

# Anaplasmose beim Pferd – Ein Literaturreview unter Berücksichtigung aktueller Diagnose- und Therapieverfahren sowie möglicher Präventionsmaßnahmen

Heidrun Gehlen<sup>1</sup>, Katharina Inerle<sup>1</sup>, Sebastian Ulrich<sup>2</sup>, Beatrice Lehmann<sup>1</sup> und Reinhard K. Straubinger<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Pferde, allgemeine Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin

<sup>2</sup> Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen, Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München

**Zusammenfassung:** Zu den Zecken-übertragenen Erkrankungen beim Pferd in Deutschland zählen neben der Equinen Granulozytären Anaplasmose (EGA, verursacht durch *Anaplasma phagocytophilum*, Ap) auch die Equine Lyme-Borreliose (verursacht durch den *Borrelia-burgdorferi-sensu-lato-Komplex*), die Frühsommer-Meningoencephalitis (FSME-Virus) und die Equine Piroplasmose (*Babesia caballi*, *Theileria equi*). Die EGA ist nicht kontagiös, so dass in der Regel innerhalb eines Bestandes nur einzelne Pferde betroffen sind. Der Schweregrad der Erkrankung ist vom Alter des Pferdes und der Dauer der Erkrankung abhängig. Zumeist tritt Apathie und Fieber auf. Jüngere Pferde (< 4 Jahre) entwickeln meist nur mildere klinische Veränderungen als ältere Pferde. In den meisten Fällen weist die EGA bei jungen Pferden und vor allem in Endemiegebieten, einen subklinischen oder milden Verlauf auf. Als Erregerreservoir dienen vor allem kleine wildlebende Säuger wie z.B. Nagetiere. Die Diagnose der EGA basiert auf der epizootischen Anamnese (jahreszeitlich und regional typisches Auftreten, vorhandene Zeckenexposition) sowie klinischen und labor diagnostischen Befunden. Der direkte Erregernachweis erfolgt durch Teilgenesequenzierung, direkten mikroskopischen Nachweis oder Kultivierung. Auch indirekte Erregernachweisverfahren zur Diagnose der EGA in Form serologischer Laboruntersuchungen (Morulae bzw. Einschlusskörperchen) stehen zur Verfügung. Dabei kommen in der Regel ELISAs und Immunfluoreszenztests zum Einsatz. Ein Anstieg der Antikörperspiegel um das vierfache Niveau, lässt eine sichere Diagnose zu. Spezifische Antikörper gegen Ap können ab dem 14. Tag post infectionem und bis zu zwei Jahre später nachgewiesen werden. Die EGA kann effektiv mit Antibiotika behandelt werden. Dadurch wird die Erkrankungsdauer signifikant verkürzt und die Schwere der Erkrankung gemindert. Da Ap ein intrazelluläres Pathogen ist, sind Tetracykline die Antibiotika der Wahl (Oxytetracyclin intravenös in einer Dosis von 7 mg/kg Körpergewicht einmal täglich über 5–7 Tage). Da bisher keine Impfung gegen die EGA zur Verfügung steht, sind die Prophylaxe-Maßnahmen auf die Verhinderung oder Minderung einer Zeckenexposition beschränkt.

**Schlüsselwörter:** Pferd, Anaplasmose, Infektion, Diagnostik, Prävention

---

## Anaplasmosis in the horse – a review of the literature focusing on the diagnosis, therapy, and prevention

Equine diseases transmitted by ticks in Germany include Lyme borreliosis (infectious agent *Borrelia burgdorferi sensu lato complex*), granulocytic anaplasmosis (EGA, caused by *Anaplasma phagocytophilum*, Ap), tick-borne encephalitis (TBE-virus), and piroplasmosis (*Babesia caballi*, *Theileria equi*). EGA is not contagious so that only single animals are affected within a herd. Disease severity depends on the age of the horse and the duration of the disease. Apathy and fever are common clinical signs. Young horses (< 4 years) are mostly affected less severe. Most horses show a subclinical (in particular in endemic areas) or mild course of the disease. Small feral mammals serve as a reservoir. The diagnosis of EGA is based on the epizootic history (typical season and region, exposition to ticks), clinical and laboratory findings (PCR, granular inclusion bodies detected by cytology, culture). Also, serologic measures, including ELISA and immunofluorescence assay, are used. Fourfold increasing antibody levels assure the diagnosis. Antibodies can be detected 14 days post infection for up to two years. Effective antibiotic therapy for EGA is available, reducing the duration and severity of clinical signs. As Ap is an intracellular pathogen, tetracyclines are the antibiotics of choice (oxytetracycline IV 7 mg/kg BW SID for 5–7 days). No vaccine is available, therefore, prophylaxis includes tick control only.

**Keywords:** horse, anaplasmosis, infection, diagnostic methods, prevention

---

**Zitation:** Gehlen H., Inerle K., Ulrich S., Lehmann B., Straubinger R. K. (2021) Anaplasmose beim Pferd – Ein Literaturreview unter Berücksichtigung aktueller Diagnose- und Therapieverfahren sowie möglicher Präventionsmaßnahmen. *Pferdeheilkunde* 37, 25–33, DOI 10.21836/PEM20210104

**Korrespondenz:** Prof. Dr. Heidrun Gehlen, FU-Klinik für Pferde, Oertzenweg 19b, 10163 Berlin; heidrun.gehlen@fu-berlin.de

**Eingereicht:** 19. September 2020 | **Angenommen:** 19. November 2020

## Einleitung

*Anaplasma phagocytophilum* (Ap, früher unter dem Namen *Ehrlichia equi* geführt) ist der Erreger der Equinen Granulozytären Anaplasmose (EGA). Die EGA wurde 1969 erstmals in den USA beschrieben (Gribble 1969) und ist inzwischen auch in Europa (u.a. Deutschland, Büscher et al. 1984), Is-

rael und Brasilien aufgetreten (Loewenich et al. 2003, Levi et al. 2006, Salvagni et al. 2010). Eine Saisonalität des Auftretens der Erkrankung ist bekannt, mit Häufungen in den USA und in Europa im späten Herbst, Winter und Frühjahr (Madigan und Gribble 1987). In einigen Regionen in den USA tritt die EGA endemisch auf, vergleichbar mit dem Potomac Horse Fever (PHF), während sie in anderen Regionen nicht

beobachtet wird (Madigan et al. 1990). Da die EGA über Zecken übertragen wird und somit nicht kontagiös ist, sind folglich in der Regel nur einzelne Pferde innerhalb eines Bestandes betroffen (Madigan und Gribble 1987). Subklinische Infektionen können bei Pferden in Endemiegebieten auftreten (Madigan et al. 1990). Als Erregerreservoir dienen vor allem kleine wildlebende Säuger wie Nager (Aeschlimann 1976, Liz et al. 2000, Ogden et al. 1998). Auch Schafe und Rehe können in Europa als natürliche Wirte zum Infektionszyklus von Ap beitragen (Ogden et al. 1998). In den USA ist die Weißfußmaus (*Peromyscus leucopus*) nicht nur wichtiges Reservoir für Borrelien, sondern auch enzootisches Reservoir für Ap (Telford et al. 1996, Marshall et al. 1994). Zugvögel könnten, wie auch bei den Borrelien, eine wichtige Rolle in der Verbreitung der Überträgerzecken in Europa spielen (La Fuente et al. 2005).

