; Caplazi, P.; Kolodziejek, J.; Ehrensperger, F. (1998a):
Borna disease in a dog with lethal meningoencephalitis.
J Clin Microbiol. 36(7), 2127-30.
- Weissenbock, H.; Suchy, A.; Holzmann, H. (1998b):
Tick-borne encephalitis in dogs: neuropathological findings and distribution of antigen.
Acta Neuropathol. 95(4), 361-6.
- Whitley, R. J.; Gnann, J. W. (2002):
Viral encephalitis: familiar infections and emerging pathogens.
Lancet. 359(9305), 507-13.
- Wong, M. T.; Dolan, M. J.; Lattuada, C. P., Jr.; Regnery, R. L.; Garcia, M. L.; Mokulis, E. C.;
LaBarre, R. A.; Ascher, D. P.; Delmar, J. A.; Kelly, J. W.; et al. (1995):
Neuroretinitis, aseptic meningitis, and lymphadenitis associated with *Bartonella*
(*Rochalimaea*) *henselae* infection in immunocompetent patients and patients infected with
human immunodeficiency virus type 1.
Clin Infect Dis. 21(2), 352-60.
- Wong, S. J.; Thomas, J. A. (1998):
Cytoplasmic, nuclear, and platelet autoantibodies in human granulocytic ehrlichiosis patients.
J Clin Microbiol. 36(7), 1959-63.
- Woody, B. J.; Hoskins, J. D. (1991):
Ehrlichial diseases of dogs.
Vet Clin North Am Small Anim Pract. 21(1), 75-98.
- Woody, B. J., McDonald (1985):
Canine Ehrlichiosis *Miss Vet J.* 1, 2-5.
- Young, B. D.; Levine, J. M.; Fosgate, G. T.; de Lahunta, A.; Flegel, T.; Matiasek, K.; Miller,
A.; Silver, G.; Sharp, N.; Greer, K.; Schatzberg, S. J. (2009):
Magnetic resonance imaging characteristics of necrotizing meningoencephalitis in Pug dogs.
J Vet Intern Med. 23(3), 527-35.
- Zarfoss, M.; Schatzberg, S.; Venator, K.; Cutter-Schatzberg, K.; Cuddon, P.; Pintar, J.;
Weinkle, T.; Scarlett, J.; Delahunta, A. (2006):
Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown
aetiology in 10 dogs.
J Small Anim Pract. 47(10), 588-95.

IX. Danksagung

Frau Prof. Kohn danke ich für die Vergabe des Dissertationsthemas, die sorgfältige Korrektur dieser Arbeit sowie ihre wertvollen Ratschläge, die bei der Erstellung dieser Arbeit sehr hilfreich waren.

Frau Prof. Tipold möchte ich für die konstruktive Kritik und Hilfestellung bei der Erstellung der Arbeit sowie für die lehrreiche Zeit an der Klinik für Kleine Haustiere der TiHo Hannover herzlich danken. Desweiteren bin ich ihren Mitarbeiterinnen für ihre Unterstützung bei der Patientensammlung zu Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Brunberg danke ich für seine moralische Unterstützung und die klinische Erfahrung, die ich in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere gewinnen durfte.

Ich danke allen Kolleginnen und Kollegen der Klinik für kleine Haustiere der FU Berlin für ihre Anwesenheit in guten wie in schlechten Zeiten.

Zudem danke ich Frau Dr. Kornberg und ihren Mitarbeitern für die Unterstützung bei der Patientensammlung.

Desweiteren danke ich Frau Dr. Silaghi und Herrn Prof. Pfister und seine Mitarbeiter aus dem Institut für Parasitologie der LMU München, Herrn Dr. Mietze aus dem Institut für Mikrobiologie der TiHo Hannover, Herrn Prof. Wieler und Frau Dr. Lübke-Becker aus dem Institut für Mikrobiologie der FU Berlin, Herrn Prof. Pfeffer und Frau Balling aus dem Institut für Tierhygiene der Universität Leipzig für die Unterstützung bei der Untersuchung der Proben und der Fertigstellung des Manuskripts.

Auch möchte ich den Bremen-Girls, den Tough Muddern, dem Neuro-Team, dem besten Büro der Welt und den Kicker-Kollegen für ihr extrakurrikuläres Engagement danken.

Besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich das kritische Denken und die Komplexität der deutschen Sprache gelehrt hat.

X. Vorabveröffentlichungen

Teile dieser Dissertation wurden vorab wie folgt veröffentlicht:

Scientific paper:

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Lübke-Becker, A.; Balling, A.; Pfeffer, M.; Wieler, L.H.; Pfister, K.; Kohn, B.

Testing of dogs with meningitis and meningoencephalitis of unknown etiology for vector-transmitted microorganisms.

J Vet Med Res 2(1): 1014

Proceedings:

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Lübke-Becker, A.; Balling, A.; Pfeffer, M.; Wieler, L.H.; Pfister, K.; Kohn, B.

Testing of dogs with meningitis and meningoencephalitis of unknown etiology for vector-transmitted microorganisms.

CVBD Proceedings,

Lissabon, Portugal, 22.-25.03.2014,

KRA 320 Cv, S. 36-37

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Lübke-Becker, A.; Wieler, L.H.; Pfister, K.; Kohn, B.

Testing of dogs with meningitis and meningoencephalitis of unknown etiology for vector-transmitted microorganisms

ECVN Symposium, Paris, 26. –28.09.2013, J Vet Int Med 28(3), 968

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Lübke-Becker, A.; Wieler, L.H.; Pfister, K.; Kohn, B.

Meningitis und Meningoenzephalitis unbekannter Genese beim Hund – sind vektorübertragene Erkrankungen auslösende Faktoren?

59. Jahreskongress der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für Kleintiermedizin Berlin, 06.-10.11.2013, Kleintierprax 58 (11), 599, ISBN 978-3-86345-169-1

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Pfister K.; Kohn, B.

Meningitis und Meningoenzephalitis unbekannter Genese beim Hund

sind vektorübertragene Erkrankungen auslösende Faktoren?

21. Jahrestagung der FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik der DVG (Innlab)

01./02. 02. 2013 München, Tierärztliche Praxis 01/2013 Abstracts S. 11

ISBN 1434 – 1239

Vorträge:

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Pfister K.; Kohn, B.

Meningitis und Meningoenzephalitis unbekannter Genese beim Hund

sind vektorübertragene Erkrankungen auslösende Faktoren?

21. Jahrestagung der FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik der DVG (Innlab)

01./02. 02. 2013 München, Tierärztliche Praxis 01/2013 Abstracts S. 11

ISBN 1434 – 1239

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Lübke-Becker, A.; Wieler, L.H.; Pfister, K.; Kohn, B.

Meningitis und Meningoenzephalitis unbekannter Genese beim Hund – sind vektorübertragene Erkrankungen auslösende Faktoren?

59. Jahreskongress der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für Kleintiermedizin Berlin, 06.-10.11.2013, Kleintierprax 58 (11), 599, ISBN 978-3-86345-169-1

Poster Präsentation:

Lazzerini, K.; Tipold, A.; Kornberg, M.; Silaghi, C.; Mietze, A.; Lübke-Becker, A.; Wieler, L.H.; Pfister, K.; Kohn, B.

Testing of dogs with meningitis and meningoencephalitis of unknown etiology for vector-transmitted microorganisms

ECVN Symposium, Paris, 26. –28.09.213, J Vet Int Med 28(3), 968

XI. Selbstständigkeitserklärung

Selbstständigkeitserklärung:

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

Berlin, den 14.03.2014

Kali Lazzerini