### Mikrobiologisches Basiswissen zur Anaplasmose

*Anaplasma phagocytophilum* gehört der Ordnung Rickettsiales und Familie der Anaplasmataceae an (Madigan und Gribble 1987).

Rickettsien sind gramnegative, unbewegliche und in ihrer Form kokkoide, stäbchenförmige oder pleomorphe Bakterien (Walker und Dumler 1996), die allerdings keinen Lipopolysaccharid-Biosynthesemechanismus besitzen (Lin und Rikihisa 2003). Sie vermehren sich obligat intrazellulär durch Zweiteilung und parasitieren in retikuloendothelialen Zellen oder Erythrozyten von Vertebraten oder Arthropoden, wobei die Arthropoden dabei sowohl als Vektoren, als auch primäre Wirte dienen (Selbitz et al. 2015).

Im Jahr 2001 erfolgte die Neuordnung der Genera der Familien Rickettsiaceae und Anaplasmataceae, so dass zum jetzigen Zeitpunkt die Genera Ehrlichia, Anaplasma, Neorickettsia und Wolbachia zur Familie der Anaplasmataceae zählen (Dumler et al. 2001). Die einzelnen Genera unterscheiden sich dabei durch ihren sehr spezifischen Zelltropismus (Rikihisa 1991). Die Gattung *Anaplasma* infiziert Granulozyten, Thrombozyten, Erythrozyten und Endothelzellen.

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

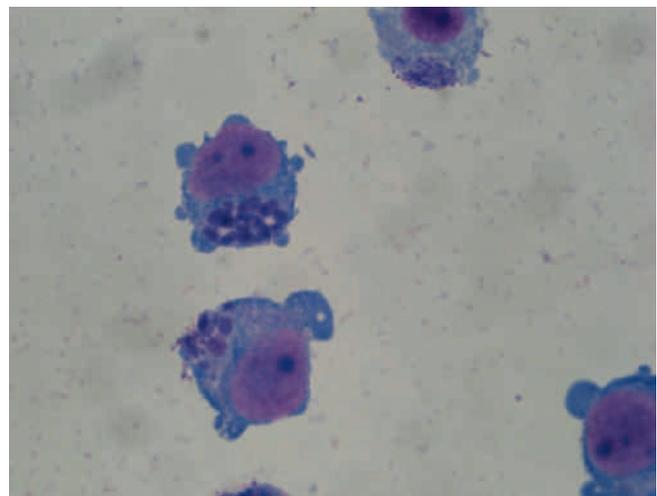
Es gibt verschiedene Genospezies und Subtypen von Ap, die mit bestimmten Wirten und unterschiedlicher Pathogenität assoziiert sind (Massung et al. 2007, Scharf et al. 2011). Die ehemals nach den infizierten Wirten getrennten Erreger *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* („tick-borne fever“) und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

Anaplasmen werden von Zecken der Gattung *Ixodes* (I.) auf den Wirt übertragen. Für Ap sind die wichtigsten Vektoren in

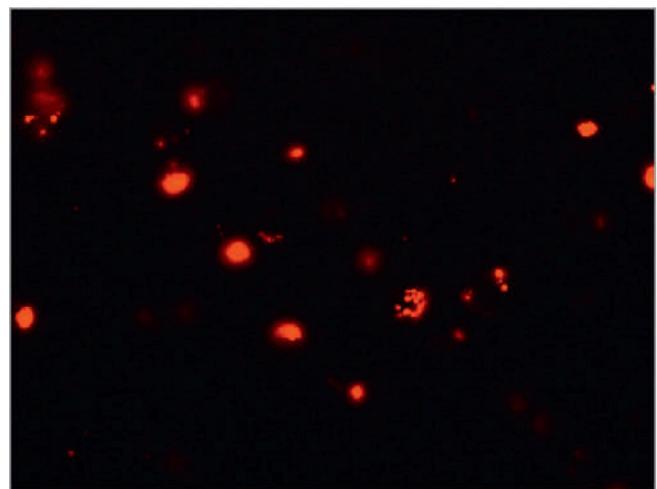
Europa *I. ricinus* und in den USA *I. scapularis* und *I. pacificus* (Parola und Raoult 2001). Daneben wurde Ap aber auch in Dermacentor-, Haemaphysalis- und Rhipicephalus-Zecken beobachtet, wobei das eher eine Kontamination zu sein scheint, da diese Zecken nicht mit Infektion in Verbindung gebracht werden (MacLeod 1962, Holden et al. 2003, Alberti et al. 2005, Cao et al. 2006, Barandika et al. 2008).

In verschiedenen Studien aus Deutschland wurden bei 1,0% bis 13,3% der *I. ricinus*-Zecken Infektionen mit Ap nachgewiesen, mit höheren Prävalenzen bei adulten Zecken als bei Nymphen (Fingerle et al. 1997, Baumgarten et al. 1999, Fingerle et al. 1999, Silaghi et al. 2008, Leonhard 2005, Hartelt et al. 2004, Schorn et al. 2011). Andere Vektoren als Zecken wurden bislang nicht gefunden.

Eine experimentelle Infektion gelang aber durch parenterale Applikation von Blut und Organ-Homogenaten, die von akut erkrankten Pferden gewonnen wurden (Lewis Jr. 1976, Nyindo



**Abb. 1** *Anaplasma phagocytophilum* Morulae in Säugetierzellen gefärbt nach Giemsa bei einer 100 × Vergrößerung unter dem Hellfeldmikroskop. | *Anaplasma phagocytophilum* Morulae in mammalian cells stained according to Giemsa at 100 × magnification under a brightfield microscope.



**Abb. 2** *Anaplasma phagocytophilum* in der Fluoreszenzmikroskopie (40-ger Objektiv mittels des IVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kits). | *Anaplasma phagocytophilum* in fluorescence microscopy (40 g objective using the IVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit).

et al. 1978). Im Jahr 1995 provozierten *Madigan* und Kollegen durch die experimentelle intravenöse Verabreichung von Blut eines akut mit dem „Agens der HGE“ (heute *Anaplasma phagocytophilum*, Ap) infizierten Menschen an Pferde eine Erkrankung, die von der EGA nicht zu unterscheiden war. Dies zeigte, dass die Erreger verwandt, wenn nicht sogar identisch waren (*Madigan et al. 1995*). *Dawson* und Kollegen isolierten den Erreger aus experimentell infizierten Katzen und waren in der Lage, damit Ponys experimentell zu infizieren und ebenfalls eine EGA auszulösen (*Dawson et al. 1988*). Bislang ist es nicht gelungen, experimentell via Zecken die Ap-Infektion von einem akut erkrankten Pferd auf ein anderes zu übertragen (*Gribble 1969*). Ein Fall einer kongenitalen, intrauterinen Infektion beim Kalb wurde beschrieben (*Henniger et al. 2013*). Bei experimenteller Infektion einer graviden Stute, konnten beim Fohlen im Alter von 15 Tagen eine geringe Anzahl infizierter neutrophiler Granulozyten nachgewiesen werden (*Gribble 1969, Rikihisa et al. 2004*). Die Bluttransfusion von lediglich 20 ml Blut eines akut infizierten Pferdes führt zur Infektion der Empfängertiere, das Blut von Pferden in der Rekonvaleszenzphase wird dagegen als nicht infektiös angesehen (*Pusterla und Madigan 2013, Nyindo et al. 1978*).

Ap breitet sich von der Zeckenstichstelle ausgehend über Lymphe und Blutbahnen aus und befällt seine Zielzellen im hämatopoetischen und lymphatischen System (*Madigan und Gribble 1987, Granquist et al. 2010*) über Bindung an sialinisierte Glykoproteine auf der Oberfläche der Granulozyten (*Ojogun et al. 2012, Madigan und Gribble 1987*).

Ein Eindringen der Anaplasmen über Mastzellen der Haut in der Region des Zeckenstichs wird ebenso diskutiert (*Ojogun et al. 2011*).

Im Wirt befinden sich Anaplasmen in den Granulozyten in frühen Endosomen, wo sie Nährstoffe für die Zweiteilung aufnehmen und in einem Cluster wachsen (*Webster et al. 1998*). Mit Hilfe der Romanowsky-Färbung lassen sie sich als runde, dunkelviolette, wegen ihrer Ähnlichkeit zu Maulbeeren als *Morulae* bezeichnete Punkte im Zytoplasma von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten identifizieren (*Gribble 1969*). Die einzelne Anaplasmenzelle wird als Initialkörper bezeichnet, durch Teilung entstehen in den Wirtszellen die aus mehreren Zellen bestehenden Elementarkörper (*Webster et al. 1998, Selbitz et al. 2015*).

Ap kann die phagolysosomale Fusion, den oxidativen Burst und die Apoptose in den infizierten Granulozyten verhindern (*Songer und Post 2005, Carlyon et al. 2004, Carlyon und Fikrig 2003, Choi et al. 2005, Ge und Rikihisa 2006*). Diese und weitere Mechanismen sorgen dafür, dass Ap nicht nur durch Ausnutzung von Internalisierungsmechanismen in die primären Zellen der bakteriologischen Abwehr, die Neutrophilen, eindringt, sondern sich auch auf einzigartige Weise ein geeignetes Wirtszellmilieu generiert (*Carlyon et al. 2004, Carlyon und Fikrig 2003*). Das Bersten der Zellen und die darauffolgende Freisetzung von infektiösem Material erfolgen, nachdem das Zytoplasma mit infizierenden Mikroorganismen komplett mit Elementarkörpern gefüllt ist. Über Exozytose und Fusion der Vakuolenmembran mit der Plasmamembran kann es ebenfalls zur Freisetzung der Anaplasmen kommen. Somit geht die Besiedlung der Wirtszelle nicht immer mit deren Zer-

störung einher. Anaplasmen können auch zwischen benachbarten Zellen durch die Kopplung von Exozytose und Endozytose transmittieren (*Rikihisa 1990*).

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

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

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

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

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

Im Rahmen einer Infektion mit Ap werden die Abwehrmechanismen des Wirtes geschwächt, opportunistische Infektionen aufgrund chronischer bakterieller Vorbelastung (Bronchopneumonie, Arthritis, Perikarditis, Lymphadenitis und Cellulitis) und Sekundärinfektionen treten vermehrt auf (*Gribble 1969*). Von der Immunschwächung sind sowohl die humorale als auch die T-Zell-mediierte Immunabwehr betroffen. Die phagozytären und migratorischen Eigenschaften der Granulozyten sind eingeschränkt. Ap vermehrt sich in Neutrophilen und verändert dabei deren Zellfunktionen, indem es die endotheliale Zelladhäsion, die Transmigration und den oxidativen Burst reduziert, die Degranulation und Chemokinsynthese erhöht sowie die Apoptose verzögert. Diese

Modulation der Neutrophilen verlängert das Überleben infizierter Neutrophiler in der Zirkulation und trägt dadurch zur Erkrankung des Wirtes bei, indem Entzündungen gefördert und die mikrobiozide Aktivität dysreguliert werden (Garyu et al. 2005).

Die Inkubationszeit beträgt bei experimenteller Infektion nach Nadel-Inokulation mit infiziertem Blut (z.B. bei Bluttransfusionen) drei bis zehn Tage, bei Verwendung infizierter Zecken acht bis zwölf Tage und bei natürlicher Infektion wird in der Regel von einer Inkubationszeit von weniger als 14 Tagen ausgegangen (Pusterla und Madigan 2014, Gribble 1969, Lewis et al. 2009). Pferde mit Spontanheilungen entwickeln innerhalb von drei Wochen eine über bis zu zwei Jahre protektive Immunität, unabhängig von einer latenten Infektion oder einem Carrierstatus (Madigan et al. 1995, van Andel et al. 1998, Nyindo et al. 1978). Lediglich in einer Studie konnte bislang das Persistieren von Ap über vier Monate mittels positiver PCR-Befunde bei experimentell infizierten Pferden, allerdings ohne klinische Veränderungen nach akuter Erkrankung, beobachtet werden (Franzén et al. 2009). Das Maximum der Antikörperspiegel ist nach etwa 19 bis 81 Tagen erreicht (Pusterla und Madigan 2003).

Schwerwiegende Infektionen konnten bislang nur bei Pferden, Schafen, Rindern, Rentieren, Rehwild, Elchen, Hunden und beim Menschen beobachtet werden (Stuen et al. 2013, Heine et al. 2007, Jenkins et al. 2001, Franzén et al. 2007).

### Klinisches Bild der Equinen Granulozytären Anaplasiose

Der Schweregrad der Erkrankung ist vom Alter des Pferdes und der Dauer der Erkrankung abhängig. Pferde jünger als vier Jahre entwickeln mildere klinische Veränderungen als ältere Pferde, wobei Pferde unter einem Jahr sich wiederum oftmals nur mit einer geringgradigen Apathie und Fieber präsentieren. In den meisten Fällen weist die EGA einen subklinischen oder milden Verlauf auf (Madigan und Gribble 1987). Die erste klinische Veränderung, die im Rahmen einer EGA auftritt, ist hohes Fieber mit Temperaturen von 39,4–41,3°C, das ein bis neun Tage anhält. Lethargie, partielle oder vollständige Anorexie, Gliedmaßen- und Unterbrustödeme, Ikterus, Petchien und Ekchymosen, Bewegungsunlust und Ataxie sind in Folge häufige klinische Merkmale der EGA (Brewer et al. 1984, Telford et al. 1996, Madigan und Pusterla 2000, Schusser et al. 2007).

Taumeln und das Einnehmen eines breiten Standes werden oft beobachtet, was propriozeptive Defizite vermuten lässt. Die Herzfrequenz ist meist moderat erhöht, ventrikuläre Tachykardie und ventrikuläre Extrasystolen können vorkommen (Pusterla und Madigan 2013). Vereinzelt wurden auch Lymphadenopathie, Pneumonie, Durchfall, Rhabdomyolyse, Gelenkentzündungen und neurologische Veränderungen wie epileptiformes Anfallsgeschehen und Paralysen beobachtet (Burgess et al. 2012, Reubel et al. 1998, Adaszek et al. 2009, Nolen-Walston et al. 2004, Uehlinger et al. 2011, Hilton et al. 2008). Werden tragende Stuten experimentell mit Ap infiziert, zeigen sie die oben genannten klinischen Veränderungen in unterschiedlichen Schweregraden, aber keinen Abort (Rikihisa et al. 2004).

Die Krankheit ist meist selbstlimitierend mit klinischen Zeichen über sieben bis vierzehn Tage (Gribble 1969). Die Letalität der Erkrankung ist gering, es sei denn, es treten Sekundärinfektionen oder infolge von Stürzen durch die Ataxie schwere Verletzungen auf (Rikihisa et al. 2004). Ein vierjähriges, an EGA erkranktes Pferd verstarb trotz Einleitung einer adäquaten Therapie an dieser Infektion (Butler et al. 2008). Auch bei einem experimentell infizierten 19-jährigen Pferd wurde ein fataler Krankheitsverlauf der EGA beschrieben. Die Obduktion ergab weit verbreitete Blutungen in den inneren Organen sowie Vaskulitis und Thrombose in den Nieren, die auf eine disseminierte intravasale Gerinnung hindeuten (wurde zuvor beim Menschen mit HGE auch bereits beschrieben) (Franzén et al. 2007). Eine einjährige Friesenstute entwickelte im Rahmen einer EGA akutes renales Nierenversagen, eine Pneumonie und Hufrehe und musste intensivmedizinisch versorgt werden (Schusser et al. 2007). Dies sind aber lediglich Einzelfälle. Die Prognose der EGA ist grundsätzlich gut (Pusterla und Madigan 2014).

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

Eine EGA lässt sich nicht eindeutig anhand der klinischen Zeichen diagnostizieren, da diese unspezifisch sind (Engvall et al. 1996). Differentialdiagnostisch sind die Equine Lyme-Borreliose, Equine Infektiöse Anämie, Equine Virale Arteriitis, Piroplasmose, Potomac Horse Fever, virale Enzephalitiden, Purpura haemorrhagica, Morbus maculosus und Lebererkrankungen in Betracht zu ziehen (Pusterla und Madigan 2003, Feige und Müller 2007, Lewis et al. 2009).

### Diagnostik der Anaplasiose

In der Humanmedizin müssen folgende Kriterien zur Diagnose der Humanen Granulozytären Anaplasiose (HGA) erfüllt sein: 1. Die klinischen und labordiagnostischen Veränderungen müssen mit den in der Literatur beschriebenen Veränderungen im Rahmen der HGA im Einklang sein UND 2. Morulae in Neutrophilen sind nachweisbar und ein einmalig positiver Ap-Antikörperspiegel wird nachgewiesen ODER 3. Ein vierfacher Anstieg des Antikörperspiegels in einer gepaarten Serumprobe über 4 Wochen ist nachweisbar ODER 4. Ein positiver Ap-PCR-Nachweis liegt vor ODER 5. Eine erfolgreiche Isolation von Ap aus dem Blut des Patienten ist gelungen (Bakken und Dumler 2008). Diese Kriterien lassen sich auch in die Veterinärmedizin übertragen.

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

Der direkte Erregernachweis erfolgt durch direkten mikroskopischen Nachweis, PCR oder Kultivierung. Der Nachweis

von Ap-DNA via Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist eine sensitive und spezifische Methode zum Nachweis der EGA (Barlough et al. 1996, Drzenovich et al. 2006, Pusterla et al. 1999a). Die Teilgensequenzierung mit PCR ist vor allem im Anfangs- und Endstadium der Erkrankung eine gute diagnostische Hilfe, weil dann der mikroskopische Nachweis von Morulae oft nicht möglich ist (Franzén et al. 2005, Pusterla und Madigan 2014). Als Untersuchungsmaterial für die PCR eignen sich Vollblut, Leukozytenanreicherungen, Knochenmark und Milzgewebe (Dzięgiel et al. 2013). Eine multi-locus Gensequenzierung erlaubt eine Strukturanalyse der Anaplasmen Population (Huhn et al. 2014).

Früher war der Goldstandard der Diagnostik bei der EGA der Nachweis der typischen Einschlusskörperchen (Morulae) von Ap im Zytoplasma von neutrophilen und zum Teil auch eosinophilen Granulozyten (Sells et al. 1976, Pusterla et al. 1998, Gribble 1969). Morulae treten nur in der akuten Phase der Infektion, beginnend etwa zwei bis vier Tage post infectionem, in den Granulozyten auf (Gribble 1969, Dzięgiel et al. 2013). Die Infektionsrate der Neutrophilen und damit die Nachweisrate der Morulae liegt im Initialstadium der Erkrankung bei weniger als 1% der Zellen und am 3. bis 5. Tag der Erkrankung bei bis zu 60% (Berrington et al. 1996, Uehlinger et al. 2011, Lukaszewska et al. 2008, Pusterla und Madigan 2014, Franzén et al. 2005). Zum Nachweis der Morulae sind Blutausstriche, die mittels Diff-Quick-, Wright- oder Giemsa-Färbung eingefärbt wurden, geeignet (Sells et al. 1976, Pusterla et al. 1998, Gribble 1969). Bei mehr als drei nachweisbaren Morulae ist die Diagnose eindeutig zu stellen (Madigan und Gribble 1987, Rikihisa et al. 2004). Nach Therapiebeginn sind Morulae nur noch schwer nachweisbar und nach 48 bis 72 Stunden nicht mehr vorhanden (Pusterla und Madigan 2014). Nachteilig an dieser Methode ist, dass sie in den ersten zwei Tagen post infectionem schwierig ist und subjektive Fehler sowohl zu falsch-positiven als auch falsch-negativen Resultaten führen können (Schothhoefer et al. 2013). In der Zwischenzeit ist die Gensequenzierung als deutlich sensitivere Nachweismethode anerkannt (Huhn et al. 2014).

Die Kultivierung von Ap aus Pferdeblut „in vitro“ auf Zelllinien (vor allem auf sehr langsam wachsenden Zeckenzelllinien) wird aufgrund der hohen Kosten, des hohen Zeitaufwands (Wochen!) und des niedrigen diagnostischen Nutzens nur in speziell ausgestatteten Laboratorien durchgeführt (Goodman et al. 1996, Munderloh et al. 1996), obwohl der Erreger routinemäßig aus dem Blut von humanen Patienten mit HGE isoliert werden kann (Engvall et al. 1996, 2001, Rikihisa et al. 2004).

In der Regel kommen auch ELISAs und Immunfluoreszenztests als Nachweismethoden zum Einsatz (Amusatogui et al. 2006, Magnarelli et al. 2000). Ein Anstieg der Antikörper um das Vierfache lässt eine sichere Diagnose zu (Madigan et al. 1990, Songer und Post 2005). Antikörper gegen Ap können ab dem 14. Tag post infectionem und bis zu zwei Jahre später nachgewiesen werden (Franzén et al. 2005, Madigan und Gribble 1987).

Der Immunfluoreszenztest (IFAT) zum Nachweis von Antikörpern gegen Ap gilt bei Pferden als Goldstandard der serologischen Diagnostik (Nyindo et al. 1978, Rikihisa et al. 2004). Ein Antikörpertiter von 1:1,280 oder höher lässt sich

bis zum 75. Tag nach Infektion mit Ap nachweisen (Rikihisa et al. 2004). Eine Kreuzreaktivität mit anderen Anaplasmen und Ehrlichien ist möglich (Nicholson et al. 1997). Falsch-negative Befunde sind möglich, wenn die Tiere noch nicht serokonvertiert sind und zu einem frühen Zeitpunkt untersucht wurde, in diesem Fall ist die PCR zu bevorzugen (Engvall et al. 1996).

Die relative Sensitivität und Spezifität verglichen mit dem IFAT des kommerziell erhältlichen ELISAs (SNAP® 4Dx, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) zum Nachweis von Antikörpern gegen Ap liegt bei 87–100% und 100% (Chandrashekar et al. 2008, Veronesi et al. 2014). Die etwas geringere Sensitivität, die Veronesi und Mitarbeiter gefunden hatten, war vor allem durch Fälle mit niedrigen IFAT-Titern in einer Gruppe von Pferden ohne klinische Veränderungen begründet (Veronesi et al. 2014). Schwartz und Mitarbeiter beurteilten die Übereinstimmung der IFAT- und ELISA-Ergebnisse in ihrer Studie an 50 Pferden einer Population mit geringem Ap-Infektionsrisiko als mäßig (Schwartz et al. 2015a).

### Therapie der Equinen Granulozytären Anaplasrose

Die EGA kann effektiv mit Antibiotika behandelt werden. Durch eine antibiotische Behandlung wird die Erkrankungsdauer signifikant verkürzt und die Schwere der Erkrankung gemindert. Da Ap ein intrazelluläres Pathogen ist, sind Tetracycline aufgrund ihrer intrazellulären Verfügbarkeit die Antibiotika der Wahl (Madigan und Pusterla 2000, Maurin et al. 2003). Pusterla et al. (1998) verwendeten Oxytetracyclin intravenös in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht über fünf Tage bei einer 12-jährigen Stute (Pusterla et al. 1998). Verschiedene Studien zeigten die Effizienz einer geringeren Dosis Oxytetracyclin von 7 mg/kg Körpergewicht einmal täglich über fünf bis sieben Tage (Hermann et al. 1985, Madigan und Gribble 1987).

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

Nebenwirkungen wie perivaskuläre Schwellungen (Lewis et al. 2009), hepato- und neurotoxische Effekte, gastrointestinale Affektionen und farbliche Veränderungen des Zahnschmelzes können im Rahmen einer Oxytetracyclin-Behandlung auftreten (Maurin et al. 2003, Klein et al. 1997). Als Alternative kommt Doxycyclin (10 mg/kg alle 12 Stunden p.o. über 10–14 Tage) infrage, das ebenfalls bereits effektiv bei EGA eingesetzt wurde (Lewis et al. 2009). Diese beiden Antibiotika könnten auch in Kombination eingesetzt werden: zwei intravenöse Gaben Oxytetracyclin und darauffolgend über sieben bis zehn Tage oral verabreichtes Doxycyclin (Pusterla und Madigan 2013).

Unterstützend können NSAIDs zur Fiebersenkung, Kortikosteroide bei Vaskulitis und autoimmuninduzierter Anämie, Infusi-

onstherapie und Stallruhe mit Stallgamaschen zur Minderung der Verletzungsgefahr in begründeten Einzelfällen zum Einsatz kommen (Dzięgiel et al. 2013, Adaszek et al. 2009, Pusterla und Madigan 2013).

### Prophylaxe der Equinen Granulozytären Anaplasmose

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

### Literaturverzeichnis

- Adaszek Ł., Winiarczyk S. (2011) Identification of *Anaplasma* spp. rickettsia isolated from horses from clinical disease cases in Poland. *Zoonos. Pub. Health* 58, 514–518; DOI 10.1111/j.1863-2378.2011.01394.x
- Adaszek Ł., Winiarczyk S., Łukaszewska J. (2009) A first case of ehrlichiosis in a horse in Poland. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 116, 330–334; DOI 10.1007/s00436-015-4832-1
- Aeschlimann, A. (1976) Biologie et écologie des tiques (Ixodoidea) de Côte d'Ivoire. In: *Acta Tropica* 24, S. 281–405
- Alberti A., Addis M. A., Sparagano O., Zobba R., Chessa B., Cubeddu T., Parpaglia M. L. P., Ardu M., Pittau M. (2005) *Anaplasma phagocytophilum*, Sardinia, Italy. *Emer. Infect. Dis.* 11, 1322; DOI 10.3201/eid1108.050085
- Amusatégui I., Sainz A., Tesouro M. A. (2006) Serological evaluation of *Anaplasma phagocytophilum* infection in livestock in northwestern Spain. *Ann NY Acad Sci* 1078, 487–490; DOI 10.1196/annals.1374.091
- Bakken J. S., Dumler S. J. (2008) Human granulocytic anaplasmosis. *Infectious Disease Clinics of North America* 22, 433–48, viii; DOI 10.1016/j.idc.2015.02.007
- Barandika J. F., Hurtado A., García-Sanmartín J., Juste R. A., Anda P., García-Pérez A. L. (2008) Prevalence of tick-borne zoonotic bacteria in questing adult ticks from northern Spain. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases* 8, 829–836; DOI 10.1089/vbz.2008.0023
- Barlough J. E., Madigan J. E., DeRock E., Bigornia L. (1996) Nested polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia equi* genomic DNA in horses and ticks (*Ixodes pacificus*). *Veterinary Parasitology* 63, 319–329; DOI 10.1016/0304-4017(95)00904-3
- Baumgarten B. U., Röllinghoff M., Bogdan C. (1999) Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and Granulocytic and Monocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks from southern Germany. *Journal of Clinical Microbiology* 37, 3448–3451; DOI 10.1128/JCM.37.11.3448-3451.1999
- Berrington A., Moats R., Lester S. (1996) A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia. *Can Vet J* 37, 174–175
- Brewer B. D., Harvey J. W., Mayhew I. G., Simpson C. F. (1984) Ehrlichiosis in a Florida horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 185, 446
- Burgess H., Chilton N. B., Krakowetz C. N., Williams C., Lohmann K. L. (2012) Granulocytic anaplasmosis in a horse from Saskatchewan. *Brief Communication. Can Vet J* 53, 886–888
- Büscher G., Gandras R., Apel G., Friedhoff K. T. (1984) Der erste Fall von Ehrlichiosis beim Pferd in Deutschland. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 91, 408–409
- Butler C. M., Nijhof A. M., Jongejan F., van der Kolk J. H. (2008) *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. *The Veterinary Record* 162, 216–217; DOI 10.1136/vr.162.7.216
- Cao W.-C., Zhan L., He J., Foley J. E., Vlas S. J. de, Wu X.-M., Yang H., Richardus J. H., Habbema J. D. F. (2006) Natural *Anaplasma phagocytophilum* infection of ticks and rodents from a forest area of Jilin Province, China. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 75, 664–668
- Carlyon J. A., Abdel-Latif D., Pypaert M., Lacy P., Fikrig E. (2004) *Anaplasma phagocytophilum* utilizes multiple host evasion mechanisms to thwart NADPH oxidase-mediated killing during neutrophil infection. *Infection and Immunity* 72, 4772–4783; DOI 10.1128/IAI.72.8.4772-4783.2004
- Carlyon J. A., Fikrig E. (2003) Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. *Cellular Microbiology* 5, 743–754; DOI 10.1046/j.1462-5822.2003.00323.x
- Chandrashekar R., Beall M. J., Thatcher B., Saucier J. M., Tyrrell P., Lappin M. R. (2017) Serologic responses to peptides of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in dogs infested with wild-caught *Ixodes scapularis*. *Veterinary Journal* 226, 6–11; DOI 10.1016/j.tvjl.2017.06.005
- Choi K.-S., Grab D. J., Dumler J. S. (2004) *Anaplasma phagocytophilum* infection induces protracted neutrophil degranulation. *Infection and Immunity* 72, 3680–3683; DOI 10.1128/IAI.72.6.3680-3683.2004
- Choi K.-S., Park J. T., Dumler J. S. (2005) *Anaplasma phagocytophilum* delay of neutrophil apoptosis through the p38 mitogen-activated protein kinase signal pathway. *Infection and Immunity* 73, 8209–8218; DOI 10.1128/IAI.73.12.8209-8218.2005
- Dark, M. J., Al-Khedery, B., Barbet, A. F. (2011) Multistrain genome analysis identifies candidate vaccine antigens of *Anaplasma marginale*. In: *Vaccine* 29 (31), S. 4923–4932
- Dawson J. E., Abeygunawardena I., Holland C. J., Buese M. M., Ristic, M. (1988) Susceptibility of cats to infection with *Ehrlichia risticii*, causative agent of equine monocytic ehrlichiosis. *Am J Vet Res* 49, 2096–2100
- Drazenovich N., Foley J., Brown R. N. (2006) Use of real-time quantitative PCR targeting the *msp2* protein gene to identify cryptic *Anaplasma phagocytophilum* infections in wildlife and domestic animals. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases* 6, 83–90; DOI 10.1089/vbz.2006.6.83
- Dumler J. S., Barbet A. F., Bekker C. P. J., Dasch, G. A., Palmer G. H., Ray S. C., Rikihisa Y., Rurangirwa F. R. (2001) Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51, 2145–2165; DOI 10.1099/00207713-51-6-2145
- Dzięgiel B., Adaszek Ł., Kalinowski M., Winiarczyk S. (2013) Equine granulocytic anaplasmosis. *Research in Veterinary Science* 95, 316–320; DOI https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.05.010
- Egenvall A., Franzén P., Gunnarsson A., Engvall E. O., Vågsholm I., Wikström U.-B., Artursson K. (2001) Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi sensu lato* and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. *Preventive Veterinary Medicine* 49, 191–208
- Feige K., Müller J. M. V. (2007) Equine granulocytäre Anaplasmose. *Pferdespiegel* 3, 114–116
- Fingerle V., Goodman J. L., Johnson R. C., Kurti T. J., Munderloh U. G., Wilske B. (1997) Human granulocytic ehrlichiosis in southern Germany: increased seroprevalence in high-risk groups. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 3244–3247; DOI 10.1128/JCM.35.12.3244-3247.1997
- Franzén P., Aspan A., Egenvall A., Gunnarsson A., Åberg L., Pringle J. (2005) Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19, 232; DOI 10.1892/0891-6640(2005)19<232:achsap>2.0.co;2

- Franzén P., Aspan A., Egenvall A., Gunnarsson A., Karlstam E., Pringle J. (2009) Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 636–642; DOI 10.1111/j.1939-1676.2009.0317.x
- Franzén P., Berg A.-L., Aspan A., Gunnarsson A., Pringle J. (2007) Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. *The Veterinary Record* 160, 122–125; DOI 10.1136/vr.160.4.122
- Garyu J. W. A., Choi K.-S., Grab D. J., Dumler J. S. (2005) Defective phagocytosis in *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils. *Infection and Immunity* 73, 1187–1190; DOI 10.1128/IAI.73.2.1187-1190.2005
- Goodman J. L., Nelson C., Vitale B., Madigan J. E., Dumler J. S., Kurtti T. J., Munderloh U. G. (1996) Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Transfusion Medicine Reviews* 10, 241–242; DOI 10.1056/NEJM199601253340401
- Granquist E. G., Aleksandersen M., Bergström K., Dumler S. J., Torsteinbø W. O., Stuen S. (2010) A morphological and molecular study of *Anaplasma phagocytophilum* transmission events at the time of *Ixodes ricinus* tick bite. *Acta Veterinaria Scandinavica* 52, 43; DOI 10.1186/1751-0147-52-43
- Gribble D. H. (1969) Equine ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 155, 462–469
- Hartelt K., Oehme R., Frank H., Brockmann S. O., Hassler D., Kimmig P. (2004) Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. *International Journal of Medical Microbiology* 293, 86–92; DOI 10.1016/s1433-1128(04)80013-5
- Heine S., Thiet W., Liebisch G. (2007) Anaplasrose beim Hund – Fallbericht. *Prakt. Tierarzt* 88, 20–27
- Hermann M., Baumann D., Lutz H., Wild P. (1985) Erster diagnostizierter Fall von equiner Ehrlichiose in der Schweiz. *Pferdeheilkunde Equine Medicine* 1, 247–250
- Herron M. J., Ericson M. E., Kurtti T. J., Munderloh U. G. (2005) The interactions of *Anaplasma phagocytophilum*, endothelial cells, and human neutrophils. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1063, 374–382; DOI 10.1196/annals.1355.090
- Hilton H., Madigan J. E., Aleman M. (2008) Rhabdomyolysis associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22, 1061–1064; DOI 10.1111/j.1939-1676.2008.0115.x
- Huhn C., Winter C., Wolfspurger T., Wüppenhörst N., Strašek Smrdel K., Skuballa J., Pfäffle M., Petney T., Silaghi C., Dyachenko V., Pantchev N., Straubinger R. K., Schaarschmidt-Kiener D., Ganter M., Aardema M. L., von Loewenich F. D. (2014) Analysis of the population structure of *Anaplasma phagocytophilum* using multilocus sequence typing. *PLoS One*. 2014 Apr 3;9(4):e93725; DOI 10.1371/journal.pone.0093725; PMID: 24699849; PMCID: PMC3974813
- Jenkins A., Kristiansen B. E., Allum A. G., Aakre R. K., Strand L., Kleveland E. J., van de Pol I., Schouls L. (2001) *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from southern Norway. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 3666–3671; DOI 10.1128/JCM.39.10.3666-3671.2001
- Klein M. B., Miller J. S., Nelson C. M., Goodman J. L. (1997) Primary bone marrow progenitors of both granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of Infectious Diseases* 176, 1405–1409; DOI 10.1086/517332
- La Fuente J. de, Naranjo V., Ruiz-Fons F., Höfle U., Fernández De Mera I. G., Villanúa D., Almazán C., Torina A., Caracappa S., Kocan K. M., Gortázar C. (2005) Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases* 5, 390–401; DOI 10.1089/vbz.2005.5.390
- Leonhard S. (2005) Untersuchungen zur Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* und *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* aus Bayern und Baden-Württemberg. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München
- Lepidi H., Bunnell J. E., Martin M. E., Madigan J. E., Stuen S., Dumler J. S. (2000) Comparative pathology, and immunohistology associated with clinical illness after *Ehrlichia phagocytophila*-group infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 62, 29–37; DOI 10.4269/ajtmh.2000.62.29
- Levi O., Waner T., Baneth G., Keysary A., Bruchim Y., Silverman J., Harrus S. (2006) Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* among healthy dogs and horses in Israel. *J. Vet. Med. Zoonoses and Public Health* 53, 78–80; DOI 10.1111/j.1439-0450.2006.00911.x
- Lewis S. R., Zimmerman K., Dascanio J. J., Pleasant R. S., Witonksy S. G. (2009) Equine Granulocytic Anaplasmosis. A Case Report and Review. *Journal of Equine Veterinary Science* 29, 160–166; DOI https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.01.002
- Lewis G. E., Jr. (1976) Equine Ehrlichiosis: A comparison between *E. equi* and other pathogenic species of *Ehrlichia*. *Veterinary Parasitology* 2, 61–74; DOI https://doi.org/10.1016/0304-4017(76)90053-4
- Lewis G. E., Jr., Huxsoll D. L., Ristic M., Johnson A. J. (1975) Experimentally induced infection of dogs, cats, and nonhuman primates with *Ehrlichia equi*, etiologic agent of equine ehrlichiosis. *American Journal of Veterinary Research* 36, 85–88
- Lin M., Rikihisa Y. (2003) *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. *Infection and Immunity* 71, 5324–5331; DOI 10.1128/iai.71.9.5324-5331.2003
- Liz J. S., Anderes L., Sumner J. W., Massung R. F., Gern L., Rutti B., Brossard M. (2000) PCR detection of granulocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in Western Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 1002–1007; DOI 10.1128/JCM.38.3.1002-1007.2000
- Loewenich F. D. von, Stumpf G., Baumgarten, B. U., Röllinghoff, M., Dumler J. S., Bogdan C. (2003) A case of Equine Granulocytic Ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic *Anaplasma phagocytophilum* (HGE Agent) in Germany. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 22, 303–305; DOI 10.1007/s10096-003-0935-1
- Lukaszewska J., Adaszek L., Winiarczyk S. (2008) Hematological changes in granulocytic anaplasmosis in dogs and horses. *Zycie Wet* 83, 827–831
- MacLeod J. (1962) Ticks and disease in domestic stock in Great Britain. *Symposium of the Zoological Society of London* 6, 29–50
- Madigan J. E., Barlough J. E., Rikihisa Y., Wen B., Miller P. E., Sampson T. J. (1997) Identification of an enzootic diarrhea (“Shasta River Crud”) in northern California as Potomac horse fever. *Journal of Equine Veterinary Science* 17, 270–272; DOI https://doi.org/10.1016/S0737-0806(97)80046-9
- Madigan J. E., Gribble D. (1987) Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190, 445–448
- Madigan J. E., Hietala S., Chalmers S., DeRock E. (1990) Seroprevalence survey of antibodies to *Ehrlichia equi* in horses of northern California. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 196, 1962–1964
- Madigan J. E., Pusterla N. (2000) Ehrlichial diseases. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 16, 487–499; DOI 10.1016/s0749-0739(17)30091-3
- Madigan J. E., Richter P. J., Jr., Kimsey R. B., Barlough J. E., Bakken J. S., Dumler J. S. (1995) Transmission and passage in horses of the agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis. *The Journal of Infectious Diseases* 172, 1141–1144; DOI 10.1093/infdis/172.4.1141
- Magnarelli L. A., Ijdo J. W., van Andel A. E., Wu C., Padula S. J., Fikrig E. (2000) Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 217, 1045–1050; DOI 10.2460/javma.2000.217.1045

- Massung R. F., Levin M. L., Munderloh U. G., Silverman D. J., Lynch M. J., Gaylee J. K., Kurtti T. J. (2007) Isolation and propagation of the Ap-Variant 1 strain of *Anaplasma phagocytophilum* in a tick cell line. *Journal of Clinical Microbiology* 45, 2138–2143; DOI 10.1128/JCM.00478-07
- Maurin M., Bakken J. S., Dumler J. S. (2003) Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma* (Ehrlichia) phagocytophilum strains from various geographic areas in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, 413–415; DOI 10.1128/aac.47.1.413-415.2003
- Munderloh U. G., Madigan J. E., Dumler J. S., Goodman J. L., Hayes S. F., Barlough J. E., Nelson C. M., Kurtti T. J. (1996) Isolation of the equine granulocytic ehrlichiosis agent, *Ehrlichia equi*, in tick cell culture. *Journal of Clinical Microbiology* 34, 664–670; DOI 10.1128/JCM.34.3.664-670.1996
- Nicholson W. L., Comer J. A., Sumner J. W., Gingrich-Baker C., Coughlin R. T., Magnarelli L. A., Olson J. G., Childs J. E. (1997) An indirect immunofluorescence assay using a cell culture-derived antigen for detection of antibodies to the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 1510–1516; DOI 10.1128/JCM.35.6.1510-1516.1997
- Nolen-Walston R. D., D'Oench S. M., Hanelt L. M., Sharkey L. C., Paradis M. R. (2004) Acute recumbency associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224, 1964–1966
- Nyindo M. B., Ristic M., Lewis G. E., Jr., Huxsoll D. L., Stephenson E. H. (1978) Immune response of ponies to experimental infection with *Ehrlichia equi*. *American Journal of Veterinary Research* 39, 15–18
- Ogden N. H., Woldehiwet Z., Hart C. A. (1998) Granulocytic ehrlichiosis: an emerging or rediscovered tick-borne disease? *Journal of Medical Microbiology* 47, 475–482; DOI 10.1099/00222615-47-6-475
- Ojogun N., Barnstein B., Huang B., Oskertizian C. A., Homeister J. W., Miller D., Ryan J. J., Carlyon J. A. (2011) *Anaplasma phagocytophilum* infects mast cells via alpha1,3-fucosylated but not sialylated glycans and inhibits IgE-mediated cytokine production and histamine release. *Infection and Immunity* 79, 2717–2726; DOI 10.1128/IAI.00181-11
- Ojogun N., Kahlon A., Ragland S. A., Troese M. J., Mastronunzio J. E., Walker N. J., Viebrock L., Thomas R. J., Borjesson D. L., Fikrig E., Carlyon J. A. (2012) *Anaplasma phagocytophilum* outer membrane protein A interacts with sialylated glycoproteins to promote infection of mammalian host cells. *Infection and Immunity* 80, 3748–3760; DOI 10.1128/IAI.00654-12
- Palmer, G. H., Brown, W. C., Noh, S. M., Brayton, K. A. (2012) Genome-wide screening and identification of antigens for rickettsial vaccine development. In: *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 64 (1), S. 115–119
- Parola P., Raoult D. (2001) Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases* 32, 897–928; DOI 10.1086/319347
- Pusterla N., Huder J. B., Feige K., Lutz H. (1998) Identification of a Granulocytic Ehrlichia strain isolated from a horse in Switzerland and comparison with other Rickettsiae of the Ehrlichia phagocytophila genogroup. *Journal of Clinical Microbiology* 36, 2035–2037; DOI 10.1128/JCM.36.7.2035-2037.1998
- Pusterla N., Huder J. B., Leutenegger C. M., Braun U., Madigan J. E., Lutz H. (1999a) Quantitative real-time PCR for detection of members of the Ehrlichia phagocytophila genogroup in host animals and Ixodes ricinus ticks. *Journal of Clinical Microbiology* 37, 1329–1331; DOI 10.1128/JCM.37.5.1329-1331.1999
- Pusterla N., Madigan J. E. (2003) Equine Granulocytic Ehrlichiosis. N. E. Robinson (Hg.): *Current Therapy in Equine Medicine*. 5th Ed. Philadelphia, USA: Saunders. ISBN: 9780721695402
- Pusterla N., Madigan J. E. (2013) Equine Granulocytic Anaplasmosis. *Journal of Equine Veterinary Science* 33, 493–496; DOI 10.1016/j.jevs.2013.03.188
- Pusterla N., Madigan J. E. (2014) *Anaplasma phagocytophilum* infection. D. C. Sellon und M. T. Long (Hg.): *Equine Infectious Diseases*. 2. Ed. Philadelphia, USA: Saunders, 344–347. ISBN: 9781455708918
- Pusterla N., Pusterla J. B., Braun U., Lutz H. (1999b) Experimental cross-infections with Ehrlichia phagocytophila and human granulocytic ehrlichia-like agent in cows and horses. *Veterinary Record* 145, 311–314; DOI 10.1136/vr.145.11.311
- Reubel G. H., Kimsey R. B., Barlough J. E., Madigan J. E. (1998) Experimental transmission of Ehrlichia equi to horses through naturally infected ticks (Ixodes pacificus) from Northern California. *Journal of Clinical Microbiology* 36, 2131–2134; DOI 10.1128/JCM.36.7.2131-2134.1998
- Rikihisa Y. (1990) Ultrastructure of Rickettsiae with special emphasis on Ehrlichiae. Jim C. Williams und Ibulaimu Kakoma (Hg.): *Ehrlichiosis. A vector-borne disease of animals and humans*. Dordrecht: Springer Netherlands (Current Topics in Veterinary Medicine, 54), 22–31; DOI https://doi.org/10.1007/978-94-009-1998-3
- Rikihisa Y. (1991) The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. *Clinical Microbiology Reviews* 4, 286–308; DOI 10.1128/cmr.4.3.286
- Rikihisa Y., Dumler J. S., Dasch G. A. (2004) Rickettsial diseases. S. Reed, B. Warwick und D. Sellon (Hg.): *Equine Internal Medicine*. 2. Aufl. Philadelphia, USA: Saunders. ISBN-13: 978-1416053996
- Rikihisa Y., Dumler J. S., Dasch G. A. (2015) Neorickettsia. Whitman (Hg.): *Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria*, Bd. 30. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Inc, 1–12
- Salvagni C. A., Dagnone A. S., Gomes T. S., Mota J. S., Andrade G. M., Baldani C. D., Machado R. Z. (2010) Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 19, 135–140; DOI 10.1590/s1984-29612010000300002
- Scharf W., Schauer S., Freyburger F., Petrovec M., Schaarschmidt-Kiener D., Liebisch G., Runge M., Ganter M., Kehl A., dumler J. S. Garcia-Perez A. L., Jensen J., Fingerle V., Meli M.L., Ensser A., Stuen S., von Loewenich F. D. (2011) Distinct host species correlate with *Anaplasma phagocytophilum* ankA gene clusters. *Journal of Clinical Microbiology* 49, 790–796; DOI 10.1128/JCM.02051-10
- Schorf S., Pfister K., Reulen H., Mahling M., Manitz J., Thiel C., Silaghi C. (2011) Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in Ixodes ricinus in Bavarian public parks, Germany. *Ticks and Tick-borne Diseases* 2, 196–203; DOI 10.1016/j.ttbdis.2011.09.009
- Schothoef A. M., Meece J. K., Ivacic L. C., Bertz P. D., Zhang K., Weiler T., Uphoff T. S., Fritsche T. R. (2013) Comparison of a real-time PCR method with serology and blood smear analysis for diagnosis of human anaplasmosis: importance of infection time course for optimal test utilization. *Journal of Clinical Microbiology* 51, 2147–2153; DOI 10.1128/JCM.00347-13
- Schusser G. F., Grosche A., Kyaw W. O., Kölbl M., Recknagel S., Uhlig A., Beelitz P. (2007) Klinik und labormedizinische Befunde bei Pferden mit equiner granulozytärer Ehrlichiose. *Pferdeheilkunde-Equine Medicine* 23, 351–356; DOI 10.1007/s00003-008-0367-z
- Schwartz G., Epp T., Burgess H. J., Chilton N. B., Lohmann K. L. (2015a) Comparison between available serologic tests for detecting antibodies against *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in horses in Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27, 540–546; DOI 10.1177/1040638715587548
- Sells D. M., Hildebrandt P. K., Lewis G. E., Nyindo M. B., Ristic M. (1976) Ultrastructural observations on Ehrlichia equi organisms in equine granulocytes. *Infection and Immunity* 13, 273–280; DOI 10.1128/IAI.13.1.273-280.1976
- Silaghi C., Gilles J., Höhle M., Fingerle V., Just F. T., Pfister K. (2008) *Anaplasma phagocytophilum* infection in Ixodes ricinus, Bavaria, Germany. *Emerging Infectious Diseases* 14, 972–974; DOI 10.3201/eid1406.061513

- Songer J. G., Post K. W. (2005) The family Anaplasmataceae. J. G. Songer und K. W. Post (Hg.): *Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease*. Philadelphia, USA: Saunders, 325–326. ISBN-13: 978-0721687179
- Stuen S., Granquist E. G., Silaghi C. (2013) *Anaplasma phagocytophilum* – a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3, 31; DOI 10.3389/fcimb.2013.00031
- Telford S. R., Dawson J. E., Katavolos P., Warner C. K., Kolbert C. P., Persing D. H. (1996) Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93, 6209–6214; DOI 10.1073/pnas.93.12.6209
- Uehlinger F. D., Clancey N. P., Lofstedt J. (2011) Granulocytic anaplasmosis in a horse from Nova Scotia caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Case Report. Can. Vet. J.* 52, 537–540; PMID: PMC3078012
- van Andel A. E., Magnarelli L. A., Heimer R., Wilson M. L. (1998) Development and duration of antibody response against *Ehrlichia equi* in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212, 1910–1914
- Veronesi F., Passamonti F., Moretti A., Morganti G., Vardi D. M., Laus F., Marenzoni M. L., Spaterna A., Coletti M., Piergili Fioretti D. (2014) Evaluation of the performance of a rapid enzyme-linked immunosorbent assay in the detection of *Anaplasma phagocytophilum* antibodies in horses. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases* 14, 317–323; DOI: 10.1089/vbz.2013.1424
- Walker D. H., Dumler J. S. (1996) Emergence of the ehrlichioses as human health problems. *Emerging Infectious Diseases* 2, 18; DOI: 10.3201/eid0201.960102
- Webster P., Ijdo J. W., Chicoine L. M., Fikrig E. (1998) The agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis resides in an endosomal compartment. *J. Clin. Invest.* 101, 1932–1941; DOI 10.1172/JCI1544